



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Ana Catarina Laranjeira Fernandes

**O IMPACTO DAS RECOMENDAÇÕES
NUTRICIONAIS PARA O TREINO, NO
DESEMPENHO FÍSICO E EM BIOMARCADORES
SALIVARES IMUNITÁRIOS E DE STRESS, EM
JOGADORAS DE ANDEBOL FEMININO**

Dissertação no âmbito do Mestrado em Biocinética orientada pelo Professor Doutor Alain Guy Marie Massart e coorientada pela Professora Doutora Ana Maria Miranda Botelho Teixeira e apresentada à Faculdade de Ciências do Desporto e Educação Física da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2022

Ana Catarina Laranjeira Fernandes

**O IMPACTO DAS RECOMENDAÇÕES
NUTRICIONAIS PARA O TREINO, NO
DESEMPENHO FÍSICO E EM BIOMARCADORES
SALIVARES IMUNITÁRIOS E DE STRESS, EM
JOGADORAS DE ANDEBOL FEMININO**

Dissertação no âmbito do
Mestrado em Biocinética.

Orientador: Professor Doutor
Alain Guy Marie Massart

Coorientadora: Ana Maria
Miranda Botelho Teixeira

“Não existe ensino que se compare ao exemplo.”

Robert Baden-Powell.

Agradecimentos

A elaboração desta dissertação contou com um grande esforço, dedicação mas especialmente com apoios cruciais aos quais estarei eternamente agradecida.

Ao Professor Doutor Alain Guy Marie Massart, pela sua orientação, disponibilidade e cooperação nesta jornada que me proporcionou ferramentas para o futuro. Um grande obrigado por tudo! Pelo incentivo, apoio ao longo desta caminhada, pelo cuidado, exigência, positivismo, altruísmo e generosidade!

À Professora Doutora Ana Maria Miranda Botelho Teixeira pela sua orientação, ajuda e disponibilidade e pelo seu apoio na elaboração deste trabalho.

À minha família, em particular aos meus pais e irmã, por sempre me proporcionarem um futuro melhor com muito apoio e carinho. Pelo apoio económico, e sacrifícios que fizeram para que eu estivesse aqui hoje, um grande obrigado!

Aos amigos pelo apoio incondicional que deram ao longo desta caminhada, repleta de momentos marcantes. Amigos que nos mantêm focados no objetivo mostrando que do nada tudo se consegue, se acreditarmos em nós mesmos! Que na vida nem tudo vai ser bom, mas haverá sempre algo de bom reservado ao longo do trilho e que a confiança em nós mesmos é meio caminho andado para o sucesso!

À Maria que acompanhou o meu percurso académico desde o início. Pela amizade inseparável que foi crescendo ao longo destes cinco anos repletos de momentos que levarei para a vida. Pelo apoio, motivação e confiança que sempre me destes, um grande obrigado!

À Joana que me acompanha desde pequenina até aos dias de hoje, com uma caminhada carregada de histórias, aventuras e risos.

Ao Daniel, um amigo muito especial que guardo comigo com grande carinho e que teve um grande impacto tanto na minha vida pessoal como académica. Pelo apoio nas alturas mais difíceis de estudo e auxílio na revisão deste trabalho, um obrigado!

Resumo

No desporto é necessário haver um equilíbrio entre o treino e a nutrição para haver bons resultados e menos lesões. Uma boa ingestão de hidratos de carbono acompanhada por ingestão adequada de líquidos potencia altos níveis de performance. O andebol, sendo um desporto muito explosivo com momentos de curta duração de alta intensidade, é um exemplo que requer um balanço positivo destes dois fatores. O consumo adequado de hidratos de carbono varia entre os 30-60g/h e a ingestão de líquidos entre os 400ml-600ml/h no treino. Utilizámos uma amostra feminina de 14 atletas pertencentes à 2ª divisão de andebol feminino. O nosso estudo dividiu-se em dois protocolos, sendo que um (P1) fixava-se nos hábitos normais de ingestão de macronutrientes e de bebida ao longo do treino e um segundo (P2) que consistiu numa adequada ingestão de líquidos, mais concretamente 1200ml juntamente com 60g de hidratos de carbono (maltodextrina). Estes dois protocolos foram realizados em dois dias de treino idênticos mantendo sempre o mesmo plano de treino, sendo que para avaliar os efeitos deste macronutriente, recorreremos à colheita de amostras salivares realizadas antes do treino, depois do treino e 1h após o fim do treino para podermos quantificar os níveis do IgA, α -amilase, cortisol e osmolaridade; utilizámos o questionário POMS, as frequências cardíacas avaliadas através de cardiofrequencímetros; filmagens durante o treino nos diversos exercícios e, a escala subjetiva de esforço de Foster. O plano de treino consistiu em exercícios baseados na modalidade em questão, com a utilização do teste de sprints repetidos e o teste YoYo IR1. Não obtivemos diferenças nas diferentes variáveis entre os dois protocolos, contudo houve uma melhoria nos esforços das atletas, baseando nos dados dos cardiofrequencímetros, notando-se positiva no P2, protocolo sob o efeito da maltodextrina, revelando que uma forte possibilidade de se alcançarem resultados positivos na performance desportiva. Evidenciámos que existiu um baixo consumo de HC nas últimas horas antes do treino, levando a um baixo impacto no rendimento do treino.

Palavras-chave: nutrição e andebol, nutrição e desporto, teste de sprint repetido, jogo, ingestão de hidratos de carbono, marcadores salivares, sistema imunitário, cortisol, α -amilase, IgA, teste YoYo, exercício intermitente de alta intensidade, desportos coletivos, POMS, fadiga mental, recomendações nutricionais, hidratação, macronutrientes.

Abstract

In sports there needs to be a balance between training and nutrition for good results and fewer injuries. A good carbohydrate intake accompanied by adequate fluid intake boosts high performance levels. Handball, being a very explosive sport with short duration high intensity moments, is an example that requires a positive balance of these two factors. Adequate hydrate intake varies between 30-60g/h and fluid intake between 400ml 600ml/h during training. We used a female sample of 14 athletes belonging to the 2nd division of women's handball. Our study was divided into two protocols, one (P1) fixed on normal macronutrient and drinking habits throughout training and a second one (P2) which consisted of adequate fluid intake, specifically 1200ml along with 60g of carbohydrates (maltodextrin). These two protocols were performed on two identical training days, always maintaining the same training plan. To evaluate the effects of this macronutrient supplementation, we collected salivary samples before training, after training, and one hour after the end of training to assess the levels of IgA, α -amylase, cortisol, and osmolarity; we used the POMS questionnaire, collect heart rates using cardiofrequencimeters; filme the various exercises during training, questionnaires indicating Foster's subjective effort scale. The training plan consisted of exercises based on the sport in question, using the repeated sprints test and the IR1 YoYo test. We did not get many significant differences between the two protocols, however there was an improvement in the athletes' effort performance for P2, the protocol under the effect of maltodextrin, revealing a strong possibility of achieving positive results in sports performance. We evidenced that there was low HC consumption in the last hours before training, leading to a low impact on training performance.

Key-words: nutrition and hand-ball, nutrition and sports, handball specific test, test repeat sprint activity, match, carbohydrate intake, salivary markers, immune, cortisol, α -amilase, yoyo test, training performance, intermittent high-intensity exercise, team sports, POMS, mental fatigue, nutrition, recommendations, hydration, macronutrients.

Lista de Siglas e Abreviaturas

P1 - Protocolo 1

P2 - Protocolo 2

HC - Hidratos de carbono

YoYo IR1 - Teste de recuperação Intermitente YoYo Nível 1

IgA - imunoglobulina A

POMS - Perfil de Estados de Humor

FC máx - Frequência cardíaca máxima

FC média - Frequência cardíaca média

IF - Índice de Fadiga

Lista de Figuras

Figura 1. Pesagens dos frascos utilizando uma balança analítica KERN 770.....	26
Figura 2. Disposição dos valores de standard para o cortisol.....	35
Figura 3. Placa com os controlos nas duas primeiras colunas.....	37

Lista de Tabelas

Tabela 1. Caraterização da amostra.....	23
Tabela 2. Caraterização da carga de treino em ambos os protocolos e comparação entre os protocolos dos valores médios de frequência cardíaca em cada exercício, da carga total de treino e dos resultados da escala de perceção subjetiva do esforço de Foster... 39	
Tabela 3. Comparação dos níveis de performance anaeróbia e aeróbia nos dois protocolos.	41
Tabela 4. Comparação dos valores de POMS obtidos nos protocolos 1 e 2.	42
Tabela 5. Evolução dos parâmetros bioquímicos IgA, α -amilase e cortisol no P1 e P2. 44	
Tabela 6. Comparação dos resultados bioquímicos entre P1 e P2.	46
Tabela 7. Evolução da osmolaridade e da taxa de produção da saliva no P1 e P2.....	48
Tabela 8. Comparação dos diferentes parâmetros de hidratação entre P1 e P2 (osmolaridade, taxa de produção salivar, cor da urina)	49
Tabela 9. Comparação entre P1 e P2 do efeito do consumo de líquidos, fundamentado nos parâmetros da escala de SLIM, na evolução do peso, no peso antes do treino e na água ingerida durante o treino.	51
Tabela 10. Correlações de Spearman influenciadas com a Escala de Saciedade na água ingerida durante o treino, na evolução do peso, no YoYo IR1, na média dos sprints e no índice de fadiga dos sprints, nos protocolos P1 e P2.....	52
Tabela 11. Resultado dos diários nutricionais das atletas	53
Tabela 12. Comparação entre as proteínas, os hidratos de carbono (HC) e entre a água ingeridos antes do treino com base no protocolo 1 e protocolo 2.	54
Tabela 13. Resultados do questionário entregue à Federação de Andebol de Portugal. 55	

Índice

Agradecimentos.....	4
Abstract	6
Lista de Siglas e Abreviaturas.....	7
Lista de Figuras	8
Lista de Tabelas.....	9
1. Introdução	12
2. Andebol e metabolismo energético	14
3. Hidratos de Carbono.....	15
4. Hidratação	17
4.1. Hidratação antes do exercício físico.....	18
4.2. Hidratação durante a prática do exercício	18
4.3. Hidratação após o exercício físico	19
5. Biomarcadores Salivares.....	20
5.1. IgA.....	20
5.2. α – Amilase	21
5.3. Cortisol.....	21
5.4. Osmolaridade	22
6. Amostra.....	23
7. Objetivos do Estudo	24
8. Metodologia	24
8.1. Protocolo geral do estudo.....	24
8.2. Descrição dos treinos	25
8.3. Protocolos de consumo de fluídos no treino	25
8.4. Recolha dos Dados.....	26
8.5. Instrumentos utilizados na recolha de dados.....	28
8.5.1. Dados Antropométricos.....	28
8.5.2. Dados nutricionais.....	28
8.5.3. Questionários.....	29
8.5.4. Medição da Frequência Cardíaca durante o treino.....	30
8.5.5. Teste de sprint repetido	31
8.5.6. Teste de YoYo.....	32
8.5.7. Biomarcadores Salivares.....	33
9. Estatística Aplicada.....	38

10.	Resultados	39
10.1.	Caraterização dos esforços	39
10.2.	Comparação da performance	41
10.3.	Comparação de valores de POMS	42
10.4.	Comparação dos valores bioquímicos	44
10.5.	Comparação valores de hidratação	48
10.6.	Efeito do consumo de água no treino	51
10.7.	Fator nutricional	53
1.	Discussão	57
2.	Conclusão	64
3.	Limitações do Estudo e perspetivas para estudos futuros	66
4.	Bibliografia	67

1. Introdução

O que um atleta come e bebe pode afetar a sua saúde, composição corporal, disponibilidade de substrato durante o exercício. Satisfazer as necessidades nutricionais e de hidratação do desportista, é essencial para manter a sua massa magra, funções imunitárias e reprodutivas, e a sua performance ^[1,2]. Em equipas de elite, numa dieta normocalórica, o consumo em macronutrientes aconselhado é de 1,5 a 2 g/kg de peso/dia de proteínas ^[3], 1,2 a 2 g/kg de peso/dia de lípidos ^[4], e de 5 a 7 a 10 g/kg de peso/dia de hidratos de carbono consoante o tipo de modalidade desportiva e as cargas previstas na periodização do treino ^[5,6,7]. Ter uma especial atenção ao timing da ingestão (janelas de oportunidade da ingestão para otimizar o efeito) também pode se revelar importante para o sucesso da intervenção nutricional ^[3,8,9,10,11,12]. Na hidratação, as recomendações são para compensar a perdas hídricas diárias, ter cuidado em chegar normohidratado antes dos esforços e compensar ou limitar (2%) as perdas durante o treino ^[13,14].

Se o consumo diário elevado de hidratos de carbono e a adequada hidratação, permitem ao atleta treinar com maior rendimento ao longo da semana de treino ^[10,15], é também de considerar que nas últimas horas antes ^[4,7,16,17] e durante ou entre os esforços de treino ou de competição ^[8,18,19,20], o consumo adequado de líquidos e de hidratos de carbono são considerados preponderantes para otimizar o rendimento do atleta. A alimentação após o treino também terá que ser cuidada para permitir uma recuperação ou supercompensação com o fim de otimizar os próximos esforços ^[6,7,8,13].

Nas modalidades de desportos coletivos como o futebol, hóquei, andebol, ..., também foi identificada a necessidade de uma alimentação cuidada para a saúde e a performance dos/das jogadores/as ^[21,22,23]. Para que os atletas possam usufruir ao máximo os seus treinos, que são abundantes ao longo da época desportiva, não podem ter uma alimentação descuidada nas últimas horas antes e durante o treino. Se o futebol tem sido extensivamente estudado, os estudos sobre os hábitos nutricionais no andebol são mais limitados e trazem pouca informação sobre a alimentação e hidratação nas últimas horas antes e durante o treino, particularmente em jogadoras, e a nível nacional onde ao nosso conhecimento não existem estudos até à data. Pareceu-nos interessante colmatar esta falha, estudando os hábitos nutricionais das atletas de primeira e segunda divisão Portuguesa de andebol, nas últimas horas antes e durante os treinos, para identificar os

níveis de boas práticas e oportunidades de melhorias para contribuir para uma melhor qualidade dos treinos. Em paralelo propomos um estudo experimental num grupo de jogadoras de nível nacional, para avaliar quais os efeitos de uma melhoria dos seus padrões alimentares de treino, sobre a performance, estado mental, níveis de hidratação, percepção do esforço e da saciedade, fatores bioquímicos relacionados com o sistema imunitário, fadiga e stress. Convencidos de que os padrões nutricionais antes e durante os treinos das jogadoras nacionais de andebol são suscetíveis de melhoria e esperando poder contribuir para uma melhoria da qualidade de treino das jogadoras, emitimos a hipótese que a sua alimentação antes e durante o treino não corresponde aos padrões desejáveis para um ótimo rendimento nos treinos e que a melhoria desta alimentação terá repercussões positivas na qualidade dos seus treinos.

2. Andebol e metabolismo energético

O andebol é uma modalidade desportiva que combina esforços de baixa e alta intensidade abrangendo sprints, lançamentos, saltos, corrida e marcha, todavia força, contacto físico, mobilidade, explosividade e capacidade de produzir esforços de curta duração e alta intensidade são pontos chave para a sua concretização ^[21,24]. Nos sistemas de energia utilizados durante a prática do andebol, incluem o fosfagénio e o glicolítico (ambos anaeróbios) e o oxidativo (aeróbio), ocorrerá elevadas exigências na produção de energia dependendo dos hidratos de carbono, sendo esses a principal fonte de energia utilizada; nos esforços de alta intensidade e curta duração, o glicogénio muscular e glicose são rapidamente metabolizados anaerobiamente através da cascata glicolítica e, a quantidade de fosfocreatina disponível no músculo esquelético é utilizada para contribuir para as exigências da modalidade ^[21,25].

