



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CEILÂNDIA  
CURSO DE FARMÁCIA**

Jussara Aparecida Costa Brandão

**Teores de elementos tóxicos (As, Cd) e essenciais (Ca, Fe, Mg e Mn) em chás comercializados no Distrito Federal e a contribuição do seu consumo nos limites e/ou necessidades de ingestão diárias**

Brasília  
2015

Jussara Aparecida Costa Brandão

**Teores de elementos tóxicos (As, Cd) e essenciais (Ca, Fe, Mg e Mn) em chás comercializados no Distrito Federal e a contribuição do seu consumo nos limites e/ou necessidades de ingestão diárias**

Monografia de conclusão de curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientadora: Profa. Dra. Vívian da Silva Santos

Brasília  
2015

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Brandão, Jussara A. C.

Teores de elementos tóxicos (As, Cd) e essenciais (Ca, Fe, Mg e Mn) em chás comercializados no Distrito Federal e a contribuição do seu consumo nos limites e/ou necessidades de ingestão diárias, 2015.

37 p. : il. ; 30cm.

Monografia de conclusão de curso, apresentado à Faculdade de Ceilândia – UnB.

Orientadora: Santos, Vívian da Silva.

1. Chá. 2. Elementos tóxicos. 3.Elementos essenciais. 4. Ingestão dietética. 5. Infusão

Jussara Aparecida Costa Brandão

Teores de elementos tóxicos (As, Cd) e essenciais (Ca, Fe, Mg e Mn) em chás comercializados no Distrito Federal e a contribuição do seu consumo nos limites e/ou necessidades de ingestão diárias

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Profa. Dra. Vívian da Silva Santos  
(FCE/Universidade de Brasília)

---

Profa. Dra. Eliana Fortes Gris  
(FCE/Universidade de Brasília)

---

Prof. Dr. Eduardo Antonio Ferreira  
(FCE/Universidade de Brasília)

Brasília  
2015

*Dedico este trabalho aos meus pais, Ubirajar e Rosana, que sempre acreditaram no meu potencial.*

## **AGRADECIMENTOS**

*A Deus, por ser o meu amparo e meu refúgio nos momentos de aflições e tribulações, pelo dom da minha vida, e por tudo que sou e tenho.*

*Aos meus pais, Ubirajar e Rosana, pelo exemplo de honestidade, caráter e respeito, por abdicaram de muitas coisas em prol dos meus estudos e da minha felicidade, e por todo amor doado em todos esses anos.*

*Aos meus irmãos, Luís, Victorugo e Matheus, pela força e cumplicidade, por serem o meu amparo, fazendo com que eu nunca desistisse dos meus sonhos.*

*A minha orientadora, Vivian, pelo carinho, paciência, disponibilidade, confiança e conhecimento ofertado.*

*A todos os meus professores, que de uma forma ou outra contribuíram para a minha formação acadêmica, meu crescimento profissional e amadurecimento pessoal.*

*A todos os funcionários da Faculdade de Ceilândia pelo agradável convívio e colaboração.*

*Ao professor Fernando Barbosa Júnior pelo espaço cedido em seu laboratório para a realização de alguns experimentos, o Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.*

*A todos os meus amigos, por estarem sempre ao meu lado, me aconselhando e acreditando em mim.*

*A todos vocês os meus sinceros agradecimentos.*

*"A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê."*

*Arthur Schopenhauer*

## RESUMO

BRANDAO, J. A. C. **Teores de elementos tóxicos (As, Cd) e essenciais (Ca, Fe, Mg e Mn) em chás comercializados no Distrito Federal e a contribuição do seu consumo nos limites e/ou necessidades de ingestão diárias.** 2015. 37f. Monografia. Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

O chá é umas das bebidas mais consumidas no mundo e apresenta múltiplos benefícios, em decorrência do elevado teor de elementos essenciais, mas em contrapartida, contém também alguns elementos-traço indesejáveis que podem ser prejudiciais à saúde. Avaliou-se neste estudo se alguns metais essenciais (Fe, Ca, Mg, Mn) e tóxicos (Cd, As) estão presentes em alguns chás e se são extraídos mediante várias formas de preparo do chá; como também se estimou a contribuição do consumo de chá para a ingestão diária desses elementos. As amostras de chás de boldo (*Pneumus boldus Molina*), camomila (*Matricaria recutita L.*), capim cidreira (*Cymbopogon citratus Stapf*) e hortelã (*Mentha piperita L.*) foram adquiridas nos supermercados do Distrito Federal, o chá foi preparado de modo convencional e, posteriormente, os elementos químicos foram quantificados usando o ICP-MS. O teor de Cd nos chás de camomila está acima do preconizado pela RDC 42/2013 e a contribuição do As e Cd para o PTDI foram baixas. Não houve diferença significativa na extração de elementos químicos levando em consideração as diferentes formas de preparo de chá. O Mg, Ca e Mn foram mais bem extraídos no chá de capim cidreira, enquanto o Fe foi no chá de camomila. O Mg foi o elemento essencial com mais extraído nos processos de infusões, enquanto o Mn apresentou menor extração. A contribuição média do consumo de chás para as necessidades de ingestão diária dos elementos essenciais foi baixa e decresceu da seguinte forma Fe > Mg > Ca > Mn.

**Palavras-chave:** Chá; Elementos tóxicos; Elementos essenciais; Ingestão dietética; Infusão.

## ABSTRACT

BRANDAO, J. A. C. Levels of toxic elements (As, Cd) and essential (Ca, Fe, Mg and Mn) in teas marketed in the Federal District and the contribution of consumption within the limits and / or daily intake needs. 37 f. Monograph. Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

Tea is one of the most consumed beverages in the world and offers multiple benefits, due to the high content of essential elements, but on the other hand, it also contains some undesirable trace elements that may be harmful to health. It was evaluated in this study if some essential (Fe, Ca, Mg, Mn) and toxic (Cd, As) metals are present in some teas and if they are extracted by various forms of preparation of tea; but also estimated the contribution of tea consumption for the daily intake of these elements. Samples of boldo teas (*Pneumus boldus Molina*), chamomile (*Matricaria recutita L.*), lemon grass (*Cymbopogon citratus Stapf*) and mint (*Mentha piperita L.*) were purchased from supermarkets of the Federal District, the tea was prepared conventionally and subsequently chemical components were quantified using the ICP-MS. The Cd content of chamomile teas are above the recommended by RDC 42/2013 and the contribution of As and Cd for PTDI were low. There was no significant difference in the extraction of chemical elements taking into account the different forms of tea preparation. The Mg, Ca and Mn was better extracted the lemon grass tea, while the Fe had more extrabilidade in chamomile tea. Magnesium was the essential element to better extrabilidade, while the Mn showed lower extraction. The average contribution of consumption of teas to the daily intake requirements of the essential elements was low and decreased as follows Fe> Mg> Ca> Mn.

**Keywords:** Tea; Toxic elements; Essential elements; Dietary intake; Infusion.

---

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Relação dose-resposta individual para uma substância essencial..... 10
- Figura 1.** Representação esquemática dos experimentos realizados.....19
- Figura 3.** (A) Concentração de arsênio no extrato seco dos chás analisados. (B) Concentração de cádmio no extrato seco dos chás analisados.....23
- Figura 4.** (A) Concentração de manganês no extrato seco dos chás analisados. (B) Concentração de ferro no extrato seco dos chás analisados .....25
- Figura 5.** (A) Porcentagem média de Fe extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca A. (B) Porcentagem média de Fe extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca B. ....26
- Figura 6.** (A) Porcentagem média de Mn extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca A. (B) Porcentagem média de Mn extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca B. ....26
- Figura 7.** (A) Concentração de magnésio no extrato seco dos chás analisados. (B) Concentração de magnésio no extrato seco dos chás analisados.....28
- Figura 8.** (A) Porcentagem média de Ca extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca A. (B) Porcentagem média de Ca extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca B.....29
- Figura 9.** (A) Porcentagem média de Mg extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca A. (B) Porcentagem média de Mg extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca B.....29

---

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** DRIs de minerais (Ca e Mg) e minerais-traço (Fe e Mn) nutricionalmente essencia.....14
- Tabela 2.** Programa de aquecimento utilizado na digestão das amostras assistida por micro-ondas segundo proposto por Nardi e colaboradores (2009) com modificações .....20
- Tabela 3.** Condições de operação do ICP-MS.....20
- Tabela 4.** Ingestão diária estimada levando em consideração o consumo de um sache (1g) de chá por dia, com infusão de 5 minutos e sua contribuição para o valor provisório de ingestão diária tolerável.....24
- Tabela 5.** Contribuição do Fe e Mn para a Ingestão diária recomendada (IRD), precronizada pela RDC 269/2005, levando em consideração o consumo de um sache (1g) de chá por dia, com infusão de 5 minutos.....27
- Tabela 6.** Contribuição do Ca e Mg para a Ingestão diária recomendada (IRD), precronizada pela RDC 269/2005, levando em consideração o consumo de um sache (1g) de chá por dia, com infusão de 5 minutos. ....30

---

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Al	alumínio
AMPc	monofosfato de adenosinacíclico
ANOVA	Análise de variância simples
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
As	arsênio
ATP	trifosfato de adenosina
ATSDR	<i>Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças</i>
Ca	cálcio
Cd	cádmio
Cd-MTTs	complexo cádmio-metalotioneína
Co	cobalto
Cu	cobre
Cr	cromo
DF	Distrito Federal
DRIs	Ingestões Dietéticas de Referência
EROs	espécies reativas de oxigênio
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
Fe	ferro
FCFRP	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
g	grama
Hg	mercúrio
IARC	<i>International Agency for Research on Câncer</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-MS	espectrômetro de massas com plasma acoplado indutivamente
IDA	ingestão diária adequada
IDR	ingestão diária recomendada
JECFA	<i>Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives</i>
kg	kilograma
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Planejamento
Mg	magnésio
mg	miligrama

