



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE MICRONUTRIENTES E DE CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM CHÁS

Letícia Kis **Silvestre**^{1a}; Raquel Fernanda **Milani**^{1c}; Fábio F. **Silva**^{2c}; Marcelo A. **Morgano**^{1b}

¹ Instituto de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos

² Agilent Technologies Brasil

Nº 13252

RESUMO – O consumo de chás no Brasil vem crescendo nos últimos anos e este produto pode conter em sua composição, além de substâncias benéficas, como os antioxidantes, os contaminantes inorgânicos que podem ser nocivos ao homem. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença de micronutrientes e contaminantes inorgânicos totais presentes em amostras de chá verde, vermelho, branco, preto e mate; e avaliar a porcentagem extraída dos contaminantes da folha do chá para a infusão, utilizando como técnica analítica a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Para os chás mate e vermelho foram encontrados níveis de Cd e Pb, respectivamente, acima do máximo estabelecido pela legislação do MERCOSUL em 100% das amostras. Para as infusões dos chás obteve-se uma menor concentração dos contaminantes.

Palavras-chaves: Chás, ICP-MS, infusão, contaminante inorgânico, micronutrientes.

^a Bolsista CNPq: Graduação em Engenharia Química - Unicamp, leticiakis@yahoo.com.br, ^bOrientador, ^c Colaborador



ABSTRACT- *The consumption of tea in Brazil grew in the last years and, besides healthy substances, tea may contain inorganic contaminants which can be harmful to human being. So, the purposes of this study were evaluate the presence of micronutrients and total inorganic contaminants in green, oolong, white, black and mate tea and the percent of extraction from leaves to drink using as analytical technique the inductively-coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). For mate and oolong teas were found levels of Cd and Pb, respectively, above the maximum established by the MERCOSUL in 100% of analyzed samples. Levels decreasing were observed from leaves to drink (infusions).*

Key-words: Tea, ICP-MS, inorganic contaminant, micronutrients

1 INTRODUÇÃO

O chá, bebida preparada a partir da infusão de folhas, flores e raízes, é uma das bebidas mais consumidas e mais antigas do mundo e tem atraído muita atenção nos últimos anos devido à sua capacidade antioxidante e pela sua abundância na dieta de milhares de pessoas em todo o mundo (Mendel e Youdim, 2004; Bunkova *et al.*, 2005).

No Brasil, o chá é definido como o produto constituído de uma ou mais partes de espécies vegetais inteiras, fragmentadas ou moídas, com ou sem fermentação, tostadas ou não, constantes do Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás (Brasil, 2005).

No chá pode ser encontrado teor de elementos inorgânicos tóxicos (Abir, 2010; Karak e Bhagat, 2010; Chenery, 1955) devido à contaminação do solo, do ar ou na etapa de processamento dos chás, quando as espécies vegetais ficam em contato com os utensílios metálicos (Han *et al.*, 2005). Também, pode ocorrer a contaminação do chá durante a etapa de industrialização da matéria-prima (Garcia *et al.*, 1997).

O Regulamento Técnico MERCOSUL, sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos (RESOLUÇÃO GMC n. 12/2011), estabelece como limites máximos para As, Pb e Cd em chá, erva mate e outros vegetais para infusão, os valores de 0,60; 0,60 e 0,40 mg/kg, respectivamente.

Frente ao exposto, existe uma preocupação em relação à presença de contaminantes inorgânicos no chá devido aos efeitos adversos que podem provocar ao consumidor, principalmente pelo fato desses contaminantes poderem se acumular no organismo e/ou apresentarem potencial carcinogênico. Portanto o objetivo deste estudo foi avaliar a presença de



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

micronutrientes e contaminantes inorgânicos totais, como alumínio, arsênio, cádmio, chumbo, cobre, crômio, ferro, manganês, níquel e zinco, em amostras de chá e avaliar a porcentagem extraída dos elementos da folha do chá para a infusão, utilizando como técnica analítica a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras

Amostras de dois lotes de chás das espécies *Camellia sinensis* (branco, preto, verde e vermelho) e *Ilex paraguariensis* (mate) foram obtidas no comércio da região de Campinas ou junto às empresas produtoras.

2.2 Reagentes e Soluções

Todos os reagentes usados possuíam grau analítico. A água utilizada (resistividade 18,2 MΩ cm) foi obtida por sistema de osmose reversa e o ácido nítrico usado foi previamente purificado em sistema sub-boiling de quartzo (Marconi). Soluções padrão de Al, As, Cu, Cr, Cd, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn (Merck, Darmstadt, Germany) e de Ge, Sc, Y (Specsol, São Paulo, Brasil) foram preparadas a partir de padrão 1000 mg/L. As vidrarias utilizadas neste trabalho permaneceram imersas em solução de HNO₃ 20 % (v/v) por no mínimo 12h.