Investigações foram realizadas para se obter um possível teste para avaliar as aptidões dos(as) atletas de andebol englobando o drible com bola, passe, arremesso e o funcionamento contínuo e intermitente do vaivém, e com isso observou-se a validade do Teste de Recuperação Intermitente Yo-Yo Nível 1 (Yo-Yo IR1) em jogadores de andebol, adolescentes do sexo masculino ^[24]. O teste Yo-Yo IR1 é um teste intermitente de alta intensidade que se concentra na capacidade do indivíduo em realizar repetidamente trabalho aeróbio de alta intensidade e está significativamente relacionado com a distância total durante um jogo ^[26], e este relacionado com o desempenho físico do jogo em equipas jovens masculinas de andebol ^[21]. Hermassi et al., no seu estudo sobre a relação entre o Yo-Yo IR1 e um teste complexo de andebol, realça que o teste Yo-Yo IR1 está significativamente associado ao teste complexo de andebol implicando, então, que pode ser legitimamente utilizado na monitorização do desempenho; contudo não consegue determinar os outros requisitos físicos que esta modalidade pretende, como é o exemplo dos saltos, remates, corrida em drible ^[24]. Para avaliar a aptidão em repetir esforços de alta intensidade e curta duração (anaeróbia) o teste de sprints repetidos tem sido muito utilizado em modalidades de desportos coletivos, incluindo o andebol ^[27,28,29].

No próximo capítulo será mais abordado aprofundadamente a importância da ingestão dos hidratos de carbono e o seu impacto na performance desportiva.

3. Hidratos de Carbono

Em desportos como o andebol é fulcral um bom consumo equilibrado de macro e micronutrientes para manter um bom estado de saúde ^[2]. Uma dieta bem equilibrada no desporto proporciona uma grande ajuda nos treinos de elevada intensidade tal como na recuperação muscular ^[30]. O consumo ótimo de energia no atleta, baseando na ingestão adequada de macro e micronutrientes, é a solução para a otimização de funções fisiológicas e peso corporal em função das exigências físicas que o andebol pede ^[26]. Os HC e as gorduras são os combustíveis mais importantes para os músculos esqueléticos, e a contribuição desses mesmos durante o exercício, é determinada consoante a intensidade e a duração do mesmo. No momento em que a intensidade do esforço aumenta, a contribuição da oxidação dos hidratos de carbono aumenta e estes tornam-se a principal fonte de energia e pode aumentar significativamente o desempenho dos atletas durante exercícios intensivos de resistência ^[25].

A ingestão de hidratos de carbono tem sido alvo de estudos desde os anos 80 ^[31] embora Asker et al. ^[31] afirma que foi em 1900 que se descobriu que os hidratos de carbono continham um grande potencial para com a performance desportiva. Em 1939 foi publicado um artigo representando o impacto dos hidratos de carbono e o seu efeito sobre a tolerância ao exercício ^[31]. Nos anos 60 verificou-se que o glicogénio muscular desempenhou um papel significativo durante ao exercício seguido pelos primeiros estudos, nos anos 82, que demonstraram que a ingestão deste macronutriente beneficia o exercício ^[30,31,32]. Dependendo da intensidade e duração do exercício tal como do estado do atleta, é considerada como a principal fonte de energia no esforço intenso prolongado e/ou repetido ^[33]. Os hidratos de carbono são considerados a principal fonte de energia devido à sua capacidade de proporcionar um maior rendimento de ATP por volume de oxigénio que pode ser fornecido às mitocôndrias aprimorando assim, a eficiência do treino, mas sendo um combustível limitado, é necessário uma especial atenção e controlo na dieta dos atletas ^[21].

Particularmente para permitir ao atleta treinar com bom rendimento ao longo da semana de treino ^[8,15], em elites, o consumo diário aconselhado de hidratos de carbono é de 5 a 7 ate 10 g/kg de peso/dia consoante o tipo de modalidade desportiva e as cargas previstas na periodização do treino ^[5,6,7]. Nos/as jogadores/as de elite de 7-10 g/kg/dia poderão ser necessários ^[22,23]. Cuidar do timing da ingestão dos HC também pode se

revelar importante para o sucesso da intervenção nutricional. Assim logo após o esforço existe uma janela de oportunidade durante a qual a recuperação de glicogénio muscular é mais rápida se há consumo de HC de absorção rápida ^[7,8,23]. A alimentação das horas seguintes, também terá que ser cuidada para permitir uma recuperação ou supercompensação em vista de otimizar os próximos esforços ^[7,8,11,19], mostraram que reservas mais elevadas de glicogénio muscular podem melhorar o desempenho em jogos coletivos prolongados e envolvendo sprints repetidos de alta intensidade, como hóquei e futebol ^[8]. A gestão da glicemia em início de esforço poderá ser influenciada pelo consumo de HC nas últimas horas antes do exercício ^[9,11]. A última refeição tomada 3-4 horas antes de um esforço (treino, competição) e rica em HC (3-4 gramas de HC por kg de peso corporal), tem o potencial de contribuir para uma melhoria do rendimento desportivo ^[4,7,16], particularmente em modalidades coletivas com intervalos ^[17].

Durante ou entre os esforços de treino ou de competição o consumo de HC ajudará a manter a performance ^[8,18,19,20,23]. Havendo exercício físico com uma duração igual ou superior a 1-2 h, o fornecimento exógeno de hidratos de carbono durante o exercício pode evitar a queda na concentração de glicose no sangue (hipoglicemia) e atrasar o momento de esgotamento do glicogénio muscular, permitindo assim a manutenção da elevada taxa de oxidação devido aos HC, e aumentando a capacidade de resistência ^[6,8]. American College of Sports Medicine (ACSM) recomendam uma ingestão de hidratos de carbono de 30-60 g/h durante o exercício, isto tendo em conta a intensidade, o tipo, a duração do treino e o atleta em causa ^[31].

Investigações mostraram que reservas mais elevadas de glicogénio muscular podem melhorar o desempenho em jogos coletivos prolongados e envolvendo sprints repetidos de alta intensidade, como hóquei e futebol ^[8].

4. Hidratação

O andebol apresenta-se com sendo um desporto que envolve uma série de esforços físicos de alta intensidade e de curta duração. Durante a execução deste mesmo, existe um aumento da temperatura corporal levando a uma emancipação da produção de suor [35]. Tendo em conta a intensidade, duração e a temperatura ambiente determinar-se-á a necessidade de reposição hídrica e, muitos atletas tendem a ter dificuldades em manterem-se hidratados durante as competições/treinos [35], daí o tópico “hidratação” ter grande ênfase pois é um dos aspetos mais relevantes para com a performance desportiva e saúde [35].

Segundo Santos et al. [35], um défice de água superior a 2% do peso corporal, proporciona uma redução do rendimento em exercícios aeróbios e afeta do desempenho cognitivo e mental [36, 37, 38]. Mantendo um estado normo-hidratado durante o treino físico, é garantido um ambiente celular favorável às respostas adaptativas referentes a exercício [37].

No que diz respeito ao processo de hidratação do atleta ao longo do exercício físico. Nomeadamente à reposição de fluidos, tudo indica que fatores como a modalidade em questão, as particularidades fisiológicas do exercício, as condições ambientais, podem estabelecer o estado de hidratação do atleta, sendo que esse estado varia entre hipohidratação, normo-hidratação e híper-hidratação [37].

Um défice de água superior a 2% do peso corporal, proporciona uma redução do rendimento em exercícios aeróbios e afeta do desempenho cognitivo e mental [35,36,37,38]. Mantendo um estado normo-hidratado durante o treino físico, é garantido um ambiente celular favorável às respostas adaptativas referentes ao exercício [37].

4.1. Hidratação antes do exercício físico

De acordo com Victor et al. ^[36], a recolocação de fluidos após o exercício simboliza hidratação antes do próximo treino. Atletas que apresentem um déficit de hidratação antes de qualquer exercício apresentarão um rendimento inferior ao que seria se estivessem hidratados corretamente antes de realizarem qualquer exercício ^[35,36]. A preparação para qualquer atividade física tendo em conta a hidratação, ingerindo aproximadamente 60 minutos antes, é fundamental para que haja uma melhoria na termorregulação e uma frequência cardíaca mais baixa durante o exercício ^[36]. Segundo Victor et al. ^[13,14,36], a ingestão de 400-600 ml de água duas horas antes do exercício, permite que os mecanismos renais tenham tempo suficiente para conseguir regular o volume total do fluido corporal e a osmolalidade a níveis bons do pré-exercício e retardando possíveis episódios de desidratação ao longo do exercício. No futebol recomenda-se o consumo de 5-7 ml de líquidos por kg de peso corporal nas últimas 2-4 horas antes do esforço para otimizar o estado de hidratação pré-exercício ^[23].

4.2. Hidratação durante a prática do exercício

O ACSM dá bastante ênfase nas sugestões sobre os atletas nunca chegarem ao ponto de perderem água maior ou igual a 2% do peso corporal ^[13,14,35]. Uma desidratação induzida pelo exercício físico pode vir a causar hipertonicidade dos fluídos corporais prejudicando assim o fluxo sanguíneo cutâneo ^[37]. A hipertonicidade tem estado associada a uma redução da taxa de suor impedindo em parte a perda de calor evaporativo, sendo este responsável por mais de 80% da perda de calor corporal ^[36]. É necessário que os atletas mantenham um consumo de água idêntico ao que se perde através da transpiração, de forma a manter uma boa funcionalidade cardiovascular mas também para evitar potenciais distúrbios para a saúde do atleta ^[36]. Quando é possível a ingestão durante o esforço, a ACSM recomenda 600 até 1200 ml de ingestão de fluídos por hora de esforço, dependendo da capacidade de vaziamiento gástrico do atleta, com uma bebida que não ultrapassa 4 a 8% de concentração de HC, que tem a capacidade de esvaziar a um ritmo similar a água ^[13]. Para sujeitos com uma capacidade de vaziamiento gástrico mais limitado recomenda-se 400 até 600 ml de ingestão de fluidos por hora de esforço de modo a prevenir o desconforto gástrico, por tomadas regulares de 150 ml

cada 15 a 20 minutos de modo manter estes níveis constantes de líquidos no estomago, o que poderia otimizar o vaziameto ^[14].

4.3. Hidratação após o exercício físico

Como foi dito anteriormente relativamente à importância de existir uma boa pré-hidratação, da mesma forma é pertinente realizar uma boa reposição após o treino, isto para que não comprometa a sessão seguinte ^[35]. A quantidade exata que se deve ingerir tem muito a depender com o facto de qual foi a quantidade perdida durante o treino e um método para descobrir tal resposta é através da diferença do peso corporal de antes e após o treino, acrescentando 300 a 500 ml para prevenir as perdas devidas à diurese provocada pelo consumo acrescido de água ^[13,19,35].

5. Biomarcadores Salivares

A utilização de biomarcadores salivares tem ganho cada vez mais popularidade devido, principalmente, à recolha não invasiva de amostras ^[39,40]. Considerando esse aspecto, os biomarcadores salivares acabam por se considerarem superiores aos testes de biomarcadores de sangue ^[41], por não ser necessário a utilização de tubos de amostra com anti-coagulantes ou fatores de ativação do coágulo, ou profissionais qualificados ^[40].

Yi et al. ^[41] afirmam que a iniciativa ao uso de biomarcadores salivares torna-se numa boa sugestão graças ao facto de não serem necessários laboratórios ou profissionais de saúde no ato da recolha.

A saliva é considerada como sendo uma solução exócrina feita de 99% de água e é apontada como ideal para a análise e diagnóstico do stress e da fadiga no exercício físico, e permite retirar outros tipos de compostos orgânicos não proteicos tais como o lactato, ácidos gordos, creatinina, glicose, aminoácidos ^[40].

A presente revisão forçar-se-á apenas nos seguintes biomarcadores: imunoglobulina A (IgA), α -amilase, cortisol e osmolaridade.

5.1. IgA

A imunoglobulina A (IgA) é um anticorpo que pode ser encontrada nas membranas mucosas e tem uma função essencial no sistema imunológico das membranas mucosas ^[40,41,42]. A secreção IgA na saliva é estimulada por meio de vários factores como a atividade física ou o stress e essa secreção depende da atividade dos sistemas nervosos simpáticos e parassimpáticos, portanto, o exercício físico, ao estimular o sistema nervoso autónomo, estará a reduzir a quantidade de saliva ou até mesmo a inibir essa secreção ^[42]. Lindsay et al. ^[41] afirmam que os baixos níveis de IgA estão associados a um incremento da incidência de inflamação do tracto respiratório Superior (ITRS) ^[17, 18, 19].

Em continuidade do que foi dito anteriormente, Trochimiak et al. ^[42] afirmam que o risco de ITRS depende do tipo e intensidade do exercício. Como tal, é demonstrado, segundo a literatura, que ao longo de um treino prolongado e de elevada intensidade, os

níveis de IgA são baixos e, juntamente, os valores de ITRS aumentam. Contudo, o mesmo não acontece com o exercício moderado.

Sabe-se que a atividade física moderada pode vir a melhorar as defesas imunitárias e que o exercício de alta intensidade diminui aumentando o risco da incidência de inflamação do tracto respiratório superior ^[42].

5.2. α – Amilase

A α -amilase salivar é uma enzima digestiva envolvida na decomposição do amido ^[18]. Esta enzima é responsável pela degradação do amido e do glicogénio e ainda é considerada como um marcador do stress psicofisiológico e ativação simpática do sistema nervoso ^[40, 41, 43].

Durante o exercício físico observa-se um aumento da atividade simpática levando posteriormente a um aumento da atividade adrenérgica nas glândulas salivares resultando num aumento elevado dos níveis da α -amilase salivar após o exercício ^[41].

5.3. Cortisol

O cortisol, principal glucocorticoide, salivar tem sido bastante utilizado como sendo um biomarcador tanto do stress mental como do stress físico ^[41]. É secretado do córtex suprarrenal através do eixo hipotalâmico pituitário-adrenal e aumenta em resposta a fatores stressantes, englobando o esforço físico, aumentando ajustadamente com a duração e intensidade ^[43]. O cortisol na saliva mostra valores estáveis o que providencia a possibilidade de as amostras poderem ser armazenadas numa temperatura ambiente durante semanas, proporcionando uma recolha em qualquer lado e seguidamente enviada para um laboratório ^[41].

Conhecido por desempenhar um papel importante no metabolismo e na função imune, é considerado catabólico por natureza devido aos seus efeitos no metabolismo de proteínas e hidratos de carbono ^[44]. A estimulação da gliconeogénese pelo cortisol poupa a glicose no sangue, reduzindo o armazenamento das proteínas proporcionando uma dissipação do músculo esquelético ^[44]. Ainda é muito incerto, segundo a literatura, qual o efeito do exercício físico de alta intensidade no cortisol. Contudo, é de frisar que um estudo mostrou que o exercício de alta intensidade originou aumentos significativos na concentração de cortisol aos 59 minutos de exercício e após 20 minutos do fim do exercício ^[44]. Um outro estudo apresentou resultados que demonstram um aumento da

concentração do cortisol a 40 minutos de exercício de alta intensidade (65-90% de V_{O_2} max), ao contrário do anterior que não obtiveram diferenças significativas a 40 minutos [45]. Uma possível justificação poderá estar relacionada com o facto de o estudo positivo ter utilizado uma variação de intensidades de exercícios durante o treino de alta intensidade [44].