---

Mn	manganês
ng	nanograma
Ni	níquel
NO	óxido nítrico
P	pressão
Pb	chumbo
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
ppb	partes por bilhão
ppm	partes por milhão
PTDI	<i>Provisional Tolerable Daily Intake</i>
PTWI	<i>Provisional Tolerable Weekly Intake</i>
RDA	Recomendação de ingestão diária
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
Se	selênio
T	temperatura
UL	Nível superior à ingestão tolerável
USP	Universidade de São Paulo
WHO	<i>World Health Organization</i>
Zn	zinco
µg	micrograma

**LISTA DE SÍMBOLOS**

±	mais ou menos
%	porcentagem
®	marca registrada
<	menor que
≥	maior ou igual a
°C	graus Celsius

---

## SUMÁRIO

<b>Resumo</b>	<b>i</b>
<b>Abstract</b>	<b>ii</b>
<b>Lista de Figuras</b>	<b>iii</b>
<b>Lista de Tabelas</b>	<b>iv</b>
<b>Lista de Abreviaturas e Siglas</b>	<b>v</b>
<b>Lista de Símbolos</b>	<b>vii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Chá</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Fatores que influenciam da disponibilidade de elementos químicos em chás</b> .....	<b>2</b>
1.2.1 Solo .....	2
1.2.2 Plantas .....	3
1.2.3 Infusão.....	4
<b>1.3 Espécies vegetais analisadas</b> .....	<b>5</b>
<b>1.4 Essencialidade e toxicidade de metais</b> .....	<b>6</b>
1.4.1 <i>Metais tóxicos</i> .....	6
1.4.1.1 Arsênio.....	7
1.4.1.2 Cádmio .....	8
1.4.2 <i>Metais essenciais</i> .....	9
1.4.2.1 Ferro.....	11
1.4.2.2 Manganês .....	11
1.4.2.3 Cálcio .....	12
1.4.2.4 Magnésio .....	12
<b>1.5 Ingestão diária adequada para elementos químicos essenciais e tóxicos</b> .....	<b>13</b>
<b>1.6 ICP-MS e preparo de amostra</b> .....	<b>15</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>16</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1 Gerais</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2 Específicos</b> .....	<b>17</b>

---

<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
<b>4.1 Etapa pré-analítica .....</b>	<b>18</b>
4.1.1 <i>Instrumentalização .....</i>	18
4.1.2 <i>Materiais, reagentes e soluções.....</i>	18
<b>4.2 Etapa analítica .....</b>	<b>19</b>
4.2.1 <i>Preparo das infusões dos chás .....</i>	19
4.2.2 <i>Digestão ácida assistida por micro-ondas.....</i>	20
4.2.3 <i>Determinação dos elementos essenciais e tóxicos .....</i>	21
4.2.4 <i>Validação dos resultados .....</i>	21
<b>4.3 Etapa Pós-analítica .....</b>	<b>21</b>
4.3.1 <i>Análise estatística .....</i>	21
4.3.2 <i>Contribuição do consumo de chás nos limites e/ou necessidades de ingestão diárias .....</i>	21
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>23</b>
<b>5.1 Arsênio e cádmio .....</b>	<b>23</b>
5.1.1 <i>Ingestão diária média de As e Cd .....</i>	24
<b>5.2 Ferro e manganês .....</b>	<b>24</b>
5.2.1 <i>Ingestão diária média de Fe e Mn.....</i>	27
<b>5.3 Cálcio e magnésio .....</b>	<b>28</b>
5.3.1 <i>Ingestão diária média de Ca e Mg .....</i>	30
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>31</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Chá

O chá é uma das bebidas mais populares e mais antigas (YEMANE et al, 2008), inicialmente foi utilizado pelos chineses como medicamento, e posteriormente como bebida (EDEN, 1958). O chá é a bebida mais consumida no mundo, depois da água (HARBOWY & BALENTINE, 1997), sendo que a prevalência do consumo alimentar de chá no Brasil é de 6% (POF, 2011), de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Esse consumo elevado se deve ao fato da utilização de plantas medicinais, principalmente na forma de chá, ser uma prática bastante recorrente desde a antiguidade, em virtude da sabedoria popular, muitas vezes os chás são utilizados para fins terapêuticos, tendo em vista a facilidade de acesso, principalmente por indivíduos de baixa renda, e a crença de que produtos naturais são inofensivos (GOMES, 2007). Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 80% da população mundial utiliza plantas medicinais como uma alternativa de atenção básica de saúde (WHO, 2002).

A composição química dos chás é complexa, sendo constituída de taninos, cafeína, carboidratos, óleos essenciais, aminoácidos, enzimas, antocianinas, flavonóides, ácidos orgânicos, pectina, vitamina, polifenóis e outros (AQUARONE, 2001). Nisso, os benefícios do consumo de chá são múltiplos, principalmente devido ao elevado teor de compostos fenólicos e elementos essenciais (a exemplo, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe) presentes nesta bebida e que trazem benefícios para a saúde humana. No entanto, o chá contém alguns elementos-traço indesejáveis, tais como íons de metais tóxicos (como Pb, Cd, As, Hg, Al, Cr, Ni,) e compostos orgânicos que podem ser prejudiciais à saúde (ZHENG et al, 2014).

Com o amplo consumo de chá no mundo, para muitas pessoas, beber chá pode ser uma importante fonte dietética de elementos essenciais. Além disso, a análise destes chás de acordo com o conteúdo de vários elementos, particularmente de metais tóxicos, é indispensável para compreender as suas propriedades nutritivas e controlar a qualidade e a segurança dos produtos (AKSUNER et al, 2012).

A quantidade de elementos tóxicos e essenciais é característico de cada tipo de chá e depende da forma específica pela qual os chás foram fabricados, bem como a origem geográfica das plantas referentes à composição do solo, do clima, das condições ambientais locais, das práticas agrícolas, da precipitação de chuvas e da altitude (AKSUNER et al, 2012). Conclui-se então que composição química do chá depende principalmente do processo de beneficiamento do chá e da composição das folhas (AQUARONE, 2001).

O termo chá é originalmente utilizado para descrever a infusão da *camellia sinensis* (MEHRA & BAKER, 2007). Mas popularmente considera-se o infuso de qualquer espécie vegetal conhecida. Contudo, de acordo com a RDC 277/2005, chá é o produto constituído de uma ou mais partes de espécies vegetais inteiras, fragmentadas ou moídas, com ou sem fermentação, tostadas ou não, sendo que pode ser adicionado de aroma e ou especiaria para conferir aroma e ou sabor; sendo que o nome chá deve ser seguido da espécie vegetal utilizada (BRASIL, 2005b).

As espécies vegetais utilizadas para os respectivos chás são: capítulos florais para chás de camomila, folhas para chás de capim cidreira e chás de boldo, folhas e ramos para chás de hortelã; sendo que nos rótulos de chás de boldo devem conter as seguintes informações em negrito “portadores de enfermidades hepáticas ou renais devem consultar o médico antes de consumir o produto” e “não consumir de forma contínua por mais de quatro semanas” (BRASIL, 2005a; Brasil, 2006a).

No Brasil, os chás são comercializados como alimentos, e não é permitida nenhuma alegação terapêutica ou medicamentosa, ou indicações para lactentes, nos rótulos (BRASIL, 2005b). Como também, são dispensados da tabela de informação nutricional e de registro na ANVISA (BRASIL, 2003; BRASIL, 2010), sendo esses uns dos principais pontos relacionados à falta de informação nutricional.

## **1.2 Fatores que influenciam da disponibilidade de elementos químicos em chás**

### *1.2.1 Solo*

Tendo em vista que o solo é um sistema heterogêneo complexo, constituído entre outros componentes, por minerais, é importante constatar que a origem desses

elementos no solo ocorre de duas formas: oriundos de fontes geológicas e os depositados no solo em decorrência de atividades antropogênicas (KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007). Os metais oriundos das rochas de origem ocorrem naturalmente no solo, mas, de modo geral, a sua toxicidade é baixa, uma vez que formam complexos com a matéria orgânica e apresentam baixa mobilidade (CHAVES, 2008). As atividades desenvolvidas pelos homens, mobilizam esses elementos e colaboram consideravelmente para o aumento da sua concentração no solo (STEVENSON, 1972). No Brasil, a mineração, os resíduos industriais, a utilização de fertilizantes e pesticidas são exemplos de práticas recorrentes que têm contaminado o solo ao longo do tempo. Segundo Santos (2005), estudos vêm demonstrando que locais próximos as indústrias e mineradoras apresentam maior quantidade de elementos traços e tóxicos.

A contaminação do solo, por elementos químicos em geral, mesmo os ditos essenciais, é um grande problema ambiental e uma preocupação da saúde pública, pois os metais se dispersam no ambiente e se acumulam seletivamente em tecidos vegetais e animais, fato que os torna potencialmente tóxicos mesmo em baixas concentrações (WHO, 2007).

### *1.2.2 Plantas*

As plantas são capazes de absorver e estocar em seus tecidos uma grande quantidade de elementos presentes no solo, resultando na bioacumulação destes elementos químicos, na alteração da produtividade da planta e na qualidade do alimento, e conseqüente na entrada desses elementos na cadeia alimentar (EPSTEIN e BLOOM, 2006). As concentrações desses elementos nas plantas podem variar conforme a idade e a genética da planta, o período da colheita e as condições do solo; esses teores podem ser afetados ainda por fatores extrínsecos às plantas, como a chuva, as poeiras atmosféricas e os agentes fitofarmacêuticos (BASBEL & ERDEMOGLU, 2006; MALIK, 2008).

