

Unidade Despesa:	42 - Instituto de Ciências Biomédicas
Centro Gerencial:	\\DIR\\BMA (Departamento de Anatomia)
Justificativa fora PCA:	Trata-se de importação de produtos essenciais para execução de projeto de pesquisa coordenado por mim. Os itens não estavam previstos pois minha contratação em 2024 foi efetivada após cadastro das demandas.
Valor Total Estimado:	13.390,50
Requisitante:	3442405 - Guilherme Giannini Artioli (artioli@usp.br)
Telefone:	(0xx11) 3091-7647
Endereço de Entrega:	Avenida Professor Lineu Prestes, 2415 - Butantã - São Paulo/SP - CEP: 05508-000 ICB III - Laboratório 102 - Anatomia - Andar: 1o subsolo - Bloco: Anatomia - Sala: 102
Finalidade:	Produtos indispensáveis para execução de projeto de pesquisa, disponíveis apenas no mercado exterior. Verba de origem de verba orçamentária, que recebi da PRPI (auxílio novos docentes) ou do Depto. de Anatomia.
Data de Cadastro:	06/05/2025 13:29
Última Alteração:	22/05/2025 15:29

Nº Item	Classe Contabiliza	Cód.Mat.	Cód. Bem	Cód. Contabiliza	Cód.Compras Gov	Qtd.	Unid.Compra	Situação
1	8970	358894	8282234	4426452	217801	9	GARRAFA PLASTICA 900,00 MILILITRO	Para compras
Preço Unitário	Item do DFD	Contratação (gov. br)				Item Despesa		
118,5000	#null					33903010		
Descrição - Grupo/Item/Subitem						Processo Compra		
GENEROS ALIMENTICIOS / BEBIDAS NAO ALCOOLICAS / SUCO DE FRUTA INTEGRAL -								
Características								
UNIDADE DE COMPRA: GARRAFA PLASTICA 900,00 MILILITRO								
SABOR: SABOR DE LARANJA								
COMPOSICAO: COMPOSTO DE SUCO DE LARANJA, 100% NATURAL								
ORGANOLEPTICAS: COM COR AMARELA, SABOR E AROMA PROPRIOS								
VALIDADE: COM VALIDADE MINIMA NA DATA DA ENTREGA DE 12 DIAS								
ACONDICIONAMENTO: EMBALAGEM PRIMARIA APROPRIADA, GARRAFA PLASTICA, HERMETICAMENTE FECHADA								
LEGISLACAO: E SUAS CONDICOOES DEVERAO ESTAR DE ACORDO COM A INSTRUCAO NORMATIVA 01/00(MAPA), RDC 12/01, RDC 259/0								
LEGISLACAO I: PRODUTO SUJEITO A VERIFICACAO NO ATO DA ENTREGA AOS PROCED. ADM. DETERMINADOS PELO MAPA E ANVISA								
APRESENTACAO: APRESENTADO NA FORMA RESFRIADA								
QUALIDADE II: ISENTO DE FERMENTACAO, CONSERVANTE, ACUCAR E SEM ADICAO DE AGUA								
Complemento:								

Utilizado o catálogo eletrônico de padronização de compras, serviços e obras? Sim

Nº Item	Classe Contabiliza	Cód.Mat.	Cód. Bem	Cód. Contabiliza	Cód.Compras Gov	Qtd.	Unid.Compra	Situação
2	8970	358894	8282234	4426452	217801	195	GARRAFA PLASTICA 900,00 MILILITRO	Para compras
Preço Unitário	Item do DFD	Contratação (gov. br)				Item Despesa		
63,2000	#null					33903010		
Descrição - Grupo/Item/Subitem						Processo Compra		

Características

UNIDADE DE COMPRA: GARRAFA PLASTICA 900,00 MILILITRO

SABOR: SABOR DE LARANJA

COMPOSICAO: COMPOSTO DE SUCO DE LARANJA, 100% NATURAL

ORGANOLEPTICAS: COM COR AMARELA, SABOR E AROMA PRÓPRIOS

VALIDADE: COM VALIDADE MINIMA NA DATA DA ENTREGA DE 12 DIAS

ACONDICIONAMENTO: EMBALAGEM PRIMARIA APROPRIADA, GARRAFA PLASTICA, HERMETICAMENTE FECHADA

LEGISLACAO: E SUAS CONDICÖES DEVERAO ESTAR DE ACORDO COM A INSTRUCAO NORMATIVA 01/00(MAPA), RDC 12/01, RDC 259/0

LEGISLACAO I: PRODUTO SUJEITO A VERIFICACAO NO ATO DA ENTREGA AOS PROCED. ADM. DETERMINADOS PELO MAPA E ANVISA

APRESENTACAO: APRESENTADO NA FORMA RESFRIADA

QUALIDADE II: ISENTO DE FERMENTACAO, CONSERVANTE, ACUCAR E SEM ADICAO DE AGUA

Complemento:

Utilizado o catálogo eletrônico de padronização de compras, serviços e obras? Sim

Tendo como base o disposto no artigo 18 - § 1º - o estudo técnico preliminar deverá evidenciar o problema a ser resolvido e a sua melhor solução, de modo a permitir a avaliação da viabilidade técnica e econômica da contratação, e conterá os seguintes elementos:

I - Descrição da necessidade da contratação/aquisição, GLOBAL ou por ITEM, conforme o caso, considerado o problema (ou necessidade) a ser resolvido sob a perspectiva do interesse público.

O projeto de pesquisa em questão se trata da dissertação de mestrado de aluna de pós-graduação da USP, orientada por mim, Prof. Dr. Guilherme Giannini Artioli, que versa sobre os efeitos do uso de suplementos a base de citrulina sobre o fluxo sanguíneo a capacidade física. O projeto requer o uso de controle positivo, a saber, suplemento de nitrato fornecido via suco de beterraba com concentração padronizada de nitrato, além de placebo, isto é, suco de beterraba de idêntica aparência e sabor, porém com seu nitrato depletado. O único produto do tipo disponível globalmente que oferece as doses necessárias para o estudo e que possui controle de qualidade e garantia sobre as doses de nitrato da beterraba é o produto Beet It, produzido no Reino Unido. Essa mesma empresa também fornece, para fins exclusivos de pesquisa, o mesmo suco de beterraba, porém sem nitrato, para ser utilizado como placebo. Por esse motivo, para a condução do referido estudo e, assim, para que a aluna de mestrado da USP possa concluir sua dissertação, é indispensável comprar os produtos - suco de beterraba com concentração padronizada de nitrato e suco de beterraba placebo sem nitrato. A condução de estudos científicos no âmbito da pós-graduação da USP é atividade fim da universidade, portanto de suma importância. Vide anexo para o elemento I.

II - Demonstração da previsão da contratação no plano de contratações anual, sempre que elaborado, de modo a indicar o seu alinhamento com o planejamento da Administração.

Não se aplica: A aquisição desses produtos não está no PCA cadastrado em 2024, o que se justifica pela data do meu ingresso como docente do ICB-USP, o que se efetivou apenas em agosto de 2024, portanto após o envio do PCA.

III - Requisitos da contratação.

Para que as demandas da pesquisa sejam atendidas, é necessário adquirir 135 garrafas de suco de beterraba contendo 400 mg de nitrato. Essas garrafas contêm 70 ml de suco de beterraba, e sua concentração de nitrato é padronizada (400 mg de nitrato). O produto é vendido em caixas contendo 15 unidades de 70 ml, logo precisamos de 9 caixas. Também precisamos de garrafas de suco de beterraba placebo (sem nitrato), em número um pouco maior, em razão do desenho experimental que adotaremos no estudo. No caso do suco placebo, precisaremos de 195 unidades de 70 ml de suco de beterraba sem nitrato.