Uns dos principais motivos para a análise do cortisol no exercício físico é devido à sua facilidade de recolha e para estudar os efeitos agudos do exercício, identificando se os atletas se encontram num estado com excesso de treino e também para analisar a recuperação dos atletas [40].

5.4. Osmolaridade

Neste estudo, optámos também na análise da osmolaridade salivar por esta fornecer dados relativos ao estado de hidratação do atleta [40].

A osmolaridade é uma medida de concentração total de partículas dissolvidas e é especialmente afetada pelo estado de hidratação corporal [46].

De acordo com a literatura, com a intensidade do exercício o fluxo salivar diminui, aumentando, dessa forma, a osmolaridade salivar [47].

Durante uma desidratação aguda ($\leq 3\%$ peso corporal), acontece que a taxa de fluxo salivar diminui cerca de 0-5 para 0-2 ml/min, enquanto que a osmolaridade salivar aumenta de 50 para 100 mOsm/L e a concentração total de proteínas de 0-7 até 1-8 mg/ml [48].

6. Amostra

A amostra do estudo era inicialmente composta por 21 jogadoras, sendo que 2 atletas desistiram devido ao trabalho, duas por motivos pessoais (gravidez, bofeiras para os treinos) e quatro porque saíram da equipa, acabando por se realizar o estudo com a colaboração de 14 jogadoras da segunda divisão nacional feminina sénior de Andebol, com uma idade de $18,57 \pm 3,78$ anos, um IMC no limite superior da normalidade ^[49] de $23,96 \pm 2,67$, uma percentagem de massa gorda (%) considerada adequada ^[24] de $19,02 \pm 2,58$; apresentam uma aptidão aeróbia considerada normal para jogadoras ^[25] de $657,14 \pm 212,22$ metros no teste de Yoyo nível 1, que permite estimar o seu consumo máximo de oxigénio à volta de $42 \text{ ml O}_2/\text{min}/\text{kg}$ ^[51]. São todas titulares da mesma equipa composta de dois jogadores seniores e 12 jogadoras juniores, treinam e jogam em média seis horas por semana.

Dentro da amostra, três das 14 atletas eram guarda-redes, sendo um fator importante a evidenciar pois teve uma grande influência no peso e na aptidão aeróbica.

Tabela 1. Caracterização da amostra

	N	Média e Desvio Padrão
Idade	14	$18,57 \pm 3,76$
Peso (kg)	14	$63,96 \pm 10,11$
Altura (m)	14	$1,63 \pm 0,06$
IMC	14	$23,96 \pm 2,67$
Massa Gorda (%)	14	$19,02 \pm 2,58$
Aptidão Aeróbia Yoyo1	14	$657,14 \pm 212,22$

7. Objetivos do Estudo

O presente estudo teve como objetivo verificar se as atletas se alimentavam adequadamente antes e depois do treino e em função disso verificar qual seria o impacto de uma melhoria nos protocolos, sobre a performance desportiva, os níveis de hidratação, os parâmetros bioquímicos e psicológicos.

8. Metodologia

8.1. Protocolo geral do estudo

O projeto do estudo, intitulado: O impacto das recomendações nutricionais para o treino, no desempenho físico e psicológico, e em biomarcadores salivares, em jogadoras de andebol feminino, foi aprovado pelo Conselho Científico da FCDEF-UC e pela Comissão de ética com a referência CE/FCDEF-UC/0085202. Sendo o segundo acto entregar a cada atleta um documento de consentimento onde informa no que vai consistir o estudo e um outro modelo de consentimento para o uso e tratamento de imagens apenas para fins de estudo. Como o nosso estudo incluiu a participação de menores, foi entregue a essas atletas, um modelo de consentimento diferente destinado aos Encarregados de Educação/Tutores legais. Em seguida, criaram-se inquéritos para entregar à Federação Portuguesa de Andebol para distribuir pelas equipas da 1ª e 2ª divisão com o propósito de analisar os hábitos nutricionais durante um treino de andebol nos escalões seniores e, comparar com a recolha de dados nutricionais obtida através da equipa sénior da parte experimental do estudo. Posteriormente, para conhecer os hábitos nutricionais antes e durante os treinos, foram realizados diários nutricionais das jogadoras da nossa amostra e também foram realizados três treinos de preparação para familiarização das atletas ao protocolo do estudo experimental.

O estudo foi dividido em dois protocolos P1 e P2, realizados no mesmo dia da semana com a realização de treinos equivalentes. Antes de cada treino os hábitos nutricionais das atletas foram espeitados de modo que se apresentam nas mesmas condições nos treinos. No protocolo 1 as jogadoras seguiram os seus padrões nutricionais habituais, enquanto que no protocolo 2 seguiram um plano nutricional melhorado de modo a

otimizar o consumo de hidratos de carbono (maltodextrina) e de líquido durante o treino, em função das recomendações da literatura científica. Para minimizar o efeito do treino nos resultados do estudo, os protocolos foram aleatoriamente realizados pelas jogadoras ao longo de três semanas consecutivas, tendo na primeira ou na segunda semana, metade das atletas realizado o protocolo 1 em primeiro, enquanto que a outra metade realizou o protocolo 2. Tendo sido informadas que em qualquer dos momentos do estudo, as suas bebidas poderiam ou não conter hidratos de carbono (HC), e tendo utilizado a Maltodextrina, insípida como os HC, em nenhum momento as atletas tiveram percepção se estavam ou não sobre efeito dos hidratos de carbono, limitando assim o efeito placebo.

8.2. Descrição dos treinos

Os treinos basearam-se numa parte inicial que consistiu num treino personalizado realizado em conjunto com o treinador da equipa em que englobou os diferentes requisitos necessários da modalidade: corrida com drible, remate, passes, defesa, entre outros. Ainda dentro da parte inicial, a meio do treino, as atletas realizaram 6 sprints a uma distância de 20 metros, cada um com um intervalo de 20 segundos. Por último, a parte final compôs-se de exercícios de situação técnica e de jogo formal, com a realização no fim do teste Yo-Yo IR1 nos 10-20 minutos finais do treino. O treino teve na totalidade uma duração de 2 horas, aproximadamente. Durante o treino, as atletas manusearam relógios e cardiofrequencímetros (Polar V800 e Polar RS800CX) com o objetivo de obtermos as suas frequências cardíacas nos diversos momentos do treino. Os dois testes de performance tiveram como finalidade a comparação dos níveis de performance no meio e no fim dos dois treinos.

8.3. Protocolos de consumo de fluídos no treino

Durante os protocolos do estudo apenas foram fornecidos líquidos, porque nenhuma atleta tinha como hábito de treino consumir alimentos ou suplementos. No protocolo 1 as jogadoras receberam as suas quantidades habituais de bebida. Como apenas bebiam água durante o treino, receberam água com um sabor ligeiro a lima. No protocolo 2, foi recomendado beber regularmente por quantidades moderadas de modo a atingir um consumo de 400 a 600 ml por hora de treino. Para o efeito, colocámos graduações sobre

as garrafas de modo as ajudar a não beberem quantidades exageradas, numa tentativa de evitar sensações de desconforto associadas à acumulação de líquidos no estômago. Neste segundo protocolo, sem o saberem, todas as jogadoras receberam um líquido com 6% de Maltodextrina com sabor ligeiro a lima. A Maltodextrina foi escolhida por ser insípida e, utilizámos a lima a fim de confundir mais as participantes fornecendo um sabor e aspeto idêntico nos dois tipos de bebidas.

8.4. Recolha dos Dados

Foi elaborado um ficheiro com todos os passos a seguir nos dias de avaliação para que as atletas executassem as tarefas sem qualquer dúvida e de uma forma mais fluída, com a mesma preocupação estes procedimentos já tinham sido previamente treinados. Esse ficheiro foi entregue no dia antes dos dois momentos de avaliação. Segundo esse formato, as atletas após se equiparem, dirigiam-se ao campo onde estava o respetivo nome da atleta no relógio que utilizaram juntamente com as suas garrafas de água preparadas no dia anterior juntamente com uma garrafa de 0,50 cl, com o único propósito para limpeza bucal. Algumas utilizaram os relógios Polar V80 e outras, o Polar RS800CX. Havia um local próprio para as pesagens onde cada atleta pesou-se antes e depois do treino e antes e depois de ir à casa de banho de maneira a obter dados sobre a perda de água efetiva de suor no treino. Seguidamente, nas bancadas, cada nome estava num banco com um frasquinho devidamente pesado no mês anterior e com um código único (Figura 1). As amostras salivares tiveram como objetivo principal a análise do cortisol, α amilase, Iga salivar e osmolaridade.

Cada frasco serviu como armazenamento para a saliva havendo três frascos para cada atleta em cada protocolo. Antes de retirar a primeira amostra da saliva, foi pedido às atletas dois minutos a salivar, passivamente, e



Figura 1. Pesagens dos frascos utilizando uma balança analítica KERN 770.

depois colocar, sem esforço, a saliva dentro do frasco. Caso a quantidade de saliva fosse insuficiente, a salivação era prolongada por um minuto e o tempo para atingir as quantidades desejadas foi contabilizado para a sucessiva correção. Posteriormente a esse procedimento, deu-se início ao treino já com os relógios em modo de sessão iniciada. As frequências cardíacas foram retiradas ao longo do treino de forma a salvaguardar os dados caso algum relógio (Polar V800 e Polar RS800CX) não gravasse o treino.

Essas mesmas frequências cardíacas serviram para comparação dos dois treinos e foram recolhidas nos seguintes momentos:

1. Após o aquecimento → Após 2 minutos da
2. Após o 1º exercício → finalização dos sprints.
3. Após o 2º+3º exercício
4. Após os sprints:
 - Logo no fim
 - Após 1 minuto da finalização dos sprints.
5. Após o 4º exercício
6. Após o 5º exercício
7. Após o Teste YoYo IR1

No final de cada treino, procedeu-se à segunda recolha de saliva, pedindo às atletas que fizessem o mesmo procedimento que executaram na primeira amostra. No preciso momento em que se realizou a segunda colheita, contabilizou-se o tempo para que passado 1h, cada atleta extraí-se a terceira amostra salivar. A recolha dessa foi realizada no dia seguinte informando previamente para que cada atleta armazenasse a mesma no congelador. Realizada a segunda colheita, cada jogadora fez as pesagens finais

8.5. Instrumentos utilizados na recolha de dados

8.5.1. Dados Antropométricos

Antes do protocolo experimental do estudo as atletas foram medidas para avaliar a sua composição corporal utilizando-se um adipómetro SLIMGUIDE para estimar a massa gorda (mm), um estadiómetro portátil Harpenden, modelo 98.603 para medir a altura (m) e uma balança digital SECA 878 para obter o peso (kg) de cada atleta, material requisitado à Faculdade de Ciências do Desporto e Educação Física da Universidade de Coimbra, com aviso prévio. As atletas foram chamadas uma a uma de modo a que tivessem a privacidade necessária apresentando-se apenas de top desportivo e calções curtos para interferir o menos possível nas medições. Após as pesagens, mediu-se a altura, medidas que serviram também para estimar o IMC das jogadoras. Seguidamente mediram-se as sete pregas para se estimar a massa gorda de cada uma: (peitoral, axilar, tricípital, subescapular, abdominal, suprailíaca, coxa) e a estimativa da percentagem de massa gorda através da fórmula de ACSM's ^[52]. O material era desinfetado no intervalo em que saía uma atleta e entrava uma nova.

8.5.2. Dados nutricionais

Antes da realização da parte experimental do estudo, foi realizada uma supervisão das atletas nos treinos para analisar os seus hábitos alimentares e de hidratação durante o treino. As atletas realizaram diários nutricionais, inteiro e curtos, em dias de treino de modo a caracterizar a sua alimentação em geral e nas últimas horas antes dos treinos. Os resultados destes inquéritos também serviram para aconselhar as atletas na sua alimentação antes do treino, nos dias dos protocolos experimentais de modo a assegurar que os treinos foram iniciados em condições equivalentes e correspondente aos hábitos das jogadoras. Com base na informação fornecida pelas atletas sobre a forma de uns diários fotográficos com a descrição das porções alimentares e do peso dos alimentos consumidos quando disponíveis ^[53,54], a dieta foi analisada com recurso a instrumentos específicos (quantificação fotográfica do peso das porções, tabela de composição nutricional dos alimentos) para a população portuguesa ^[55,56,57,58].

8.5.3. Questionários

Todas as segundas-feiras antes de cada momento de avaliação, foram entregues às atletas um questionário de Perfil de Estados de Humor (POMS) validado pela população portuguesa ^[59] juntamente de uma escala com diversas cores de urina ^[2], para avaliar o estado de espírito (humor, fadiga, vigor) e de hidratação das jogadoras antes do treino. No fim de cada momento de avaliação, as atletas levavam para casa um outro questionário POMS junto de um questionário que correspondia à escala subjetiva de esforço de Foster adaptada pela Língua Portuguesa ^[60,61] a preencher meia hora após o treino, para ter uma ideia sobre a carga percebida do treino. Para além destes documentos, no fim do treino, as atletas responderam a uma Escala da Sociedade SLIM de Cardelo adaptada pela Língua Portuguesa ^[62,63] e maneira a ser mais perceptível o conforto das atletas relativamente à bebida ingerida ao longo do treino.

Em paralelo ao estudo experimental e respeitando as recomendações nutricionais da literatura científica, foi elaborado por nós um inquérito dos hábitos alimentares nas últimas horas antes e durante os treinos, destinado a jogadoras da primeira e segunda divisão sénior femininas da Federação Portuguesa de Andebol, com autorização e apoio da própria federação na divulgação do questionário. O questionário consistiu em 13 questões de resposta rápida:

1. Costumas comer alguma coisa durante o treino? Se sim, o quê? E qual a quantidade?
2. Costumas beber alguma coisa durante o treino? Se sim, o quê? E qual a quantidade?
3. Comes algo antes do treino? Se sim, o quê? Quanto tempo antes? Qual a quantidade?
4. Comes alguma coisa ou bebes passado meia hora depois do treino e antes da próxima refeição? Se sim, o quê e qual a quantidade?
5. Qual é o teu tipo de dieta? Normal, vegetariana, etc?
6. Tomas algum medicamento? Se sim, qual, e o porquê?
7. Tomas suplementação? Se sim, qual? Em qual ocasião (treino, competição ou fora do treino)
8. Quantos treinos semanais costumas ter?
9. Jogas em que divisão?
10. Jogas em que escalão?

11. Jogas em que posição?
12. Qual a duração do treino?
13. Qual é a tua idade?

É de salientar que o questionário foi disponibilizado às atletas em formato Google forms, garantindo a livre participação e a anonimidade das respostas.

