



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO EM NUTRIÇÃO CLÍNICA

EFEITO DA INGESTÃO DE DUAS BEBIDAS DE CACAU NA PRESSÃO ARTERIAL DE ADULTOS

Trabalho submetido por
Odete Estêvão
para a obtenção do grau de Mestre em Nutrição Clínica

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Alexandra Bernardo
Professor Doutor Roberto Palma dos Reis

Agosto de 2013

DEDICATÓRIA



*Este estudo é dedicado a todos os que tornam possível usufruirmos da **Bebida dos Deuses, o Cacau.***

AGRADECIMENTOS

À Prof. Doutora Alexandra Bernardo que gentilmente aceitou participar e colaborar neste trabalho dando-me atenção, apoio, carinho e incentivo, principalmente acreditando ser possível e disponibilizando os seus conhecimentos que deram suporte a este empreendimento.

Ao Professor Doutor Roberto Palma dos Reis pelo constante entusiasmo, pela orientação e relevantes ensinamentos que me transmitiu.

À Prof. Doutora Margarida Moncada pelo apoio e partilha dos seus vastos conhecimentos sobre antioxidantes.

À Prof. Doutora Fernanda Mesquita pelo incentivo ao tema do trabalho e todos os conhecimentos transmitidos durante o meu percurso.

Ao Prof. Doutor José de Brito pela sua indispensável ajuda na execução deste trabalho.

Ao Laboratório (Bioquilab) do CiiEM por terem disponibilizado o seu espaço e equipamentos para a execução prática do estudo.

Às colegas Carla Silva e Sandra Lopes do Curso de Mestrado de Nutrição Clínica que gentilmente colaboraram no recrutamento dos participantes.

Aos estudantes e colaboradores do ISCSEM que, com alegria, participaram no estudo e tanto se esforçaram por cumprir o programa diário.

A todos os que de alguma maneira me apoiaram na realização deste trabalho, em particular ao Fernando M., à Cassilda A., à Lena E., à Joana M., ao Jorge N., ao Filipe N., à Ana Maria, à Casimira, à Isabel S., à Patrícia F., à Ana Isabel e à Florinda.

RESUMO

Enquadramento: O efeito benéfico da ingestão de cacau nos valores da pressão arterial tem sido associado à presença de compostos bioactivos (polifenóis) com poder antioxidante, aos quais se atribuem propriedades vasodilatadoras. O cacau passa por diversos processos de tratamento, originando produtos com diferentes teores de polifenóis e características organolépticas.

Objectivo: Determinar o efeito da ingestão de duas bebidas de cacau em pó, cru e alcalinizado, nos valores da pressão arterial. Comparar o conteúdo em polifenóis e poder antioxidante de amostras aquosas dos cacaos.

Métodos: Estudo aleatorizado paralelo, mascarado, em 58 indivíduos que foram distribuídos em dois grupos, 29 ingeriram a bebida de cacau cru (CC) e 29 a bebida de cacau alcalinizado (CA), durante 15 dias consecutivos. As medições dos parâmetros da pressão arterial foram efectuadas no início e fim do estudo. A análise estatística foi efectuada com o SPSS (versão 17.0). Utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA) de medições repetidas de tipo misto a 2-factores. As 2 bebidas de cacau foram sujeitas a análise química para determinação do seu teor em fenóis totais, proantocianidinas e capacidade antioxidante.

Resultados: O estudo foi concluído por 28 indivíduos. Não se verificaram diferenças com significado estatístico nos parâmetros da pressão arterial em relação aos cacaos e ao tempo com excepção da frequência da pulsação em que se verificaram diferenças significativas entre medições ($p < 0.05$). A análise química da amostra aquosa de CC mostrou um teor de fenóis e proantocianidinas superior ao CA. As duas soluções de cacau exibem uma elevada capacidade antioxidante total revelada pelos métodos FRAP e ABTS.

Conclusão: Os polifenóis e a capacidade antioxidante do CC são superiores aos do CA. Não se observaram diferenças significativas na pressão arterial entre as duas bebidas de cacau, com excepção da frequência de pulsação entre as duas medições. Os valores obtidos mostram uma tendência de diminuição dos parâmetros avaliados. É de salientar no entanto que existe uma diferença significativa nos valores da FP independentemente do cacau, quando se considera a amostra total.

Palavras-chave: cacau, alcalinização, pressão arterial, polifenóis

Nota: Trabalho apresentado nas IV Jornadas de Ciências da Saúde – Doenças Neurodegenerativas, ISCSEM, Abril 2013

ABSTRACT

Introduction: The beneficial effect of cocoa on blood pressure is due to the presence of bioactive compounds (polyphenols) with antioxidant capacity and vasodilator properties. Cocoa undergoes several processing treatments originating products with varied polyphenol contents and different organoleptic properties.

Objective: To determine the effect on blood pressure values from the intake of two cocoa powder drinks, raw and alkalized. To compare the content of polyphenols and the antioxidant capacity in aqueous cocoa samples.

Methods: A parallel randomized, masked study was conducted on 58 subjects who were divided into two groups, 29 ingested the raw cocoa (CC) drink and 29 drank the alkalized cocoa (CA) for 15 consecutive days. Blood pressure readings were taken at the beginning and end of the study. Statistical analyses were performed with SPSS (version 17.0). ANOVA was used for repeated measurements of mixed type to 2-factors. Both cocoa beverages were subjected to chemical analysis to determine their content of phenols, proanthocyanidins and antioxidant capacity.

Results: The study was completed by 28 subjects. There were no statistically significant differences in blood pressure parameters with respect to time and cocoas except that of the pulse frequency where significant differences were found between measurements ($p < 0,05$). The chemical analysis of the aqueous CC sample showed a higher content of phenols and proanthocyanidins than the CA. Both cocoa solutions show high total antioxidant capacity revealed by FRAP and ABTS methods.

Conclusion: The polyphenols and antioxidant capacity of CC outweigh the CA. There were no significant differences in arterial pressure between the two cocoa drinks, with the exception of pulse frequency between the two measuring. The values obtained show a decreasing trend of the evaluated parameters. It should be noted, however, that there is a significant difference in the values of PF regardless of cocoa, when one considers the total sample.

Keywords: cocoa, alkalisation, blood pressure, polyphenols

Note: This paper was presented at the IV Conference of Health Sciences - Neurodegenerative Diseases, ISCSEM, April 2013

RESUMEN

Introducción: El efecto benéfico del cacao en la presión arterial es debido a la presencia de compuestos bioactivos (polifenoles) con capacidad antioxidante y propiedades vasodilatadoras. El cacao pasa por varios tratamientos en su procesamiento, dando lugar a diversos productos con distintos contenidos de polifenoles y propiedades organolépticas.

Objetivo: Determinar el efecto de la ingestión de dos bebidas de cacao en polvo, crudo y alcalinizados en los valores de la presión arterial. Comparar el contenido de polifenoles y el poder antioxidante de muestras acuosas de cacaos.

Métodos: Estudio aleatorizado, enmascarado en 58 pacientes distribuidos en dos grupos, 29 ingirieron la bebida de cacao crudo (CC) y 29 la bebida de cacao alcalinizado (CA) durante 15 días consecutivos. Se efectuaron mediciones de los parámetros de la presión de arterial en el inicio y en el final del estudio. El análisis estadístico se realizó con SPSS versión 17.0. Se utilizó ANOVA para las mediciones repetidas de tipo mixto a 2-factores. Ambas bebidas de cacao fueron sometidas a análisis químico para determinar su contenido de fenoles, proantocianidinas y capacidad antioxidante.

Resultados: Completaron el estudio 28 sujetos. No se verificaron diferencias con significado estadístico en los parámetros de la presión arterial con respecto al tiempo y cacaos, excepto en la frecuencia de pulsación (FP) donde se encontraron diferencias significativas entre las mediciones ($p < 0,05$). El análisis químico de la muestra acuosa de CC mostró un mayor contenido de fenoles y proantocianidinas que la muestra del CA. Ambas soluciones de cacao muestran una alta capacidad antioxidante total revelada por los métodos FRAP y ABTS.

Conclusión: Los polifenoles y la capacidad antioxidante del CC superan el CA. No existen diferencias significativas en la presión arterial entre las dos bebidas de cacao, con la excepción de la frecuencia del pulso entre las dos mediciones. Los valores obtenidos muestran una tendencia a la disminución de los parámetros evaluados. Cabe señalar, sin embargo, que existe una diferencia significativa en los valores de la FP independientemente del cacao, cuando se considera la muestra total.

Palabras clave: cacao, alcalinización, presión arterial, polifenoles

Nota: Este estudio fue presentado en la IV Conferencia de Ciencias de la Salud - Enfermedades Neurodegenerativas, ISCSEM, Abril 2013

ÍNDICE GERAL

	Pág.
Dedicatória	
Agradecimentos	
Resumo	
<i>Abstract</i>	
<i>Resumen</i>	
Índice de Figuras	
Índice de Tabelas	
Lista de Abreviaturas	
1. ENQUADRAMENTO	21
2. OBJECTIVOS	33
2.1 Objectivo Geral	33
2.2 Objectivos Específicos	33
2.1.1 Análise dos Valores Médios da Pressão Arterial Sistólica, Diastólica, Pressão de Pulso e Frequência de Pulsação	33
2.1.2 Comparação do Conteúdo em Polifenóis e Poder Antioxidante de Amostras de Aquosas de Cacau Cru e Cacau Alcalinizado.	33
3. METODOLOGIA	35
3.1 Desenho do Estudo e Amostra	35
3.1.1 Desenho do Estudo	35
3.1.2. Constituição da Amostra	36
3.2. Recolha de dados	37
3.2.1. Hábitos Alimentares	37
3.2.2. Dados Antropométricos	37
3.2.3 Monitorização da Pressão Arterial	37
3.3 Preparação das Bebidas de Cacau	38
3.4 Análise Estatística	39
3.4.1. Constituição da Amostra	39
3.4.1.1 Tratamento de Dados Antropométricos	39
3.4.1.2 Tratamento do Inquérito	40
3.4.1.3 Tratamento dos dados da PAS, PAD, PP e FP	40
3.5 Análises Químicas das Amostras Aquosas das Duas Bebidas de Cacau	40

3.5.1 Reagentes e Soluções	40
3.5.2 Preparação do Extracto	41
3.5.3 Determinação dos Fenóis Totais	41
3.5.4 Determinação do Teor em Proantocianidinas	41
3.5.5 Determinação da Capacidade Antioxidante	41
3.5.5.1 Método FRAP (<i>Ferric Reducing/Antioxidant Power</i>)	41
3.5.5.2 Método pela Captação do Radical Livre	42
3.5.5.2.1 Teste TAS	42
3.5.5.2.2 Teste TEAC	43
4. RESULTADOS	45
4.1 Análise Química	45
4.2. Caracterização da Amostra	46
4.2.1. Perfil Antropométrico	46
4.3. Perfil Alimentar e Outras Informações	48
4.4 Tratamento Estatístico dos dados (PAS, PAD, PP e FP)	53
5. DISCUSSÃO	55
6. CONCLUSÃO	59
7. BIBLIOGRAFIA	61
ANEXOS	
Anexo I	
a) Breve História do Cacau	
b) Variedades de Cacau	
c) <i>Dutching</i>	
d) Processamento do Cacau ao Chocolate	
Anexo II – Consentimento Informado	
Anexo III – Inquérito sobre Hábitos Alimentar	
Anexo IV – Mínimos, Máximos, Média e Desvio Padrão dos Dois Grupos de Participantes	
Anexo V – Grelha de Respostas P 10	
Anexo VI – Grelha de Respostas P 9	
Anexo VII – Comunicação participante nas “IV Jornadas de Ciências da Saúde – Doenças Neurodegenerativas” ISCSEM, Abril 2013	
Anexo VIII – Diploma Vencedor da Melhor Comunicação Oral das “IV Jornadas de Ciências da Saúde – Doenças Neurodegenerativas” ISCSEM, Abril 2013	

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 - Processos de transformação das sementes de cacau em produtos semi-acabados.	30
Figura 2 - Desenho de estudo	35
Figura 3 - Fluxo de participantes	37
Figura 4 - Doses das bebidas de Cacau Cru (A) e Cacau Alcalinizado (B)	38
Figura 5 - % de inibição do radical em função do inverso do número de diluições do CC e CA	46
Figura 6 - Ingestão de proteínas, gorduras e lácteos	48
Figura 7 - Ingestão de alimentos processados e bebidas	49
Figura 8 - Informações adicionais sobre os participantes	50
Figura 9 - Diário alimentar dos participantes	51-52
Figura 10 - Comparação da cor dos 2 cacaos: cacau cru (claro), cacau alcalinizado (escuro)	57

ÍNDICE DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 - Estudos onde se analisou o efeito da ingestão de produtos de cacau sobre os valores da PA	25
Tabela 2 - Concentração de catequina/epicatequina em diversos alimentos.	26
Tabela 3 - Composição dos cacaos em pó utilizados em bebidas de cacau.	27
Tabela 4 - Actividade Antioxidante (ORAC), Polifenóis Totais (PT) e volume de Flavanol de diferentes cacaos.	28
Tabela 5 - Efeitos da fermentação, secagem e torra na composição do cacau.	29
Tabela 6 - Valores de PH, % gordura e descrição de cor de amostras de cacau com diferentes processamentos	31
Tabela 7 - Conteúdo em polifenóis de cacau natural e alcalinizado	31
Tabela 8 - Concentração ($\mu\text{g/g}$) de flavanóis e flavonóis no cacau natural e alcalinizado, e seus produtos derivados de cacau em pó (A, B e C)	32
Tabela 9 - Quantificação dos fenóis totais e teor em proantocianidinas	45
Tabela 10 - Caracterização da capacidade antioxidante	45
Tabela 11 - Comparação dos dados antropométricos	47
Tabela 12 - Teste de normalidade das variáveis em estudo, para os dois grupos	47
Tabela 13 - Teste de Levene para as variáveis peso, altura, Per. Abd e água	47
Tabela 14 - Registo das médias e desvio padrão dos valores dos parâmetros nas duas medições	53
Tabela 15 - Médias e desvio padrão da diferença dos valores dos parâmetros entre os dois períodos de avaliações	53
Tabela 16 - Resultados estatísticos entre cacaos e medições	54

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
ABTS	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ANOVA	Análise de Variância
AVC	Acidente Vascular Cerebral
CA	Cacau Alcalinizado
CC	Cacau Cru
DP	Desvio Padrão
eNOS	Síntese do Óxido Nítrico (eNOS)
FP	Frequência de Pulsação
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
g	Gramas
HTA	Hipertensão Arterial
IMC	Índice de Massa Corporal
kcal	Quilocaloria
kg	Quilograma
l	Litro
mg	Miligrama
MG	Massa Gorda
ml	Mililitro
MM	Massa Muscular
mmHg	Milímetros de mercúrio
MO	Massa Óssea
MV	Massa Visceral
N	Normal, unidade de normalidade
nm	Nanómetro ($1 \times 10^{-9} \text{m}$)
NO	Óxido Nítrico
ORAC	Capacidade de Absorção de Radicais Livres
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
Pág.	Página
PAS	Pressão Arterial Sistólica

Per. Abd	Perímetro Abdominal
pH	Potencial de hidrogénio
PP	Pressão de Pulso
ppm	Pulsações por minuto
PT	Polifenóis Totais
ROS	Espécies Reactivas do Oxigénio
SNS	Sistema Nervoso Simpático
SO	Stress Oxidativo
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
SRS	Sistema Renal Simpático
TAS	<i>Total Antioxidant Status</i>
TEAC	<i>Trolox equivalent antioxidant capacity</i>
Trolox	<i>6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid</i>
vs	versus
µg	Microgramas
µl	Microlitro

1. ENQUADRAMENTO

A pressão arterial (PA) pode definir-se como a pressão exercida pelo sangue (expressa em milímetros de mercúrio – mmHg) sobre as paredes dos vasos sanguíneos, e representa a acção do bombeamento do coração. A pressão arterial sistólica (PAS) traduz a contracção cardíaca que permite o bombeamento do sangue para as artérias. A pressão arterial diastólica (PAD) representa o relaxamento cardíaco entre as contracções. PAS e PAD correspondem respectivamente aos valores mais elevado e mais baixo que se obtêm quando da medição da PA (World Health Organization, 2003). A pressão de pulso (PP) define-se como a diferença entre a PAS e a PAD. O seu valor aumenta com o endurecimento das artérias (Sesso et al., 2000). A frequência de pulsação (FP) é o número de batimentos cardíacos por minuto detectados numa artéria periférica. Corresponde às variações de pressão sanguínea na artéria durante as fases de contracção e relaxamento cardíacos.