IV - Estimativas das quantidades para a contratação, acompanhadas das memórias de cálculo e dos documentos que lhes dão suporte, que considerem interdependências com outras contratações, de modo a possibilitar economia de escala.

O estudo prevê o recrutamento de cerca de 40 participantes voluntários de pesquisa. Cada participante deverá ingerir, ao longo do estudo, 4 garrafas de suco de beterraba placebo e 3 garrafas de suco de beterraba com nitrato. Isso totaliza cerca de 160 garrafas de suco de beterraba placebo, mais 120 garrafas de suco de beterraba com nitrato. Esses valores estão sendo projetados um pouco para cima, para darmos conta de imprevistos, desistências e casualidades de que frequentemente ocorrem durante a execução de projetos de pesquisa, garantindo assim uma margem de erro que permite que o estudo seja concluído mesmo diante de intercorrências.

V - Levantamento de mercado, que consiste na análise das alternativas possíveis, e justificativa técnica e econômica da escolha do tipo de solução a contratar.

Embora existam, no mercado nacional, algumas marcas que vendem suco de beterraba que dão a entender que o produto contém 400 mg de nitrato (exemplo: marca "Dobro"), o exame da lista de ingredientes revela que o mesmo não pode ser verdade. Além disso, essas marcas não fornecem suco de beterraba placebo, pois o processo de depleção de nitrato exige filtragem por membranas específicas, o que encarece o produto. A empresa do Reino Unido tem atendido diversos pesquisadores do mundo inteiro, e tem histórico de fornecer tanto o suco de beterraba com confirmação das concentrações de nitrato, além de suco placebo com confirmação de depleção de nitrato. A garantia das concentrações de nitrato nesses produtos é fundamental para que o estudo tenha validade científica.

Vide anexo para o elemento V.

VI - Estimativa do valor da contratação, acompanhada dos preços unitários referenciais, das memórias de cálculo e dos documentos que lhe dão suporte, que poderão constar de anexo classificado, se a Administração optar por preservar o seu sigilo até a conclusão da licitação.

Para a aquisição das quantidades acima descritas, o custo estimado é de 1.700,00 libras esterlinas.

VII - Descrição da solução como um todo, inclusive das exigências relacionadas à manutenção e à assistência técnica, quando for o caso.

Compra, por importação, de garrafas de suco de beterraba que contém 400 mg de nitrato por unidade (70 ml cada unidade), além de garrafas de suco de beterraba depletado em nitrato (isto é, placebo, que não contém nitrato).

VIII - Justificativas para o parcelamento (divisão do objeto em lotes) ou não da contratação/aquisição.

Não há nenhuma necessidade específica em relação ao número de lotes. Os produtos podem ser de lotes diferentes, já que os processos de produção são padronizados.

IX - Demonstrativo dos resultados pretendidos em termos de economicidade e de melhor aproveitamento dos recursos humanos, materiais e financeiros disponíveis.

Execução de projeto de pesquisa vinculado ao mestrado de aluna de pós-graduação da USP.

X - Providências a serem adotadas pela Administração previamente à celebração do contrato, inclusive quanto à capacitação de servidores ou de empregados para fiscalização e gestão contratual.

Não se aplica: Não há providências prévias a serem tomadas necessárias para a compra desses produtos.

XI - Contratações correlatas e/ou interdependentes.

Não se aplica: Não há nenhuma contratação ou compra associada, dependente ou necessária, atrelada a esta compra.

XII - Descrição de possíveis impactos ambientais e respectivas medidas mitigadoras, incluídos requisitos de baixo consumo de energia e de outros recursos, bem como logística reversa para desfazimento e reciclagem de bens e refugos, quando aplicável.

Não se aplica: Não há impactos ambientais significativos decorrentes da aquisição e utilização do produto (suco natural de beterraba).

XIII - Posicionamento conclusivo sobre a adequação da contratação/aquisição para o atendimento da necessidade a que se destina.

Considerando os pontos aqui levantados, bem como os objetivos científicos da pesquisa que iremos realizar, não solução melhor do que adquirir os produtos com as garantias de que precisamos, de empresa que já atende a comunidade científica mundial no fornecimento desses produtos, que tem know-how, expertise, cujos produtos têm qualidade amplamente reconhecida pelos cientistas que irão avaliar a qualidade científica de nossa pesquisa.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Medicina

Disciplina de Reumatologia

Grupo de Estudos em Biologia Aplicada ao Exercício & Nutrição

Beatriz Cristina da Silva

Efeitos da suplementação de L-citrulina e de citrulina-malato sobre o
desempenho em exercícios de alta intensidade



Prof. Dr. Guilherme G. Artioli

São Paulo

2024

BEATRIZ CRISTINA DA SILVA

**Efeitos da suplementação de L-citrulina e de citrulina-malato sobre o
desempenho em exercícios de alta intensidade**

Versão Original

Projeto de pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Sistema Musculoesquelético como requisito parcial para ingresso no curso de pós-graduação, nível mestrado.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Giannini Artioli

São Paulo

2024

RESUMO

SILVA BC. Efeitos da suplementação de L-citrulina e da citrulina malato sobre o desempenho em exercícios de alta intensidade (mestrado). Universidade de São Paulo, faculdade de medicina; 2024.

O desempenho físico em alta intensidade é limitado por inúmeros fatores, sendo a perfusão muscular e o transporte de oxigênio dois fatores de grande relevância. Por esse motivo, diversas estratégias nutricionais de potencial efeito vasodilatador foram desenvolvidas nos últimos anos. Dentre elas, destaca-se a suplementação de nitrato, cujos efeitos de aumento da disponibilidade de óxido nítrico já foram bem demonstrados, e que são acompanhados de melhora de desempenho. De forma similar, a suplementação de citrulina, um aminoácido precursor de arginina, indispensável para a síntese endógena de óxido nítrico, também tem sido investigada como potencial estratégia ergogênica. Entretanto, a literatura ainda é bastante controversa, e não se sabe se a forma da citrulina administrada (L-citrulina ou citrulina-malato) afeta seus efeitos ergogênicos. O objetivo deste estudo será comparar os efeitos ergogênicos da L-citrulina vs. citrulina-malato, utilizando a suplementação de nitrato como controle positivo. O estudo adotará o desenho cruzado, duplo-cego, controlado por placebo, contrabalanceado, com a ordem dos experimentos determinada de forma aleatória. Trinta homens saudáveis fisicamente ativos entre 18 e 35 anos serão recrutados para o estudo e farão 5 visitas ao laboratório. Na primeira visita, será realizado teste incremental máximo em bicicleta estacionária para determinação do $VO_{2\text{pico}}$ e do limiar de lactato. Nas 4 visitas seguintes, os participantes irão realizar um teste de avaliação do desempenho composto de duas fases: na primeira fase, será avaliada a dinâmica de VO_2 durante exercício submáximo, realizado de forma incremental até que se atinja 70% da diferença entre o limiar de lactato e o $VO_{2\text{pico}}$. Nesse momento, os participantes removerão seus equipamentos de espirometria e a segunda fase será iniciada. Este será um teste de tolerância ao esforço, no qual os atletas irão pedalar na intensidade correspondente a 70% da diferença entre o limiar de lactato e o $VO_{2\text{pico}}$ até a exaustão, definida como incapacidade de evitar quedas de 10 rpm na cadência do pedal. O desfecho primário será o tempo até à exaustão, e os desfechos secundários serão os parâmetros de cinética de VO_2 . Antes das visitas 2-5, os participantes receberão um dos seguintes 4 tratamentos: L-citrulina (6 g/dia, por 7 dias; citrulina-malato (8,6 g/dia, equivalente a 6 g/dia de L-citrulina, por 7 dias; nitrato (controle positivo, dose aguda de 12,9 mmol, 2,5 horas antes do teste de desempenho; placebo. Os dados serão analisados utilizando-se modelos mistos com 2 fatores fixos (tratamento e tempo) e os participantes como fatores aleatórios, ou ANOVA *one-way* para medidas repetidas, a depender da variável.