8.5.4. Medição da Frequência Cardíaca durante o treino

A frequência cardíaca foi medida recorrendo a cardiofrequencímetros Polar V800 e Polar RS800CX e serviu para avaliar a carga de treino nos dois protocolos de modo a poder caracterizar os treinos e determinar o seu grau de equivalência. Para uma análise mais minuciosa das frequências cardíacas, recorreu-se ao programa Kubios HRV Standard onde recolhemos as frequências cardíacas máximas (FC máx) e médias (FC média) de cada exercício. Para a obtenção da carga média de exercício, seguimos a seguinte fórmula: Carga média de exercício = FC média do exercício x tempo do exercício em minutos. Para calcular a carga total do treino, as cargas individuais de cada exercício foram somadas de modo a obter a carga total de cada participante e foi contemplada a carga total média de todos os sujeitos. Para determinar as zonas de treino ^[62], recorreremos à % da FC máx. teórica ^[65] ou real no caso de atletas que nos seus registos apresentaram FC superiores à teórica. Resumindo, utilizámos as seguintes fórmulas:

1ºPasso: FC máx teórica= 220-idade ou FC máx real

2º Passo: % FC máx = (FC média do exercício/Fcmax) x 100

8.5.5. Teste de sprint repetido

Para quantificar a capacidade dos atletas em reproduzirem intervalos regulares, esforços curtos de alta intensidade, tem-se usado testes de sprints repetidos, com cálculo do tempo médio de sprint, do tempo total de sprint e do índice de fadiga (IF) que são relevantes para avaliar os atletas e adaptar o seu treino ^[27,28,29]. Para medir os testes de sprint repetidos o “gold standard” utilizam-se as células fotoelétricas, colocadas no ponto de partida e no ponto de chegada dos sprints, permitindo medir o tempo que demoram a percorrer a distância (exemplo: 20 metros entre as células em 3,41 segundos = 21,11 km/h). Com este método, consegue-se avaliar apenas um atleta de cada vez o que representa uma desvantagem em termo de tempo despendido quando se trata de medir uma equipa completa no meio de um treino.

Filmando a 30 imagens por segundos, sabendo o número de imagens para percorrer a distância, podemos avaliar o tempo (exemplo: 20 metros em 96 imagens da $96/30 = 3,2$ segundos) e 20 metros em 3,2 segundos = 22,5 km/h). Com este método, podemos medir vários atletas ao mesmo tempo. Escolhemos um teste de 6 vezes 20 metros de sprints em cada 20 segundos, com partida na linha de fundo do terreno de andebol e chegada a meio do terreno onde estava situada a câmara e em menos de quatro minutos medir todas as atletas, sem perturbar o decorrer normal do treino. Este protocolo que elaborámos, com a colaboração da Professora Beatriz Gomes encontra-se em fase de validação, comparando os tempos de sprints obtidos simultaneamente com as filmagens e as células fotoelétricas. É um processo moroso, mas em teste de reprodutividade intra e inter individual, obtivemos correlações positivas significativas, dando algumas garantias na deteção das eventuais diferenças de resultados entre o protocolo 1 e 2. Recorremos a uma câmara Sony HIB ILCE-5100 LB+SELP 1650 para filmar a linha de chegada dos sprints, um cronómetro para dar uma partida em cada 20 segundos e um telemóvel para dar um sinal luminoso à câmara da partida. A chegada do sprint foi considerada quando o tronco das jogadoras atingia a linha de chegada e a contagem do número de imagem foi através do programa Tracker. Por efeito de análise, foi calculada a média de tempo dos seis sprints, o total de tempo dos sprints e o índice de fadiga. O índice de fadiga foi obtido dividindo o tempo total de sprint real pelo tempo total de sprint ideal (tempo do melhor sprint multiplicado pelo número de sprints) e sucessiva avaliação do aumento de tempo em percentagem do real comparado ao ideal ^[28].

8.5.6. Teste de YoYo

O teste YoYo IR1 é um teste intermitente de alta intensidade que concentra-se na capacidade do indivíduo em realizar repetidamente trabalho aeróbio de alta intensidade. O YoYo IR1 está significativamente relacionado com a distância total de um jogo, contudo não consegue determinar os restantes requisitos físicos que o andebol requer, por exemplo, os saltos, remates, corrida em drible^[24]. Hermassi et al. apresentam no seu estudo a relação entre o Yo-Yo IR1 e o teste complexo de andebol^[24], que o teste Yo-Yo IR1 está significativamente associado ao teste complexo de andebol implicando, então, que o primeiro pode ser legitimamente utilizado na monitorização do desempenho^[24].

No nosso estudo realizámos o teste YoYo IR1 como parte final do treino para simular situação de jogo. Utilizámos o terreno de andebol completo, colocando o início de partida (cone A) à frente da linha dos 9 metros contanto a partir desse ponto uma distância de 20 metros até ao início da linha de 9 metros da outra metade do campo (cone B). Atrás da linha de partida, contabilizámos uma distância de 5 metros, baseando na literatura^[51], destinada para o tempo de recuperação [cone C]. Guiando-se por um áudio^[51], as atletas iniciavam o teste após o primeiro bipe (efeito sonoro projetado da coluna). Após o primeiro sinal, as atletas iniciam a corrida chegando ao próximo ponto (cone B), retornando ao cone A apenas quando sinalizado pelo bipe do áudio. Em cada 40 metros de corrida há uma recuperação ativa de 10 segundos que se estende entre o cone A e o C onde as atletas executavam essa recuperação em marcha ou a correr. A velocidade do teste foi sofrendo aumentos regulares, começando com uma velocidade 10 km/h seguida de uma velocidade de 12 km/h, 13 km/h chegando a um ponto em que a velocidade apenas aumentava 0,5 km/h^[51]. Finalizado o teste, as atletas indicavam-nos quais as suas frequências cardíacas e dirigiam-se ao espaço destinado para a recolha de amostras onde se iriam preparar para a recolha da segunda amostra salivar.

O método para obter as imagens foi idêntico ao processo na recolha das imagens dos sprints repetidos utilizando também uma câmara Sony HIB ILCE-5100 LB+SELP 1650 que englobava a visão total entre o cone C e o cone B. Este processo serviu-nos como um grande auxílio em obter a distância total percorrida por cada atleta, contabilizando as voltas que cada atleta realizou observando os vídeos (1 ida = 20 metros)

8.5.7. Biomarcadores Salivares

Todas as segundas-feiras antes de cada momento de avaliação, foram entregues às atletas testes antigênicos rápidos de covid para podermos realizar uma colheita de saliva segura.

8.5.7.1. *IgA*

As amostras congeladas a (-20°C) foram retiradas para proceder ao seu descongelamento e centrifugação das mesmas. A centrifugação foi realizada a 1300 rotações/minuto durante 10min. Posteriormente, retirou-se e dividiu-se a parte limpa de cada amostra centrifugada para dois tubos ependorfs sendo que um tubo se destinava para a análise do IgA e o outro para a análise da α amilase e do cortisol.

Para a determinação da concentração da IgA foi realizado o método ELISA. Um processo minucioso englobando várias etapas elaboradas no dia anterior.

As placas de 96 micropoços foram preparadas com anticorpo anti-IgA no dia anterior e deixadas a 8°C no frigorífico. No dia seguinte os poços foram bloqueados com 150 μ l de uma solução com 3% de proteína bloqueante (BSA-Bovine sérum albumin) durante 1h à temperatura ambiente. A placa foi depois lavada com solução de lavagem num lavador automático de placas de micropoços (Hydro Flex TECAN), ficando assim as placas preparadas (poços revestidos com MoAb anti-IgA+ Albumina) para a adição das amostras de salivas e dos standards. Para uma melhor interpretação do processo ELISA utilizado, este mesmo será dividido em três partes:

1ª Parte: Standard.

Para a preparação das amostras standard, marcaram-se 7 tubos ependorfs com os valores standard de: 500, 400, 300, 200, 150, 100, 50 μ g/L. seguidamente efetuaram-se as duas diluições para se obter as soluções de cada valor de standard.

1ª Diluição: 50 μ l (IgA μ g/L) + 950 μ l PBS (solução salina tampão fosfato).

2ª Diluição: retira-se 50 μ l da primeira diluição e adiciona-se 4950 μ l de PBS.

2ª Parte: Amostras salivares.

Depois de as amostras serem centrifugadas durante quatro minutos e a 13000 rotações/minuto. As amostras foram diluídas de 1:1000 em PBS. Feita esta diluição para todas as amostras, retirou-se 100 μ l de cada amostra para adicionar nas placas

previamente preparadas com o primeiro anticorpo, colocadas numa placa de agitação (Lab Rotator modelo DSR 2800V) durante 90 minutos.

3ª Parte: 2º anticorpo.

Juntaram-se 25 ml PBS a 25 µl anti-IgA conjugado com biotina (e enquanto isso, as duas placas foram lavadas 3x). Num momento seguinte, foram adicionados 100 µl da solução com o 2º anticorpo conjugado com a enzima biotina a todos os poços das placas lavadas ficando mais 90 minutos a incubar na placa de agitação (Lab Rotator modelo DSR 2800V).

Durante este tempo procedeu-se à preparação da solução de ABTS (substrato) que mais frente irá dar a cor.

- ➔ 100 ml de água + 1 cápsula de citrato. Em seguida, juntar uma tablet de ABTS. Embrulhar o tubo em papel de prata porque a solução é sensível à luz do dia.

Mais adiante, retirou-se 100 µl desta solução e juntou-se a cada poço das duas placas, após terem sido sujeitas a 3 lavagens, e deixou-se incubar no escuro até desenvolverem cor.

As placas lidas no espectrofotómetro a um comprimento de onda de 405 nm, a fim de obter a absorvência da solução em cada poço. A determinação da concentração de IgA de cada amostra é feita através dos valores de absorvência obtidos para cada amostra após a da construção de uma curva padrão com os valores das concentrações dos standards e das respetivas absorvências a 405 nm.

8.5.7.2. Osmolaridade Salivar

A osmolaridade salivar é considerado um marcador sensível do estado da hidratação.

No processo de obtermos os dados referentes à osmolaridade, recorreu-se ao equipamento Vapor Pressure Osmometer (VAPRO).

Para a análise da osmolaridade e para uma melhor interpretação do processo, o mesmo foi dividido em três fases:

1º Descongelamento das amostras em temperatura ambiente.

2º Centrifugação das amostras para retirar uma possível sujidade que ainda pudesse estar impregnada nos exemplares. A centrifugação consistiu em 13000 rotações por minuto com uma duração de quatro minutos.

3º Processo de leitura: inicialmente preparou-se o osmómetro ficando 30 minutos em repouso para se ambientar à temperatura. Em seguida, realizou-se a calibragem, no modo normal usando primeiro o standard 290 mmol/kg, só se continuava a calibragem caso o osmómetro (VAPRO) fornecesse-se uma leitura entre 287 a 293. Feita essa leitura, realiza-se o mesmo processo para o standard 1000 mmol/kg e para o standard 100 mmol/kg.

Realizada a leitura, no osmómetro, selecciona-se o modo *average* e realizam-se 3 leituras do standard 290 mmol/kg. Em seguida, procede-se para a análise das amostras da seguinte forma: colocar disco limpo na palheta, introduzir palheta, esperar 80 segundos, apontar o número de concentração, retirar a palheta com o disco introduzido, limpar com água destilada e secar, realizar o processo três vezes para cada amostra.

8.5.7.3. Cortisol

Procedendo à análise do cortisol, num primeiro passo foi realizado o descongelamento das amostras e a sua centrifugação. Determinou-se a disposição dos valores de standard na placa baseando-nos no esquema sugerido abaixo (Figura 2). Pipetou-se 25 µl de controlos e amostras de saliva em poços apropriados e de 25 µl de diluente de ensaio em dois poços para servir como zero. Em seguida, procedeu-se à diluição da enzima conjugada 1:1600 adicionando 15 µl da enzima conjugada a 24 ml de diluente de ensaio. Agitou-se e adicionou-se 200µl desta solução conjugada em cada poço utilizando uma pipeta multicanal. Seguidamente, deixou-se incubar durante uma hora levando, após esse procedimento, ao lavador automático de placas de micropoços (Hydro Flex TECAN).

Logo depois, adicionou-se 200 µl de substrato da enzima a cada poço utilizando uma pipeta multicanal procedendo seguidamente à incubação da solução no escuro à temperatura ambiente durante 25

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	3.000 Std	3.000 Std	Ctrl-H	Ctrl-H								
B	1.000 Std	1.000 Std	Ctrl-L	Ctrl-L								
C	0.333 Std	0.333 Std	SMP-1	SMP-1								
D	0.111 Std	0.111 Std	SMP-2	SMP-2								
E	0.037 Std	0.037 Std	SMP-3	SMP-3								
F	0.012 Std	0.012 Std	SMP-4	SMP-4								
G	Zero	Zero	SMP-5	SMP-5								
H	NSB*	NSB*	SMP-6	SMP-6								

*NSB = Non-specific binding wells. These may serve as blanks. Use is optional.

Figura 2. Disposição dos valores de standard para o cortisol.

minutos. Por fim, acrescentou-se 50 µl de solução de stop em cada poço colocando a placa depois no leitor de placas. Repetiu-se o mesmo procedimento para uma segunda placa com diferentes amostras.

8.5.7.4. *α-Amilase*

Numa primeira fase foi necessário retirar as amostras do congelar e submetê-las ao processo de descongelamento em temperatura ambiente. Enquanto isso, preencheu-se uma placa com os códigos de cada amostra para proporcionar uma análise dos valores mais eficiente (Figura 3).

Feito o descongelamento, em seguida, configurou-se o espectrofotômetro (TECAN) para incubar a placa a 37°C, e ler em modo cinético de medição central inicialmente a um minuto, e posteriormente, de minuto a minuto durante dois minutos. Num seguinte passo, foi realizado o aquecimento do substrato de *α*-amilase a 37°C no “thermomixer” (Comfort Eppendorf) por aproximadamente 20 minutos, mantendo sempre o recipiente selado para evitar a evaporação. No tempo em que é realizado o aquecimento do substrato, foi-se preparando a primeira diluição:

1. 10µl de amostra de saliva + 90 µl *α*-amilase diluente, e misturar bem.
2. Retirar 10µl da primeira junção (1:10) e pipetar em 190 µl *α*-amilase diluente (1:20).
3. Colocou-se 8 µl do controle e das amostras em poços individuais.
4. Adicionou-se 320 µl do substrato *α*-amilase pré-aquecido (37°C) a cada poço simultaneamente utilizando uma pipeta multicanais.
5. Em seguida, programou-se o leitor de placas TECAN, obtendo 3 leituras a 405nm da seguinte forma.
 - a. Iniciar o temporizado e misturar (500-600 RPM) a 37°C.
 - b. Obter a leitura da Densidade Ótica (DO) a exatamente um minuto, e em seguida, voltar a misturar a 37°C. Realizar este procedimento durante três vezes.

Feito este procedimento, os valores da atividade enzimática foram calculados automaticamente pelo equipamento através da seguinte fórmula ^[66]:

$$\frac{\Delta\text{Abs./min} \times \text{TV} \times \text{DF}}{\text{MMA} \times \text{SV} \times \text{LP}} = \text{U/mL de atividade de } \alpha\text{-amilase na amostragem}$$

Sendo:

$\Delta\text{Abs./min}$ = Diferença de absorvância por minuto

TV= Volume total de ensaio (0,328 mL)

DF= Factor de diluição

MMA= Absortividade milimolar de 2-cloro-pitrofenol (12,9)

SV= Volume de amostra (0,008 mL)

LP= Caminha da luz = 0,97 (específico para placa recebida com kit)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Ctrl-H	Ctrl-H										
B	Ctrl-L	Ctrl-L										
C	SMP-1	SMP-1										
D	SMP-2	SMP-2										
E	SMP-3	SMP-3										
F	SMP-4	SMP-4										
G	SMP-5	SMP-5										
H	SMP-6	SMP-6										

Figura 3. Placa com os controlos nas duas primeiras colunas.