Segundo Mengel e Kirkby (1987) o principal quesito que influencia na quantidade e tipos de nutrientes que serão encontrados nas plantas e nas diferentes espécies vegetais é o potencial de absorção. Alguns fatores interferem nessa absorção, tais como: a concentração e a especiação dos metais no solo, o

movimento do metal do solo para a superfície da raiz, o transporte do metal da superfície para dentro da raiz, e a translocação para a parte aérea da planta, doenças nas raízes, umidade, aeração, compactação e acidez do solo (ALLOWAY, 1995). Mediante ao exposto, é possível inferir que nem sempre a concentração de nutrientes nas plantas é proporcional a quantidade presente no solo (OLIVEIRA, 2006).

A determinação desses elementos nas plantas se torna cada vez mais necessário, uma vez que as plantas absorvem tanto elementos essenciais quanto tóxicos, e que os níveis elementares em plantas ainda são pouco conhecidos, principalmente no que tange às espécies tropicais. Em relação aos elementos tóxicos, sabe-se que o As compete com o fosfato pelo mesmo transportador de captação na membrana plasmática das raízes das plantas, e ainda que o Cd é prontamente levado para a parte aérea da planta (KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007).

Os minerais são imprescindíveis para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Nessas, o ferro se apresenta na forma quelada e habilita o transporte de elétrons pela mudança de valência, logo, por sua capacidade redox é de suma importância para a respiração e fotossíntese; o manganês fornecer proteção contra espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e atua na defesa contra doenças; o cálcio ativa as enzimas, neutraliza ácidos tóxicos e aumenta a resistência à praga e doenças; e o magnésio é o átomo central da clorofila (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

### *1.2.3 Infusão*

De modo geral, a biodisponibilidade de vários elementos químicos é diminuída na infusão quando comparado com a planta seca. Logo, a extração com água é a forma mais viável de determinar a biodisponibilidade dos elementos químicos presentes nos chás, uma vez que se aproxima do modo como as pessoas o preparam e consomem (YEMANE et al, 2008).

Sabe-se que as pessoas, de modo geral, não respeitam um procedimento padrão no preparo dos chás, logo, os metais presentes nas plantas são extraídos de modo diferente em infusões, pois além de fatores intrínsecos às ervas (teor de elementos nas folhas de chá, se são ligados fortemente à matriz ou não), as

condições de preparo do chá, tais como: a quantidade de material em relação à água, tempo de infusão, temperatura da água, agitação do infuso, influenciam diretamente na extração dos elementos químicos (MALIK, 2008).

### 1.3 Espécies vegetais analisadas

*Peumus boldus* Molina, vulgarmente conhecido como boldo-do-chile, é uma árvore endêmica do Chile, utilizada muitas vezes para o preparo de infusões, e os mais de 30 compostos presentes nas suas folhas são responsáveis pelos vários benefícios desta espécie para a saúde, tais como, estimulantes digestivos, diuréticos, relaxantes, e importante no tratamento de distúrbios do fígado e vesícula biliar (SOTO et al, 2014). O bolo-do-chile está incluído entre as espécies de ervas medicinais mais utilizadas pela população mundial, em virtude do alto consumo desta espécie no Brasil, ela foi incluída na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENASUS) (MARIANO, 2015). Esta espécie vegetal é considerada alimento quando preparado a partir de material seco e moído e comercializado na forma de chá (MARIANO, 2015). Para o melhor do nosso conhecimento, não encontramos informação a cerca da composição mineral do boldo.

A *Mentha piperita* L. é conhecida também como hortelã, hortelã pimenta, menta e hortelã-apimentada, em torno desta espécie vegetal gira-se um grande interesse econômico, uma vez que seu óleo essencial apresenta ação antimicrobiana e espasmolítica, além de ser utilizado em tratamentos respiratórios e gastrointestinais, e ainda é amplamente utilizada como flavorizante, chás, em saladas e temperos, aditivo em alimentos, em produtos de higiene bucal e em preparações farmacêuticas (LORENZI; MATOS, 2002). Os principais minerais presentes nas folhas de hortelã são potássio, cálcio (15,3 g/kg) e magnésio (5,9 g/kg), em maior quantidade, seguindo de menores quantidades de sódio, ferro (239 mg/kg), manganês (188 mg/kg), zinco e cobre, e ainda vestígios de cromo, iodo e selênio. A concentração de Ca, Mg, Fe e Mn em 15 minutos de infusão à 95°C extraída foi aproximadamente 19%, 37%, 8% e 14%, respectivamente. (LOZAK et al, 2002).

A *Cymbopogon citratus* Stapf, conhecida popularmente como capim-cheiroso, erva-cidreira, capim-limão, capim-santo e capim-citronela, é generalizada em países

tropicais e subtropicais. Em virtude do aroma agradável esta espécie possui várias aplicações, dentre elas temos chá comum, bebidas não-alcoólicas, doces, sorvetes, suplemento medicinal, repelente, inseticida, controle da gripe, e como antiinflamatória, analgésica, calmante, digestiva e espasmolítica (LORENZI; MATOS, 2002). Segundo Aftab e colaboradores (2011) o conteúdo mineral, em porcentagem, dessa espécie vegetal, em ordem decrescente é a seguinte: K (54,02%), Ca (25,87%), Si (9,02%), Na, Mg(2,08%), Fe(1,49%), P, S, Al, Sr, Br, Mn(0,13%), Cu e Zn.

A camomila (*Matricaria recutita* L) é considerada a planta medicinal mais cultivada no mundo, uma vez que é de grande interesse para indústria farmacêutica, cosmético e alimentos (LORENZI; MATOS, 2002). Esta espécie vegetal é amplamente empregada em sabonetes, perfumes, loções, alimentos, bebidas, e para fins terapêuticos, devido suas propriedades antiinflamatórias, espasmolítica, sedativa, antibacteriana e antifúngica (MAZOKOPAKIS et al., 2005; SOUSA et al., 2006). No Brasil, o consumo de chá de camomila está presente em todas as faixas etárias e classes sociais, todavia, crianças e recém-nascidos é uma parcela significativa desse consumo, fato que nos motiva ainda mais estudar os elementos essenciais e tóxicos presentes nessa espécie vegetal (VULCANO; SILVEIRA; ALVAREZ-LEITE, 2008). Basgel e Erdemoglu (2006) analisaram 14 elementos presentes nas ervas de camomila, dentre eles o Ca (12.720 mg/kg), Mg (1643 mg/kg), Fe (502,7 mg/kg) e Mn (60,2 mg/kg), sendo que a porcentagem desses elementos extraídos em 30 minutos de infusão foram 15,72%, 55,08%, 1,6% e 27,64%, respectivamente.

## **1.4 Essencialidade e toxicidade de metais**

### *1.4.1 Metais tóxicos*

Os metais tóxicos distinguem-se dos outros poluentes tóxicos por não serem biodegradáveis e não serem sintetizados pelo homem. Os elementos tóxicos são aqueles que não apresentam função fisiológica no organismo humano, tais como, a exemplo, chumbo (Pb), mercúrio (Hg), cádmio (Cd) e arsênio (As). No entanto, mesmo os elementos traços essenciais, a exemplo, ferro (Fe), zinco (Zn), selênio

(Se), cobalto (Co) e manganês (Mn) que possuem atividade biológica no organismo humano, se estiverem em concentrações elevadas têm um potencial de se tornarem tóxicos, por possuírem alta reatividade química (ALLOWAY; AYERS, 1998; MIDIO; MARTINS, 2000). Logo, a toxicidade dos elementos químicos depende da dose, do estado e da forma pelos quais são ingeridos (SILVA, 2006).

A [principal via de exposição a elementos tóxicos para indivíduos que não são expostos ocupacionalmente, é a ingestão dietética, e esses elementos estão no topo da lista de substâncias perigosas da *Agência para o Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR)* (BARBOSA JUNIOR, 2014), pois além de serem altamente neurotóxicos e carcinogênicos, podem desencadear uma série de manifestações clínicas agudas e/ou crônicas importantes. O arsênio (As) e o cádmio (Cd) ocupam o primeiro e o sétimo lugar, respectivamente, no ranking de substâncias orgânicas e inorgânicas que mais ameaçam a saúde humana estabelecido pela ATSDR (IHA, 2014). Além de serem classificados pela *International Agency for Researchon Cancer (IARC)* como “carcinogênicos aos humanos (grupo I)”.

De modo geral, os elementos tóxicos podem estar presentes em uma grande diversidade de alimentos. A chuva deposita no solo os elementos químicos originários das rochas, como também eles podem ser depositados por meio de práticas agrícolas; e então são retirados do solo por meio das raízes das plantas ou se depositam nessas a partir de aerossóis, entrando assim na cadeia alimentar de animais e humano; água com altas concentrações de elementos indesejáveis podem ser utilizadas para irrigação, preparação ou processamento dos alimentos, e ainda os elementos tóxicos podem estar presentes na industrialização dos alimentos, nas máquinas de processamento e materiais de embalagem (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

#### 1.4.1.1 Arsênio

A mobilização do arsênio (As) no ambiente se dá pela queima de combustíveis fósseis e pela exploração de outros minerais; dentre as fontes de exposição temos fumaças e poeiras industriais, produtos agropecuários, praguicidas, herbicidas e alimentos, tais como frutos do mar, grãos e cereais (ATSDR, 2005). Contudo, a ingestão é responsável por 80-90% da exposição humana (WHO, 1981).

O arsênio tende a se ligar a proteínas plasmáticas, em baixas concentrações ele se distribui uniformemente no organismo, acumulando-se preferencialmente em unhas, pelos e cabelos (BRUNTON et al., 2012). Na intoxicação aguda os sintomas podem aparecer trinta minutos após a exposição (WHO, 1981), sendo eles, desconforto no trato gastrointestinal com dor, vômitos e diarreia, ardência labial, dificuldade para engolir e convulsões hipóxicas. Todavia, a exposição crônica pode levar a efeitos na pele, câncer de pulmão, hiperqueratose, ressecamento e queda de cabelo, danos no trato geniturinário, danos no DNA, alteração no desenvolvimento do feto e aborto (ATSDR, 2005).

