



## AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE CHÁS POR HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Raquel M. Reis<sup>1</sup>; Regina P. Z. Furlani<sup>2</sup>; Fernanda M. L. Gomes<sup>3</sup>; Marcelo A. Morgano<sup>2</sup>; Silvia A. V. Tfouni<sup>4</sup>

Nº 14230

**RESUMO** - Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos potencialmente carcinogênicos que são formados a partir da queima incompleta de material orgânico. Os alimentos são uma das principais rotas de exposição humana aos HPAs. Os chás estão sujeitos à contaminação por HPAs através do ar, por contaminação ambiental, ou pela etapa de secagem utilizada durante o processamento. Os objetivos do presente estudo foram: validar uma metodologia analítica de acordo com as orientações do INMETRO utilizando QuEChERS e HPLC-FLD para determinação, em chás e infusões, dos 4 HPAs indicados pela EFSA como marcadores; e avaliar diferentes tipos (morango, preto, verde, branco e mate), marcas e lotes quanto à sua presença. A metodologia utilizada se mostrou adequada para a análise dos 4 HPAs uma vez que atende aos critérios de desempenho propostos pela União Européia para análise de BaP em alimentos. Entre os chás, os menores níveis foram encontrados em chá de morango (0,74 µg/kg a 5,07 µg/kg) e os maiores no chá mate (193,60 µg/kg a 1794,84 µg/kg), sendo que houve uma grande variação entre diferentes tipos, marcas e lotes. Os níveis de HPAs encontrados nas infusões de chá, por sua vez, foram em sua maioria não detectados ou muito baixos (<0,14 ug/L), representando uma taxa de transferência desses compostos de menos de 0,7%.

**Palavras-chaves:** chá, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, QuEChERS.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Química, IQ/UNICAMP, Campinas-SP; raquel\_m\_reis@hotmail.com

2 Colaborador: Pesquisador Científico, CCQA/ITAL, Campinas-SP.

3 Colaborador: Assistente, CCQA/ITAL, Campinas-SP.

4 Orientador: Pesquisador Científico, CCQA/ITAL, Campinas-SP; tfouni@ital.sp.gov.br



**ABSTRACT-** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are potentially carcinogenic compounds that can be formed during incomplete combustion of organic matter. Foods are one of the major routes of exposition to PAHs by humans. The plants used in tea production are subject to environmental contamination and likewise the drying step of the tea production process may also be a source of contamination by PAHs. The objectives of the present study were: to validate an analytical method, following INMETRO guidelines and using QuEChERS sample preparation and HPLC-FLD, for determination of the 4 PAHs indicated by EFSA as markers in tea and infusions; and evaluate different types (strawberry, black, green, white and mate), brands and batches for the presence of these compounds. Method was shown to be adequate for the analysis since it complies with the criteria proposed by European Union for benzo[a]pyrene in food. Lowest levels were detected in strawberry tea (0.74  $\mu\text{g}/\text{kg}$  to 5.07  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) and the highest in mate tea (193.60  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a 1794.84  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). There was a high variation in levels between different types, brands and batches of tea. PAHs level in tea infusion were mostly not detected or very low (<0,14  $\mu\text{g}/\text{L}$ ), representing a transference rate of less than 0.7%.

**Key-words:** tea, polycyclic aromatic hydrocarbons, QuEChERS.

## 1 INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) constituem uma ampla classe de compostos formados a partir da queima incompleta de material orgânico. Em avaliação realizada em 2005, o JECFA (Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares) concluiu que 13 HPAs são claramente carcinogênicos e genotóxicos (WHO, 2005). A IARC (Internacional Agency for Research on Cancer) classificou o HPA mais conhecido e estudado (benzo[a]pireno) no grupo 1, ou seja, carcinogênico em humanos (IARC, 2010). Em 2008, o painel de peritos em contaminantes da EFSA (European Food Safety Authority) revisou os dados disponíveis sobre ocorrência e toxicidade de HPAs e concluiu que o benzo[a]pireno, que é tradicionalmente utilizado individualmente como marcador para a presença de HPAs em alimentos, não é indicado para esse fim; tendo então sugerido como indicador a presença combinada de quatro HPAs (HPA4: benzo[a]pireno, criseno, benzo[a]antraceno e benzo[b]fluorenteno) ou de oito HPAs (HPA8: os quatro anteriores mais benzo[k]fluoranteno, benzo[ghi]perileno, dibenzo[ah]antraceno e indeno [1,2,3 cd-pireno]) (EFSA, 2008).