Palavras-chave: citrulina. desempenho. óxido nítrico. nitrato.

ABSTRACT

SILVA BC. Effects of L-citrulline and citrulline malate supplementation on performance in high-intensity exercises (Master's thesis). University of São Paulo, School of Medicine; 2024.

Performance in high-intensity exercise is limited by numerous factors, with muscle perfusion and oxygen transport being among the most critical. As a result, various nutritional strategies with potential vasodilatory effects have been developed in recent years. Among these, nitrate supplementation stands out, with its effects on increasing nitric oxide availability already well-demonstrated, which are accompanied by performance improvements. Similarly, supplementation with citrulline, an amino acid precursor to arginine, essential for endogenous nitric oxide synthesis, has also been investigated as a potential ergogenic strategy. However, the literature remains quite controversial, and it is unclear whether the form of citrulline administered (L-citrulline or citrulline malate) affects its ergogenic effects. The objective of this study will be to compare the ergogenic effects of L-citrulline vs. citrulline malate, using nitrate supplementation as a positive control. The study will adopt a double-blind, placebo-controlled, counterbalanced, crossover design, with the order of experiments determined randomly. Thirty young healthy males and females (aged 18 to 35 years) will be recruited for the study and will make five visits to the laboratory. During the first visit, a maximal incremental test on a stationary bike will be conducted to determine VO_{2peak} and lactate threshold. In the four subsequent visits, participants will undergo a performance evaluation test consisting of two phases: in the first phase, VO_2 kinetics will be evaluated during submaximal exercise, performed incrementally until reaching 70% of the difference between the lactate threshold and VO_{2peak} . At this point, participants will remove their spirometry equipment, and the second phase will begin. This will be a time-to-exhaustion test, in which participants will pedal at an intensity corresponding to 70% of the difference between the lactate threshold and VO_{2peak} until exhaustion, defined as the inability to prevent a drop of 10 rpm in pedaling cadence. The primary outcome will be time to exhaustion, and secondary outcomes will be VO_2 kinetics parameters. Before visits 2-5, participants will receive one of the following four treatments: L-citrulline (6 g/day for 7 days); citrulline malate (8.6 g/day, equivalent to 6 g/day of L-citrulline, for 7 days); nitrate (positive control, acute dose of 12.9 mmol, 2.5 hours before the performance test); placebo. Data will be analyzed using mixed models with two fixed factors (treatment and time) and participants as random factors, or one-way repeated measures ANOVA, depending on the variable.

Keywords: citrulline. performance. nitric oxide. nitrate.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVO	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivo específico	12
3 MÉTODOS	13
3.1 Desenho experimental	13
3.2 Participantes	13
3.3 Tratamentos	14
3.4 Testes Preliminares	14
3.5 Avaliação da dinâmica de VO ₂ e do desempenho de alta intensidade	15
3.6 Coletas de sangue e análises das amostras	16
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	17
5 CRONOGRAMA	17
REFERÊNCIAS	17

1. INTRODUÇÃO

Diversas são as causas fisiológicas que limitam o desempenho em exercícios realizados acima do limiar anaeróbio, sendo uma das mais relevantes a capacidade de perfusão muscular e transporte de O₂ para os músculos ativos (Cunniffe et al., 2016). Assim, estratégias capazes de aumentar o fluxo sanguíneo periférico são potencialmente ergogênicas em exercícios de alta intensidade.

O controle do fluxo sanguíneo periférico é realizado principalmente pelas arteríolas que irrigam os tecidos. As artérias apresentam 3 camadas histológicas distintas, a saber, o endotélio (ou túnica íntima, epitélio que recobre a luz arteriolar), a camada muscular (ou túnica média, composta por fibras musculares lisas que controlam o calibre arterial e, portanto, a pressão e o fluxo sanguíneos), e a túnica adventícia (camada externa composta por fibras colágenas e elásticas). O endotélio expressa uma importante enzima denominada óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), que produz óxido nítrico (NO), um gás com potente ação vasodilatadora (Forstermann et al., 2012; Bailey et al., 2011). A eNOS é expressa de forma constitutiva pelo endotélio, e tem sua expressão aumentada em resposta a diferentes estímulos, sobretudo forças de cisalhamento do sangue sobre a parede endotelial (Khalaf et al., 2019). A via de síntese de NO pela eNOS tem como reagentes o aminoácido arginina e o oxigênio molecular, e resulta em NO e citrulina como produtos da reação.

Alguns estudos em modelos reduzidos (*ex vivo* e *in vitro*) demonstraram que o aumento da disponibilidade de L-arginina pode aumentar a produção de NO pelas células endoteliais (Morita et al., 2014; El-Kirsh et al., 2011), o que tem potencial benefício no controle da pressão arterial e também para o aumento do fluxo sanguíneo durante o exercício. Contudo, estudos em humanos têm falhado em demonstrar os efeitos ergogênicos da suplementação de L-arginina (Bescos et al., 2012), o que provavelmente se deve ao fato desse aminoácido ter baixa biodisponibilidade e baixa distribuição tecidual, pois apenas uma fração muito pequena (cerca de 1%) da dose ingerida é convertida em NO pelas células endoteliais (Böger et al., 2004).

Alternativamente, a suplementação de citrulina parece ser uma estratégia de aumento da síntese de NO mais promissora do que a L-arginina, pois não está sujeita a metabolismo de primeira passagem. Com melhor disponibilidade do que a arginina, a citrulina pode ser convertida em arginina pela síntese *de novo* de arginina que ocorre no fígado, e que tem a citrulina como precursor (Schwedhelm et al., 2008; Romero et al., 2006). Estudos têm mostrado que a administração de citrulina pode aumentar as concentrações plasmáticas de arginina, e potencialmente levar à vasodilatação periférica (Romero et al. 2006).

Diante do potencial da citrulina em aumentar a disponibilidade do precursor da síntese de NO, o aminoácido arginina e, como consequência, de aumentar a própria disponibilidade de NO no

músculo liso das arteríolas periféricas, resultando em vasodilatação, diversos estudos têm avaliado os efeitos ergogênicos da suplementação de citrulina. Os resultados, contudo, ainda são bastante controversos. Além disso, um importante fator de confusão na literatura científica e que pode ter contribuído para os resultados controversos obtidos até o momento é o uso de diferentes formas de citrulina, já que parte dos estudos avaliaram os efeitos da L-citrulina (Trexler et al., 2019; Cutrufello et al., 2015; Tarazona-Díaz et al., 2013), ao passo que outros investigaram os efeitos da citrulina-malato (Chappell et al., 2018a, 2018b; Cunniffe et al., 2016; da Silva et al., 2017; Glenn et al., 2015, 2016; Gonzalez et al., 2017; Pérez-Guisado & Jakeman, 2010; Wax et al., 2015a, 2015b). O tipo de exercício utilizado para avaliar os efeitos ergogênicos também parece influenciar os resultados da literatura. Além da ausência de comparações diretas entre as formas de citrulina, os estudos da literatura têm falhado ao não utilizar controles importantes em seus desenhos experimentais, com especial destaque para o uso de controles positivos, ou seja, a utilização de suplementos vasodilatadores de conhecida eficácia, como é o caso do nitrato (Gough et al. 2021; Vårvik et al., 2021).