9. Estatística Aplicada

A análise estatística foi realizada utilizando IBM SPSS Statistics 26. Recorremos à média, desvio padrão e frequência (%) na parte descritiva. Inicialmente realizámos o teste de normalidade de Shapiro Wilk para verificarmos a distribuição dos dados e procedemos à deteção dos valores atípicos (outliers) através do método intervalo interquartil (IQR), considerando os dados como três IQR como potencial outliers. Os resultados obtidos permitiram-nos ponderar a eliminação de alguns dados por ser outliers e não fazer sentido, e para escolher o tipo de teste para usar (paramétrico ou não paramétrico). Tendo por base o nível de significância de $p \leq 0,05$, para relacionar duas situações experimentais, recorreu-se o teste não paramétrico de Wilcoxon ou ao teste de t pares. Devido à amostra reduzida ($N = 14$), o teste de Wilcoxon foi mais utilizado.

Para relacionar três situações experimentais (antes, depois, 1 h depois do treino), recorremos à ANOVA de medidas repetidas incluindo o post hoc de Bonferroni, ou quando a distribuição dos dados era não paramétrica recorremos ao teste de Friedman, realizado o post hoc de Bonferroni a posteriori através de testes de Wilcoxon. Quando obtivemos resultados significativos, recorremos ao cálculo do tamanho do efeito (effect size) dividindo o valor de z pela raiz quadrada do número de observações (N), considerando os valores de Cohen para um efeito pequeno, médio (0,3-0,5) ou largo.

10. Resultados

10.1. Caracterização dos esforços

Tabela 2. Caracterização da carga de treino em ambos os protocolos e comparação entre os protocolos dos valores médios de frequência cardíaca em cada exercício, da carga total de treino e dos resultados da escala de percepção subjetiva do esforço de Foster.

		P1	P2	% da FC máxima média		Wilcoxon das médias de FC <i>p</i>	Tempo na zona leve		Tempo na zona moderada		Carga		
		Média e Desvio Padrão	Média e Desvio Padrão	P1	P2		P1	P2	P1	P2	P1	P2	
Aquecimento	Média	134,7±20,70	136,8±14,39			0,724							
	Máxima	163,7±12,80	164,2±8,07	67	68	1	10	10	0	0	134	136	7
1º Exercício	Média	137,8±17,74	137,9±14,81			0,78							
	Máxima	170,6±9,31	167,1±12,36	68	68	0,284	15	15	0	0	206	206	8
2º e 3º exercício	Média	139±14,71	142,1±11,27			0,311							
	Máxima	167,6±7,75	171,3±9,75	69	70	0,173	35	35	0	0	486	497	5
Sprints	Média	149,3±18,07	153±9,35			0,489							
	Máxima	185,4±7,06	190,3±7,63	74	76	0,348	0	0	2	2	299	306	
4º Exercício	Média	140,7±11,41	145,1±8,41			0,196							
	Máxima	171,2±9,98	170,3±7,56	70	72	0,766	10	0	0	10	140	145	7
Jogo	Média	151,6±14,32	149,4±17,84			0,529							
	Máxima	183,1±9,28	182,5±12,60	75	74	0,766	0	0	35	35	530	523	5
Yoyo	Média	159,8±12,35	158,8±11,96			0,563							
	Máxima	188,6±8,21	189,1±4,28	79	79	0,759	0	0	10	10	709	711	
Escala de Foster		3,1±0,47	3,6±1,22			0,161							
Total do treino							70	60	47	57			
Carga total individual		16548 ± 1751,80	16643±1537,98			0,826							

Valores significativos: $p \leq 0,05^*$, $0,01^{**}$, $0,001^{***}$

Observando detalhadamente a Tabela 2, focando na frequência cardíaca dos diferentes exercícios, comparando com base nos dois protocolos, verifica-se que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os dois momentos.

Nos exercícios em geral, as frequências cardíacas médias andaram entre 64 e 76% da FCmax o que demonstra um treino maioritariamente aeróbio de intensidade leve a moderada e com alguns momentos vigorosos [A] tendo as atletas com o protocolo 2 passado mais tempo na zona moderada do que no protocolo 1 (57 vs 47 minutos).

Comparando as cargas totais individuais, entende-se que não houve diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,826$) com o teste de Wilcoxon, o que aponta que não houve diferença de carga total de treino entre os protocolos.

Relativamente aos valores referentes à Escala de Foster, constata-se que apesar dos valores serem superiores em P2 não há diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,161$) entre P1 e P2.

10.2. Comparação da performance

Tabela 3. Comparação dos níveis de performance anaeróbia e aeróbia nos dois protocolos.

	P1	P2	Wilcoxon <i>p</i>
Média de sprints repetidos (s)	4,6 ±0,28	4,7 ±0,27	0,048*
Tempo total de sprints (s)	27,6 ± 1,65	28,0 ±1,64	0,045*
Índice de fadiga nos sprints (%)	7,4 ± 3,0928	7,6 ± 2,8207	0,778
Yoyo IR1 (m)	500 ± 136,551	600 ± 235,078	0,346

Valores significativos: $p \leq 0,05^*$, $0,01^{**}$, $0,001^{***}$

No que diz respeito à Tabela 3, as atletas mostraram-se mais rápidas nos sprints repetidos com o protocolo 1, e isso pode ser observado no setor *Média de sprints repetidos* (4,6s vs 4,7s) e no setor *Tempo total de sprint* (27,6s vs 28s), verificando também que houve diferenças estatisticamente significativas entre os dois momentos ($p = 0,048$ e $p = 0,045$ respetivamente).

No índice de fadiga, respetivo aos sprints, não houve diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,778$) com 7,4% no protocolo 1 e 7,6% de fadiga no protocolo 2.

No YoYo IR1, embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa entre os dois momentos ($p = 0,346$), o protocolo P2 apresentou valores 20% superiores (600 ± 235,078) comparativamente com o P1 (500 ± 136,551).

10.3. Comparação de valores de POMS

Tabela 4. Comparação dos valores de POMS obtidos nos protocolos 1 e 2.

	P1 antes do treino	P2 antes do treino	P1 depois do treino	P2 depois do treino	P1 evolução no treino	P2 evolução no treino
Tensão	6,1± 4,17	4,8± 2,49	3,9±2,66	5,2±2,54		
Wilcoxon p		0,363		0,137		
Depressão	2,2±3,00	1,8±3,14	0,6±0,87	1,2±2,35		
Wilcoxon p		0,812		0,755		
Hostilidade	3,6± 5,39	2,1± 2,93	1,8±2,13	1,1±1,61		
Wilcoxon p		0,611		0,438		
Vigoroso	10,3±5,57	8,6±6,27	6,9±7,16	6,8±6,37	-3,4±3,99	-1,8±4,58
Wilcoxon p		0,293		0,929	0,504	
Fadiga	3,9±4,31	4,0±3,58	6,2±3,94	7,0±4,95	2,3±3,43	3,0±3,65
Wilcoxon p		0,528		0,264	0,420	
Confusão	6,2±2,34	6,7±2,18	6,0±2,24	6,6±2,43		
Wilcoxon p		0,307		0,135		
PTH	11,7± 11,25	10,7± 13,28	11,6±14,55	14,3±10,96	-0,08±10,73	3,6±12,43
Wilcoxon p		0,779		0,271	0,480	

Perturbação Total de Humor (PTH); Valores significativos: $p \leq 0,05^*$, $0,01^{**}$, $0,001^{***}$

Tendo em conta os questionários referentes ao Perfil de Estados de Humor respondidos pelas atletas antes do treino, os valores de perturbação total de humor (PTH) não apresentam diferenças estaticamente significativas ($p = 0,779$). Apesar de no geral não haver diferenças estaticamente significativas, as respostas das atletas apresentam médias mais baixas no protocolo 2 do que no protocolo 1 contribuindo para uma média mais baixa do PTH no protocolo 2 exceto na escala da fadiga e confusão.

Comparando os valores de POMS depois do treino, constata-se que no geral não houve diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) embora se consiga observar um aumento das médias na escala de tensão, depressão, fadiga e confusão no P2 colaborando para um aumento da média do PTH no protocolo 2. Relativamente ao setor das evoluções do treino com o protocolo 1 e com o protocolo 2, verifica-se que não há diferenças estatisticamente significativas nas escalas Vigoroso ($p = 0,504$), Fadiga ($p = 0,420$) e PTH ($p = 0,480$).

10.4. Comparação dos valores bioquímicos

Tabela 5. Evolução dos parâmetros bioquímicos IgA, α -amilase e cortisol no P1 e P2.

	Antes treino (A)	Depois treino (B)	1h depois treino C	Friedman <i>p</i> ou ANOVA F	AvsB <i>p</i> post hoc	BvsC <i>p</i> post hoc	AvsC <i>p</i> post hoc
IgA P1 (mg/L)	130,11±77,43	156,61±84,28	172,95±96,47	F=1,487 p=0,247	NS	NS	NS
IgA P2 (mg/L)	129,62±75,36	155,40±91,68	155,86±89,29	F=0,635 p=0,496	NS	NS	NS
Alfa amylase P1 (U/L)	30,53±20,75	46,37±35,66	46,04±41,18	p=0,05	p=0,046 ns Z=1,992 ES=0,39 medio	NS	NS
Alfa amylase P2 (U/L)	37,06±29,20	53,72±51,75	32,52±22,24	F=3,088 p=0,085	NS	NS	NS
Cortisol P1 (microg/dl)	0,089±0,035	0,090±0,051	0,077±0,0376	p=0,223	NS	NS	NS
Cortisol P2 (microg/dl)	0,094±0,05	0,113±0,08	0,084±0,04	p=0,395	NS	NS	NS

Friedman e ANOVA $p \leq 0,05$; Wilcoxon correção de Bonferroni $p \leq 0,017$; ES=Effect size

Na Tabela 5, nenhuma evolução significativa foi constatada nos parâmetros bioquímicos IgA, α -amilase e cortisol no P1 e P2. Apesar de se encontrar uma evolução significativa nos valores de α -amilase em P1 ($p = 0,05$), os valores significativos de $p = 0,046$, obtidos na comparação entre o antes e o imediatamente depois do treino, não permitiram atingir os valores exigidos pelo post hoc de Bonferroni para poderem ser considerados significativos.

Tabela 6. Comparação dos resultados bioquímicos entre P1 e P2.

	IgA P1 (mg/L)	IgA P2 (mg/L)	Alfa amylase P1 (U/L)	Alfa amylase P2 (U/L)	Cortisol P1 (microg/dl)	Cortisol P2 (microg/dl)
Pré treino						
(A)	130,11±77,43	129,62±75,36	30,53±20,75	37,06±29,20	0,089±0,035	0,094±0,05
Wilcoxon <i>p</i>	0,530		0,576		0,638	
Pós treino						
(B)	156,61±84,28	155,40±91,68	46,37±35,66	53,72±51,75	0,090±0,051	0,113±0,08
Wilcoxon <i>p</i>	0,917		0,778		0,177	
1h depois tr						
C	172,95±96,47	155,86±89,29	46,04±41,18	32,52±22,24	0,077±0,0376	0,084±0,04
Wilcoxon <i>p</i>	0,463		0,422		0,600	
Evolução						
A vs B	26,5±90,14	32,68±79,52	14,51±26,23	16,66±37	0,001±0,05	0,019±0,01
Wilcoxon <i>p</i>	0,583		0,675		0,397	
Evolução						
B vs C	16,35±113,07	-5,146±133,48	-0,328±29,24	-24,83±46,24	-0,014±0,03	-0,029±0,07
Wilcoxon <i>p</i>	0,583		0,133		0,331	
Evolução						
A vs C	42,85±74,23	27,85±103,26	15,34±27,64	-6,43±24,87	-0,012±0,04	-0,01±0,05
Wilcoxon <i>p</i>	0,424		0,060		0,826	

Valores significativos: $p \leq 0,05^*$, $0,01^{**}$, $0,001^{***}$

Focando na Tabela 6, nas amostras de saliva recolhidas, antes do treino, não encontramos diferenças significativas nos níveis de IgA, α -amilase, o Cortisol entre o protocolo 1 e ou protocolo 2, indicando que iniciaram em situações comparáveis em ambos os protocolos. Imediatamente pós treino e 1 h pós treino também não encontramos diferenças significativas entre os valores de IgA, α -amilase, cortisol obtidos em ambos os protocolos. Apesar das evoluções não serem significativamente diferentes entre P1 e P2, durante o treino, as IgA têm tendência a aumentar em ambos os protocolos e a seguir ao treino continua a aumentar no P1 enquanto diminui no P2, em ambos os protocolos, a α -amilase aumenta durante o treino e diminui uma hora após (sendo a diminuição mais acentuada no P2), e o cortisol aumenta durante o treino e diminui uma hora após em ambos os treinos.

10.5. Comparação valores de hidratação

Tabela 7. Evolução da osmolaridade e da taxa de produção da saliva no P1 e P2.

	Antes treino (A)	Depois treino (B)	1h depois treino (C)	Friedman F ou ANOVA p	AvsB p post hoc	BvsC p post hoc	AvsC p post hoc
Osmolaridade P1 (mosm/L)	64,1 ±11,11	67,7±14,64	67,6±13,88	F = 1,895 p = 0,176	NS	NS	NS
Osmolaridade P2 (mosm/L)	62,1±10,97	66,1±10,67	66,9±12,03	F= 2,862 p= 0,107	NS	NS	NS
Taxa produção saliva P1	500,1±210,73	584,5±295,71	795,8±258,54	p=0,001**	NS	NS	NS
Taxa produção saliva P2	604,2±320,18	531,7±259,06	706,1±218,54	p=0,135	NS	NS	NS

Friedman e ANOVA $p \leq 0,05$; Wilcoxon correção de Bonferroni $p \leq 0,017$; ES=Effect size

Não se verificaram valores significativos na evolução da osmolaridade ou da taxa de produção de saliva. Exceto na taxa de produção de saliva em P1 ($p = 0,001$), e onde os valores significativos de $p = 0,013$ e $p = 0,002$, respetivamente para a comparação entre o fim do treino e 1 h após e o início do treino e 1 h após, atingiram os valores exigidos pelo post hoc de Bonferroni para poderem ser considerados significativos. Os valores de ES foram respetivamente de 0,47 e de 0,60 e podem ser considerados de médio.

Tabela 8. Comparação dos diferentes parâmetros de hidratação entre P1 e P2 (osmolaridade, taxa de produção salivar, cor da urina)

	Osmolaridade (mosm/L) P1	Osmolaridade (mosm/L) P2	Taxa produção saliva P1	Taxa produção saliva P2	Cor urina P1	Cor urina P2
Antes do treino (A)	64,1 ±11,11	62,1±10,97	500,1±210,73	604,2±320,18	2,58±0,90	2,83±0,72
Wilcoxon						
<i>p</i>	0,345		0,470		0,527	
Depois do treino (B)	67,7±14,64	66,1±10,67	584,5±295,71	531,7±259,06		
Wilcoxon						
<i>p</i>	0,850		0,510			
1h depois do treino C	67,6±13,88	66,9±12,03	795,8±258,54	706,1±218,54		
Wilcoxon						
<i>p</i>	0,916		0,158			
Evolução AvsB	3,57±6,95	3,93±6,20	84,4±270,16	-72,5±268,35		
Wilcoxon						
<i>p</i>	0,401		0,158			
Evolução BvsC	-0,07±9,12	0,86±10,83	211,3±264,81	174,4±249,43		
Wilcoxon						
<i>p</i>	0,875		0,778			
Evolução AvsC	3,50±7,30	4,79±5,96	295,7±233,11	101,9±294,29		
Wilcoxon						
<i>p</i>	0,421		0,124			

Valores significativos: $p \leq 0,05^*$, $0,01^{**}$, $0,001^{***}$

Relativamente à Tabela 8, não encontramos diferenças significativas nos níveis de osmolaridade, taxa de produção de saliva, cor da urina entre o protocolo 1 e 2, antes ou imediatamente depois ou 1 hora depois do treino. Relativamente às evoluções dos valores de osmolaridade e taxa de produção de saliva nestes diferentes momentos não encontramos diferenças significativas entre os P1 e P2. Apenas podemos nos limitar a constatar que ambos os grupos se apresentaram em condições similares de hidratação no início dos protocolos, e que durante o treino a osmolaridade aumentou em ambos os grupos e 1 h após o fim diminuiu ligeiramente no P1 enquanto que aumentou no P2. A taxa de produção de saliva aumentou durante o treino no P1 enquanto que diminuiu no P2. No espaço de 1 h após o término do treino, a taxa de produção de saliva aumentou em ambos os grupos. Os valores da cor de urina indicam que os sujeitos iniciaram os treinos mais hidratados em P1, o que não é confirmado pelos valores basais de osmolaridade e de taxa de produção de urina.