A PA é um parâmetro fisiológico que é influenciado por factores ambientais bem caracterizados e factores genéticos (Vasdev, Stuckless, & Richardson, 2011).

Os níveis da PA podem ser agrupados em diferentes categorias: a pressão sistólica normal em repouso, no adulto, situa-se entre os 100 e os 140 mmHg e a diastólica entre 60 e 90 mmHg. O aumento da pressão na árvore arterial sistémica acima desses valores obriga a um maior esforço para o coração bombear o sangue e denomina-se hipertensão arterial (HTA).

PA elevada é um dos factores de risco cardiovascular que tem sido objecto de atenção (Egan, Laken, Donovan, & Woolson, 2010). A HTA é um problema de saúde universal, e constitui um factor de risco cardiovascular de alta prevalência, responsável por elevadas morbidade e mortalidade cardiovasculares nomeadamente acidentes coronário e vascular cerebral e ainda insuficiência renal e cegueira (Beg, Sharma, & Akhtar, 2011; Vasdev, et al., 2011).

Em Portugal cerca de 45,7% dos adultos (idade superior a 18 anos) sofrem de HTA, sendo esta prevalência superior nos homens. Quanto ao conhecimento da HTA, é superior nas mulheres, e só 7,2% dos homens é que controla contra 15,4% nas mulheres. O grau de desconhecimento da HTA quase que triplica quando se compara indivíduos com idade inferior a 35 anos aos com 64 anos, o que significa que os jovens não dão importância à medição da PA (Macedo et al., 2007).

A PA é regulada por vários mecanismos nomeadamente neural, renal, hormonal e vascular. A regulação a curto prazo, está directamente ligada a reflexos neurais que modificam as variáveis hemodinâmicas que determinam a pressão, sendo o órgão alvo o coração; na regulação a longo prazo são os mecanismos hormonais e renais e estão ligados à volemia, sendo o órgão alvo os rins. A regulação da PA a curto prazo é feita pelo sistema nervoso simpático (SNS) dando respostas para regular o stress físico e emocional. O sistema renal simpático (SRS) contribui para regular a PA a longo prazo, promovendo a retenção do sódio. Quando existe um desequilíbrio na capacidade de absorção versus excreção renal, resulta num aumento da pressão arterial (DiBona, 2005). O controlo da PA constitui um factor relevante para a monitorização do risco para doenças cardiovasculares ou renais (Appel et al., 2006).

O mecanismo a curto prazo actua em consonância com o mecanismo a longo prazo. No mecanismo a curto prazo, são os barorreceptores que sinalizam as alterações da PA e que promovem o aumento da actividade simpática, alterando a frequência cardíaca (FC), a vasoconstrição/vasodilatação periférica e estimulando também a secreção da renina. Os reflexos emitidos pelos barorreceptores podem permitir a correcção das variações da PA (Flammer et al., 2012; Guyenet, 2006).

No mecanismo a longo prazo é o SRS que regula a PA. A renina é uma enzima que faz parte do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), sistema hormonal que também regula a PA e o equilíbrio do fluido no organismo. Se o SRAA estiver anormalmente alterado a PA ficará muito elevada, promovendo o estado de hipertensão. O deficiente funcionamento deste processo metabólico facilita a disfunção endotelial e eleva a resistência vascular periférica (Actis-Goretta, Ottaviani, & Fraga, 2006; Vasdev, et al., 2011).

A nível do mecanismo vascular (outro dos mecanismos reguladores da PA), podem existir alterações na estrutura e função das pequenas e grandes artérias. Os distúrbios vasculares são influenciados, para além de outros factores, pela diminuição da síntese e biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) promovendo a disfunção endotelial. O revestimento endotelial dos vasos sanguíneos é de elevada importância (Luscher & Barton, 1997) para a saúde vascular e desempenha um papel importante na protecção contra a aterosclerose e HTA, diminuindo o risco de acidente cardiovascular. A desregulação da função endotelial pode conduzir a um aumento da resistência vascular periférica devido a determinados factores, um dos quais é quando a síntese do óxido nítrico endotelial (eNOS) não está activada resultando em vasoconstrição dos

vasos sanguíneos (Munzel, Sinning, Post, Warnholtz, & Schulz, 2008). É de extrema importância que haja um constante fluxo de NO porque este constitui um dos mecanismos responsáveis pela regulação da PA. Como vasodilatador que é, produzido nas células endoteliais, a função do NO é a de tonificar os vasos vasculares periféricos (Paravicini & Touyz, 2008).

Estudos clínicos têm demonstrado que a HTA é acompanhada por um aumento de stress oxidativo (SO) e este aumenta a pressão sanguínea ao promover a desregulação do NO (Beg, et al., 2011). O SO ocorre quando há desequilíbrio entre a actividade de enzimas oxidantes e a capacidade antioxidante do organismo ou quando a ingestão de antioxidantes da dieta é inapropriada. Assim o NO pode ser degradado pelas espécies reactivas de oxigénio (ROS) resultando numa situação de SO e consequentemente promovendo alterações na PA (Andres-Lacueva et al., 2008; Paravicini & Touyz, 2008).

As alterações da PA estão relacionadas com vários factores, entre os quais, factores genéticos e outros associados ao estilo de vida, nomeadamente regime dietético e exercício físico (Vasdev, et al., 2011).

As mudanças no estilo de vida das últimas décadas (excesso de ingestão de açúcar, sal, álcool e o défice em vitaminas e antioxidantes, obesidade e sedentarismo) (Beg, et al., 2011) têm sido apontadas como factores que têm contribuído para a subida dos valores da PA e por isso é frequente a referência nas *guidelines* à modificação do estilo de vida (sugerindo mais exercício físico e uma alimentação adequada) como complemento à terapêutica médica (Egan, et al., 2010; Medina-Remón & al., 2009; Muniyappa et al., 2008; Ried, Sullivan, Fakler, Frank, & Stocks, 2010)

Perante este quadro preocupante, e tendo em conta a diversidade e complexidade de mecanismos propostos para a regulação da PA e os elevados valores de prevalência da HTA, justifica-se a existência de diferentes abordagens no tratamento e prevenção da HTA (Macedo, et al., 2007).

A terapêutica medicamentosa é uma das abordagens que permite se atinja mais rapidamente a pressão alvo, diminuindo assim o risco de acidentes cardio ou cerebrovasculares. Outra abordagem passa pela alteração do regime alimentar adoptando uma dieta rica em frutos, vegetais e com baixo teor de gorduras saturadas, redução da ingestão de sal, aumento de ingestão de potássio, consumo moderado de álcool, abstinência tabágica e pelo aumento da actividade física através de exercícios aeróbicos (Appel, et al., 2006; Vasdev, et al., 2011).

Entre as medidas dietéticas tem sido referida uma potencial associação benéfica entre a ingestão de cacau (Anexo I-a)) e a diminuição dos valores da PAS e da PAD. Esta redução foi inicialmente observada nos Índios Kuna, nativos das ilhas de San Blás no Panamá, que ingerem tradicionalmente elevadas quantidades de cacau e revelam uma baixa incidência de desenvolvimento de HTA com o aumento da idade. No entanto, quando estes mesmos índios migram para o continente, onde consomem menos cacau e adquirem outros hábitos, acabam por revelar problemas de HTA à medida que envelhecem. Assim, não estando os índios Kuna geneticamente protegidos da HTA, poderia ser a alteração da ingestão de cacau um dos factores que contribui para esta diferença (Corti, Flammer, Hollenberg, & Lüscher, 2009; Desch, Schmidt, & al., 2010; Egan, et al., 2010).

O conhecimento deste facto deu origem a vários trabalhos de investigação com cacau tendo sido publicados vários estudos que sugerem uma associação entre a redução dos valores da PA e a ingestão de produtos de cacau. Esta acção benéfica parece estar relacionada com compostos fenólicos bioactivos constituintes do cacau. São também referidos efeitos de anti-envelhecimento e redução da aterosclerose. (Tabela 1)

Tabela 1 – Estudos onde se analisou o efeito da ingestão de produtos de cacau sobre os valores da PA

Ref	Tipo de Estudo	Intervenção	Composto Bioativo	Amostra	Duração da Intervenção	Resultado	Conclusão
Corti (2009)	Revisão	Produtos de Cacau	<11mg a 821mg flavanóis e 213mg procianidinas	267	2horas a 4 semanas	- Aumento da biodisponibilidade do NO	O consumo de cacau promove efeitos benéficos cardiovasculares
Ried (2010)	RCT Meta Análise	Produtos de Cacau em alimentos sólidos e líquidos	30-1000mg procianidinas, proantocianidinas, fenóis vs placebo	605 Normotensos Hipertensos	2 a 18 semanas	PAS: -3,2±1,9 mmHg, P=0,001 PAD: -2,0±1,3 mmHg, P=0,003	O chocolate negro reduziu a PAS e a PAD em indivíduos jovens com HTA moderada Não apresenta efeitos em idosos hipertensos e jovens normotensos
Taubert, D. et al. (2007)	Meta Análise	Chocolate negro ou de leite	500mg polifenóis e 213mg procianidinas e 294mg flavanóis e procianidinas	173 Normotensos ou hipertensos Idade ≥ 18 anos	± 2 semanas	PAS: -4,7 mmHg P=0,02 PAD: -2,8 mmHg P=0,006	Redução da PA em indivíduos jovens com hipertensão moderada Em indivíduos idosos hipertensos e jovens normotensos as reduções observadas não têm significado estatístico
Desch (2010)	Meta Análise	Chocolate negro Bebida de cacau	Entre 168mg e 902mg flavanóis e 754mg procianidinas	297 Normotensos Pré-hipertensos Hipertensos	2 a 18 semanas	PAS : -4,5 mmHg P< 0,001 PAD : -2,5 mmHg P< 0,001	O efeito da ingestão de produtos de cacau traduz-se numa diminuição de PA
Egan (2010)	Revisão	Chocolate e Cacau	36 a 902mg flavanol	434 Normotensos diabéticos	14 dias a 18 semanas	-Aumento da função endotelial vascular e da frequência cardíaca	O chocolate negro melhora a função endotelial e diminui a pressão arterial.
Ding (2006)	Revisão	Chocolate Negro Cacau	Polifenóis Flavonóides Flavanol Procianidinas	440	1 Refeição a 4 semanas	- Diminuição da função plaquetária, da PAS, PAD e SO - Melhor funcionamento endotelial	O consumo de chocolate com elevado teor de flavonóides pode diminuir o risco de AVC.
Faridi (2008)	Ensaio	Chocolate Negro e Placebo	-----	45 Normotensos	-----	PAS: -3,2±5,8 vs 2,7± 6,6 mmHg PAD : 1,4±3,9 mmHg vs 2,7±6,4 P= <0,001	A ingestão de chocolate negro e cacau em pó aumenta a função endotelial e diminui a pressão arterial.
Sudarma (2011)	Ensaio	Chocolate Negro	-----	32 Pré-hipertensos	15 dias	- A PAS diminuiu mas na PAD não houve diminuição significativa	O chocolate não aumentou o nível de NO e diminuiu a PAS
Grassi (2005)	Ensaio	Chocolate Negro	88mg Flavanol	20 normotensos	15 dias	PAS :-11,9±7,7 mmHg PDA : -8,5±5,0 mmHg P= <0,0001	Os flavanóis do chocolate promovem benefício cardiovascular em indivíduos normotensos

Estes estudos sugerem que os efeitos benéficos do cacau são maioritariamente devidos a um aumento da biodisponibilidade do NO o que explica a melhoria da função endotelial com a consequente vasodilatação e outros potenciais efeitos benéficos na PA (Almoosawi, Fyfe, Ho, & Al-Dujaili, 2010; Buijsse, Weikert, Drogan, Bergmann, & Boeing, 2010; Corti, et al., 2009; Desch, et al., 2010; Fisher, Hughes, Gerhard-Herman, & Hollenberg, 2003).

Evidências como esta serviram de base a Corti (2009) para propôr que os flavonóides, e dentre estes os flavanóis, especialmente a epicatequina/catequina, que se encontram em elevadas concentrações no cacau quando comparados com outros alimentos (Tabela 2), melhoram a função vascular e a sensibilidade à insulina, reduzindo a reactividade plaquetária e diminuindo a PA (Corti, et al., 2009).

Tabela 2- Concentração de catequina/epicatequina em diversos alimentos

Alimento	Conteúdo Flavonóides, mg/kg ou mg/L
Chocolate	460-610
Feijões	350-550
Damascos	100-250
Cerejas	50-220
Pêssegos	50-140
Amoras	130
Maçãs	20-120
Chá Verde	100-800
Chá Preto	60-500
Vinho Tinto	80-300
Cidra	40

Fonte: Adaptado de Corti, R. (2009).

Para além destes trabalhos os polifenóis do cacau têm sido mencionados em vários estudos como compostos bioactivos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antiaterogénicas e anticancerígenas (Buitrago-Lopez, Sanderson, & Johnson, 2011; Monagas et al., 2009; Muniyappa, et al., 2008; Ortega et al., 2008).

A capacidade antioxidante dos fenóis deve-se principalmente às suas propriedades redox, as quais permitem actuar como agentes redutores e fornecedores de hidrogénio (Othman et al., 2010).

Dentro da classe dos polifenóis, os flavonóides são aqueles que demonstraram ter maior poder antioxidante. No grupo dos flavonóides distinguem-se os flavanóis, também denominados “flavan-3-ols”, que têm suscitado particular interesse porque se podem encontrar em elevadas concentrações no cacau. Os flavanóis encontram-se no cacau na forma monomérica (epicatequinas e catequinas) e em longas cadeias poliméricas (procianidinas e proantocianidinas) (Belščak, Komes, Horžić, Ganić, &

Karlović, 2009; Latif, 2013; Miller et al., 2008; Muniyappa, et al., 2008; Scalbert & Williamson, 2000) (Tabela 3).

Dreosti (2000) verificou que 60% do total de compostos fenólicos na semente de cacau são flavanóis e procianidinas (Dreosti, 2000; Othman, et al., 2010).

Tabela 3 - Composição dos cacaos em pó utilizados em bebidas de cacau

Composição por dose (31g)	Cacau
Energia (kcal)	119
Polifenóis do Cacau (mg)	451
Epicatequina (mg)	87
Catequina (mg)	31
Procianidinas (mg)	338
Gordura Total(g)	1.4
Gorduras Saturadas (g)	0.8
Colesterol (mg)	4.4
Hidratos de Carbono (g)	17
Proteínas (g)	9.40
Fibras (g)	3.0
Cafeína (mg)	18.3
Teobromina (mg)	337
Sódio (mg)	105
Potássio (mg)	530
Cálcio (mg)	244
Ferro (mg)	1.9
Fósforo (mg)	280
Magnésio (mg)	86
Zinco (mg)	1.6
Cobre (mg)	0.4
Manganésio (mg)	0.6

Fonte: Adaptado de Muniyappa (2008).

Os flavanóis, mais particularmente as procianidinas, têm sido descritos como o maior grupo responsável pela actividade antioxidante nas sementes de cacau, revelando capacidade de aumentar a formação de óxido nítrico endotelial (Egan, et al., 2010; Karim, McCormick, & Kappagoda, 2000; Ried, et al., 2010) e consequentemente a capacidade de promover efeitos benéficos no organismo humano (Gu et al., 2004; Ortega, et al., 2008).

O estudo de Sudarma (2011) revela também que o chocolate negro é muito rico em flavanóis, e possui um nível bastante elevado de antioxidação comparado com outros alimentos, baseado na Capacidade de Absorção de Radicais Livres (ORAC), o que promove o efeito de diminuição na PAS e PAD.

Apesar do elevado conteúdo de compostos bioactivos (compostos polifenólicos) presentes nas sementes de cacau e seus derivados, esse teor pode variar segundo as variedades de cacau (Anexo I-b), suas cultivares e distribuição geográfica ao longo da

zona equatorial, para além dos processos de transformação a que o cacau é submetido (Belščak, et al., 2009; E. S. Brito et al., 2000; Egan, et al., 2010; Ortega, et al., 2008; Othman, et al., 2010).