#### 1.4.1.2 Cádmio

A maior exposição do homem ao Cd se dá pela fumaça do cigarro, mas no grupo dos indivíduos não-fumantes e não-ocupacionalmente expostos a fonte alimentar é a mais significativa (CARDOSO; CHASIN, 2001). As principais fontes de exposição dietéticas são grãos e vegetais. A absorção via oral de Cd varia conforme o estado fisiológico do indivíduo, ingestão concomitante de outros minerais, fibras e proteínas; sabe-se que a absorção de Cd é diminuída quando se tem uma ingestão adequada de Ca, Fe, Zn e fibras.

A mais relevante preocupação com relação ao Cd gira em torno do fato de ser amplamente detectado em fertilizantes e suplementos minerais (GREENE, 1980), além de ser contaminante nos processos que utilizam chumbo e zinco. Como também o Cd tende a se acumular no organismo já que o seu tempo de meia vida no homem pode chegar a 26 anos (ATSDR, 2008), e ele é capaz de deslocar ou substituir o zinco, cobre e cálcio em sistemas essenciais ao organismo, causando alterações funcionais. As crianças são mais vulneráveis ao acúmulo de Cd, pois a absorção gastrointestinal para adultos corresponde em média 5%, enquanto que em crianças pode chegar até a 37% (CREWS et al, 2000).

Os órgãos alvos são os rins e os ossos, devido à formação do complexo cádmio-metalotioneína (Cd-MTTs). Os efeitos tóxicos do Cd são decorrentes às exposições agudas ou crônicas, a intoxicação aguda por Cd é rara, mas é caracterizado por gosto metálico na boca, salivação excessiva, vômito e fezes sanguinolentas, náuseas e dor abdominal, por outro lado os sintomas em exposições prolongadas são problemas renais (lise das células dos túbulos renais,

proteinúria, glicosúria e poliúria), fragilidade óssea (osteoporose), câncer de pulmão, e ainda doença de Itai-Itai. (ATSDR, 2008; WHO, 1992).

#### *1.4.2 Metais essenciais*

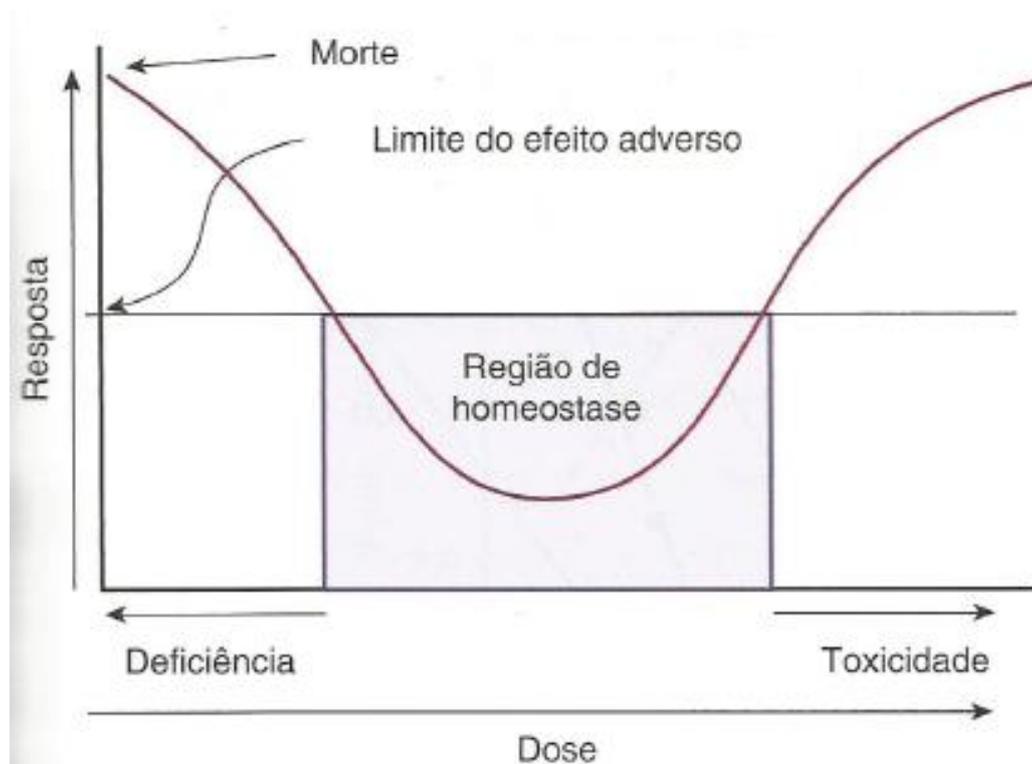
É indiscutível que os elementos químicos essenciais são necessários para o funcionamento fisiológico normal do organismo humano, logo, é de suma importância adquiri-los por meio da alimentação diária. Anemia ferropriva, anemia microcística, retardamento do crescimento, má formação óssea são exemplos de agravos de saúde que podem acometer os seres humanos pela deficiência dos elementos traços essenciais ferro, cobre, zinco e manganês, respectivamente. Porém, é importante salientar que o excesso desses metais pode também acarretar agravos de saúde, tais como, neurodegeneração, doença de Wilson, obesidade e anemia (GALLAGHER, 2010).

O critério para a essencialidade de um elemento para a saúde humana é que a ausência ou deficiência do elemento a partir da dieta produza uma anomalia funcional ou estrutural, e essas anormalidades estão relacionadas a alterações bioquímicas específicas, que podem ser revertidas pela presença do elemento em questão (WHO, 1996). Os elementos químicos essenciais são classificados quanto à quantidade necessária para o funcionamento fisiológico normal dos indivíduos em macroelementos (sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo), elemento traço essencial (ferro, zinco, cobre e manganês) e elemento ultra traço essencial (vanádio, cromo, molibdênio, cobalto, níquel, selênio e etc.), eles são necessários no organismo na ordem de gramas, miligramas e microgramas, respectivamente (ANDERSON, 2005).

A carência desses elementos no ambiente, os desequilíbrios dietéticos, as perdas inevitáveis pela urina, suor e cabelo podem tornar os elementos traços limitantes. Logo, faz-se necessário assegurar que a população tenha uma dieta normal e equilibrada, ingerindo todos os nutrientes adequados (FÁVARO et al., 2000). Contudo, o nível de ingestão necessária para prevenir patologicamente sinais relevantes e clinicamente detectáveis deve ser basal e contínuo, uma vez que uma ingestão acima do limiar de segurança pode ser tóxica (WHO, 1996).

Quando dietas variadas são consumidas, a carência e a toxicidade dos elementos essenciais é rara, pois a faixa de ingestão segura e adequada é ampla

(DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010), isso se dá graças à região de homeostase. No caso dos elementos essenciais em doses abaixo da exigência mínima diária, existe um elevado nível de efeitos adversos, que diminui com o aumento da dose. Mas, se a dose for aumentada, acima do limiar de segurança, reações adversas podem aparecer e ser proporcional ao aumento da dose. Contudo, na região de homeostase, a faixa de dose não resulta em deficiência, nem em toxicidade (Figura 1) (KLAASSEN; WATKINS, 2012).



**Figura 2.** Relação dose-resposta individual para uma substância essencial.

Fonte: KLAASSEN; WATKINS (2012)

#### 1.4.2.1. Ferro

Segundo a OMS (WHO,2008) a deficiência de ferro é a desordem alimentar mais comum no mundo, afetando aproximadamente 24,8% da população mundial. Em condições normais, cerca de 3 a 5 g de Fe está presente em indivíduos adultos, compondo moléculas de hemoglobina, mioglobina, citocromo, inúmeras enzimas, entre outros. Fato que o torna essencial para o transporte de oxigênio, homeostase celular, transporte de elétrons para mitocôndria, proliferação celular, etc. (PEREIRA, 2010).

Alimentos de origem animal são as melhores fontes naturais de Fe, por possuírem Fe tipo heme disponível (DOUGLAS, 2002). Nos alimentos de origem vegetal a biodisponibilidade do Fe é diminuída, pois além da necessidade de ser reduzido ( $Fe^{3+}$  para  $Fe^{2+}$ ) para ser absorvido, ele se complexa com o fitatos (KRAUSE; MAHAN, 1993). Para fontes vegetais a absorção pode ser aumentada por vitamina C, açúcares, ácido clorídrico do estômago, ácido cítrico e láctico nos alimentos; e diminuída pelos fitatos, fibras, polifenóis (presentes em chás), oxalatos, cálcio e fósforo no leite, e outros metais essenciais.

A carência de ferro está correlacionada principalmente com mulheres jovens, crianças e pessoas mais velhas, em virtude da redução da hemoglobina essa carência pode desencadear um quadro anêmico (microcítica e hipocrômica). Por outro lado, a ingestão de ferro pode ultrapassar as necessidades diárias, resultando em toxicidade, neste caso pode ocasionar irritação do trato gastrointestinal, hemocromatose, hemossiderose, e até mesmo cirrose hepática (BURTIS; ASHWOOD; BRUNS, 2008).

#### 1.4.2.2. Manganês

O manganês (Mn) é encontrado principalmente em metalúrgica, sendo que o manganês metálico (ferro-manganês) é usado na produção de aço para melhorar a dureza, rigidez e resistência. É importante destacar que o Mn é um componente natural da maioria dos alimentos, a sua concentração nos gêneros alimentícios varia consideravelmente, sendo que a concentração tende a ser mais elevada em alimentos de origem vegetal, em especial, em chás (NORDBERG et al, 2007).