2.3 Metodologia Analítica.

2.3.1. Determinação do teor total dos elementos inorgânicos

Para a determinação do teor total dos metais foi realizada, em triplicata, digestão ácida em sistema fechado assistido por microondas. Neste processo foram pesados $0,20 \pm 0,1$ g de amostra em frascos de digestão, adicionados 5 mL de ácido nítrico concentrado e 3 mL de água desionizada. A digestão foi realizada à temperatura máxima de 170°C durante 32 min (Tabela 1). Após a digestão, o conteúdo dos frascos foi transferido quantitativamente para balão volumétrico de 25 mL usando água desionizada (Tokalioğlu, 2012).

2.3.2. Determinação do teor de metais na infusão

O teor dos elementos na infusão foi realizado em triplicata considerando a proporção recomendada para o consumo da bebida: 1 sachê (peso médio de 1,5 g) para 1 xícara de chá (200 mL) utilizando água desionizada (18,2 MΩ), em ebulição durante 3 min. Após o resfriamento, as



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013

13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

infusões foram acidificadas com ácido nítrico 0,2 % (v/v), filtradas em membrana polimérica de malha de 250 µm e transferidas para os frascos utilizados no autoamostrador do ICP MS (Özcan, 2008).

2.3.3. ICP-MS

As análises dos elementos minerais e contaminantes inorgânicos foram realizadas em um ICP-MS, modelo 7700x (Agilent Technologies, Tokyo, Japan), equipado com um detector multielementar sequencial de massas do tipo octopolar, bomba peristáltica, câmara de nebulização e nebulizador. O sistema é controlado pelo software MassHunter utilizando como gás do plasma o argônio líquido com pureza de 99,95 % (Air Liquid, SP, Brasil) e como gás de reação/colisão o He com pureza de 99,999% (White Martins, SP, Brasil). As condições experimentais otimizadas de operação do equipamento ICP-MS estão descritas na Tabela 1 (Tokalioğlu, 2012).

Tabela 1: Condições de operação do ICP-MS (Agilent 7700x) e do digestor de microondas utilizados na determinação dos minerais e contaminantes inorgânicos presentes nas amostras de chás.

ICP-MS	Condição
Nebulizador	Micromist
Câmara de nebulização	Quartzo, duplo passo
Gerador RF	Frequência: 27 MHz, potência saída: 1550 W
Vazão gases (L/min)	Ar 15,04; Ar auxiliar 0,9; He 0,005; nebulização 1,08
Amostra (rps) e replicatas	0,1; 3
Tempo integração (s)	0,3 - 1,0
Padrão Interno	^{45}Sc ; ^{72}Ge e ^{89}Y
Isótopos estudados	^{27}Al ; ^{52}Cr ; ^{55}Mn ; ^{56}Fe ; ^{60}Ni ; ^{63}Cu ; ^{66}Zn ; ^{75}As ; ^{111}Cd ; ^{206}Pb

Microondas - Estágios	1	2	3	4
Temperatura (°C)/Potência (W)/Tempo(min)	120/1000/5	120/1000/2	170/1000/10	170/1000/15

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados médios e os intervalos de concentração para o teor total dos elementos inorgânicos presentes nas amostras de chás das variedades: Preto (n=4), Mate (n=4), Vermelho (n=2), Branco (n=2) e Verde (n=4) são apresentados na Tabela 2.

A legislação MERCOSUL (RESOLUÇÃO GMC n. 12/2011) estabelece como níveis máximos aceitáveis para As, Pb e Cd em chás, os seguintes valores: 0,6; 0,6 e 0,4 mg/kg, respectivamente. Foram encontrados valores superiores ao máximo estabelecido para Pb em 100% das amostras analisadas de chá vermelho e para Cd em 100% das amostras de chá mate enquanto que, para As, os teores encontram-se abaixo.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Tabela 2. Teor médio (intervalo concentração) dos elementos inorgânicos, em mg/kg, presentes nas amostras chás estudadas.