10.6. Efeito do consumo de água no treino

Tabela 9. Comparação entre P1 e P2 do efeito do consumo de líquidos, fundamentado nos parâmetros da escala de SLIM, na evolução do peso, no peso antes do treino e na água ingerida durante o treino.

	Médias e DP	Wilcoxon p
Escala SLIM P1	12 ± 26,41	0,008**
Escala SLIM P2	44± 32,32	
Evolução do peso P1	0,05±0,31	0,062
Evolução do peso P2	0,27±0,27	
Peso antes do treino P1	65,01±10,28	0,123
Peso antes do treino P2	65,29±10,36	
Água bebida durante o treino P1	635,7±209,79	0,004**
Água bebida durante o treino P2	1002,9±213,34	

Valores significativos: $p \leq 0,05^*$, $0,01^{**}$, $0,001^{***}$

Na Tabela 9, observa-se de forma significativa um maior consumo de líquido ($p = 0,004$), e uns valores de SLIM (plenitude gástrica) maiores ($p = 0,008$) no P2 que no P1. Os valores de peso não são significativamente diferentes antes do treino e indicam que as jogadoras iniciaram os seus treinos em condições similares. Relativamente à evolução do peso, é de verificar que não houve diferenças significativas ($p = 0,062$) embora se consiga notar que no protocolo 2 houve um ligeiro aumento de 270 gramas contra apenas 5 gramas no protocolo 1.

Tabela 10. Correlações de Spearman influenciadas com a Escala de Saciedade na água ingerida durante o treino, na evolução do peso, no YoYo IR1, na média dos sprints e no índice de fadiga dos sprints, nos protocolos P1 e P2.

	Spearman		Spearman <i>p</i>
Escala SLIM P1	<i>p</i> = 0,643	Escala SLIM P2	<i>p</i> = 0,735
Água bebida durante o treino P1	<i>r</i> = -0,142	Água bebida durante o treino P2	<i>r</i> = -0,110
Escala SLIM P1	<i>p</i> = 0,002	Escala SLIM P2	<i>p</i> = 0,502
Evolução peso P1	<i>r</i> = 0,996	Evolução peso P2	<i>r</i> = -0,215
Escala SLIM P1	<i>p</i> = 0,226	Escala SLIM P2	<i>p</i> = 0,090
YoYo P1	<i>r</i> = 0,361	YoYo P2	<i>r</i> = -0,510
Escala SLIM P1	<i>p</i> = 0,016	Escala SLIM P2	<i>p</i> = 0,085
Media Sprints P1	<i>r</i> = 0,652	Media Sprints P2	<i>r</i> = 0,518
Escala SLIM P1	<i>p</i> = 0,760	Escala SLIM P2	<i>p</i> = 0,323
Índice fadiga Sprints P1	<i>r</i> = 0,094	Índice fadiga Sprints P2	<i>r</i> = 0,312

Valores significativos: $p \leq 0,05^*$, $0,01^{**}$, $0,001^{***}$

Na Tabela 10, procurando evidenciar algumas relações entre os valores da escala de saciedade (SLIM) e outros parâmetros estudados, apenas encontramos uma correlação significativa ($p = 0,016$, $r = 0,652$ entre os valores de SLIM e a média dos sprints no P1. Sendo a relação positiva, significa que quando o desconforto gástrico aumenta, o tempo de sprint tende a aumentar.

Não houve nenhuma relação significativa encontrada entre os valores de SLIM e a quantidade de água bebida durante o treino, nem no P2, nem no P1.

10.7. Fator nutricional

Tabela 11. Resultado dos diários nutricionais das atletas

Dias de treinos sem protocolos	
	Média e Desvio Padrão
Kcal totais	2317±409,82
Proteínas/kg	1,7±0,50
HC/kg	4,43±1,26
Água (ml)	2083±676,18

Observando atentadamente a Tabela 11, verificamos que os diário das atletas revelam que consomem quantidade de energia suscetível para satisfazer as suas necessidades energéticas calculadas em função da fórmula de Harris Benedict. O consumo de proteínas das jogadoras atinge em média 1,7 g/ kg de massa corporal o que está um pouco abaixo do que se poderia esperar em desportistas. O consumo de hidratos em média foi de 4,43 g/kg mostrando-se abaixo do indicado a ser ingerido por atletas. A ingestão média diária de água é de 2083 ml o que se encontra no limite baixo do razoável para desportistas.

Tabela 12. Comparação entre as proteínas, os hidratos de carbono (HC) e entre a água

	Média e Desvio Padrão	Wilcoxon
Kcal totais consumidas antes do treino P1	782,53±306,09	0,534
Kcal totais consumidas antes do treino P2	695,10±311,16	
Proteína/kg antes do treino P1	0,683±0,220	0,041
Proteína/kg antes do treino P2	0,450±0,203	
CHO/kg antes do treino P1	1,07±0,46	0,859
CHO/kg antes do treino P2	1,16±0,515	
Água ingerida antes do treino P1 (ml)	257,97±136,77	0,091
Água ingerida antes do treino P2 (ml)	403,87±249,18	

ingeridos antes do treino com base no protocolo 1 e protocolo 2.

Valores significativos: $p \leq 0,05^*$, $0,01^{**}$, $0,001^{***}$

A Tabela 12 representa a comparação entre os protocolos 1 e 2 do consumo nutricional das atletas entre o almoço e o início dos seus treinos, evidenciando apenas diferenças significativas de consumo de proteínas, os HC e tendo sido similares com ligeiramente mais água no P2.

Tabela 13. Resultados do questionário entregue à Federação de Andebol de Portugal.

	Sim	Não
Come durante o treino?		26
Bebe durante o treino?	24	2
Come antes do treino?	25	1
Come ou bebe depois do treino?	11	15
Toma de medicação	6	20
Toma de suplementação	9	17
	Média	Desvio Padrão
Quantos treinos semanais?	5,5	1,503
Duração dos treinos	1,6	0,349
Quantidade que bebe durante o treino	992,92	459,333
Idade	16,92	0,744
	Normal	Vegetarianismo algumas vezes
Tipo de dieta	24	2
	1ª Divisão	2ª Divisão
Divisão	17	9
	Frequência	
Escalão		
Sub 20 e superiores	11	
Sub 17, sub 20 e seniores	5	
Seniores	6	
Sub 18 e seniores	1	
Juvenil, juniores e seniores	1	
Juvenis e seniores	1	
Sub 17 e seniores	1	
Posição		
Guarda redes	5	
Pivô	4	
Central e ponta esquerda	2	
Central	2	
Ponta esquerda	2	
Ponta direita	1	
Lateral direita	3	
Lateral esquerda	2	
Lateral direita e ponta direita	2	
Lateral esquerda e ponta esquerda	3	

Valores significativos: $p \leq 0,05^*$, $0,01^{**}$, $0,001^{***}$

Observando detalhadamente a Tabela 13, verificamos que cada parâmetro dos resultados obtidos através do questionário da FAP, nenhuma atleta tem hábito de comer durante o treino. O consumo de líquido é positivo sendo apenas duas atletas não têm esse hábito e a média de consumo é de 992 ml considerando que o que bebem durante o treino é somente água. A maior parte tem hábito de consumir algo antes do treino, variando entre peças de frutas, sandes e panquecas de aveia. As atletas que assinalaram positivamente a toma de medicação, deram indicação que a mesma é apenas direcionada para a pílula e tratamento da acne. Relativamente à suplementação, verificamos a maior parte não toma, contudo o hábito de consumo das restantes varia entre proteína, creatina, vitaminas e iso, pré treino e competição e pós treino e competição. A maioria tende a optar por uma dieta normal.

1. Discussão

Está demonstrado que os regimes alimentares de treino que aumentam o teor de glicogénio muscular pré-exercício irão beneficiar a performance desportiva. Uma vez que a fadiga está associada a um esgotamento de glicogénio muscular, é aconselhado em certas atividades de alta intensidade superiores a 80min, realizarem uma supercompensação do glicogénio muscular ^[67,68].

Os desportos coletivos em parte caracterizam-se por explosões intermitentes de exercício de alta intensidade e requerem a execução de capacidades desportivas específicas complexas e tarefas cognitivas durante um longo período de tempo, aproximadamente 1h a 2h ^[69]. Em virtude das exigências fisiológicas dos desportos intermitentes, a fadiga manifesta-se em momento diferentes potenciando assim consequências nos mecanismos. O efeito ergogénico da ingestão de hidratos de carbono em exercícios de alta intensidade e de duração relativamente curta pode ser mediado por meio da ativação de vias cerebrais relacionadas à recompensa e motivação em resposta ao reconhecimento dos hidratos de carbono ^[69].

Segundo um estudo feito por Rollo et al. ^[70], demonstra que o enxaguamento bucal com 10% de uma solução de Maltodextrina potenciou um aumento na velocidade da corrida e uma melhoria de 86% no sprint nas fases finais do treino comparativamente com o enxaguamento bucal com placebo. Nos nossos resultados embora não haja diferenças significativas, as médias das frequências cardíacas e as % da FC máxima média de cada exercício demonstram um ligeiro aumento com a ingestão de hidratos de carbono.

Um estudo realizado por Maughan et al. ^[67] constata que houve uma melhoria no tempo de exaustão numa prova de ciclismo após uma dieta de 3 dias com a ingestão de hidratos de carbono (>65%) comparativamente a uma dieta com baixo consumo (<10%). Tendo em conta esse testemunho, o impacto dos hidratos de carbono na performance das atletas foi evidente particularmente no fim do treino, a pretexto de uma melhor hidratação e da presença de hidratos tal como é evidenciado no estudo de Rollo et al. ^[70]. O que tem tendência a acontecer no nosso estudo onde se nota, com uma maior hidratação e presença de Maltodextrina, um maior desempenho cardíaco na segunda metade do treino e um melhor desempenho no teste final de treino com frequências cardíacas similares à situação sem HC.

Segundo Lindsay et al. ^[69], a fadiga que os atletas sentem durante os períodos mais intensos no treino/competição está associado a esforços repetidos com pouco tempo de recuperação (aproximadamente 30 segundos). Lindsay et al. ^[69] explicam que em situações de elevado gasto energético anaeróbio, há uma acumulação intramuscular de iões de hidrogénio e de fosfato inorgânico, tal como na despolarização do potencial da membrana de repouso. Esse último fator, foi relatado como sendo um resultado da perturbação na homeostasia muscular. Este facto pode muito bem explicar o porquê de os tempos médios e tempos totais de sprint terem sido significativamente superiores no protocolo 2. Para além de sentirem um maior desconforto gastrointestinal devido ao líquido consumido, o tempo de descanso entre os seis sprints foi apenas de 20 segundos. Também não será de descartar a eventual influência do peso nos tempos de sprints tendo as jogadoras bebido mais no protocolo 2. Ralph et al. ^[71] apresentam estudos que confirmam que em desportos coletivos, a ingestão de hidratos de carbono aumentou o tempo gasto nas velocidades máximas e também a relação entre os golos sofridos durante os jogos de futebol. O facto de isto não acontecer com os sprints repetidos no nosso estudo pode ser devido também ao facto de terem sido realizados na primeira parte do treino onde os efeitos da falta de HC e líquidos não teria sido suficiente para diferenciar a performance das jogadoras entre o protocolo 1 e 2. É mencionado na literatura que uma ingestão de hidratos de carbono (30 a 80 g/h) durante o exercício beneficia a capacidade do exercício intermitente de alta intensidade ^[69]. Bem que não significativos, os resultados do nosso estudo apontam no mesmo sentido na segunda parte do treino onde com HC, dentro destas recomendações no protocolo 2, houve um melhor desempenho e economia cardíaca e uma maior performance no teste final. Os resultados na escala de perceção subjetiva de esforço de Foster e no POMS, também apontam nesta direção para a globalidade do treino. Verifica-se, maioritariamente, que o treino teve um maior impacto sobre as jogadoras no protocolo 2 do que no protocolo 1, devido essencialmente a uma maior acumulação de fadiga associada a repercussões negativas sobre o estado de humor. Contudo, o parâmetro “Vigoroso” foi mais preservado no protocolo 2 que no 1, apontando para uma maior preservação sobre o efeito da melhor hidratação e da presença de HC durante o treino. Ralph et al. ^[71] realizaram um estudo onde examinaram o efeito da ingestão de hidratos de carbono e eletrólitos na função física e mental correlacionada com o exercício de alta intensidade. O que se verificou foi uma melhoria na performance desportiva com a ingestão de hidratos. Os mesmos autores explicam que todos os sujeitos que ingeriram hidratos de

carbono tiveram melhorias e que o tempo médio de corrida de 20m melhorou aproximadamente 14% no quarto trimestre do treino, quase no fim. Tal como no nosso estudo, estes autores recorreram ao uso do teste de Perfil dos Estados de Humor (POMS) baseando nas componentes fadiga, tensão, depressão, raiva, confusão e vigoroso. Na análise dessas componentes foi revelado um efeito temporal global semelhante tanto para o vigor ($p=0,01$) como para a fadiga ($p=0,0001$) apresentando um maior estado de humor negativo (valores do vigoroso diminuiriam e os de fadiga aumentaram) ^[71]. Embora não tenhamos obtido resultados significativos, no nosso estudo, podemos sempre verificar um aumento, embora ligeira, entre a evolução do treino P1 e a evolução do treino P2 verificando no parâmetro vigoroso (P1 $p=-3,4$; P2 $p=-1,8$), de fadiga (P1 $p=2,3$; P2 $p=3$) e no PTH (P1 $p=-0,08$; P2 $p=3,6$), muito possivelmente por terem realizado o treino sob o protocolo 2 com mais intensidade.