O efeito dos processos de transformação (Anexo I-d) do cacau foi estudado por Miller, (2008) propondo o autor uma relação entre a actividade antioxidante e o conteúdo em polifenóis totais (PT) e flavanóis totais em cacaus com diferentes tratamentos de processamento, desde o natural até ao forte. (Tabela 4)

Tabela 4 - Actividade Antioxidante (ORAC), Polifenóis Totais (PT) e volume de flavanol de diferentes cacaus

Categoria do Processo	Actividade Antioxidante (ORAC) ($\mu\text{mol de TE/g}$)	Polifenóis Totais (PT) (mg/g)	Flavanóis totais (mg/g) N > 10 (mg/g)
Natural	846	63.20	35.69
Natural	628	56.40	36.21
Natural	615	61.90	40.25
Natural	822	49.60	37.97
Natural	620	40.59	22.86
Ligeiro	544	51.89	24.65
Ligeiro	398	23.84	8.76
Ligeiro	365	27.28	11.48
Ligeiro	395	24.71	10.31
Médio	321	19.03	7.33
Médio	398	33.04	14.00
Médio	279	13.20	3.94
Médio	237	15.68	4.92
Médio	297	26.51	8.91
Forte	254	13.25	5.70
Forte	233	11.52	4.51
Forte	294	30.97	6.05
Forte	94	7.66	1.33
Forte	198	10.79	2.92
Forte	259	9.54	3.04

Fonte: Adaptado de Miller, (2008).

O processamento da semente crua inclui numerosos passos realizados ainda na zona da plantação. Um dos primeiros processos é a fermentação da semente, a qual é crucial para produzir a cor e as qualidades organolépticas desejáveis do cacau (Ortega, et al., 2008). As sementes permanecem em caixas a fermentar durante cerca de 4 a 5 dias, e posteriormente são submetidas a um tratamento de secagem, que tem como objectivo a remoção quase total de água das sementes (Hii, Law, Suzannah, Misnawi, & Cloke, 2009). Contudo, neste passo de transformação verificam-se consideráveis reduções (Forsyth, 1952; Othman, et al., 2010), particularmente no estudo de Brito

(2000), em que se dá uma redução de 34 a 58% na quantidade dos fenóis da semente de cacau através da oxidação e exsudação (L. Brito et al., 2012).

O estudo de Nazaruddin, (2006) mencionado por Othman, (2010) revela que as sementes de cacau não fermentadas contêm 1187mg/100g de epicatequina, enquanto que as sementes de cacau fermentado contêm unicamente 985mg/100g (Nazaruddin, Seng, Hassan, & Said, 2006). Ou seja, como menciona Rusconi, (2010), em sementes de cacau não fermentado a epicatequina representa aproximadamente 35% do conteúdo dos seus compostos fenólicos (Rusconi & Conti, 2010). Quando não ocorre uma correcta fermentação, o cacau não desenvolve aromas e é excessivamente adstringente e amargo. Vários estudos testam a correlação entre o conteúdo fenólico e a sua capacidade antioxidante (Othman, et al., 2010). Na tabela 5 pode-se observar como diminuem os valores dos Fenóis totais assim como outros compostos durante a respectiva transformação da semente de cacau (E. S. Brito, et al., 2000).

Tabela 5 – Efeitos da fermentação, secagem e torra na composição do cacau

	Fermentado		Seco	Torrado
	0h	72h		
Fenol total (mg ácido tânico g ⁻¹)	231 ± 5a	213 ± 5 ^a	157 ± 6b	131 ± 6c
Proteína (m ^g g ⁻¹)	220 ± 8a	157 ± 9b	1148 ± 8b	138 ± 7b
Grupos amino-terminais (mg glicina g ⁻¹)	21.6 ± 0.2b	35.6 ± 1.2 ^a	32.6 ± 1.9a	22.1 ± 1.1b
Aminoácidos livres (m ^g g ⁻¹)	25.7 ± 0.7a	32.1 ± 1.8b	35.3 ± 1.3b	24.1 ± 2.1a
Açúcares redutores (mg glucose g ⁻¹)	50.1 ± 0.3b	63.0 ± 0.5 ^a	28.0 ± 0.5c	14.6 ± 0.1d
Oligossacarídeo (mg glucose g ⁻¹)	7.9 ± 1.4a	6.7 ± 1.9 ^a	7.9 ± 0.7a	7.7 ± 1.1a
Amido (mg glucose g ⁻¹)	140 ± 5a	127 ± 5 ^a	136 ± 9a	162 ± 4a

Fonte : Adaptado de Brito (2000).

Após a secagem, as sementes ficam prontas para serem armazenadas e transportadas para as fábricas de transformação onde são objecto de outros tantos processos (por exemplo: alcalinização e torrefacção) cujos principais passos envolvidos são mostrados na Figura 1.

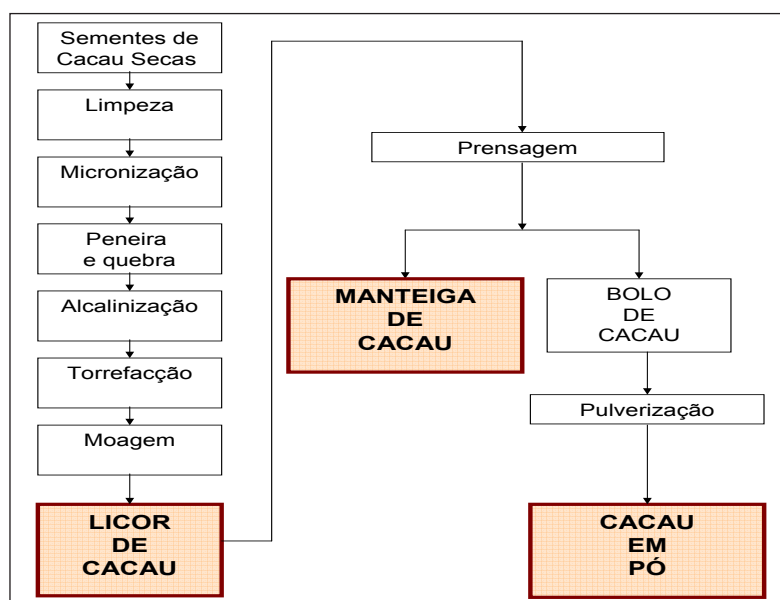


Figura 1 - Processos de transformação das sementes de cacau em produtos semi-acabados.

Adaptada de Hii, (2009).

A alcalinização e a torrefacção são os processos que mais contribuem para o *flavour* e cor dos produtos semi acabados resultantes (licor de cacau ou pasta de cacau, semente de cacau e cacau em pó), excepto a manteiga de cacau (Hii, et al., 2009; RadoJčIć RedoVNIkoVIć, Delonga, & Mazor S, 2009). O cacau natural tem elevado conteúdo de flavanóis mas quando passa por estes processos, este conteúdo fica substancialmente reduzido (Hii, et al., 2009; Miller, et al., 2008).

O tratamento de alcalinização, também conhecido como *Dutching* (Anexo 1-c)), é um processo que escurece a substância magra da semente de cacau e altera o seu sabor por redução da sua acidez. O processo de alcalinização envolve vários agentes, o mais comum é o carbonato de sódio dissolvido em água directamente no cacau em pó, na pasta ou nas sementes de cacau, deixando a mistura reagir (Miller, et al., 2008). No processo de torrefacção, as sementes de cacau no estado natural (cru), ou já com o tratamento de alcalinização, são torradas a elevadas temperaturas (120°C a 150°C) para desenvolver melhor o aroma e o *flavour* no tipo de chocolate pretendido (Rohan & M., 1964). O tempo, a temperatura e a concentração do alcalino são variáveis que podem afectar o produto final nomeadamente no que diz respeito ao seu conteúdo em polifenóis (E. S. Brito, et al., 2000; Hii, et al., 2009; Wollgast & Anklam, 2000).

Na Tabela 6 pode observar-se como se modifica o pH e a cor com diferentes níveis de alcalinização (do tratamento natural à alcalinização forte).

Tabela 6 – Valores de pH, % gordura e descrição de cor de amostras de cacau com diferentes processamentos

Categoria do Processo	pH	% Gordura	Descrição Cor
Natural	5.39	11.01	Castanho Claro
Natural	5.53	12.40	Castanho Claro
Natural	5.60	11.20	Castanho Claro
Natural	5.69	10.40	Castanho Claro
Natural	5.76	10.43	Castanho Claro
Ligeiro	6.77	11.80	Castanho
Ligeiro	6.94	10.42	Vermelho/Castanho
Ligeiro	7.00	10.50	Vermelho/Castanho
Ligeiro	7.13	11.08	Castanho
Médio	7.21	10.20	Castanho-escuro
Médio	7.25	11.60	Vermelho/Castanho
Médio	7.36	11.17	Castanho-escuro
Médio	7.46	10.91	Vermelho/Castanho
Médio	7.52	10.90	Vermelho/Castanho
Forte	7.69	11.50	Vermelho-escuro
Forte	7.81	12.70	Preto
Forte	7.82	10.00	Preto
Forte	7.92	11.00	Preto
Forte	8.05	10.69	Vermelho-escuro
Forte	8.06	10.30	Preto

Fonte: Adaptado de Miller, (2008)

No estudo de Hii (2009), é revelada a diferença entre o cacau em pó natural (cru), com (pH 5.39-5.76) e elevada capacidade antioxidante, e o cacau em pó fortemente processado (alcalinizado) (pH 7.69-8.06). Se a temperatura da torra aumentar de 127 °C para 181°C, o conteúdo em polifenóis diminui de 24618 para 12706 µg/g, diminuindo igualmente as procianidinas de 1953 µg/g para 425 µg/g (Hii, et al., 2009).

Ainda no trabalho do mesmo autor, expresso na Tabela 7, podem-se encontrar diferenças na constituição do cacau cru e alcalinizado no que diz respeito aos flavanóis totais, procianidinas e catequinas. O autor atribui esta perda de flavanóis totais à oxidação de compostos fenólicos em condições de elevado pH, tornando os pigmentos castanhos devido aos diferentes graus de polimerização (Hii, et al., 2009).

Tabela 7 – Conteúdo em polifenóis de cacau natural e cacau alcalinizado

	Total Flavanóis (µg/g)	Catequinas (mg/g)	Procianidinas (mg/g)
Cacau Natural (Cru)	2109.0 – 3058.5	2.9 – 3.5	32.2 – 48.7
Cacau Alcalinizado	848.8 – 1148.3	0.4 – 0.7	7.0 – 10.8

Fonte: Adaptado de Hii, (2009)

Estas diferenças são também ilustradas no trabalho de Andres-Lacueva (2008), onde se verificou que as elevadas temperaturas e prolongado tempo de exposição, no

processo de torrefacção, reduzem o conteúdo de polifenóis no cacau, podendo afectar as propriedades e a biodisponibilidade dos polifenóis, já que este tratamento resulta numa perda em 60% do conteúdo total de flavonóides. (Ver Tabela 8)

Tabela 8 - Concentração ($\mu\text{g/g}$) de flavanóis e flavonóis no cacau natural e alcalinizado, e seus produtos derivados de cacau em pó (A, B e C)

	Flavanóis e Flavonóis ($\mu\text{g/g}$)
Cacau natural em pó	2653.13 (± 123.08)
produto cacau A	563.27 (± 31.32)
Cacau em pó alcalinizado	1055.37 (± 59.57)
produto de cacau B	530.41 (± 22.68)
produto de cacau C	223.47 (± 6.97)

Fonte: Adaptado de Andrés-Lacueva (2008).

O processo de alcalinização não é indispensável na confecção de chocolate mas é comum a sua aplicação em produtos como o cacau em pó, bebidas de cacau ou como coberturas, devido ao propósito de apresentar uma cor de chocolate mais convencional (Wollgast & Anklam, 2000).

O cacau em pó é um importante ingrediente na indústria alimentar, grandes quantidades são utilizadas em xaropes, coberturas, gelados, bebidas e pastelaria assim como para aromatizar e dar cor a comidas pré-confeccionadas.

O cacau em pó natural, com elevado conteúdo em polifenóis, não é tão requisitado para a elaboração de produtos semifinos devido ao seu amargor e adstringência e por mascarar as características de sabor do chocolate, no entanto existem nichos de mercado que procuram produtos de cacau ou chocolate com elevado conteúdo de polifenóis que são solicitados por consumidores conscienciosos do seu efeito para a saúde (Hii, et al., 2009).

Tendo em conta as diferenças no conteúdo em polifenóis de cacaos sujeitos a diferentes graus de processamento e a associação destes compostos aos efeitos benéficos nos valores da PA pretende-se neste trabalho verificar se existe diferença nos valores da PA após ingestão de 2 tipos de cacau comerciais (cacau em pó cru – CC e cacau em pó alcalinizado – CA), bem como caracterizar o respectivo conteúdo em fenóis e poder antioxidante.

2. OBJECTIVOS DO ESTUDO

Considerando a diferença de conteúdo em compostos bioactivos no cacau, antes e após o processamento por alcalinização e a potencial acção nos valores da PA, o objectivo deste estudo consiste na análise do efeito da ingestão de dois tipos de cacau em pó, cru e alcalinizado, nos valores da PA em adultos.

2.1 Objectivo Geral:

Determinar o efeito da ingestão de duas bebidas de cacau em pó cru e alcalinizado na pressão arterial em adultos.

2.2 Objectivos específicos:

2.2.1 Análise dos valores médios da pressão arterial sistólica (PAS), da pressão arterial diastólica (PAD), da pressão de pulso (PP) e da frequência de pulsação (FP).

- a. antes e após a ingestão de uma bebida de cacau em pó cru;
- b. antes e após a ingestão de uma bebida de cacau em pó alcalinizado;
- c. entre os dois tipos de cacau.

2.2.2 Comparação do conteúdo em polifenóis e poder antioxidante de amostras aquosas de cacau em pó cru (CC) e cacau em pó alcalinizado (CA).

3. METODOLOGIA

O estudo foi efectuado exclusivamente no Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz (ISCSEM), tendo a recolha de dados sido efectuada entre Novembro e Dezembro de 2012.

O protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão Científica e pela Comissão de Ética do ISCSEM .

3.1. Desenho do Estudo e Amostra

3.1.1. Desenho de Estudo

O estudo consistiu num ensaio aleatorizado paralelo mascarado de acordo com o esquema apresentado (Figura 2).

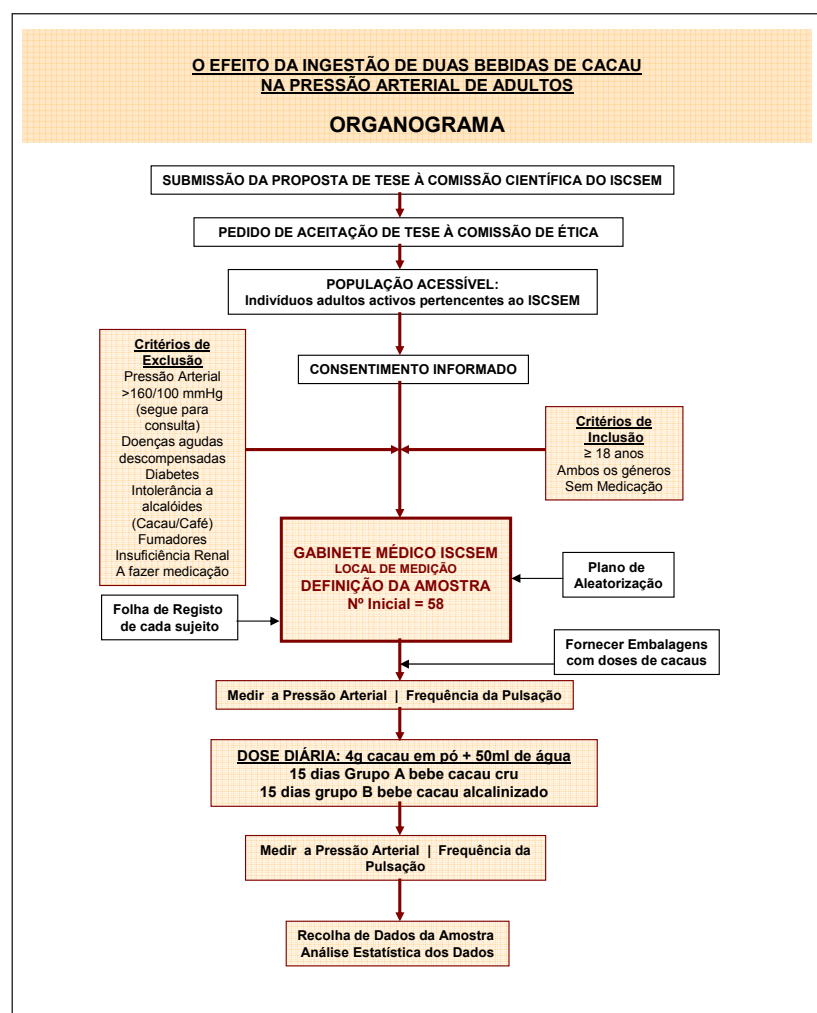


Figura 2 – Desenho de Estudo

No primeiro dia de aplicação do estudo foi pedido o consentimento informado a todos os que se apresentaram. Após a informação recolhida sobre os critérios de inclusão e exclusão definiu-se a amostra (58 indivíduos).