Manganês é um ativador de uma série de reações metabólicas catalisadas por enzimas, sendo de suma importância para reprodução e crescimento, e para o metabolismo de proteínas e gorduras (PEREIRA, 2010), além de ser componente de várias metaloenzimas e exercer diversas funções no organismo, tais como, regulação de açúcar no sangue, diminuição de espécies reativas de oxigênio (EROs) e utilização de vitaminas B1 e E (MICHALKE, 2004).

A deficiência de Mn é rara, mas pode desencadear danos generalizados, como hormonais, metabólicos, má formação óssea e déficit de crescimento. Em doses elevadas, o Mn é neurotóxico, alguns sintomas característicos desse quadro são alterações de humor, agitação, depressão, dificuldade de processar informações, e principalmente sintomas de parkinsonianos (tremores e rigidez corporal) (ASCHNER et al, 2007).

#### 1.4.2.3 Cálcio

O cálcio (Ca) é o mineral mais abundante no organismo (em média 1200 g), sendo que 99% do Ca é armazenado dentro dos ossos e dentes, o restante está presente no sangue, líquidos extracelulares e dentro das células dos tecidos moles (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 1998). Exerce um papel importante na formação e manutenção dos ossos e dentes, e ainda desempenha funções reguladoras nos processos bioquímicos, atua na contração muscular, controla a permeabilidade da membrana celular e é um fator indispensável na coagulação sanguínea, etc (OLIVEIRA; MARCHINI, 2008).

Dentre os fatores que influenciam positivamente na absorção de Ca destaca-se o pH ácido, presença de vitamina D e presença de lactose, proteína e fósforo na alimentação (OLIVEIRA; MARCHINI, 2008). A absorção diminuída do Ca se deve, muitas vezes, à competição com outros elementos (ferro, manganês e zinco) e a presença de oxalatos e fitatos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). A diminuição do teor de Ca no corpo acarreta redução da densidade óssea, fragilidade, convulsão e aumento da pressão arterial, enquanto uma ingestão diária acima de 2g pode acarretar efeitos adversos, hipercalcemia, hipercalcúria e falência renal (cálculos) (HAYES, 2001).

#### 1.4.2.4 Magnésio

O magnésio (Mg) é o quarto mineral mais abundante no organismo, onde cerca de 60% se encontra nos ossos, 26% está presente nos músculos e o restante nos tecidos moles corpóreos. Dentre as principais funções do Mg estão a regulação do transporte ativo de outros minerais (sódio, cálcio e potássio), estabilização da estrutura do trifosfato de adenosina (ATP), atua na formação do monofosfato de adenosinacíclico (AMPc) e atua como um cofator enzimático em outros processos (MAHAN; ESCOTT-STUMP; KRAUSE, 1998). Ainda, atua juntamente com o Ca na formação de ossos, dentes e tecidos.

A sua absorção é afetada negativamente por uma ingestão concomitante de cálcio, fosfato, proteínas, lactose e álcool. Sabe-se que a hipermagnesemia é um quadro raro, mas segundo Batista (2009) crianças com hipermagnesemia têm diurese aumentada de Ca, por apresentar um efeito antagônico sob o cálcio. Por outro lado, espasmos, diabetes, aumento da pressão arterial e osteoporose são agravos de saúde que podem ser vinculados a uma baixa ingestão de Mg (LARSSON; VIRTANEN; MARS, 2008).

### **1.5 Ingestão diária adequada para elementos químicos essenciais e tóxicos**

A Organização Mundial da Saúde recomenda estudos de dieta para estimar ingestão de elementos essenciais e contaminantes químicos (WHO, 2006). A referência mais aceita e bem descrita sobre a ingestão diária de elementos químicos foi o estabelecimento da ingestão dietética adequada para indivíduos saudáveis, nos Estados Unidos e no Canadá, em 1997. Essas recomendações são chamadas de Ingestões Dietéticas de Referência (DRIs), e incluem a Recomendação de ingestão diária (RDA), Ingestão adequada (AI) e Nível superior à ingestão tolerável (UL). A principal diferença entre a RDA e AI é que esta não leva em conta a biodisponibilidade do elemento no organismo, e ela é utilizada quando a RDA não pode ser definida. Doses acima do UL podem constituir riscos de toxicidade (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Na tabela 1 temos os DRIs do Ca, Fe, Mg e Mn, em diversos estágio da vida dos indivíduos, os dados de UL não foram reportados pois estes são para ingestão de suplementos e não de alimentos.

**Tabela 1.** DRIs de minerais (Ca e Mg) e minerais-traço (Fe e Mn) nutricionalmente essenciais

Estágio de vida	<b>Cálcio</b> (mg/dia) RDA/AI	<b>Ferro</b> (mg/dia) RDA/AI	<b>Magnésio</b> (mg/dia) RDA/AI	<b>Manganês</b> (mg/dia) RDA/AI
Lactentes				
0 – 6 meses	210	0,27	30	0,003
7 – 12 meses	270	<b>11</b>	75	0,6
Crianças				
1 – 3 anos	500	7	<b>80</b>	1,2
4 – 8 anos	800	<b>10</b>	<b>130</b>	1,5
Homens				
9 – 13 anos	1.300	<b>8</b>	<b>240</b>	1,9
14 – 18 anos	1.300	<b>11</b>	<b>410</b>	2,2
19 – 30 anos	1.000	<b>8</b>	<b>400</b>	2,3
31 – 50 anos	1.000	<b>8</b>	<b>420</b>	2,3
50 – 70 anos	1.200	<b>8</b>	<b>400</b>	2,3
> 70 anos	1.200	<b>8</b>	<b>400</b>	2,3
Mulheres				
9 – 13 anos	1.300	<b>8</b>	<b>240</b>	1,6
14 – 18 anos	1.300	<b>15</b>	<b>360</b>	1,6
19 – 30 anos	1.000	<b>18</b>	<b>310</b>	1,8
31 – 50 anos	1.000	<b>18</b>	<b>320</b>	1,8
50 – 70 anos	1.200	<b>8</b>	<b>320</b>	1,8
> 70 anos	1.200	<b>8</b>	<b>320</b>	1,8
Gestantes				
≤ 18 anos	1.300	<b>27</b>	<b>400</b>	2,0
19 – 30 anos	1.000	<b>27</b>	<b>350</b>	2,0
31 – 50 anos	1.000	<b>27</b>	<b>350</b>	2,0
Lactantes				
≤ 18 anos	1.300	<b>10</b>	<b>360</b>	2,6
19 – 30 anos	1.000	<b>9</b>	<b>310</b>	2,6
31 – 50 anos	1.000	<b>9</b>	<b>320</b>	2,6

Os valores listados de cada elemento são de RDA ou AI. RDAs estão em negrito e AI em fonte normal.

Fonte: Adaptado de *Food and Nutrition Board* (2003)

No entanto, no Brasil a RDC Nº 269, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005 que dispõe sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) para proteína, vitaminas e minerais, estabelece que para adultos a quantidade que deve ser consumida diariamente para atender às necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas de uma população sadia é de 1000mg/dia para Ca, 14mg/dia para Fe, 260mg/dia para Mg e 2,3mg/dia para Mn (BRASIL, 2006b).

Já para os elementos tóxicos, a literatura mais recente propõem que o valor provisório de ingestão diária tolerável (PTDI) de arsênio permitido, considerando

uma pessoa de 70 kg, é a ingestão de  $150 \mu\text{g dia}^{-1}$ . Levando em consideração o elevado tempo de meia vida do cádmio e sua capacidade de se acumular no organismo, a *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) propôs o novo valor provisório de ingestão mensal máxima tolerável (PTMI) de  $25 \mu\text{g mês}^{-1}$  de Cd, que corresponde a um (PTDI) de  $0,8 \mu\text{g dia}^{-1}$  de massa corpórea (WHO, 2010).

Em virtude disso, faz-se necessário analisar os alimentos, a fim de determinar a concentração destes elementos químicos, estimar sua ingestão diária, e compará-los com os valores de ingestão recomendados ou tolerados para limitar ou incentivar o seu consumo e avaliar a segurança alimentar destes mesmos alimentos (SEVEROGLU et al., 2013; SOULAK et al., 2012; VEREP et al., 2012).

### **1.6 ICP-MS e preparo de amostra**

Para análise de elementos químicos em alimentos, o espectrômetro de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) é considerado padrão ouro, uma vez que apresenta algumas vantagens em relação às outras técnicas, tais como capacidade de medição simultânea multielementar e isotópica, acoplada a baixos limites de detecção, além do fato de permitir a detecção de macronutrientes e traços em uma mesma injeção de amostras (Amman, 2007). Em contrapartida, a elevada concentração de matriz orgânica presentes nos alimentos, resulta, muitas vezes em interferências da matriz, além disso, antes da análise por ICP-MS, amostras de alimentos devem ser previamente decompostas com métodos adequados (NARDI et al, 2009).

Nos últimos anos a digestão ácida assistida por microondas tem sido predominantemente utilizada e recomendada para o pré-tratamento de amostras de chá antes das medições das concentrações de elementos por técnicas analíticas de espectroscopia atômica e espectrometria de massa (Aksuner et al, 2012). Uma vez que esse método é capaz de destruir a matriz orgânica das amostras rapidamente, a temperaturas e/ou pressões elevadas, acelerando assim a digestão das amostras e minimizando a contaminação e perda de elementos; logo algumas vantagens são nítidas em relação ao uso de forno microondas sob os métodos convencionais, como

a redução do volume de reagentes e resíduos gerados, diminuição no tempo gasto na etapa de preparo e minimização de contaminação (QUARESMA et al, 2004).