## 8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

Os alimentos são uma das principais rotas de exposição humana aos HPAs. A presença desses compostos em alimentos se deve principalmente à contaminação ambiental e à sua formação durante o processamento de alimentos em etapas envolvendo defumação, torrefação e secagem direta com madeira (WHO, 1998).

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 no Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás. O produto pode ser adicionado de flores ou especiarias para conferir aroma e ou sabor (Brasil, 2005).

As plantas utilizadas para produção dos chás estão sujeitas ao acúmulo de HPAs presentes, especialmente, no ar. O processamento do chá também pode levar à contaminação por HPAs, porque muitos chás são secos com gases de combustão gerados a partir da queima de madeira, óleo ou carvão. Como os HPAs estão invariavelmente presentes nesses gases, eles podem ser transferidos para o chá (Lin et al, 2005).

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi validar uma metodologia analítica de acordo com as orientações do INMETRO utilizando QuEChERS e HPLC-FLD para determinação dos 4 HPAs indicados pela EFSA como marcadores da presença de HPAs, em chás e suas infusões, de modo a avaliar a ocorrência desses contaminantes nos produtos disponíveis no comércio e a transferência desses compostos para a infusão.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Amostras

Foram avaliadas amostras de 5 tipos de chás industrializados: da planta *Camellia sinensis* (branco, preto e verde), da planta *Ilex paraguariensis* (mate) e de morango, sendo 3 lotes de 3 marcas para cada tipo de chá (n=45). As amostras foram analisadas em triplicata quanto à presença de 4 HPAs: benzo[*a*]antraceno (BaA), criseno (Chy), benzo[*b*]fluoranteno (BbF) e benzo[*a*]pireno (BaP) nas folhas de chá e suas respectivas infusões. As folhas de chá foram moídas de modo a se obter um pó fino e homogêneo e as infusões foram preparadas na proporção de 1,5 g de chá para 200 mL de água conforme instrução nos rótulos dos produtos.



## **2.2 Extração e limpeza**

A metodologia analítica utilizada foi baseada no método QuEChERS original de Anatassiades et al. (2003), que foi desenvolvido inicialmente para análise de pesticidas e tem sido testado e utilizado para extração e análise de diferentes compostos em alimentos. A acetonitrila utilizada na etapa de extração foi substituída por acetato de etila e na etapa de clean-up foram utilizados os sorventes PSA (amina primária-secundária) e sílica.

## **2.3 Análise cromatográfica**

A técnica empregada foi a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência. Para a separação dos compostos foi utilizada uma coluna C18 e um gradiente de fase móvel composta por acetonitrila-água a um fluxo de 1 mL/min e volume de injeção de 30 µL. A detecção foi feita através de uma programação de comprimentos de onda. A quantificação foi feita por padronização externa.

## **2.4 Validação da metodologia analítica**

A curva de calibração foi construída com injeções em duplicata de soluções padrão dos 4 HPAs em acetonitrila com níveis de concentração variando de 0,10 a 25,00 µg/L. Para os testes de recuperação, amostras branco de chá verde (e infusão) foram fortificadas com soluções padrão de HPAs em diferentes concentrações e as análises foram feitas em cinco replicatas. A repetibilidade do método foi avaliada pelo coeficiente de variação (CV) associado às medidas de cada HPA durante os testes de recuperação. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados de acordo com a orientação do INMETRO (2011). Para tanto, foram feitas sete análises independentes da amostra branco fortificada com HPAs no nível de 0,1 µg/kg (infusão) e 0,5 µg/kg (chá - folha). Os LODs foram calculados a partir dos desvios padrão dos resultados das 7 determinações. Os limites de quantificação (LOQ) foram estabelecidos como o menor nível de fortificação utilizado nos testes de recuperação, conforme orientação do INMETRO (2011) para análises em nível de traços.



### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A metodologia utilizada se mostrou adequada para a análise dos 4 HPAs em amostras de chá e suas infusões. As curvas de calibração se mostraram lineares na faixa de trabalho utilizada, sendo que os coeficientes lineares variaram de 0,9997 a 0,9999. Para o chá (folhas) os valores médios de recuperação obtidos ficaram entre 69% (BbF) e 99% (Chy), com um CV máximo de 25%. Para a infusão a recuperação variou de 54% (Chr) a 99% (BbF), com um CV máximo de 20%. Os limites de detecção do método variaram de 0,24 µg/kg (BaP) a 0,33 µg/kg (Chr) para o chá (folhas) e de 0,03 (BaP) µg/kg a 0,05 (Chr) µg/kg para a infusão. Os limites de quantificação foram, para todos os compostos, de 0,50 µg/kg (folhas) e 0,10 µg/L (infusão). O método pode ser considerado adequado para a determinação dos 4 HPAs em chás e suas infusões, uma vez que atende aos critérios de desempenho propostos pela União Européia para análise de BaP em alimentos, onde é estabelecido que o LOD e o LOQ sejam menores que 0,3 e 0,9 µg/kg, respectivamente, e que a recuperação fique na faixa de 50 a 120% (CEC, 2007).

Os níveis individuais de HPAs encontrados nas amostras de chá (folha) variaram de não detectado (BaP em amostra de chá de morango e preto) a 554,66 µg/kg (Chr em amostra de chá mate). Os níveis de BaA variaram de 0,69 a 434,12 µg/kg, os de Chr variaram de não detectado a 554,66 µg/kg, de BbF de não detectado a 382,80 µg/kg e de BaP de não detectado a 423,25 µg/kg.

As figuras 1 e 2 apresentam os níveis da somatória dos quatro HPAs (HPA4) nas diferentes marcas e lotes de chá (folhas) analisados. Os menores níveis foram encontrados nos chá de morango (0,74 µg/kg a 5,07 µg/kg) e os maiores no chá mate (193,60 µg/kg a 1794,84 µg/kg). Houve uma grande variação nos níveis encontrados nos diferentes tipos de chá e também entre as diferentes marcas avaliadas. Sendo que entre os diversos lotes de uma mesma marca também houve variação nos teores de HPAs encontrados. Como pode ser observado na figura 2, os níveis de HPAs detectados nas amostras de chá mate (folhas) foram os mais elevados entre todos os tipos de chá.

A legislação brasileira não estabelece limites máximos de HPAs em chás, há apenas regulamentação para água, aroma de fumaça e óleo de bagaço ou caroço de oliva. A União Europeia, por sua vez, estabelece níveis máximos para BaP e HPA4 em alguns alimentos que vão de 1,0 a 6,0 µg/kg para BaP, e de 1,0 a 35,0 µg/kg, respectivamente (CEC, 2011). Ao se utilizar os limites estabelecidos como base de comparação verifica-se que 22 das 45 amostras apresentam níveis tanto de BaP quanto de HPA4 acima dos maiores limites estabelecidos (6,0 e 35,0 µg/kg).



**8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014**  
**12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo**

Os níveis de HPAs encontrados nas infusões de chá, por sua vez, foram em sua maioria não detectados ou muito baixos (máximo de 0,14 ug/L), ou seja, quando do preparo da bebida, a taxa de transferência desses compostos das folhas de chá para a infusão foi de menos de 0,7%.