Estudos verificam efeitos diferenciais do exercício no fluxo de saliva, sendo alguns sem alteração ou com um decréscimo no fluxo após o exercício ^[71]. O fluxo de saliva está sob o controlo autónomo, e o conceito tradicional era que o durante o exercício físico, o aumento da atividade do sistema nervoso simpático (SNS) afetava os vasos sanguíneos que forneciam as glândulas salivares, diminuindo assim o fluxo salivar ^[71]. Matthew et al. ^[71] constatam que agora a taxa de fluxo salivar diminui devido aos fatores de stress, como por exemplo, o exercício. Tal como Shirreffs ^[73] e outros autores afirmam, um défice de água corporal de 2-3 % do total de água corporal proporciona um efeito negativo no desempenho físico, bem como na saúde em geral. As alterações da massa corporal durante o exercício costumam geralmente ser consequências de uma perda de água corporal sob a forma de suor, respiratória e devido a uma oxidação do substrato relativamente pequenas ^[73]. Shirreffs ^[73] explica o impacto de uma má hidratação, sendo que uma alteração de 1g de massa corporal corresponde a uma mudança de 1ml no estado de água. A incorporação de hidratos na bebida tem um papel fundamental e benéfico durante os exercícios de alta intensidade com uma duração igual ou superior a uma hora ^[12]. Segundo a posição de ACSM ^[13], a recomendação de líquido a ingerir, respeitando a tolerância do estômago, varia entre 400 ml – 600 ml por hora, de tal modo que no nosso estudo respeitámos essa norma no protocolo 2, utilizando para o treino inteiro (2h) uma ingestão individual de 1200 ml. Para além disso, Convertino et al. ^[13] recomenda que a ingestão deve ser feita em intervalos regulares, numa tentativa de se conseguir substituir toda a água perdida no suor. Nos nossos resultados apenas podemos nos limitar a constatar que ambos os grupos se apresentaram em condições similares de

hidratação no início dos protocolos, os valores de cor da urina indicam que os sujeitos iniciaram os treinos mais hidratados em P1, o que não é confirmado pelos valores basais de osmolaridade e de taxa de produção de urina. No início de cada treino as atletas iniciaram nas mesmas condições de hidratação e de fornecimento em HC nas horas prévias, condições que não foram suscetíveis de ter impacto positivo sobre a performance durante os treinos. A última refeição tomada 3-4 horas antes de um esforço (treino, competição) e rica em HC (3-4 gramas de HC por kg de peso corporal), tem o potencial de contribuir para uma melhoria do rendimento desportivo ^[4,7,16], segundo as nossas avaliações, em ambos os protocolos a jogadores consumiram quantidade equivalentes bastantes inferiores de a volta de 1 grama de HC por kg de peso corporal, impossibilitando qualquer efeito sobre a performance durante os treinos. Acrescentamos que os níveis de consumo de líquidos apresentados, foram compatíveis com as recomendações de 5-7 ml de líquidos por kg de peso corporal nas últimas 2-4 horas antes do esforço para otimizar o estado de hidratação pré exercício ^[23], indicando que as atletas poderão ter iniciadas os seus treinos em estado normo hidratado, o que os valores de osmolaridade tendam a confirmar. Se as atletas tivesse ido para o treino P2 mais hidratadas, possivelmente poderia vir a influenciar as sensações na Escala de SLIM e particularmente na performance no início do treino. No treino sob o P2, observámos que seis atletas conseguiram beber o estipulado, 1200 ml, sete atletas ingeriram entre 900 a 1000 ml e apenas uma atleta conseguiu beber 400 ml. É de salientar que esta mesma atleta saiu-se prejudicada no YoYo IR1 devido à sua desidratação. É pertinente referir o facto de a escala de SLIM ter evidenciado um aumento significativo do P1 para o P2 mostrando, eventualmente, que as atletas tenham sentido um pouco mais cheias gastricamente levando a um esforço mais elevado no P2. Vale evidenciar que as atletas não tinham bons hábitos de hidratação durante o treino sendo que a maior parte ingere entre 500ml a 900ml o que pode possivelmente justificar o facto de se sentirem mais cheias com a bebida devido à falta de hábito. Todavia, evidenciou-se através da correlação de Spearman que não houve relações significativas entre a quantidade de água bebida e os resultados de conforto gástrico ligados à escala de SLIM, deixando supor que no P2, as quantidades acrescidas de água ingeridas durante o treino, pode não ter tido influência sobre os fatores da performance dos sprints e do YoYo IR1. O peso durante o treino e a proximidade do início do treino talvez tenham tido mais influência sobre os resultados.

A osmolaridade aumentou durante o treino em ambos os protocolos e na hora a seguir diminuiu ligeiramente no P1 enquanto que aumentou no P2. Paradoxalmente, a taxa de produção de saliva aumentou durante o treino no P1 enquanto que no P2 diminuiu e, no espaço de 1h após o término do treino aumentou em ambos os protocolos. A taxa de produção de saliva aumenta de forma significativa no P1 no final do treino e no período de 1h após o fim do treino. De acordo com a literatura, com a intensidade do exercício, o fluxo salivar diminui, aumentando, dessa forma, a osmolaridade salivar ^[48]. Uma possível explicação para estes fenómenos é que no protocolo 1 as jogadoras tendo bebido menos que as no protocolo 2, no final do treino e no período pós treino poderiam ter tido maior tendência de beber, se repercutindo sobre os valores do fluxo salivar. A osmolaridade da saliva tendo apresentado um padrão que aponta para uma ligeira desidratação durante o treino com um aumento de $3,57 \pm 6,95$ no P1 e $3,93 \pm 6,20$ no P2, não confirmada pela evolução do peso durante o treino que se manteve no P1 e aumentou ligeiramente no P2. Relativamente à evolução do peso durante o treino, possivelmente, ao facto da transpiração acumulada nas roupas das atletas durante as pesagens, não permitiu detetar perdas efetivas de transpiração.

Bishop et al. ^[67] relataram estudos onde em exercícios prolongados e exercícios na passadeira rolante, houve benefícios com o aumento da disponibilidade de hidratos de carbono no sistema imunitário. Provas científicas mostram que a função imunológica é temporariamente suprimida pelo exercício físico, contudo, muitos desses efeitos imunossupressores acabam por serem reduzidos pela ingestão regular de uma bebida de hidratos de carbono durante o exercício e na recuperação ^[68]. É ainda demonstrado que o efeito dos hidratos de carbono na resposta imunitária durante o exercício prolongado pode ser atribuído uma atenuação da resposta do cortisol ao exercício, em consequência da manutenção dos níveis de glucose plasmática, e por este possuir uma série de efeitos perniciosos quase em todas as componentes das respostas imunitárias e inflamatórias nos seres humanos ^[68]. Contrariando esses estudos, os nossos resultados não revelaram diferenças estatisticamente significativas possivelmente devido a diversos fatores, temperatura do pavilhão, as atletas respirarem pela boca levando a uma perda evaporativa de água de saliva ao longo do exercício intenso ^[73]. Durante os nossos treinos, a IgA teve tendência a aumentar e depois do treino aumentou no P1 enquanto que diminuiu no P2, visto o treino ter sido de média intensidade, parece normal ter havido um aumento depois do treino. O facto de ter recebido HC durante o treino no P2 pode ter contribuído para uma recuperação mais rápida nos níveis de IgA.

Relativamente à α -amilase, em ambos os protocolos, durante o treino houve uma tendência ao aumento. Seguido de uma diminuição mais pronunciada no P2 que no P1, o consumo de HC teve o potencial de favorecer a recuperação dos níveis iniciais. Um fator muito importante a ter em conta é que o sistema nervoso parassimpático (SNP) tem um papel fundamental na secreção da α -amilase proporcionando o seu aumento, por um outro lado, o sistema nervoso simpático resulta da inibição do SNP, provocando uma redução na taxa de fluxo salivar e da produção de α -amilase ^[42]. Qual pode ter sido o papel do exercício intenso e adrenérgico realizados em particular no final e logo após os treinos sobre a diminuição de α -amilase ocorrida entre os níveis finais e 1h após o exercício? Para além destes fatores, a ação de mastigação pode também ter grande implicância nos valores de α -amilase, isto porque as glândulas salivares contribuem para o conteúdo de proteínas salivares encaminhando à produção de α -amilase, estando sujeitas a respostas variadas a uma estimulação mecânica, ou seja, a mastigação. Esta ação altera o equilíbrio da secreção glandular submandibular (concentração modesta de α -amilase) para a secreção glandular parotídea (elevado conteúdo de α -amilase) que não depende do SNS ^[42]. Durante os treinos, os níveis de cortisol mostraram aumentos ligeiramente superiores no P2, seguidos de uma diminuição. Existe sempre um aumento do início do treino para o fim seguido de uma descida nos valores do cortisol, de uma forma mais pronunciada quando ocorre um stress intenso, neste caso, o exercício de alta intensidade. Não apresentando diferenças significativas, o nosso estudo apresenta um comportamento normal do cortisol mostrando uma possível resposta ao exercício, mas como referido na literatura, estudos ainda são necessários para se concluir que o cortisol altera significativamente com exercícios intensos >1h, uma vez que apenas encontramos testemunhos relatando a existência de diferenças significativas nos níveis de cortisol em exercícios de alta intensidade nos 40 minutos de exercício ^[44]. O fato de terem consumido HC não parece ter tido influência diferenciadora sobre os resultados de cortisol. Para um bom desempenho atlético, uma dieta equilibrada e ajustada de forma ótima, pode garantir uma boa eficiência corporal durante o treino e a competição ^[75]. Dobrowolski et al ^[75,76], afirmam que segundo as recomendações do American College of Sport Medicine (2016) e da Academy of Nutrition and Dietetics, as necessidades de HC são de 3-5g HC/kg/dia; para exercício físico moderado (aproximadamente 1h/dia) são 5-7g HC/kg/dia; para exercício de resistência (1-3h/dia de exercício moderado a alta intensidade), são 6-10g HC/kg/dia; e para exercício físico vigoroso (> 4-5 h/dia de exercício moderado a alta intensidade) são 8-12g HC/kg/dia. Segundo a análise

minuciosa nos diários nutricionais requisitados às atletas, obtivemos, em geral, valores que não se revelaram diferentemente significativos. Como a maior parte das atletas apenas realiza os treinos de andebol, terão um gasto energético de 2h três vezes por semana, o que as faz ficar incluídas numa ingestão de hidratos de carbono aproximadamente de 5-7g HC/kg. Verificamos na Tabela 11 houve, em média, uma ingestão de hidratos, 4,43g/kg, abaixo do indicado. Catarina et al., ^[76] demonstra, baseando-se nas diretrizes desportivas, que a ingestão de proteínas deve situar-se entre 1,2 – 2,1 g/kg/dia e o que podemos verificar na Tabela 11 foi um consumo ótimo das atletas 1,7 g/kg. Verificamos que em média a ingestão de líquidos foi de 2083ml, mostrando níveis de desidratação um hábito fulcral a ser melhorado para o bem da performance e saúde de cada atleta.

2. Conclusão

Confirmamos a nossa hipótese de que a alimentação dos jogadores de andebol de nível nacional sénior antes e durante o treino não corresponde aos padrões desejáveis para um ótimo rendimento nos treinos essencialmente por uma falta de consumo de HC antes do treino e por apenas beber água e de forma insuficiente durante o treino. Tendo as jogadoras tendência a beber a partir do final do treino e depois de compensar com grande quantidade de água após o treino.

Os resultados do nosso estudo experimental indicam que apenas uma mudança no sentido de melhorar as quantidades de líquidos e a introdução de HC (Maltodextrina) na bebida, seria suficiente para provocar melhoria de rendimento e de performance física e mental, particularmente na segunda parte dos treinos, com uma capacidade de poupança cardíaca em exercício final intenso sem prejudicar a performance.

Existem indícios de que estas pequenas modificações dos padrões nutricionais durante o treino os pudessem contribuir para melhorias de fatores bioquímicos indicadores do sistema inflamatório (IgA), do stress (α -amílase), e do metabolismo (cortisol), tendo potencial de incidir sobre a recuperação pós exercício.

A osmolaridade tem se revelado um indicador mais interessante dos níveis de hidratação que a taxa de produção de saliva, a cor da urina e a pesagem.

A análise da sensação de saciedade (SLIM), revela que algumas jogadoras podem ser mais sensíveis às mudanças de quantidade de bebidas ingeridas durante o treino e necessitariam de uma adaptação mais progressiva. Todavia na esmagadora maioria das atletas do nosso estudo, apostar sobre 400 a 600 ml por hora de uma bebida a 6% de malto dextrina (HC), como tem sido recomendado na literatura, tem sido uma escolha acertada. Poderia servir como base de recomendação para uma melhoria da qualidade dos treinos de Andebol feminino ao longo da época desportiva e para uma melhoria substancial dos resultados desportivos a longo prazo.

Conseguimos evidenciar que pode existir um consumo insuficiente de HC nas últimas horas antes do treino, e que assim se perde a oportunidade de um impacto ainda maior sobre o rendimento do treino. Esta constatação poderá servir de base a elaboração de estudos futuros.

Elaborámos um protocolo para poder medir vários atletas ao mesmo tempo no teste de sprint repetido, sendo a reprodutividade intra e interindividual muito boa, contudo ainda

necessita de uma validação, e poderá no futuro se revelar bastante útil para os treinadores e no quadro de pesquisas.

3. Limitações do Estudo e perspectivas para estudos futuros

O estudo em causa merece um maior aprofundamento científico, especialmente no parâmetro de nutrição. No nosso caso, suspeitamos que o facto de termos uma amostra reduzida ($N = 14$) possa ter limitado os nossos valores. O facto de não termos realizado um prévio hábito de ingestão adequada de líquidos possa, em parte, ter influenciado, especial no que concerne ao desconforto gástrico. Para além dessa adaptação prévia, recomendamos que haja uma análise mais minuciosa acerca da alimentação nas horas antes do treino e verificar qual o efeito de uma alimentação adequada desse espaço de tempo na performance desportiva, mais concretamente, o consumo adequado de HC antes do treino. Treinos no exterior poderão também ser uma possibilidade futura recorrendo ao manuseamento de GPS de forma a obter dados de distâncias mais concretos e sobretudo, ser uma possível ação a facilitar relativamente à temperatura ambiente, considerando que o pavilhão propende a criar o “efeito de estufa”.

4. Bibliografia

- [1] Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and athletic performance. (2000). *Journal of the American Dietetic Association*, 100(12), 1543–1556.
- [2] Belski, R., Forsyth, A., Mantzioris, E. (2019). *Nutrition, For Sport, Exercise And Performance. A practical guide for students, sports enthusiasts and professionals*. Allen & Unwin: Australia. ISBN 978 1 76029 749 7.
- [3] Jäger, R., Kerksick, C., Campbell, B., Cribb, P., Wells, S., Skwiat, T., Purpura, M., Ziegenfuss, T., Ferrando, A., Arent, S., Smith-Ryan, A., Stout, J., Arciero, P., Ormsbee, M., Taylor, L., Wilborn, C., Kalman, D., Kreider, R., Willoughby, D., Hoffman, J., Antonio, J. (2017). International Society of Sports Nutrition Position Stand: protein and exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 14, 20.
- [4] Potgieter, S. Sport nutrition: A review of the latest guidelines for exercise and sport nutrition from the American College of Sport Nutrition, the International Olympic Committee and the International Society for Sports Nutrition. (2013). *South African Journal of Clinical Nutrition*, 26(1), 6-16.
- [5] Tipton, K., Jeukendrup, A., Hespel, P., International Association of Athletics Federations (2007). Nutrition for the sprinter. *Journal of sports sciences*, 25 Suppl 1, S5–S15.
- [6] Stellingwerff, T., Boit, M., Res, P., International Association of Athletics Federations (2007). Nutritional strategies to optimize training and racing in middle-distance athletes. *Journal of sports sciences*, 25 Suppl 1, S17–S28.
- [7] Kerksick, C., Wilborn, C., Roberts, M., Smith-Ryan, A., Kleiner, S., Jäger, R., Collins, R., Cooke, M., Davis, J., Galvan, E., Greenwood, M., Lowery, L., Wildman, R., Antonio, J., Kreider, R. (2018). ISSN exercise & sports nutrition review update: research & recommendations. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 15(1), 38.
- [8] Burke L., Hawley J., Wong S., Jeukendrup A. (2011). Carbohydrates for training and competition. *J Sports Sci*;29 Suppl 1:S17-27.
- [9] Ormsbee, M., Bach, C., Baur, D. (2014). Pre-exercise nutrition: the role of macronutrients, modified starches and supplements on metabolism and endurance performance. *Nutrients*, 6(5), 1782–1808.