	Preto	Mate	Vermelho	Branco	Verde
Al	1590 (750 -2473)	523,5 (367 -712)	2000 (1997-2003)	1663 (1305-2202)	2070(1613-2503)
As	0,015 (0-0,04)	0,06 (0,03-0,07)	0,467 (0,34-0,59)	0,081 (0,34-0,6)	0,03 (0,02-0,04)
Cd	0,013 (0,011-0,015)	0,68 (0,56-0,77)	0,068 (0,06-0,075)	0,022	0,016 (0,013-0,019)
Cr	1,31 (0,45-2,55)	1,39 (0,95-1,76)	3,9 (3,3-4,5)	1,38 (1,2-1,57)	1,74 (1,5-2,1)
Cu	12,36 (11,85-12,82)	11,3 (10,95-11,65)	22,26 (21,8-22,7)	15,02 (14,13-15,91)	11,82 (10,99-11,89)
Fe	99,25 (84-114)	285 (141-483)	978,5 (974-983)	198,5 (194-203)	173 (78-303)
Mn	938,25 (110-1772)	1430,75 (1195-1811)	998 (960-1036)	1173 (1171-1176)	1172 (1118-1254)
Ni	2,6 (0,88-4,54)	2,97 (2,77-3,09)	5,25(4,8-5,7)	4,20	3,52 (3,09-4,03)
Pb	0,15 (0,14-0,17)	0,38 (0,28-0,58)	1,87 (1,54-2,2)	0,31 (0,29-0,33)	0,21 (0,05-0,38)
Zn	20,43 (18,8-22,2)	79,78 (64-96,4)	43,55 (40,8-46,3)	26,9 (24,9-28,9)	17,8 (17,2-18,5)

Marcos *et al.* (1998) estudaram chás de origem chinesa e encontrou Pb em amostras de chá vermelho em concentração de 1,26 mg/kg, valor próximo ao obtido neste estudo. Saidelles *et al.* (2010) analisaram amostras de chá mate brasileira e encontraram níveis de Cd entre 0,07 e 1,21 mg/kg e não detectaram Pb. Estes resultados concordam com os deste estudo.

Amostras de chá preto e verde de outros países como China, Japão e Irã apresentaram valores entre 11 e 26 mg/kg de Cu para chá verde; 12 a 35 mg/kg para chá preto; 10 a 26 mg/kg para chá branco, (Mckenzie *et al.*, 2010); 15 a 25,8 mg/kg para chá vermelho (Malik *et al.* 2008) e 8,38 a 12,72 mg/kg para chá mate (Saidelles *et al.*, 2010). Em relação ao Cu foi constatada concordância com os níveis encontrados nos chás preto, verde, branco, vermelho e mate.

Os valores encontrados na literatura para Al em chás verde e preto, também foram próximos aos obtidos neste estudo. O trabalho de Mckenzie *et al.* (2010) aponta níveis de 479 a 2456 mg/kg de Al para chá preto e de 612 a 4074 mg/kg para chá verde. Em contrapartida, Saidelles *et al.* (2010) encontraram teores de Al em amostras de chás do sul do Brasil variando entre 3249 e 5232 mg/kg, divergindo do encontrado nas amostras estudadas, que apresentaram concentração média de 523,5 mg/kg. Para o chá vermelho, as concentrações de Al mantiveram-se acima do apontado por Mckenzie *et al.* (2010), cujos valores encontram-se entre 273 e 1853 mg/kg; para o chá branco, por sua vez, foram obtidos valores próximos.

Os teores de Ni obtidos em chá preto de origem indiana (Natesan *et al.* (1990); Malik *et al.* (2008)) foram superiores aos deste estudo, variando de 4,02 a 13 mg/kg. Entretanto, Saidelles *et al.* (2010) obtiveram valores próximos a este estudo (3,93 a 4,68 mg/kg) em amostras de chá mate brasileiro.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Os teores de Fe variaram entre 84 a 114 mg/kg para o chá preto; 78 a 303 mg/kg para o chá verde e 141 a 483 mg/kg para mate. Em comparação, Mckenzie *et al.* (2010) avaliando amostras de chá da China, encontraram teores variando de 37 a 721 mg/kg em chá preto e de 99 a 647 mg/kg para chá verde; valores estes maiores do que os encontrados nos chás nacionais de mesma variedade. Saidelles *et al.* (2010) encontrou valores 10 vezes superiores para Fe (1584 a 5110 mg/kg) em amostras de chá mate. Em chá vermelho, Mckenzie *et al.* (2010) obteve teores entre 58 e 421 mg/kg, intervalo abaixo do encontrado neste estudo. Ainda neste estudo, foram encontrados teores médios de 684 mg/kg para Mn em chás branco; 1049 mg/kg em chás verde; 902 mg/kg em chás preto e 687 mg/kg para o chá vermelho; todos inferiores ao obtidos neste estudo, principalmente para o chá branco.