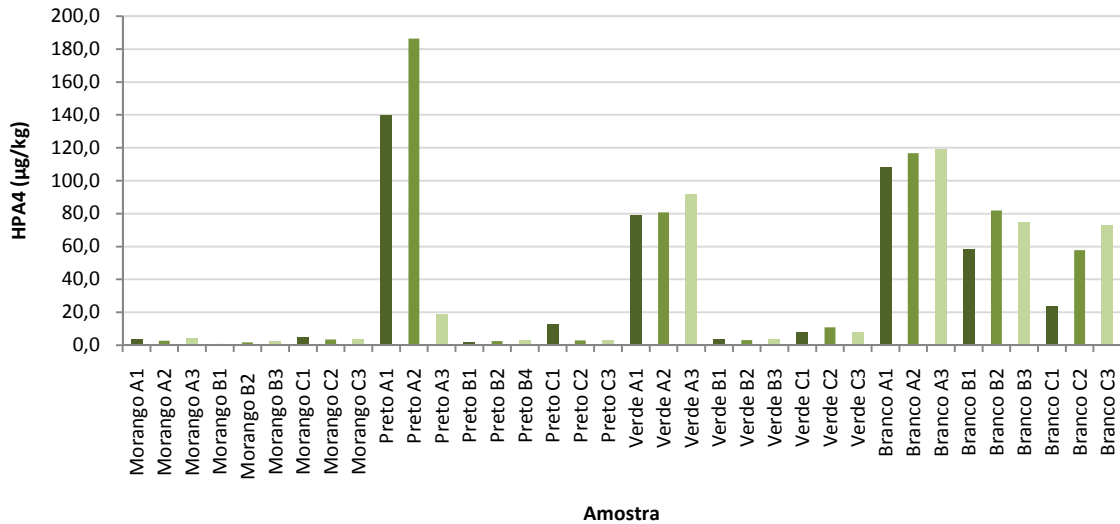


Figura 1. Níveis de HPA4 detectados nas diferentes marcas e lotes de chás (folhas)

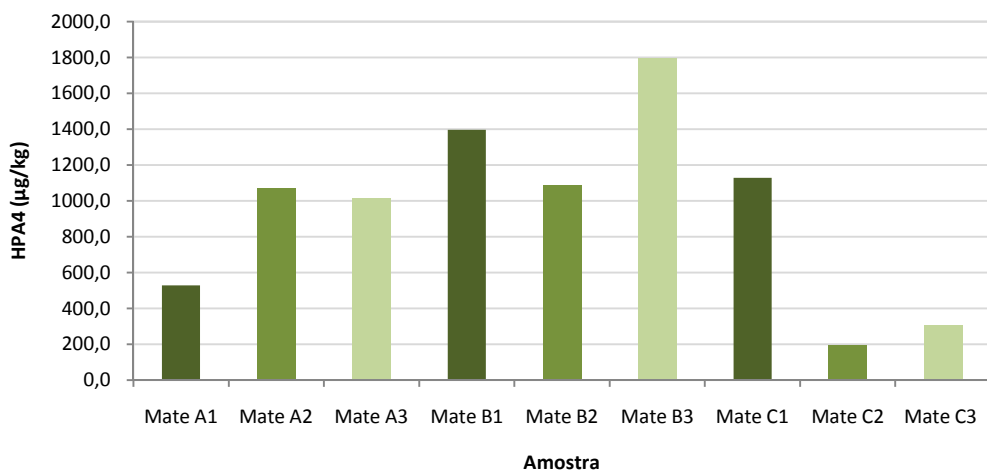


Figura 2. Níveis de HPA4 detectados nas diferentes marcas e lotes de chás mate (folhas)



## 8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

### 4 CONCLUSÕES

A utilização do método QuEChERS para preparo das amostras se mostrou adequada para a determinação dos quatro HPAs (BaA, BbF, BkF e BaP) em chás e suas infusões. Em 49% das amostras de chá (folha) os níveis se encontravam acima dos maiores limites estabelecidos pela União Europeia. Como esperado, os níveis de HPAs encontrados nas infusões são menores do que aqueles determinados nas folhas de chá, demonstrando a baixa taxa de transferência desses compostos para a infusão.

### 5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida (PIBIC/CNPq) e à FAPESP pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa (processo 2012/19142-7).

### 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F.J., Fast and easy multiresidue method employing acetonitrila extraction/partitioning and “dispersive solid phase extraction” for the determination of pesticides residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, n. 2, p. 412-431, 2003.

BRASIL. Resolução RDC nº 277, de 22 de setembro de 2005 – **Regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis.**

CEC – The Commission of the European Communities. **Commission Regulation (EC) No 333/2007 of 28 March 2007.** Official Journal of European Union, 29.03.2007.

CEC – The Commission of the European Communities. **Commission Regulation (EC) No 835/2011 of 19 August 2011.** Official Journal of European Union, 20.08.2011.

EFSA – European Food Safety Authority. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food, Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. **The EFSA Journal**, 724: 1-114, 2008.

IARC. 2010. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. **Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures.** v. 92. Lyon, France: IARC.



**8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014**  
**12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo**

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008. Revisão 4, Julho, 2011.

LIN, D., TU, Y., ZHU, L. Concentrations and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 41-48, 2005.

WHO - World Health Organization. *Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Rome, 47p, 2005.

WHO - World Health Organization. Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Health Criteria*, Geneva, n.202, 1998.