No gabinete médico do ISCSEM, após o registo dos dados antropométricos, os indivíduos foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos (A e B) de acordo com o tipo de cacau utilizado nas bebidas. A ingestão da bebida foi efectuada, no local do estudo, de manhã, durante 15 dias consecutivos. A PA e FP foram avaliadas imediatamente 5 minutos antes da ingestão e cinco minutos após a ingestão, no primeiro e último dia do estudo, respectivamente.

Os dados recolhidos foram posteriormente registados e tratados estatisticamente.

3.1.2. Constituição da Amostra

Os indivíduos participantes no estudo foram recrutados através de convite por comunicação oral no ISCSEM. Foi obtido o consentimento informado de cada um, onde se explicava o âmbito e os objectivos do estudo (Anexo II).

Os critérios de inclusão conduziram ao recrutamento de adultos de ambos os géneros (idade \geq 18 anos) e os critérios de exclusão rejeitaram os adultos que possuíssem: PA > 160/100 mmHg; doença aguda ou crónica descompensada; diabetes; insuficiência renal; intolerância a alcalóides (cacau/café); tabagismo activo; qualquer tipo de medicação.

Recrutaram-se 58 adultos (9 homens e 49 mulheres) com idades entre os 18 e os 50 anos, constituindo assim uma amostra por conveniência.

No início do estudo os indivíduos foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: grupo A de 29 indivíduos que iria ingerir uma bebida de cacau em pó contendo 50 ml de água e 4g de cacau cru (CC) e o grupo B de 29 indivíduos que tomaria outra bebida de cacau em pó contendo 50 ml de água e 4g de cacau alcalinizado (CA). O tipo e características do cacau utilizado na bebida eram desconhecidos nos dois grupos.

Durante o ensaio em ambos os grupos houve desistências por impossibilidade de comparência contínua. No grupo A descontinuaram 13 indivíduos e no grupo B 17 indivíduos. Terminaram o estudo 28 sujeitos. (Figura 3)

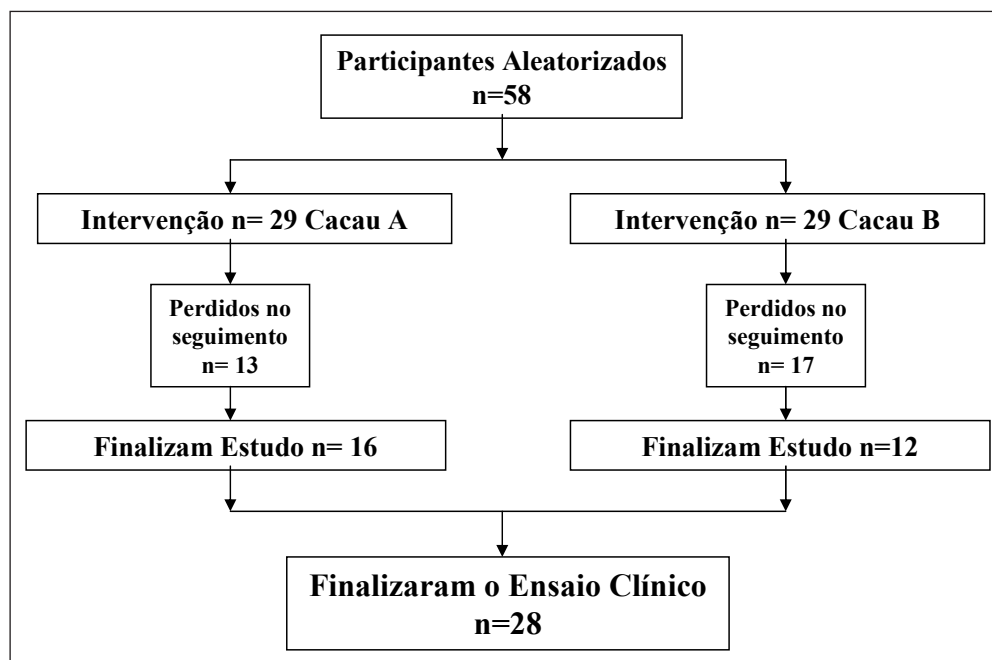


Figura 3 – Fluxo de participantes

3.2. Recolha de dados

3.2.1. Hábitos Alimentares

Foi requerido aos participantes que mantivessem os seus hábitos alimentares e fez-se um registo destes através da aplicação de um inquérito sobre os hábitos alimentares e outras informações (Anexo III).

3.2.2. Dados Antropométricos

Os indivíduos foram pesados em balança *Inner Scan Body Composition Monitor* e registados todos os seus dados antropométricos: idade, altura, peso, Índice de Massa Corporal (IMC), perímetro abdominal (Per. Abd.), massa gorda (MG), massa muscular (MM), massa óssea (MO) e massa visceral (MV).

3.2.3 Monitorização da Pressão Arterial

As medidas foram efectuadas com um tensiómetro de braço, *Tensoval® duo control*, com grau de precisão A/A, de acordo com a Sociedade Europeia de Hipertensão (De Greeff, 2008). A monitorização da PA iniciava-se com um período de relaxamento do indivíduo durante cerca de 5 minutos, na posição sentado, após o qual

se colocava a braçadeira no braço esquerdo. Foram efectuadas 3 medições da PA com intervalos de 5 minutos, em ambiente calmo e a temperatura controlada, registando-se a PAS, a PAD, a FP e posteriormente determinaram-se os valores da PP.

3.3 Preparação das Bebidas de Cacau

Os dois tipos de cacau em pó utilizados na elaboração das amostras foram adquiridos em superfícies comerciais.

A preparação das bebidas consistiu em ferver 5L medidos em balão volumétrico de água mineral onde se juntaram 400g de cacau em pó (cru ou alcalinizado), pesado em balança Sartorius analytica (sensibilidade 1×10^{-4} g).

A mistura ferveu em lume brando durante 10 minutos, tendo sido mexida durante esse período.

Uma vez preparados, os dois tipos de bebida foram distribuídos por recipientes individuais esterilizados de 50mL (eurotubos DELTALAB). Cada recipiente foi etiquetado com uma letra de código correspondente ao tipo de cacau que continha (letra A para o cacau cru e letra B para o cacau alcalinizado).

As bebidas apresentavam diferenças a nível da cor e do sabor (Figura 4).

As doses foram produzidas com um dia de antecedência e mantidas no frio por 1 a 2 dias na cozinha experimental do ISCSEM.

Antes de serem ingeridas as doses eram agitadas.



Figura 4 - Doses das bebidas de cacau cru (A) e cacau alcalinizado (B)

3.4. Análise Estatística

O tratamento estatístico dos dados foi efectuado no programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) (versão 17.0, New York, USA).

3.4.1. Constituição da Amostra

Para se conhecer a dimensão da amostra utilizou-se o software G*Power 3.1.3 que disponibiliza um algoritmo de estimativa para avaliar a dimensão da amostra.

Por existirem dois grupos A e B, e dois momentos de medição de pressão arterial (antes e depois da ingestão), tem de se assumir o parâmetro 1 para a correcção de não esfericidade, escolhendo-se como nível de significância $\alpha=5\%$, a potência do teste de 95%, escolhendo 0,3 (valor médio) para os parâmetros de correlação. Obteve-se o valor de 54 para a dimensão amostral mínima ideal.

De uma amostra inicial de 58 sujeitos, após a execução dos inquéritos, tendo ocorrido várias desistências, erros de preenchimento e eventualidades de continuação do estudo, finalizaram-no 28 sujeitos.

Assim, se a dimensão inicial da amostra se tivesse mantido nos 58, teríamos uma amostra de dimensão suficiente para confirmar eventuais resultados. Dada a dimensão ser 28, há uma diminuição significativa da robustez do teste, dado que esse valor de dimensão amostral corresponde a uma potência de apenas 70%. Logo deve-se encarar este estudo como um Estudo Piloto.

3.4.1.1 Tratamento de Dados Antropométricos

Para determinar as diferenças nas respostas entre os sujeitos (Grupo A e Grupo B) dos dados antropométricos utilizou-se o teste de Shapiro Wilk (adequado a amostras pequenas) verificando-se a normalidade da distribuição ($p = 0,05$).

Aplicou-se o teste de Levene para se verificar a homogeneidade das variâncias com $p > 0,05$ nos resultados que apresentavam distribuição normal. Para os que não apresentavam homogeneidade das variâncias ($p < 0,05$) aplicou-se o teste não paramétrico independente Mann-Whitney.

3.4.1.2 Tratamento do Inquérito

As respostas sobre os tipos de alimentos que habitualmente ingerem foram comparadas por grupos e por frequências através de percentagens e tratamento estatístico.

3.4.1.3 Tratamento dos dados da PAS, PAD, PP e FP

Considerou-se a média das duas últimas medições de PA, no momento inicial e no momento final, e posteriormente determinou-se a média total do grupo A (CC) e grupo B (CA) no início (T0) e no final (T1) e os seus desvios padrão (DP), tendo-se procedido de igual modo para PP e FP.

Para determinar as diferenças nas respostas entre sujeitos para os tratamentos mencionados Grupo A vs Grupo B e Antes vs Depois da ingestão, utilizou-se uma análise de variância ANOVA de medições repetidas de tipo misto (1 factor de medições repetidas-tempo e 1 factor independente-cacaus). Como trabalho prévio testou-se a Normalidade dos dados pelo teste de Shapiro Wilk, com o nível de significância $p > 0,05$.

3.5 Análises Químicas das Amostras Aquosas das Duas Bebidas de Cacau

3.5.1 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-etilbenzotiazolina-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-etilbenzotiazolina-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 efectuadas as soluções de ácido clorídrico 40 mM (HCl 37% adquirido à Sigma-Aldrich), tampão fosfato pH=7 (NaH_2PO_4 e Na_2HPO_4 adquiridos à Scharlau), tampão acetato 300mM pH=3,6 ($\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e CH_3COOH adquiridos à AnalaR Normapur).

3.5.2 Preparação do Extracto

Os cacaos foram sujeitos a uma extracção hidro-etanólica (80:20). A mistura foi posteriormente filtrada usando-se papel de filtro.

Obtiveram-se amostras homogéneas e sem precipitados que foram posteriormente sujeitas a análise.

3.5.3 Determinação dos Fenóis Totais

O conteúdo em fenóis totais foi determinado por adaptação do método de Prahba, (Prabha & Vasantha, 2011). As amostras foram analisadas em triplicado, pipetaram-se, para tubos rolhados, 312,5 µL de amostra em etanol: água 80:20(V/V) ao qual se adicionou 187,5 µL de água, 5mL solução reagente de *Folin-Ciocalteu* (1:10 diluído com água) e 4 mL solução aquosa Na₂CO₃ 1M. Realizou-se um branco onde se substituiu a amostra por uma solução em etanol: água (80:20(V/V) e 187,5 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 ($Y=0,0034X+0,018$; $R^2=0,9966$) e os resultados são expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/L.

3.5.4 Determinação do Teor em Proantocianidinas

O conteúdo em proantocianidinas foi determinado por adaptação do método de Gu (Gu, et al., 2004). O método utilizado baseia-se na hidrólise ácida dos polímeros de proantocianidinas produzindo-se pigmentos avermelhados como a cianidina e delfinidina, em solução a quente. Assim, quanto maior a absorvância maior será o teor em proantocianidinas. As análises foram efectuadas em triplicado, pipetaram-se, para tubos rolhados, 150µl de amostra à qual se adicionou 2850µl da solução de HCl/1-butanol (10% V/V). Realizou-se um branco onde se substituiu a amostra por 150µl de solução etanol/água (80: 20). Após agitação a mistura foi incubada 50 minutos a 100°C e leu-se a absorvância a 550nm.

3.5.5 Determinação da Capacidade Antioxidante

3.5.5.1 Método *FRAP* (*Ferric Reducing/Antioxidant Power*)

Este método foi adaptado de Thaipong (Thaipong, 2006), e baseia-se na capacidade dos compostos antioxidantes em reduzirem, em meio ácido, o Fe³⁺ a Fe²⁺ na

presença de (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) formando um intenso complexo azul Fe^{2+} (TPTZ).

Foi previamente preparada uma solução para o FRAP 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 aquecida a 37°C antes de usar.

As análises foram efectuadas pipetando-se para tubos rolhados 150µl da amostra aos quais se adicionou 2850µl da solução FRAP. Os tubos foram mantidos no escuro, durante 30 minutos. Realizou-se um branco onde se substituiu a amostra por 150 µl 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 padrão ($Y=2,17 \times 10^{-3}X+2,32 \times 10^{-2}$ $R^2=0,998$) e os resultados são expressos em µM TE.

3.5.5.2 Método pela Captação do Radical ABTS

Estudou-se a capacidade de reduzir o radical $ABTS^{\bullet}$ por compostos antioxidantes 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 sulfônico (ABTS) por via enzimática (acção de uma peroxidase TAS) e pela reacção 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 $ABTS^{\bullet}$, 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.

3.5.5.2.1 Teste TAS

Este teste foi executado num aparelho RANDOX modelo RX Daytona utilizando o *Kit* RANDOX - NX 2332. Nesta determinação, em cada replicado, 610µmol/L de ABTS (2,2 azino-di-3-etilbenzotiazolina sulfonato) foram adicionados a 6,1µmol/L de peroxidase-metamioglobina e a 250µmol/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.

3.5.5.2.2 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 efectuadas pipetando-se 150µl da amostra e 2850µl da solução de ABTS em etanol, para tubos rolhados. Realizou-se um controlo onde se substituiu a amostra por 150 µl de etanol. Leu-se a absorvância a 734 nm .Com o fim de comparar o poder antioxidante das duas amostras de cacau 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:

$$\%I = \frac{A_{controlo} - A_{amostra}}{A_{controlo}} \times 100$$

(Equação 1)

4. RESULTADOS

4.1 Análise Química

Na tabela 9 encontram-se os resultados da quantificação dos fenóis totais das amostras. Verificou-se que estes se encontram numa concentração 2,9 vezes superior no cacau em pó cru (1656,8mg/L), comparado com o cacau em pó alcalinizado (563,1 mg/L). Dado que o valor da absorvância é directamente proporcional à concentração podemos inferir que o cacau em pó alcalinizado tem cerca de 5,3 vezes menos proantocianidinas (0,177) que o cacau em pó cru (0,948).

Tabela 9 – Quantificação dos fenóis totais e teor em proantocianidinas

<i>Análise efectuada</i>	Fenóis totais (mg/L) Ácido Gálico	Proantocianidinas Abs
<i>Unidades</i>		
Cacau Cru	1656,8	0,948
Cacau Alcalinizado	563,1	0,177

Foram elaborados os testes FRAP, TAS e ABTS para determinar a capacidade antioxidante das duas soluções aquosas de cacau em pó (Tabela 10). Verificou-se que os cacaos exibem um elevado potencial antioxidante no entanto o CC é superior ao CA em qualquer dos testes.

Tabela 10 – Caracterização da capacidade antioxidante

<i>Análise Efectuada</i>	FRAP	TAS	ABTS
<i>Unidades</i>	µmol TROLOX/L	mmol TROLOX/L	IC50 (Nº de diluições)
CACAU CRU	1002,3	24,4	12,6
CACAU ALCALINIZADO	716,6	5,1	3,9

Verificou-se que os dois cacaos (CC e CA) diferem no número das diluições que são necessárias para que a percentagem de inibição do radical atinja os 50%. O CC necessita cerca de três vezes mais diluições que o CA para se atingir o IC50, ou seja, é necessária uma quantidade 3 vezes menor para que a percentagem de inibição do radical atingisse os 50%, (Figura 5).