Em relação aos efeitos da citrulina malato (CM) no treinamento de força, Pérez-Guisado et al. (2010) realizaram um experimento randomizado, cruzado e duplo-cego, no qual 41 homens treinados realizaram oito séries de supino (com intervalo de descanso de um minuto) a 80% de seu máximo de uma repetição (1RM) após a ingestão de 8 g de CM 60 minutos antes do exercício. Os autores observaram um aumento no número de repetições até a falha após a ingestão de CM. Estudos subsequentes de Wax et al. (2015a e 2015b), que submeteram 14 e 12 homens treinados a 3 e 5 séries de flexões e leg press, respectivamente, com intervalos de descanso de 3 minutos, corroboraram esses resultados, demonstrando respostas de desempenho comparáveis. Glenn et al. (2017) também observaram resultados semelhantes em um estudo com 15 mulheres, que realizaram seis séries de supino e leg press com uma carga equivalente a 80% de 1RM, utilizando a mesma dosagem de 8 g de CM 60 minutos antes do treinamento de força.

Além disso, investigações conduzidas por Wax et al. (2015, 2016) demonstraram que a ingestão de 8 g de CM 60 minutos antes do exercício resultou em um aumento no número de repetições até a falha no leg press e agachamento hack a 60% de 1RM, bem como em exercícios de peso corporal (barra fixa e flexões). Contudo, essas alterações foram sutis quando expressas como tamanho do efeito (intervalo: 0,23-0,59), sugerindo que a ação ergogênica da CM pode ser mais modesta no contexto do treinamento de força. No entanto, esses aprimoramentos, embora modestos, podem facilitar a adaptação ao treinamento ao longo do tempo (Gough et al., 2021).

Por outro lado, estudos como o de González et al. (2017), que submeteram 12 homens à mesma dose de 8g de CM e 5 séries de supino a 75% de 1RM, mas com ingestão 40 minutos antes do

treinamento de força dos membros superiores, não produziram resultados significativos quando comparados ao placebo. Apenas um único estudo avaliou o tempo da ingestão de L-citrulina (Cutrufello et al. 2015), no qual os 22 participantes submetidos a um treinamento de 5 séries até a falha, ingeriram 6g de L-citrulina (sem ácido málico) diluída em sacarose (7,5%) vs suco de melancia (~1g de citrulina) vs placebo (sacarose) 1 h vs. 2 h antes do treinamento, não obtendo melhoras na repetição de supino, tempo até a exaustão (TTE), VO_{2max} , limiar de lactato ou a vasodilatação mediada por fluxo. Se considerado o que foi proposto por Bendahan et al. (2002) sobre a ingestão de malato ser um intermediário aumentando a produção de ATP oxidativo por meio do ciclo de tricarboxílico e seu efeito sinérgico com a L-citrulina, obteremos resultados mais claros sobre seus efeitos em relação a exercícios de resistência (Bendahan et al. 2002).

Em um estudo mais recente, Chappell et al. (2018a e 2018b) avaliaram os efeitos da suplementação de 8 g de CM 60 minutos antes do treinamento de força em 11 homens e 4 mulheres, e 12 homens e 7 mulheres, submetidos a 10 séries de extensão de joelho e 10 séries de rosca direta com barra fixa, ambos a 80% de 1RM. Não foram observados resultados significativos em comparação ao placebo, o que pode ser explicado pela baixa qualidade da CM utilizada, conforme relatado pelos autores, que mencionaram uma proporção incorreta de citrulina (1,1:1 ao invés de 2:1).

Adicionalmente, um estudo conduzido por da Silva et al. (2017) submeteu 9 homens não treinados a um protocolo de força durante 3 dias, com 1 série de leg press e agachamento hack a 10 RM, com intervalo de descanso de 2 minutos, e suplementação de 6 g (2 g menor que os estudos citados anteriormente) de CM 60 minutos antes do treino. Novamente, não foram observados resultados significativos, embora a confiabilidade do fabricante e a pureza do suplemento tenham sido avaliadas e confirmadas.

Em relação aos exercícios de endurance, Conniffe et al. (2016) realizaram um estudo cruzado, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo com 10 ciclistas profissionais do sexo masculino. Eles observaram que o consumo agudo de 12 g de CM diluídos em 400 ml de água não atenuou a fadiga induzida por um protocolo de cicloergômetro de alta intensidade, não causou desconforto gastrointestinal, nem prolongou o tempo até a exaustão. Uma possível limitação deste estudo foi a ausência de um vasodilatador de eficácia conhecida, como o suco de beterraba (nitrato), como controle positivo. Esses resultados contrastam com estudos anteriores, que sugeriram que uma única dose de 8 g de CM em exercícios anaeróbicos de alta intensidade e com curto tempo de descanso poderia melhorar o desempenho esportivo (Pérez-Guisado et al., 2010).

No que se refere a exercícios de alta intensidade, a suplementação com 8 g de CM em dose única antes do exercício não foi eficaz para aumentar a capacidade de trabalho total (CTT) e o tempo até a exaustão (TTE) em protocolos de exercício de alta intensidade (REF). Investigar a biodisponibilidade de NO, citrulina, arginina, nitrito e nitrato antes, durante e após uma série de exercícios de alta intensidade, além de elaborar uma estratégia de dosagem (quantidade e tempo) para a suplementação de CM, pode fornecer resultados mais precisos sobre seu potencial efeito ergogênico em exercícios de resistência.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Comparar os efeitos ergogênicos da L-citrulina vs. citrulina-malato em em exercícios de alta intensidade, utilizando o nitrato como controle positivo.

2.2 Objetivos Específicos

- avaliar os efeitos da suplementação de L-citrulina e de citrulina-malato sobre a tolerância ao esforço de alta intensidade, utilizando o nitrato como controle positivo;
- avaliar os efeitos da suplementação de L-citrulina e citrulina-malato sobre parâmetros fisiológicos em repouso e em resposta ao exercício de alta intensidade, a saber: cinética de VO_2 , frequência cardíaca, e lactato sanguíneo, utilizando o nitrato como controle positivo;
- avaliar os efeitos da suplementação de L-citrulina e citrulina-malato sobre indicadores da disponibilidade de óxido nítrico, a saber: níveis plasmáticos de citrulina, arginina, nitrito e nitrato, medidos antes da suplementação e do teste de esforço;

3. MÉTODOS

3.1 Desenho experimental

O presente estudo adotará o desenho cruzado, duplo-cego, controlado por placebo, contrabalanceado. Cada participante irá ao laboratório em 5 ocasiões diferentes. Na primeira visita, realizaremos avaliações preliminares, o que inclui medidas antropométricas (massa corporal, estatura, e dobras cutâneas), e um teste progressivo máximo para determinação do VO_{2pico} e do limiar

de lactato. Em seguida, os participantes farão mais 4 visitas, nas quais realizarão teste de tolerância ao esforço de alta intensidade após período de suplementação. As 4 visitas adotarão exatamente os mesmos procedimentos, exceto pelos tratamentos oferecidos aos participantes, conforme descrito abaixo. A sequência dos tratamentos será definida de forma aleatória e balanceada, usando delineamento em quadrado latino 4x4 ([Balanced Latin Square Generator \(damienmasson.com\)](https://damienmasson.com/Balanced-Latin-Square-Generator)):

Condição 1: L-citrulina em cápsulas por 7 dias + suco de beterraba depletado em nitrato (placebo) no dia do teste (condição L-citrulina).