## **2 JUSTIFICATIVA**

A essencialidade e toxicidade de metais em alimentos não é um tema de recorrente discussão no Brasil, em contrapartida é amplamente explorado no cenário mundial pelo fato dos metais influenciarem diretamente no processo saúde-doença dos indivíduos. Em decorrência da grande capacidade das plantas em reter os metais presentes no solo, espera-se que os chás sejam fontes genuínas de metais tóxicos e essenciais. Entretanto, segundo Kalny e colaboradores (2012) a análise de infusões revelou que a percentagem de elementos em infusão é muito diferente do extrato seco. Portanto as concentrações nas infusões são mais significativas do que nas ervas, ao se considerar a ingestão diária (BASBEL; ERDEMOGLU, 2006). Neste contexto, é de extrema importância determinar a quantidade de elementos químicos essenciais e metais tóxicos que são passíveis de absorção, as condições nas quais ocorreu o processo de infusão e a ingestão diária adequada desses elementos, a fim de limitar ou incentivar o seu consumo.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Gerais

Determinar a concentração de alguns elementos químicos essenciais (Fe, Ca, Mg, Mn) e tóxicos (Cd, As) presentes em chás de Camomila, Boldo, Hortelã e Capim Cidreira, de duas marcas distintas comercializadas no DF, tanto no sachê quanto nas infusões.

#### 3.2 Específicos

- Avaliar a concentração desses elementos que são extraídos durante o preparo do chá ao variar tempo de infusão e agitação da infusão;
- Verificar se as diferentes espécies de chás influenciam na concentração desses metais;
- Estimar a contribuição média do consumo de chás para as necessidades de ingestão diária dos elementos químicos essenciais e estimar a contribuição do consumo de chá para a ingestão diária máxima tolerável de elementos tóxicos.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Etapa pré-analítica

As amostras de chás de camomila, boldo, capim cidreira e hortelã, de duas marcas distintas, foram adquiridas nos supermercados do Distrito Federal. Levou-se em consideração a data de fabricação e data de validade dos chás, a fim de tentar minimizar os vieses relacionados ao período de colheita das espécies vegetais.

#### 4.1.1 Instrumentação

Para o preparo analítico das amostras sólidas (partes da espécie vegetal) foi utilizado forno de micro-ondas equipado com PTFE, modelo Milestone Start D (Sorisole, Bergamo, ITA).

Para a determinação de arsênio, cádmio, ferro, manganês, cálcio e magnésio utilizou-se um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), modelo Elan DRC II, PerkinElmer®, Norwalk, CT, EUA) que está instalado em sala limpa classe 1000 no Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais na FCFRP-USP.

#### 4.1.2 Materiais, reagentes e soluções

No preparo da infusão do chá foram utilizados banho-maria, agitador magnético, bailarina e água deionizada de alta pureza, béqueres e tampas para estes béqueres.

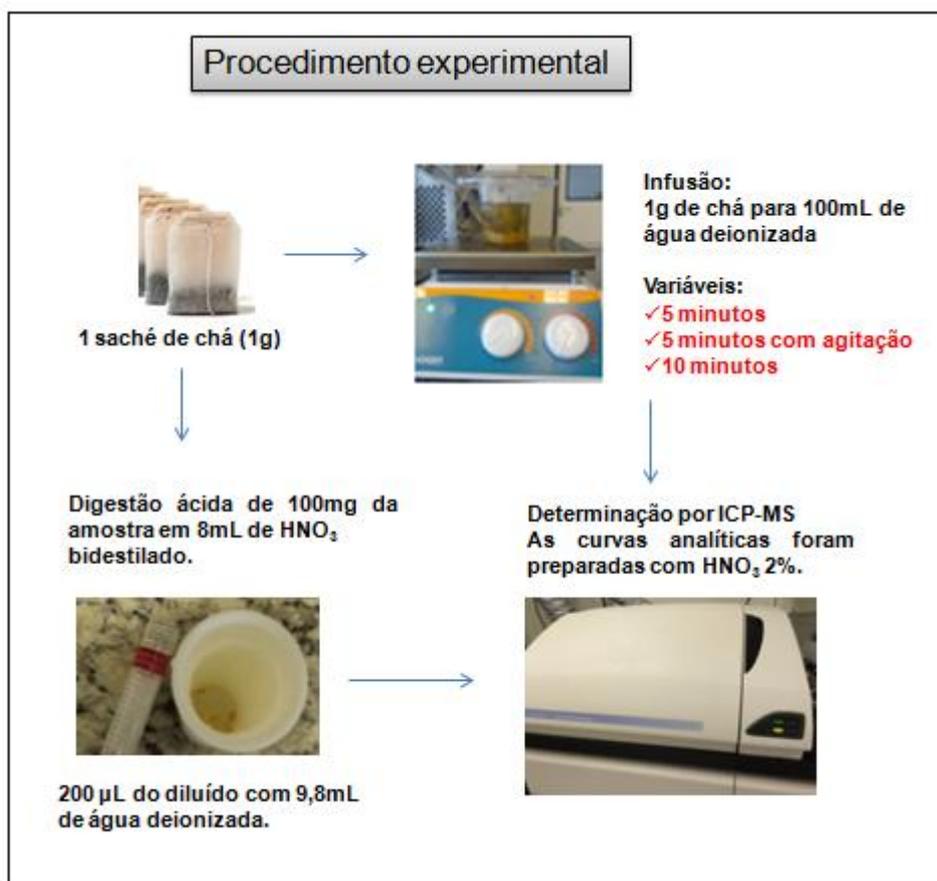
Água deionizada de alta pureza (resistividade 18,2 mΩ.cm) obtida usando um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore®) ou Purelab Classic DI (Elga Veolia®) foi utilizada durante todo trabalho. Para eliminar impurezas inorgânicas utilizou-se ácido nítrico destilado abaixo da temperatura de ebulição.

Todas as soluções, amostras e infusões foram armazenadas em frascos de polietileno ou tubos de propileno do tipo Falcon® livre de contaminantes inorgânicos. Para eliminar quaisquer fontes de contaminação por elementos químicos nos materiais utilizados nas etapas experimentais, eles foram previamente descontaminados com 10 %v/v HNO<sub>3</sub> por 48h, lavados com água deionizada e secos a temperatura ambiente.

Uma solução estoque multielementar padrão ICP-MS (Perkin-Elmer®) de concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  foi utilizada para a construção das curvas analíticas.

## 4.2 Etapa analítica

O delineamento experimental está explicado abaixo e ilustrado na Figura 2.



**Figura 3.** Representação esquemática dos experimentos realizados.

### 4.2.1 Preparo das infusões dos chás

Para avaliar a fração de metais essenciais e tóxicos que são extraídos durante o preparo do chá, foram realizadas infusões que variaram de acordo com tempo de contato entre o sachê e a água, e pela agitação ou não do infuso, simulando assim situações cotidianas e permitindo a determinação da concentração dos metais extraídos.

Para todos os chás foram realizadas três infusões, uma com o tempo do contato do sache com a água de 5 minutos, outra com 10 minutos, e a outra com 5 minutos em agitação. Para preparar o infuso um sachê de chá (com 1 grama cada)

foi mergulhado em 100mL de água deionizada e aquecida em banho-maria (92 a 98°C), sendo que no infuso em que foi avaliada a agitação, acrescentou-se uma bailarina previamente descontaminada e durante os cinco minutos o infuso ficou sobre o agitador magnético com rotação mínima. Posteriormente, os infusos foram armazenados em freezer -80 °C.

Todos os testes foram realizados em triplicata.

#### 4.2.2 Digestão ácida assistida por micro-ondas

As partes vegetais dos chás foram submetidas à digestão ácida assistida por micro-ondas para a eliminação da matriz orgânica segundo o método proposto por Nardi e colaboradores (2009) com modificações. O peróxido de hidrogênio foi retirado do método por ser considerado uma fonte de contaminação por elementos químicos em nível traço. O programa de aquecimento utilizado está descrito na Tabela 2.

Para determinar a concentração total de metais presente na erva foram digeridos 100mg das partes da espécie vegetal em 8mL de ácido nítrico concentrados, 200 µL do digerido foi diluído com 9,8 mL de água Milli-Q e analisado no ICP-MS para a determinação da concentração dos elementos químicos.

**Tabela 2.** Programa de aquecimento utilizado na digestão das amostras assistida por micro-ondas segundo proposto por Nardi e colaboradores (2009) com modificações.

Etapa	Temperatura (°C)	Potência (W)	Tempo (min)
1	55	250	2,5
2	55	500	10,0
3	75	800	2,5
4	75	800	10,0
5	95	1000	2,5
6	95	1000	30,0
7	0	0	30,0

### 4.2.3 Determinação dos elementos essenciais e tóxicos

Os elementos químicos determinados e os respectivos isótopos analisados foram: arsênio ( $^{75}\text{As}$ ), cádmio ( $^{111}\text{Cd}$ ), cálcio ( $^{44}\text{Ca}$ ), ferro ( $^{57}\text{Fe}$ ), magnésio ( $^{24}\text{Mg}$ ) e manganês ( $^{55}\text{Mn}$ ). A leitura no ICP-MS foi realizada em triplicata pelo equipamento. O ICP-MS operou segundo os parâmetros mostrados na Tabela 3. Foram realizadas curvas analíticas para cada elemento com padrões puros e os coeficientes de correlação linear ficaram acima de 0,999 para todos elementos.

**Tabela 2.** Condições de operação do ICP-MS.

<b>Perkin Elmer Elan DRC II</b>	
Tipo de câmara nebulizadora	Ciclônica
Nebulizador	Meinhard®
Potência do plasma (W)	1100
Fluxo de Ar para nebulização (L min <sup>-1</sup> )	0,88
<b>Medidas</b>	
Modo de escaneamento	Altura de pico
Resolução (amu)	0,7
Tempo por replicata (s)	10
Tempo de permanência (s)	50
<i>Sweeps/reading</i>	20
Tempo de integração (ms)	1000
Replicatas	3
Isótopos	$^{75}\text{As}$ , $^{111}\text{Cd}$ , $^{44}\text{Ca}$ , $^{57}\text{Fe}$ , $^{24}\text{Mg}$ , $^{55}\text{Mn}$

### 4.2.4 Validação dos resultados

Para verificar a exatidão e precisão do método analítico proposto, foi utilizado o Material de Referência Certificado Tomato Leaves SRM 1573a.