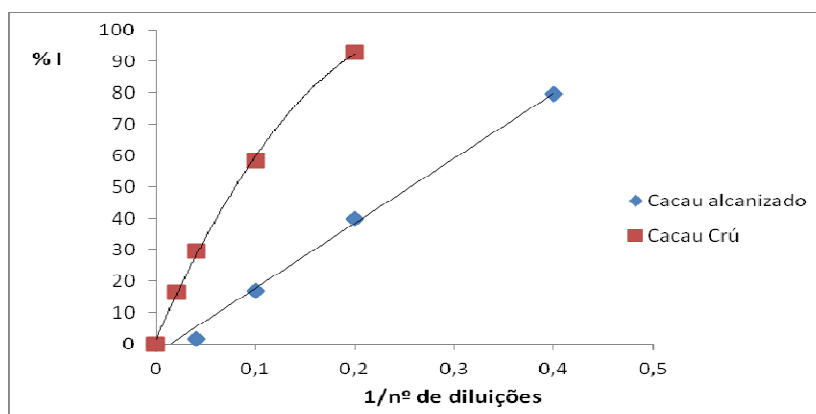


Figura 5 - % de Inibição do radical em função do inverso do número de diluições do CC e CA

No presente estudo, a dose que foi fornecida no tratamento de 15 dias continha 50ml de água e 4g de cacau em pó (CC ou CA). O CC continha 82,8 FT, e o CA continha 28,2 FT, verificando-se que o poder antioxidante do CC é superior ao do CA, pela determinação da sua capacidade de antioxidante.

4.2. Caracterização da Amostra

Finalizaram o estudo 28 indivíduos dos quais 26 (93%) eram do sexo feminino e 2 (7%) do sexo masculino, com idades compreendidas entre os 18 e 50 anos, sendo a média de idades igual a 23.4 ± 8.8 anos.

O Grupo A (CC) finalizou o estudo com 16 indivíduos (15 femininos e 1 masculino) e o grupo B (CA) com 12 indivíduos (11 femininos e 1 masculino).

4.2.1. Perfil Antropométrico

Os dados antropométricos idade, altura, peso, IMC, Per. Abd, MG, MM, MO e MV foram recolhidos no início do tratamento para uma observação descritiva da amostra sobre as possíveis diferenças entre o Grupo A e o Grupo B. Na Tabela 11 encontram-se as médias e respectivos desvios padrão destes parâmetros para posterior comparação dos respectivos grupos (Anexo IV).

Tabela 11 – Comparação dos dados antropométricos

	Grupo A Média ± Desvio Padrão	Grupo B Média ± Desvio Padrão
Idade	24,37 ± 9,62	22,00 ± 7,66
Altura (m)	1,60 ± 0,03	1,66 ± 0,07
Peso (Kg)	58,4 ± 4,44	65,03 ± 9,54
IMC /Kg/m²	23,14 ± 1,83	23,52 ± 2,5
P. Abdominal (cm)	83,37 ± 5,4	88,05 ± 8,63
Massa Gorda (%)	27,40 ± 5,72	28,80 ± 4,80
Massa Muscular (%)	41,30 ± 4,95	43,70 ± 5,70
Massa Óssea (%)	2,15 ± 0,13	2,33 ± 0,30
Gordura Visceral (%)	2,25 ± 1,29	2,60 ± 1,80
Água (%)	53,60 ± 3,90	52,80 ± 3,32

Para aferir a normalidade das variáveis em estudo utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) uma vez que a amostra é reduzida ($n < 30$) e este teste apresentar mais robustez (Tabela 12).

Tabela 12 - Teste de normalidade das variáveis em estudo, para os dois grupos

	Teste Shapiro-Wilk	
	Sig.	
	Grupo A	Grupo B
Idade	,000*	,000*
Peso	,300	,240
Altura	,490	,581
IMC	,034*	,221
Per. Abd	,766	,266
MG	,024*	,226
Água	,085	,246
MM	,001*	,075
MO	,031*	,033*
GV	,007*	,088

* Parâmetros que apresentam distribuições não normais ($p < 0,05$)

Para os parâmetros (Idade, IMC, MG, MM, MO, GV) cuja distribuição não é normal ($p < 0,05$) foi utilizado o teste não paramétrico Mann-Whitney e verificou-se que não existem diferenças significativas entre grupos. Para os restantes casos, utilizou-se o Teste de Levene ($p > 0,05$) (Tabela 13) para aferir a homogeneidade de variâncias.

Tabela 13 - Teste de Levene para as variáveis Peso, Altura, Per. Abd e Água.

	Sig. (2-tailed)
Peso	,043*
Altura	,005*
Per. Abd	,133
Água	,552

* Parâmetros que não apresentam homogeneidade de variâncias ($p < 0,05$)

Os parâmetros “Água” e “Per.Abd” cumprem ambos os pressupostos, pelo que foi aplicado um teste *t* entre médias. Para os restantes parâmetros foi utilizado um teste não paramétrico Mann-Whitney para aferir das diferenças entre grupos, em que se verificou não existirem diferenças significativas no peso, mas sim na altura (Sig. (2-tailed) 0,003) entre grupos.

4.3 Perfil Alimentar e Outras Informações

No que diz respeito ao Inquérito Alimentar aplicado aos participantes no estudo (Anexo III), o objectivo era conhecer os hábitos alimentares dos indivíduos, visando as classes de alimentos mais importantes para uma alimentação adequada e outros alimentos habitualmente incluídos na alimentação da sociedade ocidental que podem contribuir para alterações na PA (Figura 6 (a,b), Figura 7 (a,b e c)).

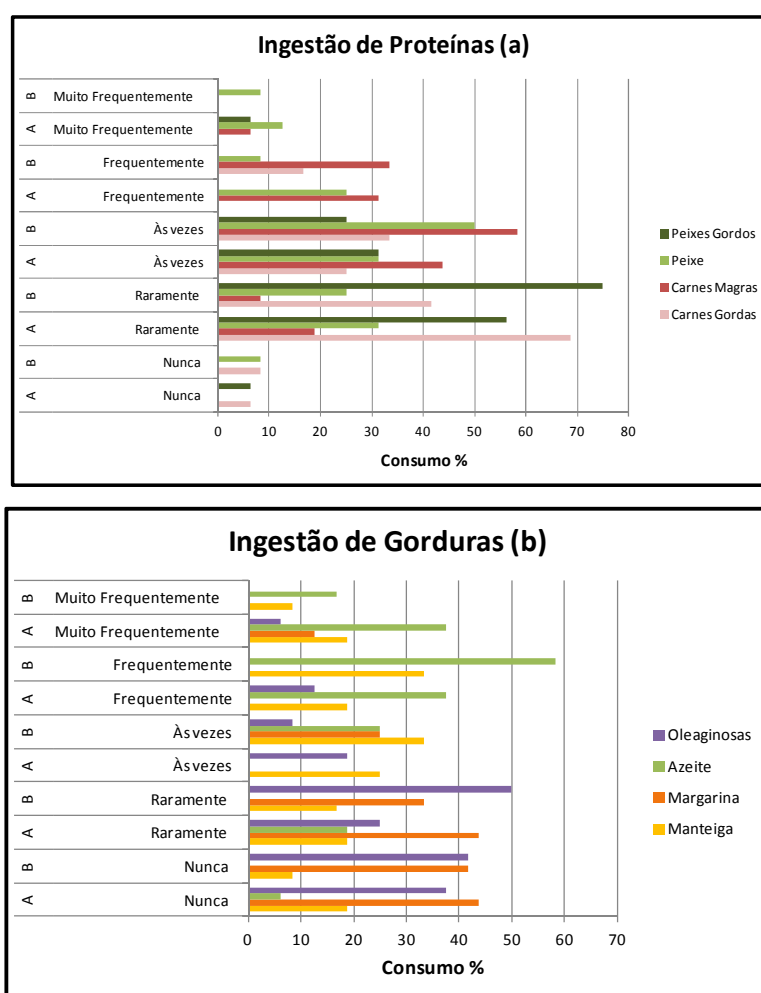


Figura 6 – Ingestão de proteínas e gorduras

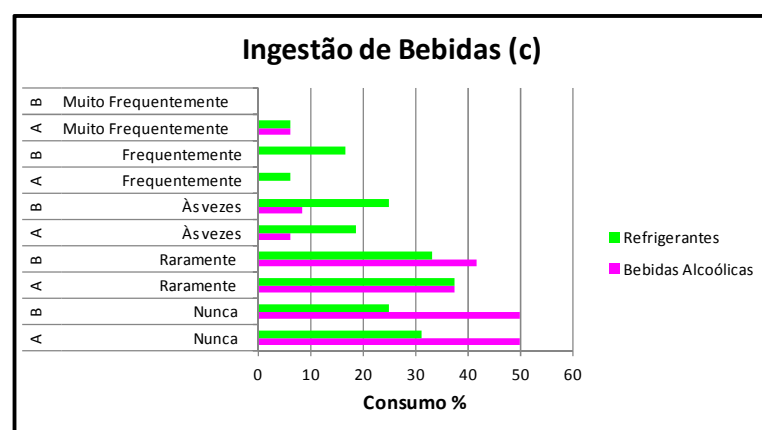
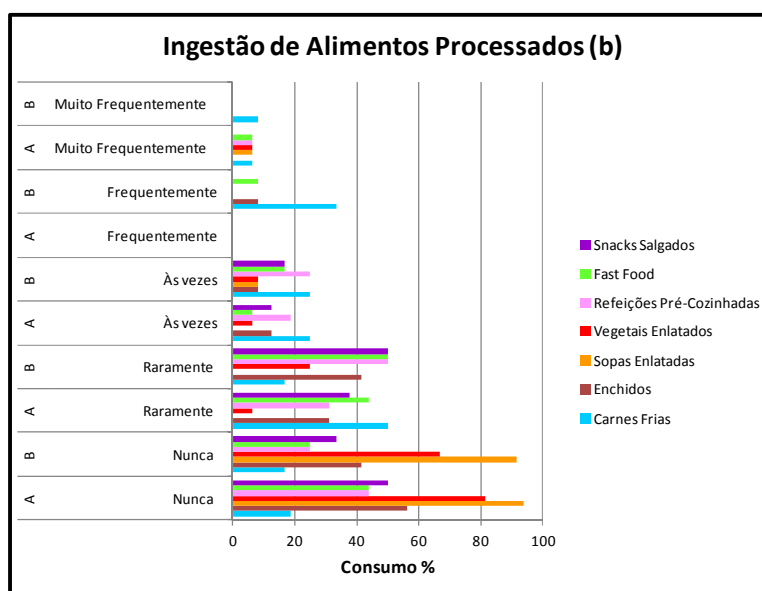
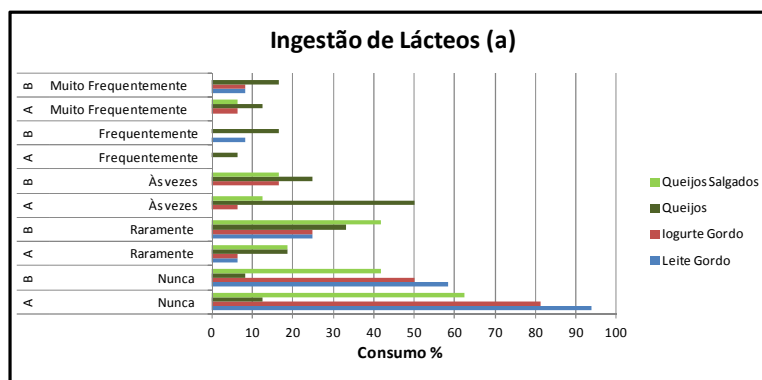


Figura 7 – Ingestão de lácteos, alimentos processados e bebidas

Verificou-se em ambos os grupos que raramente comem carnes gordas, preferindo com maior frequência as carnes magras. Também o peixe é raramente consumido, sendo o peixe magro o mais frequentemente utilizado. Quanto à ingestão de leite e iogurtes, a maioria dos inquiridos não opta pelas variantes gordas, preferindo as

alternativas magras. De uma forma geral, todos os inquiridos consomem queijo, mas raramente optam por queijos salgados. Fiambre, *bacon*, salsichas, enchidos, sopas ou vegetais enlatados quase não são ingeridos. As refeições pré-confeccionadas assim como o *fast food* têm uma frequência de consumo bastante fraca. Alguns *snacks* salgados são ingeridos mas sem representatividade. O azeite é dos alimentos com maior utilização e a manteiga é preferida em relação à margarina. As oleaginosas raramente são ingeridas assim como as bebidas alcoólicas. Refrigerantes têm algum consumo mas pouco frequente (Anexo V).

Globalmente, pode dizer-se que os alimentos que os participantes preferencialmente incluem nas suas refeições são as carnes magras e o peixe, queijos e carnes frias, azeite, manteiga e refrigerantes.

Foram ainda recolhidas outras informações adicionais sobre os participantes (Anexo III, P1 a P8) que de alguma forma poderiam condicionar a amostra. (Figura 8).

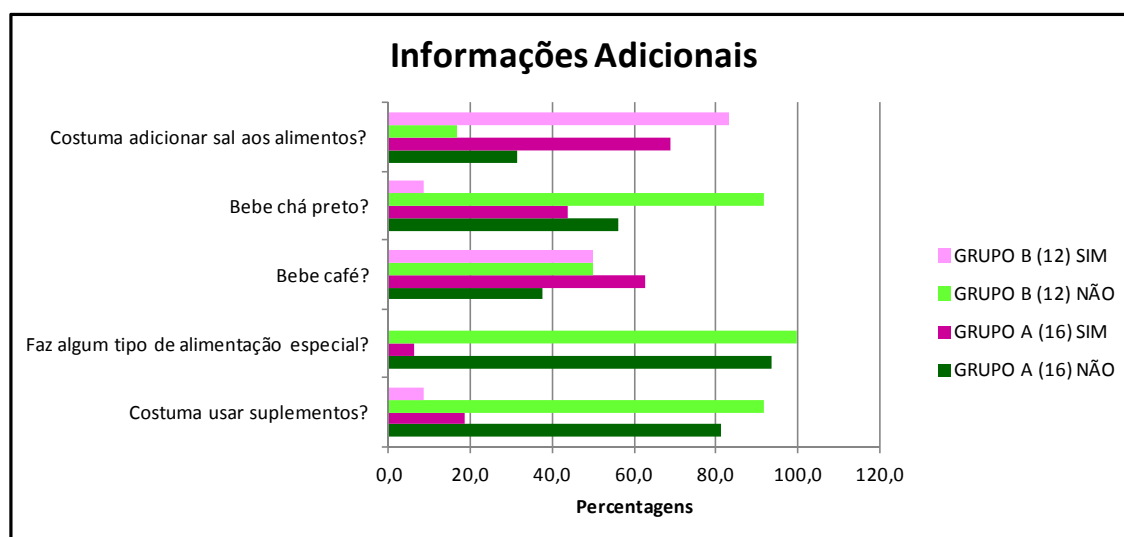
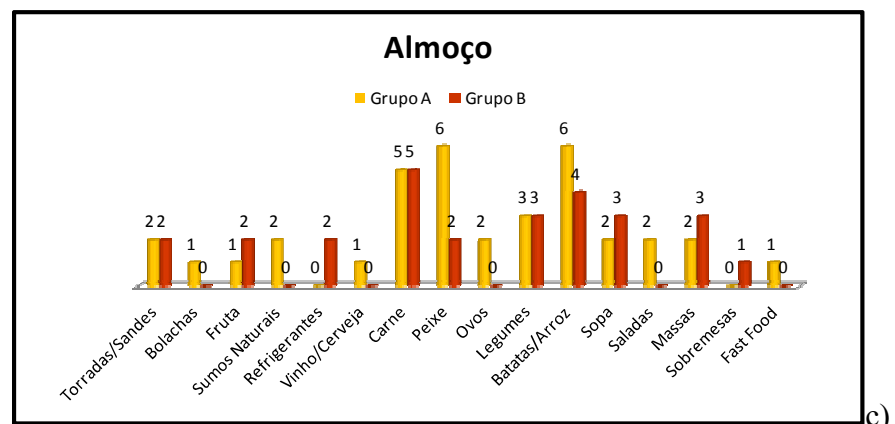
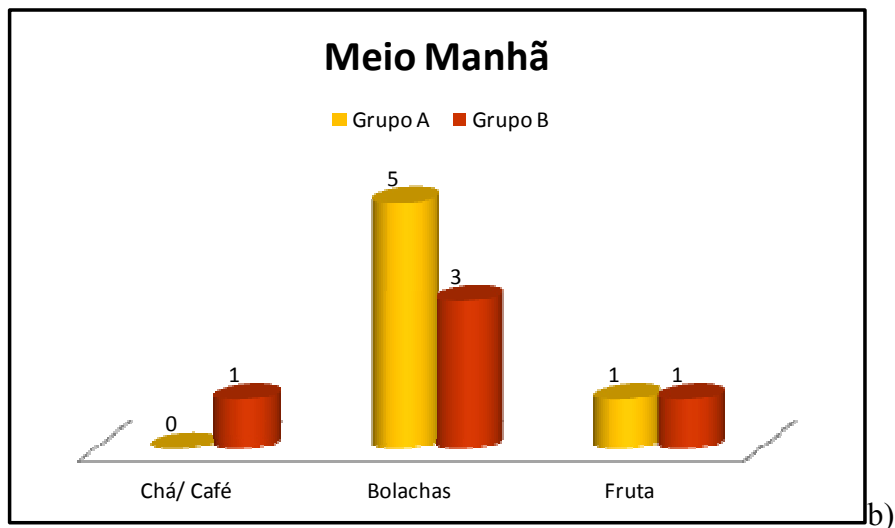
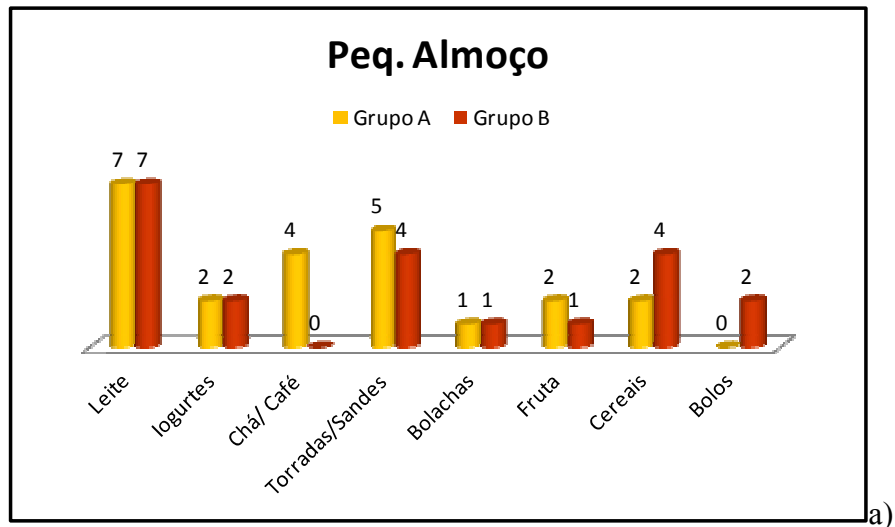