Condição 2: Citrulina-malato em cápsulas por 7 dias + suco de beterraba depletado em nitrato (placebo) no dia do teste (condição citrulina-malato)

Condição 3: Amido de milho (placebo) em cápsulas por 7 dias + Suco de beterraba (Nitrato) no dia do teste (condição nitrato – controle positivo).

Condição 4: Amido de milho (placebo) 7 dias de cápsulas de placebo + suco de beterraba depletado em nitrato no dia do teste.

Ao final de cada visita, após o término dos testes de tolerância ao esforço, os voluntários serão questionados quanto ao tratamento que eles acham que receberam, para que assim possamos verificar a eficácia da estratégia de cegamento aos tratamentos.

3.2 Participantes

Aproximadamente 30 jovens do sexo masculino serão recrutados para o estudo. Os critérios de inclusão serão: idade entre 18 e 35 anos, saudáveis, e fisicamente ativos. Para que sejam considerados fisicamente ativos, os voluntários deverão preencher o questionário IPAQ (questionário internacional de atividade física). Serão critérios de exclusão: sinais, sintomas ou diagnóstico de doenças crônicas; uso crônico de medicamentos como anti-hipertensivos, corticoides e anti-inflamatórios; uso presente ou passado de uso de esteroides androgênicos anabolizantes e outras drogas proibidas em competição (ex.: GH e EPO); uso de suplementos ergogênicos como creatina e/ou beta-alanina nos últimos 3 meses; qualquer condição médica que impeça a execução de testes em cicloergômetro. O cálculo do número amostral foi realizado considerando-se tamanho de efeito de 0.3 para o nitrato (Campos et al., 2018), efeitos *within-subject* para 4 condições diferentes, valor alfa de 5% e 1- β de 80% (G*Power 3.1.9.2), o que resultou em número 28 participantes. Para lidar melhor com desistências e imprevistos, o total previsto de participantes a serem recrutados será de 30. O recrutamento dos voluntários e a coleta de dados só terá início após

aprovação pelo Comitê de Ética. O projeto será registrado em base de dados de ensaios clínicos. Todos os participantes serão informados integralmente sobre os riscos e benefícios envolvidos em sua participação e deverão assinar duas vias do termo de consentimento antes de participarem do estudo.

3.3 Tratamentos

A L-citrulina e a citrulina-malato serão fornecidas em pó, por meio de cápsulas gelatinosas. A dose será de 6 g/dia para a L-citrulina, e dose equimolar de citrulina para a citrulina-malato (isto é, 8,6 g/dia). As doses diárias serão divididas em duas doses individuais de 3 g/dose e 4,3 g/dose respectivamente. O período de suplementação será de 7 dias, e o período de *washout* entre os tratamentos será de 7 dias.

Para que possamos realizar o vendamento dessas substâncias, utilizaremos placebo de amido de milho, também encapsulados em cápsulas gelatinosas de idêntica aparência. O número de cápsulas ingeridas será o mesmo para os três tratamentos. Já o nitrato será ingerido de forma aguda, 2,5 horas antes dos testes de desempenho, e será fornecido por meio de suco de beterraba com nitrato concentrado (Beet it, UK – International Business Advisor, Nutrimex Internacional). A dose de nitrato será de 12,9 mmol, equivalente a 800 mg de nitrato. Cada container de suco de beterraba contém 70 ml e 400 mg de nitrato; portanto os participantes irão ingerir duas doses de 70 ml, totalizando 800 mg de nitrato. Para vender o consumo de nitrato, usaremos suco de beterraba depletado em nitrato como placebo.

3.4 Testes preliminares

Antes das visitas ao laboratório, os participantes serão contatados, via consulta online com nutricionista, para preencher o recordatório alimentar de 24h na véspera das visitas para avaliação do consumo de energia e distribuição de macronutrientes, além do consumo de alimentos ricos em nitrato. O nutricionista irá então instruir os participantes a evitar o consumo de alimentos ricos em nitrato durante o período do estudo. O consumo de energia e macronutrientes será calculado com auxílio do software *NUMAX*.

Na primeira visita, a massa corporal será aferida em uma balança digital, e a estatura será determinada em um estadiômetro de prancha. Em seguida, realizaremos a medida de 7 dobras cutâneas (torácica, axilar média, tríceps, subescapular, abdominal, suprailíaca e coxa) por meio de

compasso de dobras cutâneas metálico (Harpender, SKINFOLD CALIPER, modelo científico de leitura direta com escala de 0 a 80 mm, resolução de 0,2 mm, mola com pressão constante de 10 g/mm²). As medidas serão realizadas segundo descrito no estudo de Jackson & Pollock (Jackson et al., 1978), e o percentual de gordura será calculado segundo equação descrita em Jackson & Pollock (Jackson et al., 1978).

O $VO_{2\text{pico}}$ será determinado por meio de teste progressivo máximo em cicloergômetro com controle eletromagnético de resistência (Lode, Excalibur). Antes do teste, os participantes irão vestir um sistema de análise de gases expirados respiração-por-respiração (Quark b2, Cosmed), contendo uma máscara com uma turbina para medição do volume de ar expirado, bem como linha de amostragem de ar expirado conectado a células de análise de O_2 e CO_2 . O sistema será utilizado em repouso por cerca de 5 minutos, com os participantes sentados no cicloergômetro, e então o teste terá início, durante o qual as análises de gases expirados continuarão sendo feitas.

O teste progressivo terá início com carga de 100W para o sexo masculino e 75W para o sexo feminino. Os estágios terão duração de 3 minutos cada, e o incremento de carga será de 25W a cada estágio, até a exaustão. Nos instantes finais de cada estágio, uma amostra de sangue da ponta dos dedos será obtida para medição da concentração de lactato sanguíneo e posterior determinação do limiar de lactato, que será definido utilizando-se o método D-max (Riffe et al., 2017). Durante o teste, os participantes serão instruídos a manter a cadência entre 70 e 80 rpm, e a exaustão será definida como a incapacidade de manter a cadência acima de 60 rpm por 5 segundos consecutivos. Os dados de respiração-a-respiração serão convertidos em médias para cada intervalo de 10s, e o $VO_{2\text{pico}}$ será definido como o maior valor de VO_2 obtido em um intervalo de 10s durante o teste.

3.5 Avaliação da dinâmica de VO_2 e do desempenho de alta intensidade

Nas 4 visitas seguintes, os participantes irão realizar um teste de avaliação do desempenho composto de duas fases: na primeira fase, será avaliada a dinâmica de VO_2 durante exercício submáximo, realizado de forma incremental até que se atinja 70% da diferença entre o limiar de lactato e o $VO_{2\text{pico}}$. Durante este teste, utilizaremos a espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) para monitorar a oxigenação muscular em tempo real no músculo vasto lateral da perna dominante. O equipamento será ajustado na pele do participante, após a área ser previamente limpa. O objetivo dessa medida é acompanhar a saturação de oxigênio muscular e a desoxigenação durante o exercício submáximo, oferecendo uma avaliação detalhada da perfusão e do consumo de oxigênio nos músculos ativos.

Após remover o equipamento de NIRS e os sistemas de análise de gases expirados, a segunda fase será iniciada. Este será um teste de tolerância ao esforço, no qual os participantes irão pedalar até a exaustão na intensidade correspondente a 70% da diferença entre o limiar de lactato e o $VO_{2\text{pico}}$. A exaustão será definida como incapacidade de evitar quedas de 10 rpm na cadência do pedal. Durante esta fase, o equipamento NIRS também será utilizado para monitorar a oxigenação muscular e o tempo até a exaustão será o desfecho primário. Os desfechos secundários serão os parâmetros de cinética de VO_2 e os níveis de oxigenação muscular registrados pelo NIRS.