## 4.3 Etapa pós-analítica

### 4.3.1. Análise estatística

Para verificar as diferenças na distribuição dos elementos químicos nas amostras analisadas, aplicou-se o teste estatístico ANOVA com *pos hoc* Tukey. Foram considerados significativos valores de  $p < 0,05$ . Para análise dos dados foi

utilizado o programa Statistica® 10.0 e para construção dos gráficos o OriginPro® 2008.

#### *4.3.2. Contribuição do consumo de chás nos limites e/ou necessidades de ingestão diárias*

Para realizar o cálculo de ingestão diária utilizou-se o método adotado por Nasrredine et al. (2002), onde a estimativa de ingestão diária é expressa por:

$$\text{Ingestão diária (mg/dia)} = \text{ocorrência (mg/kg)} \times \text{consumo (kg/dia)}$$

Em que:

Ingestão diária: é a estimativa de ingestão diária do elemento químico.

Ocorrência: é a concentração do elemento químico encontrado do alimento.

Consumo: é a quantidade de alimento consumido.

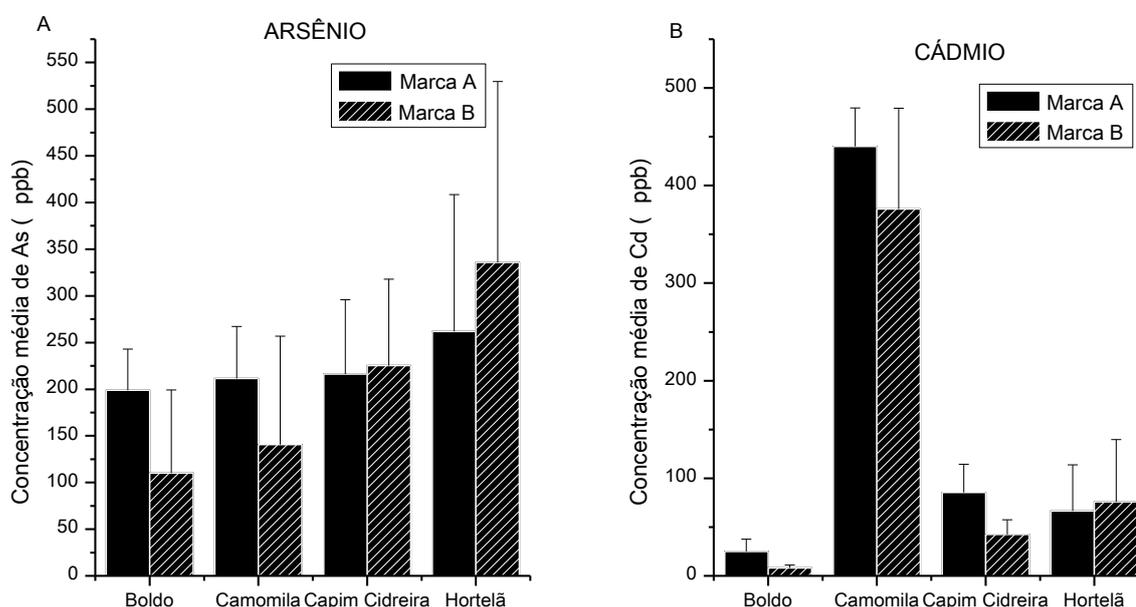
Neste trabalho, para o cálculo de ingestão diária média adotou-se o consumo de um sachê de chá (1g) por dia. A ocorrência é a concentração média encontrada nas infusões de 5 minutos.

Para a estimativa da ingestão diária dos elementos essenciais os resultados encontrados foram comparados com os valores de Ingestão Diária Recomendada (IDR) recomendados pela legislação vigente (RDC 269/2005). Em contrapartida, os resultados encontrados de elementos tóxicos foram comparados com o PTDI estabelecido pela JECFA.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Arsênio e Cádmi

O teor total de arsênio e cádmio presentes nas partes vegetais dos chás analisados (chá-digerido) está descrita na Figura 3, e como podemos perceber não houve diferença significativa entre as marcas analisadas, indiciando que a quantidade dos elementos químicos encontrados certamente é intrínseca a espécies vegetais, e não são oriundos de possíveis contaminantes externos.



**Figura 3.**(A) Concentração de arsênio no extrato seco dos chás analisados. (B) Concentração de cádmio no extrato seco dos chás analisados.

De acordo com a RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013 o limite máximo de tolerância de As e Cd em chá é de 0,6 mg/kg (600 ppb), 0,4 mg/kg (400 ppb), respectivamente (BRASIL, 2013). Sendo assim o teor de arsênio nas amostras de chás analisadas encontra-se dentro do estabelecido pela legislação. Por outro lado, a concentração média de cádmio no chá de camomila da marca A ( $440,00 \pm 39,60$  ppb) ultrapassou o limite máximo preconizado pela legislação brasileira, enquanto da marca B ( $376,00 \pm 103,24$  ppb) está tendendo a ultrapassar esse limite. O valor de Cd encontrado nos chás de camomila não condiz com o valor encontrado por Vulcano, Silveira e Alvarez-Leite (2008) que foi de 150 ppb, em 15 minutos de infusão, numa proporção 1g de chá para 50mL de água.

Em relação à extração dos metais tóxicos, temos que a média da porcentagem da extração de As em todos os chás e marcas, com o tempo de infusão de 5 minutos corresponde a  $0,942 \pm 0,719$  %. E a porcentagem média da extração Cd nos chás analisados em 5 minutos de infusão, exceto o chá de boldo, foi de  $0,096 \pm 0,083$ %. Considerando o limite de detecção da metodologia empregada não houve extração de Cd ao realizar o chá de boldo, em nenhuma das marcas analisadas. Quando se trata de metais tóxicos, como Cd e Pb, a porcentagem de libertação a partir de ervas para as infusões é baixa (KALNY, 2012).

### 5.1.1 Ingestão diária média de As e Cd

Como podemos verificar na Tabela 4 a quantidade de elemento tóxico em um sachê de chá (1g) tem uma baixa contribuição para o valor provisório de ingestão diária tolerável. Visto que o cádmio tem uma capacidade de bioacumular no organismo, e que a sua absorção gastrointestinal é mais elevada em crianças do que em adultos, deve-se dar uma atenção especial aos chás de camomila, uma vez que é recorrente a sua ingestão por bebês.

**Tabela 4.** Ingestão diária estimada levando em consideração o consumo de um sache (1g) de chá por dia, com infusão de 5 minutos e sua contribuição para o valor provisório de ingestão diária tolerável.

Chá	Arsênio		Cádmio	
	Ingestão diária* (ng/d)	Contribuição para PTDI <sup>a</sup> (%)	Ingestão diária* (ng/d)	Contribuição para PTDI <sup>b</sup> (%)
Boldo	$1,408 \pm 0,183$	0,0009	—	—
Camomila	$0,822 \pm 0,070$	0,0005	$0,316 \pm 0,007$	0,0396
Capim Cidreira	$3,866 \pm 1,851$	0,0025	$0,133 \pm 0,093$	0,0166
Hortelã	$3,348 \pm 3,216$	0,0022	$0,014 \pm 0,009$	0,0016

\*Ingestão diária estimada.

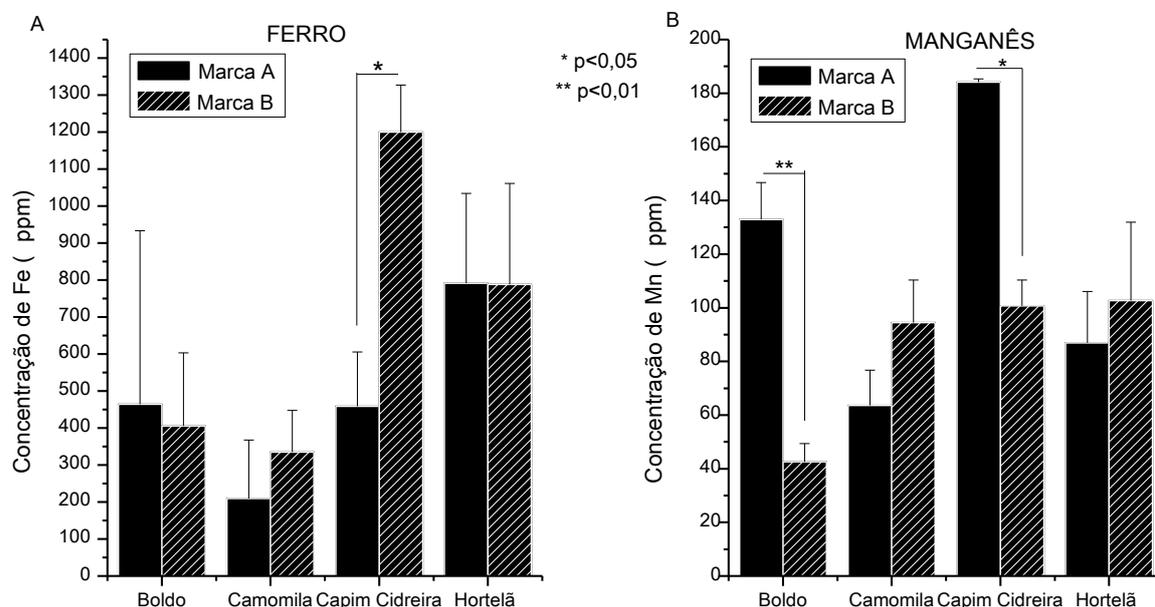
(<sup>a</sup>)  $\mu\text{gdia}^{-1}$  considerando uma pessoa de 70Kg.