Figura 8 - Informações adicionais sobre os participantes

Verificou-se que nos participantes havia um número mínimo que tinham o hábito de ingerir suplementos e de praticar uma alimentação especial. No entanto, para melhor compreensão sobre as variáveis sal, chá e café recorreu-se a tratamento estatístico onde se verificou não haver diferenças significativas entre os dois grupos. Ainda se constatou que nos dois grupos, 75% do total adicionam sal às refeições, liderando o grupo B essa tendência.

No inquérito aplicado, pedia-se aos participantes que registassem os alimentos ingeridos ao longo de um dia (Anexo III P-9). Pretendia-se assim conhecer o tipo de

alimentos que os dois grupos ingeriam ao longo de seis refeições diárias. (Figura 9 - a) a f))



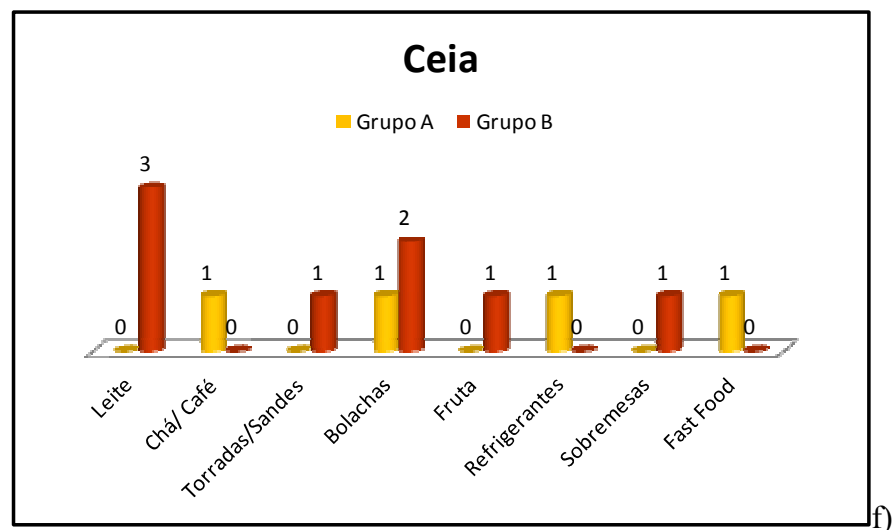
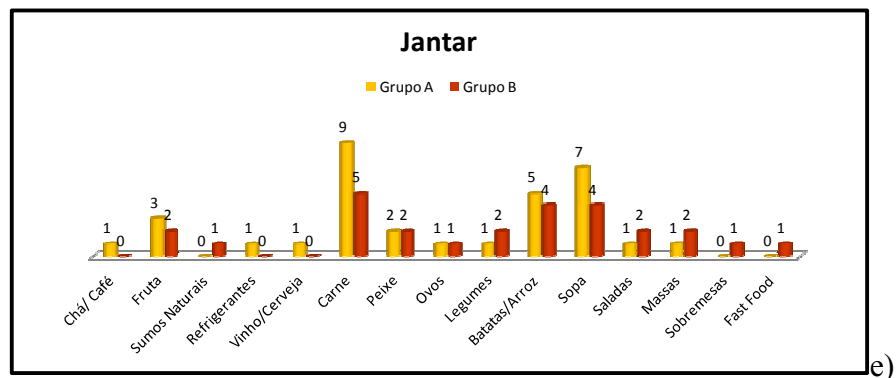
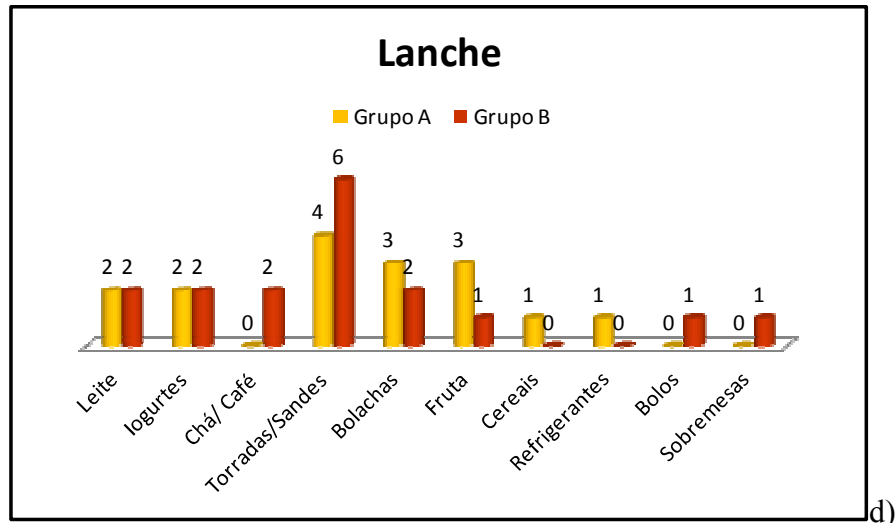


Figura 9 [a) a f)]- Diário alimentar dos participantes

Foi possível verificar que os grupos das proteínas, vegetais, gorduras, hidratos de carbono, frutas e legumes não eram frequentemente ingeridos. Dos 28 participantes a percentagem que pratica uma alimentação adequada, fazendo as 6 refeições diárias é diminuta como se pode inferir da observação das figuras relativas a cada refeição e Anexo VI.

4.4 Tratamento Estatístico dos dados (PAS, PAD, PP e FP)

Recolhidos e registados todos os dados das medições da PAS, PAD, PP e FP, foram determinadas as médias e os desvios padrão no início e final do estudo para cada grupo A e B. (Tabela 14)

Tabela 14- Registo das médias e desvio padrão dos valores dos parâmetros nas duas medições

		Grupo A (CC) Média ± DP	Grupo B (CA) Média ± DP
PAS mmHg	T0	106,16 ± 7,6	112,46 ± 12,4
	T1	↓ 104,07 ± 9,8	↓ 110,08 ± 15,5
PAD mmHg	T0	69,84 ± 7,0	67,50 ± 8,9
	T1	↓ 69,53 ± 6,9	↓ 69,08 ± 12,6
PP mmHg	T0	36,31 ± 7,2	44,95 ± 7,6
	T1	↓ 34,93 ± 6,3	↓ 41,00 ± 8,2
FP ppm	T0	88,44 ± 11,1	76,25 ± 10,7
	T1	↓ 73,34 ± 9,7	↓ 74,33 ± 11,7

Tabela 15 – Médias e desvio padrão da diferença dos valores dos parâmetros entre os dois períodos de avaliações

	Grupo A (CC) Média ± DP	Grupo B (CA) Média ± DP
PAS mmHg	-1,68 ± 7,5	-2,37 ± 9,34
PAD mmHg	-0,31 ± 5,4	+1,58 ± 6,4
PP mmHg	-1,37 ± 8,8	-3,95 ± 6,1
FP ppm	-7,09 ± 9,1	-1,9 ± 10,4

Como se pode verificar na Tabela 15 registaram-se diminuições na PAS, PP e FP nos dois grupos e na PAD no grupo A. A exceção verificou-se no Grupo B em que a PAD aumentou no período de 15 dias.

Para avaliar a interação das duas bebidas de cacau em pó nos parâmetros da pressão arterial no CC e CA no período descrito foi efectuado um teste ANOVA de medições repetidas tipo misto a 2-factores (1 factor – medições repetidas-tempo e 1 factor independente-cacau) para se aferir se existiam diferenças significativas entre as referidas medições e os dois tipos de bebida.

Para aferir a normalidade das variáveis em estudo utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) verificando-se que as distribuições das variáveis são normais com excepção da PAD do CA no início do tratamento (T0). No entanto, dado o carácter piloto do estudo e a prevalência da normalidade para todas as demais variáveis, optou-se por prosseguir os testes assumindo a normalidade global dos dados.

Tabela 16 – Resultados estatísticos entre cacaus e medições

	Tempo T0 – T1	Entre Grupos CC vs CA	Interação
PAS	0,212	0,151	0,830
PAD	0,576	0,666	0,406
PP	0,086	0,004	0,395
FP	0,022*	0,667	0,174

* diferenças significativas ($p < 0,05$).

Na tabela 16 encontram-se os níveis de significância obtidos na ANOVA de medições repetidas tipo misto a 2-factores. Verifica-se que somente a FP teve diferenças significativas entre medições no período de 15 dias. Não se verificaram nenhuma outras diferenças ente a ingestão 4g de cacau em pó cru ou alcalinizado e entre estes e o tempo decorrido no estudo.

5. DISCUSSÃO

As duas bebidas analisadas revelaram diferenças na constituição fenólica e capacidade antioxidante e verificou-se que os fenóis totais se encontravam numa concentração 2,9 vezes superior no CC (1656,8mg/L) comparativamente com o CA (563,1mg/L) e que o CC tem 5,3 vezes mais proantocianidinas (0,948 para 0,177) que o CA. Foram aplicados os testes FRAP, TAS e ABTS para determinar a capacidade antioxidante tendo-se verificado que esta é superior no CC. Esta relação existente entre o CC e o CA está de acordo com os estudos de Hii (2009) e de Andres-Lacueva (2008).

A diferença de fenóis totais e proantocianidinas do CC relativamente ao CA poderá ser devida ao tratamento de alcalinização a que o segundo foi submetido (Andres-Lacueva, et al., 2008; E. S. Brito, et al., 2000; Miller, et al., 2008). Este processo de transformação tem como objectivo a alteração da cor e das características organolépticas do produto para melhor aceitação do consumidor, mas apresenta menores qualidades nutricionais (Hii, et al., 2009; RadoJčIć RedoVNikoVIć, et al., 2009) (Figura 10). A análise química das doses diárias ingeridas pelos participantes mostrou um conteúdo de FT de 82,8mg no CC e de 28,2mg no CA.

A ingestão do cacau encontra-se referenciada em diversos estudos como estando associada a efeitos benéficos, nomeadamente na diminuição dos valores da PA, sendo os constituintes fenólicos bioactivos do cacau apontados como os principais responsáveis por esses benefícios. Os estudos analisados sugerem que os efeitos benéficos se devem a um aumento da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) sendo este um vasodilatador, o que explica uma melhoria na função endotelial e por sua vez, uma melhor regulação da PA (Corti, et al., 2009; Desch, et al., 2010; Grassi, Necozione, & Lippi, 2005; Vasdev, et al., 2011). A falta de produção de NO provocará disfunção endotelial associada a distúrbios na função metabólica promovendo a HTA (Muniyappa, et al., 2008). Outro mecanismo proposto é a inibição da actividade da síntese da enzima conversora da angiotensina, cuja acção é devida aos antioxidantes, mais especificamente aos flavanóis (Actis-Goretta, et al., 2006; Desch, et al., 2010; Othman, et al., 2010), contribuindo para o efeito anti-hipertensivo.

Nos polifenóis, a classe de flavanóis tem mostrado em vários estudos o efeito de protecção no sistema cardiovascular, pela capacidade de diminuir produtos de oxidação e activar a síntese de NO endotelial (eNOS)(Medina-Remón & al., 2009; Sudarma, S.,

& Siregar, 2011). No grupo dos flavanóis, são sobretudo as proantocianidinas os fenóis com maior poder antioxidante, ou seja, os que produzirão maior efeito benéfico (Ortega, et al., 2008).

Os participantes foram distribuídos aleatoriamente por dois grupos. Os seus dados antropométricos não apresentavam diferenças significativas, constatando-se unicamente que a altura era superior no grupo que ingeriu CA. Não é esperado que este dado antropométrico influencie os parâmetros da PA. Considerou-se os dois grupos com características semelhantes.

Relativamente aos hábitos alimentares também não se encontraram diferenças significativas nos dois grupos. Em geral são escolhidos alimentos adequados a uma alimentação equilibrada contudo, verifica-se que a maioria dos participantes ingere poucos alimentos que contenham antioxidantes, tais como frutas e legumes, e apresentam um elevado uso adicional de sal às refeições.

Os dois tipos de bebida de cacau em pó conduziram a uma diminuição dos valores da PAS, PAD, PP e FP com cacau em pó cru, uma diminuição das PAS, PP e FP e um aumento da PAD com cacau alcalinizado. As alterações que se observaram foram meramente descritivas, no entanto com significado estatístico verificou-se no parâmetro FP relativamente ao factor tempo independentemente do tipo de cacau, apesar das composições das duas bebidas revelarem composições diferentes. Estes resultados estão de acordo com a meta-análise de Ried (2010) e os estudos de Faridi (2008) e Egan (2010) nos quais os participantes eram também normotensos, a amostra e duração do estudo eram semelhantes e onde se verificou que a PA não sofreu reduções significativas, comparativamente com a meta-análise de Desch (2010), Taubert (2007) e dos estudos de Grassi (2005), Corti (2009) e Ding (2006) onde se verificaram diminuições significativas na PAS e PAD.

Com as duas bebidas de cacau verificou-se uma diminuição da FP relativamente ao factor tempo. No trabalho de Crews, (Crews, Harrison, & Wright, 2008) também este foi o único parâmetro com alteração significativa. Houve um aumento significativo na FP no grupo que ingeriu o cacau com maior conteúdo de Fenóis Totais, facto que o autor atribuiu a um maior conteúdo de teobromina e cafeína no cacau cru. Contrariamente no presente estudo houve uma diminuição na FP apesar de ter havido ingestão nos dois grupos de café e chá onde se pode encontrar a cafeína.