3.6 Coletas de sangue e análises das amostras

Serão realizadas coletas de 10 ml sangue da veia antecubital em repouso, imediatamente antes do início dos testes de desempenho, e 5 minutos após os testes, para determinação das concentrações de citrulina, arginina, nitrito e nitrato. A coleta será feita por meio de um sistema de coleta a vácuo (Vacutainer®, BD). As amostras serão colhidas em tubos apropriados para cada análise, conforme recomendações de uso de anticoagulantes e outros aditivos dos fabricantes dos kits de análise. As amostras serão centrifugadas por 5 min a 2000 g em temperatura ambiente, ou a 4° C, conforme recomendações específicas dos fabricantes de cada kit. O soro ou plasma, com auxílio de uma micropipeta, será transferido para um tubo de criopreservação e o material será armazenado em freezer a -80°C para posterior análise.

Durante a realização do teste progressivo máximo, amostras de sangue serão coletadas da ponta do dedo utilizando microtubo capilar heparinizado nos segundos finais de cada estágio para determinar o limiar de lactato. As amostras serão centrifugadas a 2000 g por 5 min para separação do plasma, o qual será transferido para microtubos e armazenado a -80° C até o momento da análise.

Todos os parâmetros serão determinados pelo método enzimático colorimétrico. Os ensaios serão realizados utilizando-se kits comercialmente disponíveis, em placas de 96 poços, com leitura das absorbâncias feita em leitor de placas (Spectramax i3).

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis do estudo serão analisadas por meio de análise de variância de 1 fator (tratamento, 4 níveis) para medidas repetidas. Quando houver efeitos significantes, serão conduzidos testes post-hoc de comparação múltipla com correção de Tukey. As análises serão feitas no software JASP (v. 0.18.3).

5. CRONOGRAMA

O estudo será submetido ao comitê de ética no dia 03 de setembro de 2025

5.1 Plano de trabalho e cronograma de execução

	Submeter estudo ao comitê de ética	Recrutamento de voluntários	Coleta de dados	Elaboração de relatórios científicos	Análise de dados
2º semestre de 2024	X				
1º semestre de 2025		X	X		
2º semestre de 2025		X	X		
1º semestre de 2026		X	X		X
2º semestre de 2026				X	X

REFERÊNCIAS

Bailey, S. J., Vanhatalo, A., Winyard, P. G., & Jones, A. M. (2011). The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway: Its role in human exercise physiology. *European Journal of Sport Science*, 12(4), 309–320. <https://doi.org/10.1080/17461391.2011.635705>

Bailey SJ, Winyard P, Vanhatalo A, Blackwell JR, Dimenna FJ, Wilkerson DP, Tarr J, Benjamin N, Jones AM. Dietary nitrate supplementation reduces the O2 cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans. *J Appl Physiol* (1985). 2009 Oct;107(4):1144-55. doi: 10.1152/jappphysiol.00722.2009. Epub 2009 Aug 6. PMID: 19661447.

Bendahan, D., Mattei, J.P., Ghattas, B., Confort-Gouny, S., Le Guern, M.E., & Cozzone, P.J. (2002). Citrulline/malate promotes aerobic energy production in human exercising muscle. *British Journal of Sports Medicine*, 36(4), 282–289. PubMed ID: 12145119 doi:10. 1136/bjism.36.4.282

Bescos R, Sureda A, Tur JA, Pons A. The effect of nitric-oxide- related supplements on human performance. *Sports Med*. 2012;42(2):99–117

Böger RH. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the "L-arginine paradox" and acts as a novel cardiovascular risk factor. *J Nutr*. 2004 Oct;134(10 Suppl):2842S-2847S; discussion 2853S. doi: 10.1093/jn/134.10.2842S. PMID: 15465797.

Campos HO, Drummond LR, Rodrigues QT, Machado FSM, Pires W, Wanner SP, Coimbra CC. Nitrate supplementation improves physical performance specifically in non-athletes during prolonged open-ended tests: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr*. 2018 Mar;119(6):636-657. doi: 10.1017/S0007114518000132. PMID: 29553034.

Chappell, A.J., Allwood, D.M., Johns, R., Brown, S., Sultana, K., Anand, A., & Simper, T. (2018a). Citrulline malate supplementation does not improve German Volume Training performance or reduce muscle soreness in moderately trained males and females. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 15(1), 42. doi:10.1186/s12970-018-0245-8

Chappell, A.J., Allwood, D.M., & Simper, T.N. (2018b). Citrulline malate fails to improve German volume training performance in healthy young men and women. *Journal of Dietary Supplements*. 2020;17(3): 249–260.

Cunniffe B, Papageorgiou M, O'Brien B, Davies NA, Grimble GK, Cardinale M. Acute Citrulline-Malate Supplementation and High-Intensity Cycling Performance. *J Strength Cond Res*. 2016 Sep;30(9):2638-47. doi: 10.1519/JSC.0000000000001338. PMID: 26808848.

Cutrufello PT, Gadowski SJ, Zavorsky GS. The effect of l-citrulline and watermelon juice supplementation on anaerobic and aerobic exercise performance. *J Sports Sci*. 2015;33(14):1459-66. doi: 10.1080/02640414.2014.990495. Epub 2014 Dec 17. PMID: 25517106

da Silva, D.K., Jacinto, J.L., de Andrade, W.B., Roveratti, M.C., Estoche, J.M., Balvedi, M.C.W.: Aguiar, A.F. (2017). Citrulline malate does not improve muscle recovery after resistance exercise in untrained young adult men. *Nutrients*, 9(10), 1132. doi:10.3390/nu9101132

El-Kirsh AA, Abd El-Wahab HM, Abd-Allah Sayed HF. The effect of L-arginine or L-citrulline supplementation on biochemical parameters and the vascular aortic wall in high-fat and high-cholesterol-fed rats. *Cell Biochem Funct*. 2011 Jul;29(5):414-28. doi: 10.1002/cbf.1766. Epub 2011 Jun 3. PMID: 21638297.

Forstermann U., Sessa W.C. Óxido nítrico sintases: Regulação e função. *Eur. Heart J*. 2012;33:829–837. doi: 10.1093/eurheartj/ehr304

Gao, C., Gupta, S., Adli, T. et al. The effects of dietary nitrate supplementation on endurance exercise performance and cardiorespiratory measures in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *J Int Soc Sports Nutr* 18, 55 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12970-021-00450-4>

Glenn JM, Gray M, Wethington LN, Stone MS, Stewart RW, Moyon NE (2017) Acute citrulline malate supplementation improves upper- and lower-body submaximal weightlifting exercise performance in resistance-trained females. *Eur J Nutr* 56(2):775–784

Gonzalez, A.M., Spitz, R.W., Ghigiarelli, J.J., Sell, K.M., & Mangine, G.T. (2017). Acute effect of citrulline malate supplementation on upper-body resistance exercise performance in recreationally resistance-trained men. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 32(11), 3088–3094. doi:10.1519/JSC.0000000000002373

Gough LA, Sparks SA, McNaughton LR, Higgins MF, Newbury JW, Trexler E, Faghy MA, Bridge CA. A critical review of citrulline malate supplementation and exercise performance. *Eur J Appl Physiol*. 2021 Dec;121(12):3283-3295. doi: 10.1007/s00421-021-04774-6. Epub 2021 Aug 21. PMID: 34417881; PMCID: PMC8571142.