Os resultados obtidos no estudo da extração dos contaminantes inorgânicos da matéria seca para a infusão do chá são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Teor médio (intervalo de concentração), µg/kg dos elementos inorgânicos em infusões de chá.

	Preto	Mate	Vermelho	Branco	Verde
Al	4907(2061-7996)	146,7 (127,8 - 164)	957,56 (882,3-1032,4)	3871 (3674-4067)	5234 (3822-6221)
As	< 0,46	< 0,46	<0,46	<0,46	< 0,46
Fe	7,6 (6,1-8,2)	13,78 (9,09-15,63)	56,45 (47,21-65,7)	34,5 (28,7-40,3)	20,85 (11,78-28,4)
Cd	< 0,053	0,28 (0,23-0,3)	< 0,053	<0,053	< 0,053
Zn	24,3 (<35-49,54)	64,35 (52,9-78,9)	44,7 (44,26-45,16)	66,25 (64,8-67,8)	35,6 (<35-59,92)
Mn	1302(173,4-2444,6)	2186 (1707-2669)	1054 (978,1-1131)	2415 (2368-2464)	2165 (1612-2940)
Cr	2,35 (<0,29 - 5,52)	0,83 (<0,29-5,5)	0,62 (0,58-0,65)	2,38 (2,26-2,49)	2,96 (2,01-3,67)
Ni	12,05 (2,5 - 23,8)	9,39 (9,23-9,7)	18,8 (15,98-21,65)	31,5 (31,2-31,7)	24,9 (19,8-31,5)
Pb	0,51 (0,4-0,6)	0,27 (<0,39-0,59)	1,18 (1,08-1,27)	<0,39	<0,39
Cu	20,1 (16,8-24,6)	2,08 (1,77-2,75)	7,2 (4,74-9,69)	20,4 (20,3 -20,45)	16,5 (15,36-17,41)

Na infusão do chá os contaminantes predominantes foram Al e Mn, sendo os valores médios encontrados de 4,9 mg/L para chá preto e 5,2 mg/L para o chá verde; valores estes próximos aos obtidos por Fernandez *et al.* (2002), de 2 a 6 mg/L de Al para chás verde e preto. Os níveis encontrados para Mn nas amostras de chá preto e vermelho foram próximos enquanto os chás mate, branco e verde apresentam concentrações superiores a estes.

Os teores de Ni, Fe, Zn e Cu variaram entre 2,08 a 76,7 µg/kg nas infusões dos chás sendo que Zn apresentou as maiores concentrações nas amostras de chá mate. No trabalho de Fernandez *et al.* (2002), foi encontrado teores em chá preto entre 0,03 e 0,16 mg/L de Cu; 0,03-0,23 mg/L de Fe e 0,19 e 0,50 mg/L de Zn. Para este chá, maiores teores de Cu e Zn e concentrações próximas de Fe foram observadas sendo que o mesmo foi notado para o chá verde.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

As e Cd não foram encontrados em concentrações quantificáveis e, deste modo, é possível afirmar que não ocorreu transferência destes contaminantes para a infusão, mesmo estando presentes na matéria seca. O Pb foi detectado nas amostras de infusão, em baixas concentrações, porém menores do que as obtidas por Natesan *et al* (1990) que encontraram teores de 0,038mg/L de Pb em infusão de chá preto proveniente da Índia.

Na Tabela 4 são apresentadas as porcentagens médias de extração dos elementos inorgânicos na infusão dos chás. Foi possível constatar que As e Cd não estão presentes de forma considerável na infusão, com exceção do Cd no chá mate, que apresentou extração de 5,5 % do que havia na matéria seca e do As no chá vermelho, com uma extração de 5,6 %.

Tabela 4. Porcentagem média de extração dos contaminantes inorgânicos em chás.