Os resultados obtidos neste estudo estão sujeitos a vários factores que podem ter contribuído para as limitações do estudo, nomeadamente:

- A amostra, que inicialmente tinha 58 indivíduos, terminou com 28 não atingindo o valor estatisticamente recomendado pelo software G*Power (54 indivíduos), era essencialmente constituída por adultos jovens e com valores basais de PA normais (109/69mmHg), situação em que o organismo tem capacidade para se adaptar facilmente às variações da PA, no entanto, nos estudos analisados, as amostras são semelhantes ou mesmo menores;

- A duração do estudo foi de 15 dias, em consonância com alguns dos estudos publicados, (Corti, et al., 2009; Desch, et al., 2010; Ding, Hutfless, Ding, & Girotra, 2006; Egan, et al., 2010; Grassi, et al., 2005; Ried, et al., 2010; Sudarma, et al., 2011; Taubert, Roesen, & Schomig, 2007), no entanto, pode ter sido curta;

- A dose diária de polifenóis (antioxidantes) na dieta alimentar deverá ser aproximadamente de 500 a 1000mg (Scalbert & Williamson, 2000). Ao comparar a dose diária fornecida com a recomendada, pode-se verificar que aquela era muito baixa, mas semelhante às utilizadas em vários estudos supra mencionados. A dose diária de 4g de CC ou CA em pó pode ter sido insuficiente para produzir efeitos nos parâmetros da PA, à excepção da FP em que houve diminuição no intervalo de 15 dias independentemente do tipo de cacau. Embora não se tenham obtido resultados com diferenças significativas na diminuição dos valores da PA, verificaram-se diferenças significativas na FP relativamente ao factor tempo, o que sugere um efeito potencialmente benéfico que uma amostra maior e um maior tempo de exposição poderiam revelar.



Figura 10: Comparação da Cor dos 2 cacaos: cacau cru (claro), cacau alcalinizado (escuro)

6. CONCLUSÃO

Os resultados indicam que os dois tipos de cacau em pó são excelentes fontes de compostos fenólicos, com elevado poder antioxidante, sendo o do cacau em pó cru muito superior ao do cacau em pó alcalinizado.

Relativamente aos valores da PA, apesar da ingestão das 2 bebidas de cacau não ter contribuído de forma significativa para a diminuição da pressão arterial em adultos jovens, os valores da FP diminuíram significativamente entre medições. Os valores obtidos mostram uma tendência de diminuição dos parâmetros avaliados.

Para a obtenção de resultados mais significativos muito provavelmente deveriam ter sido aplicadas doses com mais quantidade de cacau em pó e durante um período de tempo mais longo numa amostra maior.

7. BIBLIOGRAFIA

- Actis-Goretta, L., Ottaviani, J. I., & Fraga, C. G. (2006). Inhibition of angiotensin converting enzyme activity by flavanol-rich foods. *J Agric Food Chem*, *54*(1), 229-234. doi: 10.1021/jf052263o
- Almoosawi, S., Fyfe, L., Ho, C., & Al-Dujaili, E. (2010). The effect of polyphenol-rich dark chocolate on fasting capillary whole blood glucose, total cholesterol, blood pressure and glucocorticoids in healthy overweight and obese subjects. *Br J Nutr*, *103*(6), 842-850. doi: 10.1017/S0007114509992431 S0007114509992431 [pii]
- Andres-Lacueva, C., Monagas, M., Khan, N., Izquierdo-Pulido, M., Urpi-Sarda, M., Permanyer, J., & Lamuela-Raventos, R. M. (2008). Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: influence of the manufacturing process. *J Agric Food Chem*, *56*(9), 3111-3117. doi: 10.1021/jf0728754
- Appel, L. J., Brands, M. W., Daniels, S. R., Karanja, N., Elmer, P. J., & Sacks, F. M. (2006). Dietary approaches to prevent and treat hypertension: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension*, *47*(2), 296-308. doi: 10.1161/01.HYP.0000202568.01167.B6
- Beg, M., Sharma, V., & Akhtar, N. (2011). Role of Antioxidants in Hypertension. *JACM*, *12*(2), 122-127.
- Belščak, A., Komes, D., Horžić, D., Ganić, K. K., & Karlović, D. (2009). Comparative study of commercially available cocoa products in terms of their bioactive composition. *Food Research International*, *42*(5-6), 707-716. doi: 10.1016/j.foodres.2009.02.018
- Brito, E. S., García, N. H. P., Gallão, M. I., Cortelazzo, A. L., Fevereiro, P. S., & Braga, M. R. (2000). Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L) during fermentation, drying and roasting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *81*(2), 281-288. doi: 10.1002/1097-0010(20010115)81:2<281::aid-jsfa808>3.0.co;2-b
- Buijsse, B., Weikert, C., Drogan, D., Bergmann, M., & Boeing, H. (2010). Chocolate consumption in relation to blood pressure and risk of cardiovascular disease in German adults. *Eur Heart J*, *13*, 1616-1623.

- Buitrago-Lopez, A., Sanderson, J., & Johnson, L. e. a. (2011). Chocolate consumption and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 343(d4488), 1-8. doi: 10.1136/bmj.d4488
- Corti, R., Flammer, A. J., Hollenberg, N. K., & Lüscher, T. F. (2009). Cocoa and Cardiovascular Health. *Circulation - American Heart Association*, 119, 1433-1441. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.827022
- Crews, W. D., Harrison, D. W., & Wright, J. W. (2008). A double-blind, placebo-controlled, randomized trial of the effects of dark chocolate and cocoa on variables associated with neuropsychological functioning and cardiovascular health: clinical findings from a sample of healthy, cognitively intact older adults. *Am J Clin Nutr*, 87, 872– 880.
- De Greeff, A. e. a. (2008). Accuracy assessment of the Tensoval duo control according to the British and European Hypertension Societies' standards. *Blood Pressure Monitoring*, 13, 111-116.
- Desch, S., Schmidt, J., & al., K. D. e. (2010). Effect of Cocoa Products on Blood Pressure: Systematic Review an Meta-Analysis. *Am J Hypertens.*(2010 Jan;23(1)), 97-103. doi: 10/1038/ajh2009.213
- DiBona, G. F. (2005). Physiology in perspective: The Wisdom of the Body. Neural control of the kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 289(3), R633-641. doi: 289/3/R633 [pii] 10.1152/ajpregu.00258.2005
- Ding, E. L., Hutfless, S. M., Ding, X., & Girotra, S. (2006). Chocolate and Prevention of Cardiovascular Disease: A Systematic Review. *Nutrition & Metabolism*, 3:2. doi: 10.1186/1743-7075-3-2
- Dreosti, I. E. (2000). Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 16(7), 692-694.
- Egan, B. M., Laken, M. A., Donovan, J. L., & Woolson, R. F. (2010). Does Dark Chocolate Have a Role in the Prevention and Management of Hypertension? *Hypertension*, 55(6), 1289-1295. doi: 10.1161/hypertensionaha.110.151522
- Fisher, N. D., Hughes, M., Gerhard-Herman, M., & Hollenberg, N. K. (2003). Flavanol-rich cocoa induces nitric-oxide-dependent vasodilation in healthy humans. *J Hypertens*, 21(12), 2281-2286. doi: 10.1097/01.hjh.0000084783.15238.eb
- Flammer, A. J., Sudano, I., Wolfrum, M., Thomas, R., Enseleit, F., Periat, D., . . . Corti, R. (2012). Cardiovascular effects of flavanol-rich chocolate in patients with

- heart failure. *Eur Heart J*, 33(17), 2172-2180. doi: 10.1093/eurheartj/ehr448
ehr448 [pii]
- Forsyth, W. G. C. (1952). Cacao polyphenolic substances. II. Changes during fermentation. *Biochem J*, 51(4), 516-520.
- Grassi, D., Necozione, S., & Lippi, C. (2005). Cocoa Reduces Blood Pressure and Insulin Resistance and Improves Endothelium-Dependent Vasodilation in Hypertensives. *Hypertension*, 46, 398-405. doi: 10.1161/01.HYP.0000174990.46027.70
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., . . . Prior, R. L. (2004). Concentrations of Proanthocyanidins in Common Foods and Estimations of Normal Consumption. *The Journal of Nutrition*, 134(3), 613-617.
- Guyenet, P. G. (2006). The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci*, 7(5), 335-346. doi: nrn1902 [pii] 10.1038/nrn1902
- Hii, C. L., Law, C. L., Suzannah, S., Misnawi, & Cloke, M. (2009). Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao L.*). *As. J. Food Ag-Ind.*, 2((04)), 702-722.
- Karim, M., McCormick, K., & Kappagoda, C. T. (2000). Effects of cocoa extracts on endothelium-dependent relaxation. *J Nutr*, 130(8S Suppl), 2105S-2108S.
- Latif, R. (2013). Chocolate/cocoa and human health: a review. *Neth J Med*, 71(2), 63-68.
- Luscher, T. F., & Barton, M. (1997). Biology of the endothelium. *Clin Cardiol*, 20(11 Suppl 2), II-3-10.
- Macedo, M. E., Lima, M. J., Silva, A. O., Alcântara, P., Ramalhinho, V., & Carmona, J. (2007). Prevalência, Conhecimento, Tratamento e Controlo da Hipertensão em Portugal. Estudo PAP. *Rev Port Cardiol*, 26((1)), 21-39.
- Medina-Remón, A., & al., e. (2009). Total polyphenol excretion and blood pressure in subjects at high cardiovascular risk. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, xx, 1-9. doi: 10.1016/j.numecd.2009.10.019
- Miller, K. B., Hurst, W. J., Payne, M. J., Stuart, D. A., Apgar, J., Sweigart, D., & Ou, B. (2008). Impact of Alkalization on the Antioxidant and Flavanol Content of Commercial Cocoa Powders. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 8527-8533.
- Monagas, M., Khan, N., Andres-Lacueva, C., Casas, R., Urpi-Sarda, M., Llorach, R., . . . Estruch, R. (2009). Effect of cocoa powder on the modulation of inflammatory

- biomarkers in patients at high risk of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, 90(5), 1144-1150. doi: 10.3945/ajcn.2009.27716 ajcn.2009.27716 [pii]
- Muniyappa, R., Hall, G., Kolodziej, T. L., Karne, R. J., Crandon, S. K., & Quon, M. J. (2008). Cocoa consumption for 2 wk enhances insulin-mediated vasodilatation without improving blood pressure or insulin resistance in essential hypertension. *Am J Clin Nutr*, 88(6), 1685-1696. doi: 10.3945/ajcn.2008.26457 88/6/1685 [pii]
- Munzel, T., Sinning, C., Post, F., Warnholtz, A., & Schulz, E. (2008). Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction. *Ann Med*, 40(3), 180-196. doi: 10.1080/07853890701854702 790575153 [pii]
- Nazaruddin, R., Seng, L. K., Hassan, O., & Said, M. (2006). Effect of pulp preconditioning on the content of polyphenols in cocoa beans (*Theobroma Cacao*) during fermentation. *Industrial Crops and Products*, 24, 87-94.
- Ortega, N., Romero, M. P., Macia, A., Reguant, J., Angles, N., Morello, J. R., & Motilva, M. J. (2008). Obtention and characterization of phenolic extracts from different cocoa sources. *J Agric Food Chem*, 56(20), 9621-9627. doi: 10.1021/jf8014415
- Othman, A., Jalil, A., Weng, K., Ismail, A., Ghani, N., & Adenan, I. (2010). Epicatechin content and antioxidant capacity of cocoa beans from four different countries. *African Journal of Biotechnology*, 9((7)), 1052-1059.
- Paravicini, T. M., & Touyz, R. M. (2008). NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities. *Diabetes Care*, 31 Suppl 2, S170-180. doi: 10.2337/dc08-s247 31/Supplement_2/S170 [pii]
- Prabha, M. R., & Vasantha, K. (2011). Antioxidant, Cytotoxicity and Polyphenolic Content of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. Flowers. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01((07)), 136-140.
- RadoJčić RedoVNIkoVIć, I., Delonga, K., & Mazor S, e. a. (2009). Polyphenolic Content and Composition and Antioxidative Activity of Different Cocoa Liquors. *Czech J. Food Sci*, 27, 330-337.
- Ried, K., Sullivan, T., Fakler, P., Frank, O. R., & Stocks, N. P. (2010). Does chocolate reduce blood pressure? A meta-analysis. *BMC Med*, 8, 39. doi: 1741-7015-8-39 [pii] 10.1186/1741-7015-8-39
- Rohan, T. A., & M., C. (1964). The Precursors of Chocolate Aroma: A Study of the Flavonoids and Phenolic Acids *Journal of Food Science*, 29(4), 460-463.

- Rusconi, M., & Conti, A. (2010). *Theobroma cacao L.*, the Food of the Gods: a scientific approach beyond myths and claims. *Pharm Res*, *61*(1), 5-13.
- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr*, *130*(8S Suppl), 2073S-2085S.
- Sesso, H. D., Stampfer, M. J., Rosner, B., Hennekens, C. H., Gaziano, J. M., Manson, J. E., & Glynn, R. J. (2000). Systolic and diastolic blood pressure, pulse pressure, and mean arterial pressure as predictors of cardiovascular disease risk in Men. *Hypertension*, *36*(5), 801-807.
- Sudarma, V., S., S., & Siregar, P. (2011). Effect of dark chocolate on nitric oxide serum levels and blood pressure in prehypertension subjects. *Acta Med Indones.*(Oct;43(4)), 224-228.
- Taubert, D., Roesen, R., & Schomig, E. (2007). Effect of cocoa and tea intake on blood pressure: a meta-analysis. *Arch Intern Med*, *167*(7), 626-634. doi: 167/7/626 [pii] 10.1001/archinte.167.7.626
- Thaipong, K. (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.
- Vasdev, S., Stuckless, J., & Richardson, V. (2011). Role of the Immune System in Hypertension: Modulation by Dietary Antioxidants. *Int J Angiol*, *20*(4), 189-212. doi: 10.1055/s-0031-1288941
- Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, *33*, 423-447.
- World Health Organization, I. S. o. H. W. G. (2003). 2003 World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. *J Hypertens.*, *21*((11)), 1983-1992.
- Zulueta, A., Esteve, M. J., & Frigola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products *Food Chemistry*, *114*, 310-316.

ANEXO I

a) Breve História do Cacau

A aventura do cacau, árvore que produz o cacau, originário da América Central e do Sul, tem o seu início com a civilização Olmeca (1500 anos a.c.). De acordo com os registos históricos, esta civilização pré-colombiana terá sido a primeira a fazer uso dos frutos do cacau.

Seguiram-se-lhes mais tarde os Maias, que foram os primeiros a criar uma bebida fria e amarga feita com as sementes de cacau. Posteriormente o rei Quetzalcóatl da civilização Tolteca utilizava a bebida que consideravam afrodisíaca nos seus festins. Mais tarde os Aztecas praticaram o seu cultivo sistemático e desenvolveram o seu uso. Por considerarem estas sementes sagradas, para além de as usarem como moeda de troca, torravam-nas e esmagavam-nas para elaborar uma bebida quente e picante considerada fortificante, o "tchocolatl".

Mais tarde, conhecedor deste percurso histórico, Carl von Linné (1707-1778), botânico sueco, classificou o cacau como "*Theobroma cacao* L.". *Theobroma* significa o "Alimento dos Deuses".

Com a descoberta do Novo Mundo, foi Hernán Cortés, um conquistador espanhol que se apercebeu da importância do cacau, e para além de levar para Espanha todo o ouro e prata possível, levou também as sementes de cacau, tornando-se responsável pela introdução das sementes de cacau na Europa.

Fonte: Estêvão, O. *Um Ano de Chocolate*. 1ª Ed. Casa das Letras, Alfragide.2011.

b) Características e Variedades de Cacau

Ainda no século XVII, os espanhóis introduziram a produção do cacau mexicano na Venezuela e baptizaram-no de *Criollo*, que quer dizer "indígena", para distinguir de outro que julgavam de qualidade inferior, o "*Forastero*", ou seja o "estrangeiro". Para fazer face a pragas e catástrofes naturais, no século XVIII seleccionou-se a cultivar *Trinitário*, um híbrido natural da "*Criollo*" com a "*Forastero*", mais resistente às pragas.

A posterior disseminação do cacau pelo planeta é fortemente condicionada por factores climáticos. O cacau é uma árvore frágil, muito sensível a pragas, que se desenvolve melhor à sombra de árvores de maior porte. Na idade adulta, em cultura, atinge uma altura de 4 a 6 metros.