Jackson AS, Pollock ML. Generalized equations for predicting body density of men. *Br J Nutr*. 1978 Nov;40(3):497-504. doi: 10.1079/bjn19780152. PMID: 718832.

Khalaf D, Krüger M, Wehland M, Infanger M, Grimm D. The Effects of Oral L-Arginine and L-Citrulline Supplementation on Blood Pressure. *Nutrients*. 2019 Jul 22;11(7):1679. doi: 10.3390/nu11071679. PMID: 31336573; PMCID: PMC6683098.

Morita M, Hayashi T, Ochiai M, Maeda M, Yamaguchi T, Ina K, Kuzuya M. Oral supplementation with a combination of L-citrulline and L-arginine rapidly increases plasma L-arginine concentration and enhances NO bioavailability. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 Nov 7;454(1):53-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.10.029. Epub 2014 Oct 14. PMID: 25445598.

Pérez-Guisado, J., & Jakeman, P.M. (2010). Citrulline malate enhances athletic anaerobic performance and relieves muscle soreness. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 24(5), 1215–1222. doi:10.1519/JSC.0b013e3181cb28e0.

Poole DC, Burnley M, Vanhatalo A, Rossiter HB, Jones AM. Critical Power: An Important Fatigue Threshold in Exercise Physiology. *Med Sci Sports Exerc*. 2016 Nov;48(11):2320-2334. doi: 10.1249/MSS.0000000000000939. PMID: 27031742; PMCID: PMC5070974.

Raúl Domínguez, José Luis Maté-Muñoz, Eduardo Cuenca, Pablo García-Fernández, Fernando Mata-Ordoñez, María Carmen Lozano-Estevan, Pablo Veiga-Herreros, Sandro Fernandes da Silva, and Manuel Vicente Garnacho-Castaño

Riffe JJ, Stout JR, Fukuda DH, Robinson EH, Miramonti AA, Beyer KS, Wang R, Church DD, Muddle TW, Hoffman JR. The Dmax method is a valid procedure to estimate physical working capacity at fatigue threshold. *Muscle Nerve*. 2017 Mar;55(3):344-349. doi: 10.1002/mus.25255. Epub 2016 Dec 23. PMID: 27422091.

Romero MJ, Platt DH, Caldwell RB, Caldwell RW. Therapeutic use of citrulline in cardiovascular disease. *Cardiovasc Drug Rev*. 2006 Fall-Winter;24(3-4):275-90. doi: 10.1111/j.1527-3466.2006.00275.x. PMID: 17214603.

Schwedhelm E, Maas R, Freese R, Jung D, Lukacs Z, Jambrecina A, Spickler W, Schulze F, Böger RH. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of oral L-citrulline and L-arginine: impact on nitric oxide metabolism. *Br J Clin Pharmacol*. 2008 Jan;65(1):51-9. doi: 10.1111/j.1365-2125.2007.02990.x. Epub 2007 Jul 27. PMID: 17662090; PMCID: PMC2291275.

Tarazona-Díaz MP, Alacid F, Carrasco M, Martínez I, Aguayo E. Watermelon juice: potential functional drink for sore muscle relief in athletes. *J Agric Food Chem*. 2013 Aug 7;61(31):7522-8. doi: 10.1021/jf400964r. Epub 2013 Jul 29. Erratum in: *J Agric Food Chem*. 2013 Nov 20;61(46):11241. PMID: 23862566.

Trexler ET, Persky AM, Ryan ED, Schwartz TA, Stoner L, Smith-Ryan AE. Acute Effects of Citrulline Supplementation on High-Intensity Strength and Power Performance: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med*. 2019 May;49(5):707-718. doi: 10.1007/s40279-019-01091-z. PMID: 30895562.

Vanhatalo A, Jones AM, Burnley M. Application of critical power in sport. *Int J Sports Physiol Perform*. 2011 Mar;6(1):128-36. doi: 10.1123/ijspp.6.1.128. PMID: 21487156

Vårvik FT, Bjørnsen T, Gonzalez AM (2021) Acute effect of citrul-line malate on repetition performance during strength training: a systematic review and meta-analysis. *Int J Sport Nutrit Exer Metabol* 1(aop):1–9

Wax B, Kavazis AN, Weldon K, Sperlak J (2015) Effects of sup-plemental citrulline malate ingestion during repeated bouts of lower-body exercise in advanced weightlifters. J Strength Cond Res 29(3):786–792

Wax B, Kavazis AN, Luckett W (2016) Effects of supplemental citrul-line-malate ingestion on blood lactate, cardiovascular dynamics, and resistance exercise performance in trained males. J Diet Suppl 13(3):269–282

Packing list



JAMES WHITE DRINKS LIMITED



WHITES FRUIT FARM, ASHBOCKING, IPSWICH, SUFFOLK IP6 9JS
 Accounts: 01473 890202 Sales: 01473 890111 Despatch: 01473 890020 Fax 01473 890001
 E-Mail: info@jameswhite.co.uk Website: www.jameswhite.co.uk

INVOICE TO:

Instituto de Ciencias Biomedicas USP
 Butanta - Cid. Universitaria
 CEP: 05508-000 - Sao Paulo
 SP - BRAZIL
 CNPJ / Import Tax Id
 63.025.530/0005-38

**Country Of
Origin : UK**

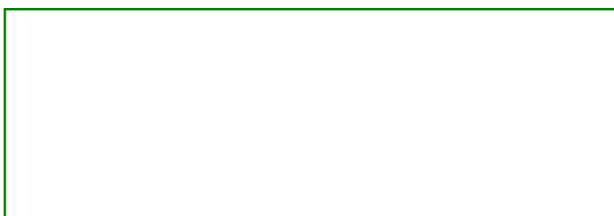
ACCOUNT	RESEARC
DATE	30/05/2025
INVOICE No.	323697
ORDER No.	

Terms & Conditions supplied separately to this invoice. All goods remain the property of James White until full payment has been received

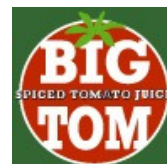
Product	Com Code	Quantity	Net Weight	Gross Weight
Hi Nitrate Shots 15 x 70ml - used for research Non organic concentrated beetroot juice HS code 2009 90 59	20099059	9	10.44	13.86
Hi Nitrate Shots x 70ml - PLACEBO for research Non organic concentrated beetroot juice - placebo HS code 2009 90 59	20099059	195	14.24	19.50

Packed as 6 boxes; each box dimensions: 30x20x20cm

EORI number. GB521361778000



Total Net Weight	25
Quantity Total	204
Number of Pallets	0
Total Gross Weight	33



BOLD BY NATURE
WHITES FRUIT FARM, ASHBOCKING, IPSWICH, SUFFOLK IP6 9JS
Accounts: 01473 890202 Sales: 01473 890111 Despatch: 01473 890020 Fax 01473 890001
E-Mail: info@jameswhite.co.uk Website: www.jameswhite.co.uk

INVOICE TO:

Instituto de Ciencias Biomedicas USP
Butanta - Cid. Universitaria
CEP: 05508-000 - Sao Paulo
SP - BRAZIL
CNPJ / Import Tax Id
63.025.530/0005-38

ACCOUNT REF. RESEARCH

DATE 24/03/2025

INVOICE No. 323697

Terms & Conditions applies. All goods remain the property of James White until full payment has been received

QUANTITY	DETAILS	DISC.	UNIT PRICE	TOTAL VALUE
9	Non organic concentrated beetroot juice 15 x 70ml - used for research. HS code 2009 90 59		15.00000	135.00
195	Placebo non organic concentrated beetroot juice 15 x 70ml - used for research HS code 2009 90 59		8.00000	1,560.00

PRO-FORMA invoice - Payment to be received prior to collection

Incoterms: Ex-Works

VAT REG. No. GB 521361778

YOUR ORDER No.