	Al	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
Preto	39,78	0	0	14,64	21,64	1,03	20,83	53,37	44,20	16,70
Mate	3,92	0	5,46	7,25	2,44	0,78	20,39	42,21	9,72	10,71
Vermelho	6,38	5,59	0	2,19	4,29	0,77	14,07	48,73	8,80	13,74
Branco	25,3	0	0	24,4	18,9	2,3	26,5	102,0	0	29,7
Verde	34,96	0	0	22,65	18,71	1,89	24,72	95,46	0	26,49

A extração do Ni foi a que apresentou os maiores índices, sendo extraído de 42% a 100% para a infusão. O chá branco teve 100% de extração de Ni. O Al apresentou extração de 3,9 a 39,8%, havendo maior extração nos chás preto, verde e branco e menor extração no chá mate. A extração do Mn se deu em torno de 20 a 30% enquanto a de Cr e Cu manteve-se no intervalo de 2 a 23%. O Pb foi extraído num intervalo de 0 a 44%, não sendo observada para os chás branco e verde e sendo máxima no chá preto. Os elementos As, Cd e Fe apresentaram os menores índices de extração e o chá vermelho, em média, foi o que apresentou menores índices de extração de elementos inorgânicos, enquanto o verde apresentou níveis mais elevados.

4 CONCLUSÃO

Foram encontrados teores de Cd superiores ao máximo estabelecido pela legislação do MERCOSUL em todas as amostras analisadas de chá mate e de Pb em 100% das amostras de chá vermelho. Os teores de Al, Fe e Ni presentes nas amostras de chás nacionais estudadas apresentaram grande variação quando comparadas com de outras origens. As menores porcentagens de extração dos elementos da folha para a infusão foram obtidas para As, Cd e Fe e, de modo geral, foi verificada uma redução nos teores dos elementos inorgânicos na infusão.



5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ, FAPESP (proc. 2012/19142-7), PIBIT e Agilent Technologies Brasil. Beneficiário de auxílio financeiro da CAPES – Brasil.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIR. Chá gelado: consumo 2004-2008. **Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não-Alcoólicas**, 2010b. Disponível em: <<http://www.abir.org.br/IMG/pdf/doc-205.pdf>>. Acesso em: 16 jun. 2012.

Brasil. Resolução RDC n. 277, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis.

Bunkova, R.; Marova, I.; Nemeč, M. Antimutagenic properties of green tea. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.60, p.25-29, 2005.

Chenery, E.M. A preliminary study of aluminium and the tea bush. **Plant and Soil, The Hague**, v.6, n.2, p.174-200, 1955.

Fernández, P.L.; Pablos, F.; Martín, M.J.; Gonzáles, A.G. Multi-element analysis of tea beverages by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Food Chemistry**, v.76, p.483-489, 2002.

Garcia, R.V. et. al. Minerals content of paraguayan yerba mate. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.47, p.77-80, 1997.

Han, W.Y.; Shi Yz, M.A.L.F.; Ruan, J.Y. Arsenic, cadmium, chromium, cobalt, and copper in different types of Chinese tea. **Bulletins of Environmental Contamination and Toxicology**, v.75, p.272-277, 2005.

INMETRO. Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Revisão 3, fev, 2010

Karak, T.; Bhagat, R.M. Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: A review. **Food Research International**, v. 43, p. 2234-2252, 2010.

Malik, J; Szakova, J; Drabek, O; Kokoska, L. Determination of certain micro and macroelements on plant stimulants and their infusions. **Food Chemistry**, v. 111, p.520-525, 2008.

Marcos, A; Fischer, A; Rea, G; Hill, S.J. Preliminary study using trace elements concentrations and a chemometrics approach to determine geographical origin of tea. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 13, 521-525, 1998.

Mckenzie, J.S.; Jurado, J.M.; Pablos, F. Characterization of tea leaves according to their total mineral content by means of probabilistic neural networks. **Food Chemistry**, v. 123, p. 859-864, 2010.

Mendel, S.; Youdim, M.B. Catechin polyphenols: neurodegeneration and neuroprotection in neurodegenerative diseases. **Free Radical Biology and Medicine**, v.37, p.304-317, 2004.

MERCOSUL. Resolução GMC n. 12/2011. Regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos.

Natesan, S. Ranganathan, V. Content of various elements in different parts of the tea plant and infusions of black tea from southern India. **Journal of food Science and Agriculture**, v.51, p.125-139, 1990.

Özcan, M.M.; Ünver, A.; Uçar, T.; Arslan, D. Mineral content of some herbs and herbal teas by infusion and decoction. **Food Chemistry**, v. 106, p. 1120-1127, 2008.

Saidelles, A.P, Kirchner, R.M; Santos, N.R.Z; Flores, E.M.M; Bartz, F.R. Análise de metais em amostras comerciais de erva-mate do sul do Brasil. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n.2, p.259-265, 2010.

Tokalioglu, Ş. Determination of trace elements in commonly consumed medicinal herbs by ICP-MS and multivariate analysis. **Food Chemistry**, v. 134, p. 2504-2508, 2012.