As plantações de cacau localizam-se apenas nas regiões tropicais, entre os 15º de latitude sul e os 18º de latitude norte, onde as temperaturas variam entre os 18ºC e os 32ºC e o clima se caracteriza pela humidade relativa média superior a 65% e, elevada pluviosidade. O cacau prefere altitudes entre os 400 e 700m, solos profundos, férteis e bem drenados. A proximidade do litoral proporciona os locais ideais para a cultura do cacau.

Outros factores ecológicos com uma influência fundamental no desenvolvimento do cacau são o solo e as suas características físicas e minerais, assim como as doenças e pragas a que está sujeito.

Fonte: Estêvão, O. *Um Ano de Chocolate*. 1ª Ed. Casa das Letras, Alfragide.2011.

c) Dutching

O processo de *Dutching* foi desenvolvido no início do século XIX pelo químico e chocolateiro Coenraad Johannes Van Houten. O seu pai, Casparus em 1828 havia desenvolvido o método que removia a gordura da pasta de cacau por prensagem hidráulica, o que deu origem ao bolo de cacau. Van Houten desenvolveu então este método que consistia na adição de carbonato de sódio ao cacau em pó com o objectivo de diminuir a acidez, aumentar a solubilidade, escurecer a cor e suavizar o sabor do cacau.

Fonte: Coe, SD; Coe, MD. *The True History of Chocolate*. Thames and Hudson Ltd. London. 1996.

d) Processamento do Cacau ao Chocolate

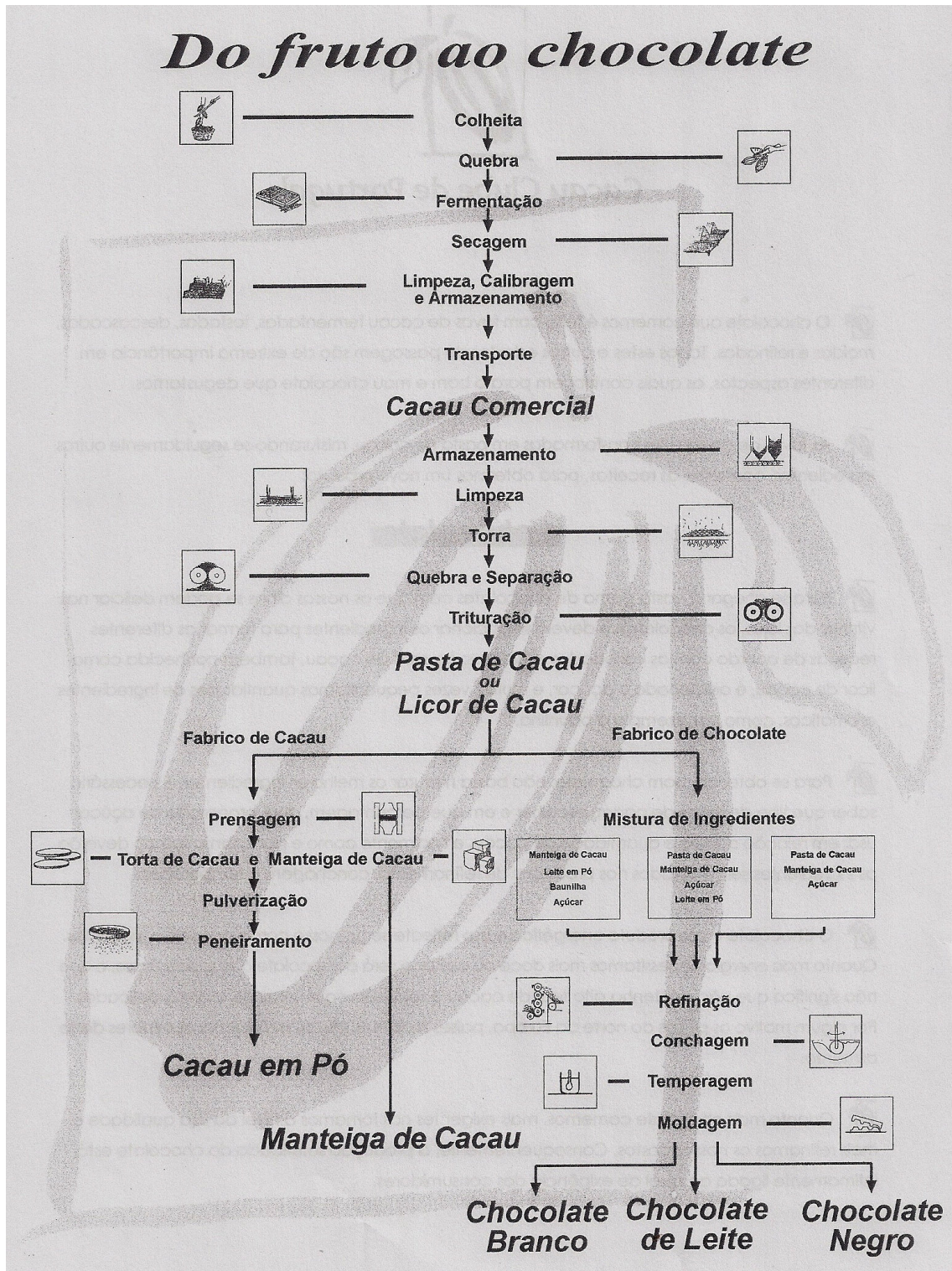


Figura: Autoria de Odete Estêvão

ANEXO II

CONSENTIMENTO INFORMADO

Monte da Caparica ____ de Novembro 2012

Exmo.(a) Senhor(a),

No âmbito do Mestrado em Nutrição Clínica na Unidade Curricular de Dissertação do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, sob a orientação da Doutora Alexandra Bernardo e do Professor Doutor Roberto Palma Reis, solicita-se autorização para a participação no estudo clínico sobre “O Efeito da Ingestão de duas Bebidas de Cacau na Pressão Arterial em Adultos Normotensos” a aplicar a estudantes do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz maiores de 18 anos, com o objectivo de determinar se existe diferença entre os valores da pressão arterial de adultos normotensos após a ingestão de uma bebida de cacau cru e outra bebida de cacau alcalinizado.

A participação neste estudo é voluntária. A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo.

Este estudo pode trazer benefícios tais como efeitos antioxidantes no organismo, os quais promovem a diminuição da oxidação do LDL, a activação plaquetária e o stress oxidativo, e aumento da capacidade antioxidante do óxido nítrico, da função endotelial, da concentração do HDL e da sensibilidade à insulina.

Este estudo pode trazer potenciais riscos a indivíduos com intolerância a alcalóides (cafeína), alérgicos a xantinas, com insuficiência renal e com doenças agudas descompensadas.

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e publicação e será tratada pelos orientadores acima identificados. A sua recolha é anónima e confidencial.

(Riscar o que não interessa)

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

(Assinatura do participante)

(Assinatura do(s) orientadores)

ANEXO III

INQUÉRITO

Dados:

Nome: _____ Código _____

Sexo: Feminino Masculino

Idade: _____

1. Tem Diabetes? Não Sim

2. Está grávida? Não Sim

3. Toma algum medicamento? Não Sim

Se sim, qual? Quais?

4. Costuma usar suplementos Não Sim

Se sim, quais?

5. Faz algum tipo de alimentação especial? Não Sim

Se sim, qual?

6. Bebe café? Não Sim Quantos por dia? _____

7. Bebe chá preto? Não Sim Quantos por dia? _____

8. Costuma adicionar sal aos alimentos? Não Sim

9. Durante o dia de ontem, nas refeições que fez, indique o que ingeriu.

Refeição	Alimentos Ingeridos
Peq. Almoço	
Meio da Manhã	
Almoço	
Lanche	
Jantar	
Ceia	

10. Relativamente aos seguintes alimentos, semanalmente, com que frequência os consome?

Alimento	Nunca (0 Vezes)	Raramente (1 a 2 vezes)	Às vezes (3 a 4vezes)	Frequentemente (5 a 6 vezes)	Muito Frequentemente (≥7)
Carnes Gordas (Porco, borrego)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Carnes Magras (Peru, frango, vitela)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Peixe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Peixes Gordos (Atum, salmão, sardinha)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Leite Gordo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Iogurte Gordo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Queijos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Queijos Salgados	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fiambre, Bacon, Salsichas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Enchidos (Chouriço, farinheira, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sopas Enlatadas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vegetais Enlatados	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Refeições Pré-cozinhadas ou congeladas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fast Food (Hambúrgueres, pizzas, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Snacks Salgados (Batatas fritas, aperitivos, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Manteiga	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Margarina/Creme de Barrar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Azeite	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Oleaginosas (Nozes, amêndoas, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bebidas Alcoólicas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Refrigerantes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Obrigado pela sua Colaboração!

ANEXO IV

Mínimos, máximos, médias e desvio padrão dos dois grupos de participantes

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Idade	16	18	50	24,37	9,625
Peso	16	52	65	58,44	4,438
Altura	16	1,53	1,64	1,5894	,03376
IMC	16	2,07093991671 6E1	2,55983350676 4E1	2,31493933204 209E1	1,833662495642 337E0
Per. Abd	15	75	93	83,37	5,400
MG	16	11,0	33,7	27,400	5,7234
ÁGUA	16	48,5	64,5	53,600	3,9399
MM	16	36,7	57,0	41,281	4,9552
MO	16	2,0	2,5	2,156	,1315
GV	16	1	5	2,25	1,291
Valid N (listwise)	15				

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Idade	12	18	46	22,00	7,663
Peso	12	53	81	65,03	9,549
Altura	12	1,57	1,80	1,6600	,06849
IMC	12	2,08264462809 9E1	2,80445054107 6E1	2,35219397748 339E1	2,496465829095 406E0
Per. Abd	11	75	99	88,05	8,627
MG	12	22,1	35,9	28,800	4,8112
ÁGUA	12	48,0	57,5	52,750	3,3247
MM	12	37,0	58,1	43,692	5,6792
MO	12	2,0	3,1	2,333	,2934
GV	12	1	6	2,58	1,782
Valid N (listwise)	11				

ANEXO V

Grelha de Respostas P 10

Frequência Alimentos	Nunca		Raramente (1 a 2 vezes)		Às Vezes (3 a 4 vezes)		Frequentemente (5 a 6 vezes)		Muito Frequentemente (≥ 7 vezes)	
	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B
Carnes Gordas	1	1	11	5	4	4	0	2	0	0
Carnes Magras	0	0	3	1	7	7	5	4	1	0
Peixe	0	1	5	3	5	6	4	1	2	1
Peixes Gordos	1	0	9	9	5	3	0	0	1	0
Leite Gordo	15	7	1	3	0	0	0	1	0	1
Iogurte Gordo	13	6	1	3	1	2	0	0	1	1
Queijos	2	1	3	4	8	3	1	2	2	2
Queijos Salgados	10	5	3	5	2	2	0	0	1	0
Carnes Frias	3	2	8	2	4	3	0	4	1	1
Enchidos	9	5	5	5	2	1	0	1	0	0
Sopas Enlatadas	15	11	0	0	0	1	0	0	1	0
Vegetais Enlatados	13	8	1	3	1	1	0	0	1	0
Refeições Pré-cozinhadas	7	3	5	6	3	3	0	0	1	0
Fast Food	7	3	7	6	1	2	0	1	1	0
Snacks Salgados	8	4	6	6	2	2	0	0	0	0
Manteiga	3	1	3	2	4	4	3	4	3	1
Margarina	7	5	7	4	0	3	0	0	2	0
Azeite	1	0	3	0	0	3	6	7	6	2
Oleaginosas	6	5	4	6	3	1	2	0	1	0
Bebidas Alcoólicas	8	6	6	5	1	1	0	0	1	0
Refrigerantes	5	3	6	4	3	3	1	2	1	0

ANEXO VI

Grelha de Respostas P. 9

Refeição	Pequeno Almoço		Meio da Manhã		Almoço		Lanche		Jantar		Ceia	
	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B
Alimentos	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B
Leite	7	7					2	2				3
Iogurtes	2	2					2	2				
Chá/ Café	4			1				2	1		1	
Torradas/Sandes	5	4			2	2	4	6				1
Bolachas	1	1	5	3	1		3	2			1	2
Fruta	2	1	1	1	1	2	3	1	3	2		1
Cereais	2	4					1					
Sumos Naturais					2					1		
Refrigerantes						2	1		1		1	
Vinho/Cerveja					1				1			
Carne					5	5			9	5		
Peixe					6	2			2	2		
Ovos					2				1	1		
Legumes					3	3			1	2		
Batatas/Arroz					6	4			5	4		
Sopa					2	3			7	4		
Saladas					2				1	2		
Massas					2	3			1	2		
Bolos		2						1				
Sobremesas						1		1		1		1
Fast Food					1					1	1	

ANEXO VII

EFEITO DA INGESTÃO DE 2 BEBIDAS DE CACAU NA PRESSÃO ARTERIAL DE ADULTOS NORMOTENSOS – ENSAIO CLÍNICO

Estevão, O^{1*}, Bernardo MA¹, Reis, RP², Moncada M¹, Morgado MJ¹, Pereira P¹, Mesquita MF^{1*} (o.l.estevao@gmail.com)

¹Bioquíláb, CiiEM – Centro interdisciplinar de investigação Egas Moniz.

²CEDOC da Faculdade de Ciências Médicas da UNL

Apresentação preferencial: Comunicação oral

Resumo

Enquadramento: O efeito benéfico da ingestão de cacau nos valores da pressão arterial tem sido evidenciado em inúmeros estudos.^[1,2] Este efeito tem sido associado à presença de compostos com poder antioxidante (polifenóis)^[3,4] aos quais se atribuem propriedades vasodilatadoras.^[5]

Objectivo: O estudo desenvolvido teve como objectivos: a) determinar se existe diferença entre os valores da pressão arterial após a ingestão de uma bebida de cacau cru (CC) e os valores de pressão arterial após a ingestão de uma bebida de cacau alcalinizado (CA) em adultos normotensos; b) comparar o conteúdo em polifenóis e poder antioxidante de amostras aquosas de CC e de CA.

Métodos: Foram recrutados 22 adultos do ISCSEM. Foram constituídos 2 grupos, A e B, que ingeriram durante 15 dias uma bebida de CC e uma bebida de CA, respectivamente. A pressão arterial foi medida antes e após a ingestão da bebida de cacau. As 2 bebidas de cacau foram sujeitas a análise química para determinação do seu teor em fenóis totais, proantocianidinas e capacidade antioxidante.

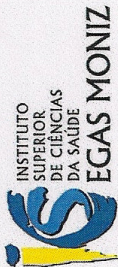
Resultados preliminares: Verificou-se que ambos os cacaos diminuem a pressão arterial sistólica observando-se uma maior diferença nos valores médios da PA sistólica dos indivíduos que ingeriram CC. No entanto, os valores médios da PA diastólica aumentam em ambos os cacaos. Obtiveram-se valores superiores em teor de fenóis totais, proantocianidinas e capacidade antioxidante para o CC.


Palavras-chave: cacau, antioxidantes, pressão arterial.

Referências:

1. Corti, R., et al., *Cocoa and cardiovascular health*. Circulation, 2009. 119(10): p. 1433-41.
2. Ried, K., et al., *Does chocolate reduce blood pressure? A meta-analysis*. BMC Med, 2010. 8: p. 39.
3. Othman, A., et al., *Epicatechin content and antioxidant capacity of cocoa beans from four different countries*. African Journal of Biotechnology, 2010. 9(7): p. 1052-1059.
4. Ortega, N., et al., *Obtention and characterization of phenolic extracts from different cocoa sources*. J Agric Food Chem, 2008. 56(20): p. 9621-7.
5. Taubert, D., R. Roesen, and E. Schomig, *Effect of cocoa and tea intake on blood pressure: a meta-analysis*. Arch Intern Med, 2007. 167(7): p. 626-34.

Nota: Escrito ao abrigo do antigo acordo ortográfico.

 INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ
Campus Universitário – Quinta da Granja
2829-511 Monte de Caparica

 CENTRO DE SAÚDE

CERTIFICADO
Vencedor de Melhor Comunicação Oral

Certifica-se que Odeite Estêvão
participou nas I V Jornadas de Ciências da Saúde – “Neurociências: Doenças Neurodegenerativas”, que decorreram no dia 19 de Abril de 2013, no Instituto Superior de Ciências da Saúde de Egas Moniz.

Presidente da Comissão Organizadora
Odeite Estêvão
Professora Doutora Fernanda Mesquita

Presidente da Comissão Executiva
M. Madalena Furtado
Maria Madalena Furtado