DELIVERY ADDRESS

Tel: +55 11 3091 7381
F A O Amanda N Campos
Head of the Import & Export Office
Email: amandac@icb.usp.br

TOTAL NET	£	1,695.00
CARRIAGE	£	0.00
VAT	£	0.00
TOTAL	£	1,695.00

PLEASE REMIT TO James White Drinks Ltd.

Página 21 de 21

Account No. 01677282 Sort Code: 12-20-26 Swift: BOFSGB21282 IBAN: GB84BOFS122026 01677282

Documento assinado digitalmente - Por favor verifique o HASH de autenticidade na página 22 desse documento.



USPAssina - Autenticação digital de documentos da USP

Registro de assinatura(s) eletrônica(s)

Este documento foi assinado de forma eletrônica pelos seguintes participantes e sua autenticidade pode ser verificada através do código 4CVZ-3QK3-U2W3-A2SC no seguinte link: <https://portalservicos.usp.br/iddigital/4CVZ-3QK3-U2W3-A2SC>

Guilherme Giannini Artioli

Nº USP: 3442405

Data: 22/05/2025 10:11



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ANÁLISE DE RISCO PRELIMINAR

DEMANDA DE COMPRA Nº 137528/2025

Com base nos aspectos abordados para elaboração do Estudo Técnico Preliminar e Termo de Referência e para atendimento do Inciso X artigo 18 da Lei 14.133/2021, que dispõe sobre a análise dos riscos que possam comprometer o sucesso da licitação e a boa execução contratual, descrever os riscos avaliados:

Risco: Atraso na entrega/execução

Probabilidade de ocorrência: 1 - baixa

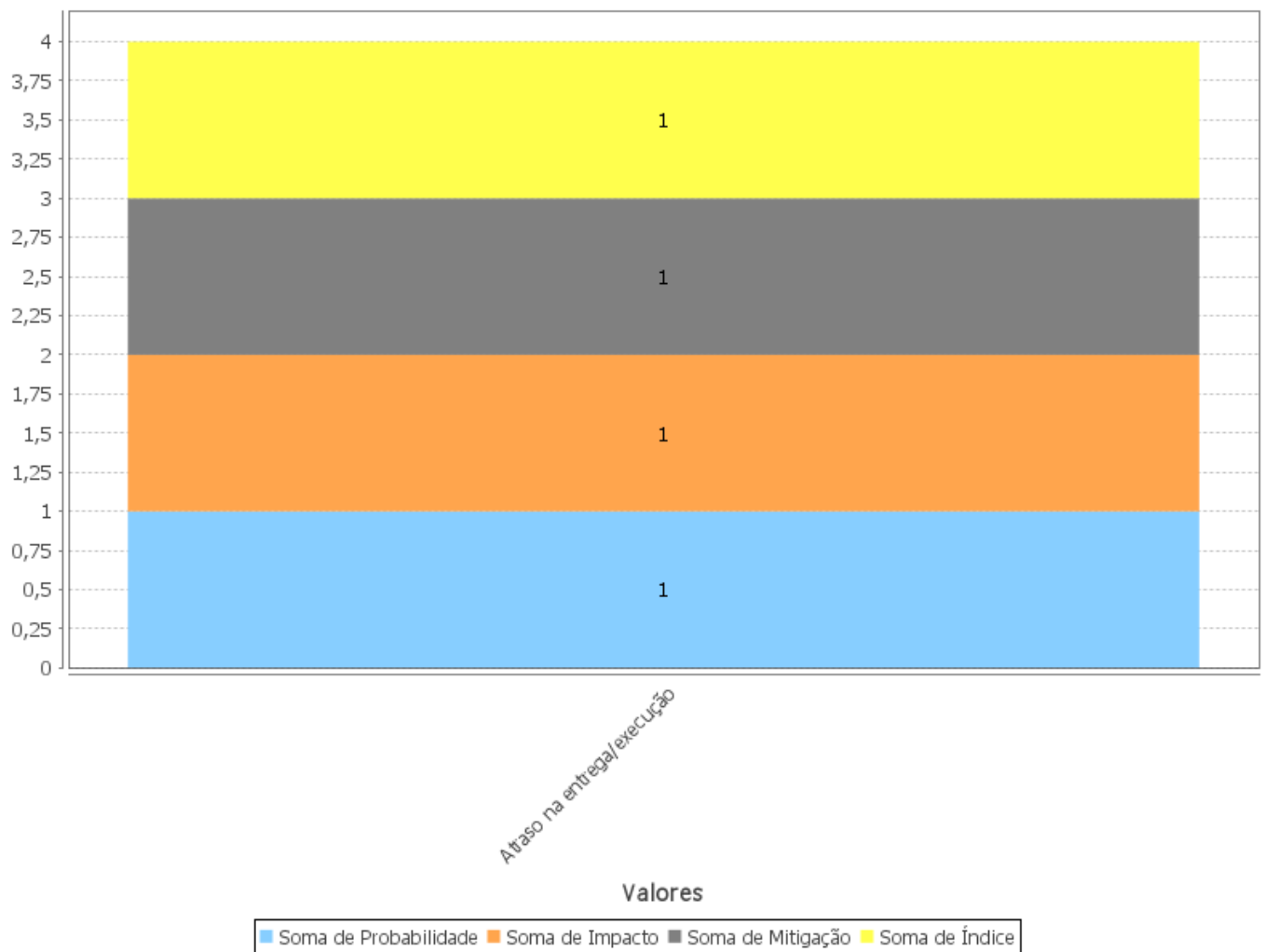
Impacto estimado: 1 - baixo

Possibilidade de mitigação: 1 - potencial

Índice do risco: 1 - baixo

Soluções: Não solicitar prazos exíguos

ANEXO GRÁFICO DE ANÁLISE DE RISCO PRELIMINAR





USPAssina - Autenticação digital de documentos da USP

Registro de assinatura(s) eletrônica(s)

Este documento foi assinado de forma eletrônica pelos seguintes participantes e sua autenticidade pode ser verificada através do código JEEW-6S4X-65D4-JW2J no seguinte link: <https://portalservicos.usp.br/iddigital/JEEW-6S4X-65D4-JW2J>

Guilherme Giannini Artioli

Nº USP: 3442405

Data: 22/05/2025 10:10



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE REFERÊNCIA PRELIMINAR

DEMANDA DE COMPRA Nº 137528/2025

Contemplar os requisitos do inciso XXIII, art. 6º, Lei nº 14.133/2021.

Observação 09 Suco concentrado de beterraba (98%), suco de limão orgânico (2%), nitrato 400 mg; Garrafas plásticas de 70ml
195 Suco concentrado de beterraba orgânica (98%), suco de limão orgânico (2%), sem nitrato (placebo);
Embalagem garrafas plásticas de 70ml



USPAssina - Autenticação digital de documentos da USP

Registro de assinatura(s) eletrônica(s)

Este documento foi assinado de forma eletrônica pelos seguintes participantes e sua autenticidade pode ser verificada através do código DACA-PGS4-5MFN-A49P no seguinte link: <https://portalservicos.usp.br/iddigital/DACA-PGS4-5MFN-A49P>

Guilherme Giannini Artioli

Nº USP: 3442405

Data: 22/05/2025 10:10