- [10] Burke, L., Ross, M., Garvican-Lewis, L., Welvaert, M., Heikura, I., Forbes, S., Mirtschin, J., Cato, L., Strobel, N., Sharma, A., Hawley, J. (2017). Low carbohydrate, high fat diet impairs exercise economy and negates the performance benefit from intensified training in elite race walkers. *The Journal of physiology*, 595(9), 2785–2807.
- [11] Kerksick C., Arent S., Schoenfeld B., Stout J., Campbell B., Wilborn C., Taylor L., Kalman D., Smith-Ryan A., Kreider R., Willoughby D., Arciero P., VanDusseldorp T., Ormsbee M., Wildman R., Greenwood M., Ziegenfuss T., Aragon A., Antonio J. (2017). International Society Of Sports Nutrition Position Stand: Nutrient Timing. *J Int Soc Sports Nutr.*;14:33.
- [12] Jeukendrup A., (2017) Periodized Nutrition for Athletes. *Sports Med.* ;47 (Suppl 1):51-63.
- [13] American College of Sports Medicine, Sawka, M., Burke, L., Eichner, E., Maughan, R., Montain, S., Stachenfeld, N. (2007). American College of Sports Medicine position stand. Exercise and fluid replacement. *Medicine and science in sports and exercise*, 39(2), 377–390.
- [14] McDermott, B., Anderson, S., Armstrong, L., Casa, D., Chevront, S., Cooper, L., Kenney, W., O'Connor, F., Roberts, W. (2017). National Athletic Trainers' Association Position Statement: Fluid Replacement for the Physically Active. *Journal Of Athletic Training*, 52(9), 877–895.
- [15] Achten, J., Halson, S., Moseley, L., Rayson, M., Casey, A., Jeukendrup, A. (2004). Higher dietary carbohydrate content during intensified running training results in better maintenance of performance and mood state. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 96(4), 1331–1340.
- [16] Sherman, W., Brodowicz, G., Wright, D., Allen, W., Simonsen, J., Dernbach, A. (1989). Effects of 4 h preexercise carbohydrate feedings on cycling performance. *Medicine and science in sports and exercise*, 21(5), 598–604.
- [17] Williams, C., Serratos, L. (2006). Nutrition on match day. *Journal Of Sports Sciences*, 24(7), 687–697.
- [18] Coggan, A., Coyle, E. (1991). Carbohydrate ingestion during prolonged exercise: effects on metabolism and performance. *Exercise and sport sciences reviews*, 19, 1–40.
- [19] American Dietetic Association, Dietitians of Canada, American College of Sports Medicine, Rodriguez, N., Di Marco, N., Langley, S. (2009). American College of Sports Medicine position stand. Nutrition and athletic performance. *Medicine and science in sports and exercise*, 41(3), 709–731.

- [20] Thomas D., Erdman K., Burke L. (Position of the Academy of Nutrition and Dietetics, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. *J Acad Nutr Diet.* 116(3):501-528.
- [21] Molina-López, J., Planells, E. (2018). Nutrition and Hydration for Handball. In: Laver, L., Landreau, P., Seil, R., Popovic, N. (eds) *Handball Sports Medicine*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- [22] Mujika, I., Burke, L. (2010). Nutrition in team sports. *Annals of nutrition & metabolism*, 57 Suppl 2, 26–35.
- [23] Collins, J., Maughan, R., Gleeson, M., Bilborough, J., Jeukendrup, A., Morton, J., Phillips, S., Armstrong, L., Burke, L., Close, G., Duffield, R., Larson-Meyer, E., Louis, J., Medina, D., Meyer, F., Rollo, I., Sundgot-Borgen, J., Wall, B., Boulosa, B., Dupont, G., McCall, A. (2021). UEFA expert group statement on nutrition in elite football. Current evidence to inform practical recommendations and guide future research. *British Journal Of Sports Medicine*, 55(8), 416.
- [24] Hermassi, S., Hoffmeyer, B., Irlenbusch, L., Fieseler, G., Noack, F., Delank, K., Gabbett, T., Souhail, C., Schwesig, R. (2018). Relationship between the Handball-Specific Complex-Test and Intermittent Field Test performance in professional players. *J Sports Med Phys Fitness.*;58(1-2):8-16.
- [25] Beelen M, Cermak† N., Loon L. (2015). Koolhydraatname tijdens en na intensieve inspanning. *NED TIJDSCHR GENEESKD.* ;159: A7465.
- [26] Souhail,H., Castagna, C., Mohamed, H., Younes, H., Chamari, K. (2010). Direct validity of the yo-yo intermittent recovery test in young team handball players. *J Strength Cond Res.*24(2):465-70.
- [27] Spencer, M., Bishop, D., Dawson, B., Goodman, C. (2005). Physiological and metabolic responses of repeated-sprint activities: specific to field-based team sports. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, 35(12), 1025–1044.
- [28] Girard, O., Mendez-Villanueva, A., Bishop, D. (2011). Repeated-sprint ability - part I: factors contributing to fatigue. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, 41(8), 673–694.
- [29] Charron, J., Garcia, J., Roy, P., Ferland, P., Comtois, A. (2020). Physiological Responses to Repeated Running Sprint Ability Tests: A Systematic Review. *International Journal Of Exercise Science*, 13(4), 1190–1205.
- [30] *S Afr J Clin Nutr.* (2013). Sport nutrition: A review of the latest guidelines for exercise and sport nutrition from the American College of Sport Nutrition, the

International Olympic Committee and the International Society for Sports Nutrition.26(1):6-16.

[31] Jeukendrup, A. (2014). A step towards personalized sports nutrition: carbohydrate intake during exercise. *Sports Med.* 44 Suppl 1(Suppl 1):S25-33.

[32] Maughan, R., Burke, L., Dvorak, J., Larson-Meyer, D., Peeling, P., Phillips, S., Rawson, E., Walsh, N., Garthe, I., Geyer, H., Meeusen, R., Loon, L., Shirreffs, S., Spriet, L., Stuart, M., Vernece, A., Currell, K., Ali, V., Budgett, R., Ljungqvist, A., Mountjoy, M., Pitsiladis, Y., Soligard, T., Erdener, U., Engebretsen, L. (2018). IOC consensus statement: dietary supplements and the high-performance athlete. *Br J Sports Med.* 52(7):439-455.

[33] Cermak, N., Loon, L. (2013). The use of carbohydrates during exercise as an ergogenic aid. *Sports Med.* 43(11):1139-55.

[34] Mendes, G., Souza, I., Trindade, J., Neris, K., Helena, K., Prado, T., Lindenberg M. (2016). Conhecimento sobre hidratação de atletas de andebol masculino. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, São Paulo.* v. 10. n. 56. p.230-240.

[35] Santos A., Teixeira, V. (2010). Exercício e Hidratação, *Rev Medic Desp in forma,* 1 (4), pp.13-15.

[36] Convertino V., Armstrong L., Coyle E., Mack G., Sawka M., Senay L. Jr, Sherman WM. (1996). American College of Sports Medicine position stand. Exercise and fluid replacement. *Med Sci Sports Exerc.* (1):i-vii.

[37] Rosa, G., Silveira, V., Salum, A., Faustino, G. (2019). Estratégias de hidratação durante a prática de exercícios físicos: Ingestão de líquidos planejada e ad libitum. DOI: 10.32809/2176-4522.42.77.01.

[38] Santana, T., de Mello, D., Alias, A., Maia Junior, J., Mainenti, M. (2017). Nível de hidratação e reposição hídrica dos atletas da seleção brasileira militar de futebol: comportamento semelhante nas diferentes posições da equipe. *ev Bras Futebol.* 08(2):24-35.

[39] Oliveira, V., Bortolini, M., Reis, I., Lamounier, R., Espíndola, F. (2005). Biomarcadores salivares na avaliação do limiar anaeróbio. *Fitness & Performance Journal,* v.4, n.2, p.85-89.

[40] Lindsay, A., Costello, J. (2017). Realising the Potential of Urine and Saliva as Diagnostic Tools in Sport and Exercise Medicine. *Sports Med.* 47(1):11-31.

- [41] Yi, T., Moochhala, S. (2013). Mini-Review Article – Current Opinion on Salivary Biomarkers as a Measurement for Stress and Fatigue. *The Open Biomarkers Journal*. Volume:7, 9-14.
- [42] Trochimiak, T., Hübner-Woźniak, E. (2012). Effect of exercise on the level of immunoglobulin a in saliva. *Biol Sport*. (4):255-61.
- [43] Mariscal G., Vera P., Platero J., Bodí F., Ortí J., Barrios C. (2019). Changes in different salivary biomarkers related to physiologic stress in elite handball players: the case of females. *Sci Rep*.9(1):19554.
- [44] Jacks, D., Sowash, J., Anning, J., McGloughlin, T., Andres, F. (2002). Effect of exercise at three exercise intensities on salivary cortisol. *Journal of strength and Conditioning Research*. 16 (2), 286-289.
- [45] Davies, C., J. Few. (1973). Effects of exercise on adrenocortical function. *J. Appl. Physiol*. 35:887-891.
- [46] Sari-Sarraf, V., Reilly, T., Doran DA. (2006). Salivary IgA response to intermittent and continuous exercise. *Int J Sports Med*. 27(11):849-55.
- [47] Walsh, N., Montague, J., Callow, N., Rowlands, A. (2004). Saliva flow rate, total protein concentration and osmolality as potential markers of whole body hydration status during progressive acute dehydration in humans. *Arch Oral Biol*. 49(2):149-54.
- [48] Baron, S., Courbebaisse, M., Lepicard, E., Friedlander, G. (2015). Assessment of hydration status in a large population. *Br J Nutr*.113 (1):147-58.
- [49] *Arm J. Clin Nutr* 2000;72:694-701
- [50] Jeukendrup, A. Gleeson, M. (2018). *Sport Nutrition-2nd edition*.
- [51] Bangsbo, J., Iaia, F., Krstrup, P. (2008). The Yo-Yo intermittent recovery test : a useful tool for evaluation of physical performance in intermittent sports. *Sports Med*.38(1):37-51.
- [52] Pescatello, L., American College of Sports Medicine. (2014). *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription*. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health.
- [53] Capling, L., Beck, K., Gifford, J., Slater, G., Flood, V., O'Connor, H. (2017). Validity of Dietary Assessment in Athletes: A Systematic Review. *Nutrients*, 9 (12), 1313.
- [54] Larson-Meyer, D., Woolf, K., Burke, L. (2018). Assessment of Nutrient Status in Athletes and the Need for Supplementation. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 28(2), 139–158.

- [55] Torres, D., Oliveira, A., Severo, M., Alarcão, V., Guiomar, S., Mota, J., Teixeira, P., Rodrigues, S., Lobato, L., Magalhães, V., Correia, D., Carvalho, C., Pizarro, A., Marques, A., Vilela, S., Oliveira, L., Nicola, P., Soares, S., Ramos, E. (2016). Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física. *Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física*, IAN-AF. 53(9), 1689–1699.
- [56] Goios, A., Oliveira, A., Amaral, T., Martins, M. (2016). *Pesos e Porções de Alimentos*. 2a Edição. U.Porto Edições. Porto.
- [57] Marques, M., Pinho, O., Vaz de Almeida. (1996). *Manual de Quantificação de Alimentos*, Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da U. Porto. (FCNAUP) ISBN: 9729684096.
- [58] INSA. (2006 and 2016). INSA. Tabela da Composição de Alimentos. 2006. INSA: Lisboa. INSA, 147(March), 11–40.
- [59] Viana, M.F., Almeida, P., Santos, R. (2001). Adaptação portuguesa da versão reduzida do Perfil de Estados de Humor-POMS. *Análise Psicológica* DOI:10-14417/ap.345.
- [60] Foster, C., Florhaug, J., Franklin, J., Gottschall, L., Hrovatin, L., Parker, S., Doleshal, P., Dodge, C. (2001). A new approach to monitoring exercise training. *Journal of strength and conditioning research*, 15(1), 109–115.
- [61] Nakamura, F., Moreira, A., Aoki, M. (2010). Monitoramento da carga de treinamento: a percepção do esforço da sessão é um método confiável? *Revista da educação física*, 21(1).
- [62] Cardello, A., Schutz, H., Leshner, L., Merrill, E. (2005). Development and testing of a labeled magnitude scale of perceived satiety. *Appetite*, 44(1), 1–13.
- [63] Borges, T. (2017). Efeitos do consumo controlado de Hidratos de Carbono nos níveis de glicose intersticial: estudo piloto com o Sistema de Monitorização Flash de Glicose (SMFG). Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto.
- [64] Riebe, D., Ehrman, J., Magal. G. (2018). General Principles of Exercise Prescription. In: *ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. Chapter 6. 10th Ed. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA., 143-179.
- [65] Shookster, D., Lindsey, B., Cortes, N., Martin, J. (2020). Accuracy of Commonly Used Age-Predicted Maximal Heart Rate Equations. *International journal of exercise science*, 13(7), 1242–1250.

- [66] Salimetrics. Salivary α -amylase kinetic enzyme assay kit. Item No. 1-1902, (Single) 96-Well Kit; 1-1902-5, (5-Pack) 480 Wells
- [67] Pizza, F., Flynn, M., Duscha, B., Holden, J., Kubitz, E. (1995). A carbohydrate loading regimen improves high intensity, short duration exercise performance. *Int J Sport Nutr*5(2):110-6.
- [68] Bishop, N., Blannin, A., Robson, P., Walsh, N., Gleeson, M. (1999). The effects of carbohydrate supplementation on immune responses to a soccer-specific exercise protocol. *J Sports Sci.* 17(10):787-96.
- [69] Baker, L., Rollo, I., Stein, K., Jeukendrup, A. (2015). Acute Effects of Carbohydrate Supplementation on Intermittent Sports Performance. *Nutrients.* 7(7):5733-63.
- [70] Phillips, S., Sproule, J., Turner, A. (2011). Carbohydrate ingestion during team games exercise: current knowledge and areas for future investigation. *Sports Med.*;41(7):559-85.
- [71] Welsh, R., Davis, J., Burke, J., Williams, H. (2002). Carbohydrates and physical/mental performance during intermittent exercise to fatigue. *Med Sci Sports Exerc.* 34(4):723-31.
- [72] Fortes, M., Diment, B., Felice U., Walsh N. (2012). Dehydration decreases saliva antimicrobial proteins important for mucosal immunity. *Appl Physiol Nutr Metab.* 37(5):850-9.
- [73] Walsh, N., Blannin, A., Clark, A., Cook, L., Robson, P., Gleeson, M. (1999). The effects of high-intensity intermittent exercise on saliva IgA, total protein and alpha-amylase. *J Sports Sci.* 17(2):129-34.
- [74] Shirreffs, S. (2003). Markers of hydration status. *Eur J Clin Nutr.* 57 Suppl 2:S6-9.
- [75] Dobrowolski, H., Karczemna, A., Włodarek, D. (2020). Nutrition for Female Soccer Players-Recommendations. *Medicina (Kaunas).* 56(1):28.
- [76] Nunes, C., Matias, C., Santos, D., Morgado, J., Monteiro, C., Sousa, M., Minderico, C., Rocha, P., St-Onge, M., Sardinha, L., Silva, A. (2018). Characterization and Comparison of Nutritional Intake between Preparatory and Competitive Phase of Highly Trained Athletes. *Medicina (Kaunas).* 54(3):41.