(<sup>b</sup>)  $\mu\text{gdia}^{-1}$  de massa corpórea

### 5.2 Ferro e manganês

A concentração de ferro no chá de Capim Cidreira, de manganês nos chás de boldo e capim cidreira variaram consideravelmente em relação às marcas (Figura 4). Neste contexto algumas hipóteses podem ser consideradas, tais como, região

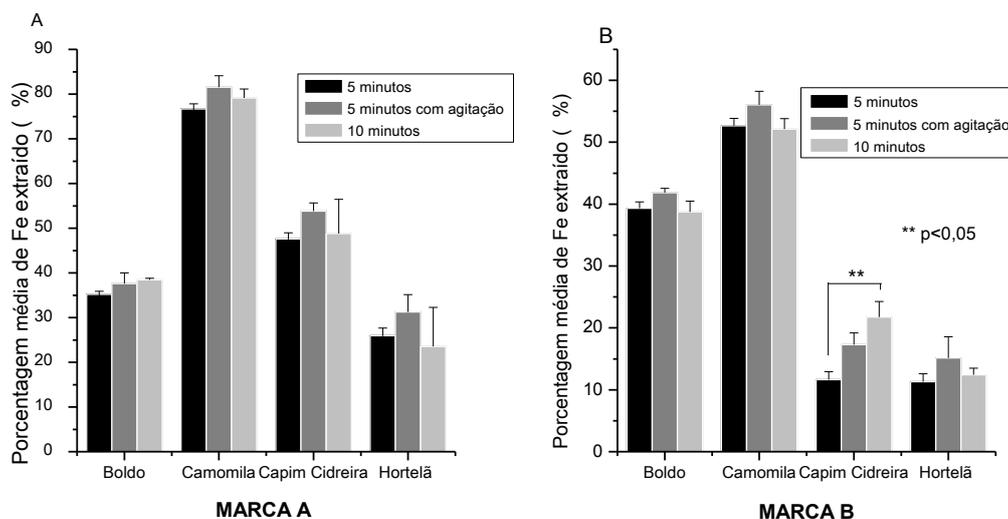
cultivada, época da colheita e contaminação em decorrência do processo de industrialização, no entanto, não é possível, apenas com esse estudo, delinear a causa para tal diferença.



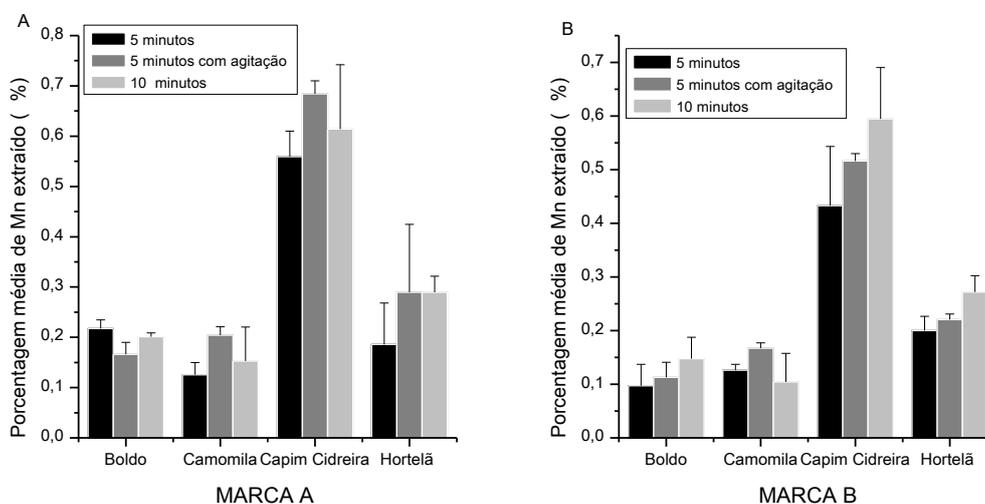
**Figura 4.** (A) Concentração de manganês no extrato seco dos chás analisados. (B) Concentração de ferro no extrato seco dos chás analisados.

Szymczycha-Madeja, Welna e Pohl (2012) analisaram diversos trabalhos e concluíram que o elemento Fe é mal extraído (<20%) em chás. Como também, Malik (2008) demonstrou que embora a camomila seja rica principalmente em Fe, a porcentagem extraída pelo procedimento de infusão foi a menor (1,61%). Em contraste, neste trabalho, o Fe foi altamente extraído, principalmente no chá de Camomila (Figura 5).

O tempo da infusão e agitação do infuso, não interferiu na porcentagem de extração da maioria dos elementos analisados, porém a extração de Fe em 10 minutos foi maior do que em 5 minutos, no chá de capim cidreira (marca B).



**Figura 5. (A)** Porcentagem média de Fe extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca A. **(B)** Porcentagem média de Fe extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca B.



**Figura 6. (A)** Porcentagem média de Mn extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca A. **(B)** Porcentagem média de Mn extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca B.

A extração de manganês foi relativamente pequena, mesmo no chá de capim cidreira (Figura 6), uma explicação plausível é que a maior parte do manganês presente nas folhas está complexada a compostos orgânicos (MALAVOLTA *et al*,

1997). Em contrapartida, no estudo realizado por Szymczycha-Madeja e colaboradores (2012) o Mn foi moderadamente extraído (20-55%). Considerando  $p < 0,05$  não houve diferença significativa entre tempo de contato do sachê com a água e agitação do processo.

De modo geral, a quantidade de ferro nos chás analisados é bem maior que o de Mn, o que pode ser interessante para indivíduos anêmicos, uma vez que a similaridade química entre o Fe e Mn faz com que eles compitam pelos mesmos transportadores sistêmicos, e ainda, quando a concentração de Mn é elevada, a homeostasia e disposição de ferro no organismo fica desequilibrada (FITSANAKIS, et al., 2010).

### 5.2.1 Ingestão diária média de Fe e Mn

Como se pode observar na Tabela 5 a contribuição do Fe e Mn para a Ingestão diária recomendada é baixa, mas pode ser significativa para indivíduos que tem o hábito de consumir chá varias vezes no dia. De acordo com Malik (2008) a contribuição de camomila para a ingestão de ferro humano parece ser muito pobre devido a sua baixa percentagem para a RDA (menos de 2%) e uma diminuição da absorção de não-heme Fe pelo corpo humano.

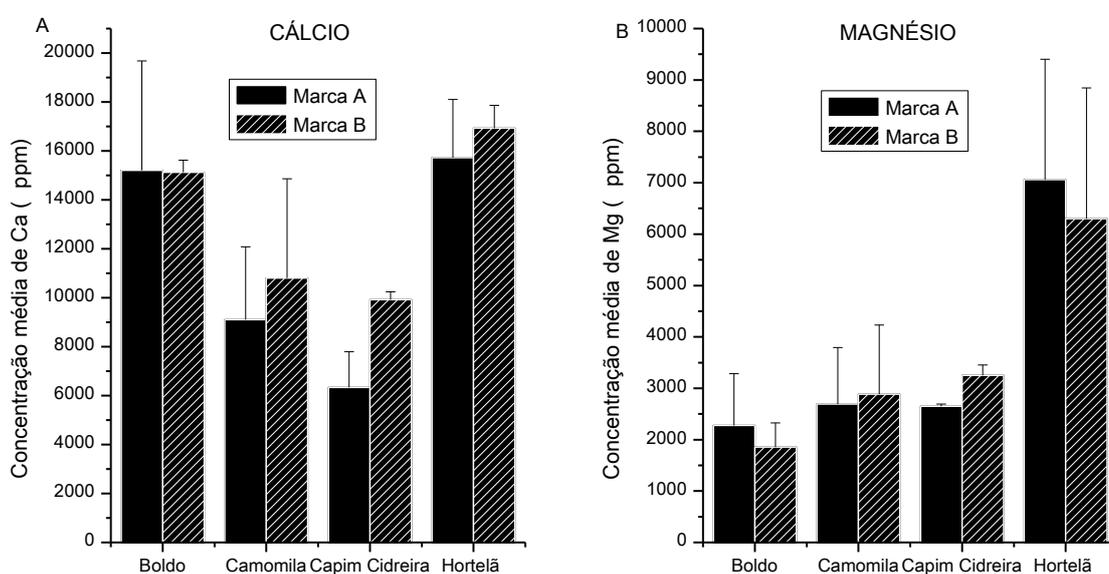
**Tabela 5.** Contribuição do Fe e Mn para a Ingestão diária recomendada (IRD), precronizada pela RDC 269/2005, levando em consideração o consumo de um sachê (1g) de chá por dia, com infusão de 5 minutos.

Chá	Ferro		Manganês	
	Ingestão diária* ( $\mu\text{g}/\text{d}$ )	Contribuição para IRD (%)	Ingestão diária* ( $\mu\text{g}/\text{d}$ )	Contribuição para IRD (%)
<b>Boldo</b>	161,5 $\pm$ 003,9	1,15	0,165 $\pm$ 0,14	0,0072
<b>Camomila</b>	168,6 $\pm$ 009,1	1,20	0,099 $\pm$ 0,02	0,0043
<b>Capim Cidreira</b>	179,2 $\pm$ 044,4	1,28	0,733 $\pm$ 0,3	0,0319
<b>Hortelã</b>	147,1 $\pm$ 064,4	1,05	0,183 $\pm$ 0,05	0,0080

\*Ingestão diária estimada.

### 5.3 Cálcio e Magnésio

Os macrossolúveis Ca e Mg, dentre os analisados, são os mais abundantes nos chás em geral, fato explicado pela importância desses elementos para o metabolismo das plantas, e que indiretamente influenciam positivamente na alimentação humana. Nas marcas analisadas a concentração desses elementos são proporcionais, mesmo que em alguns casos o desvio padrão tenha sido elevado (Figura 7).

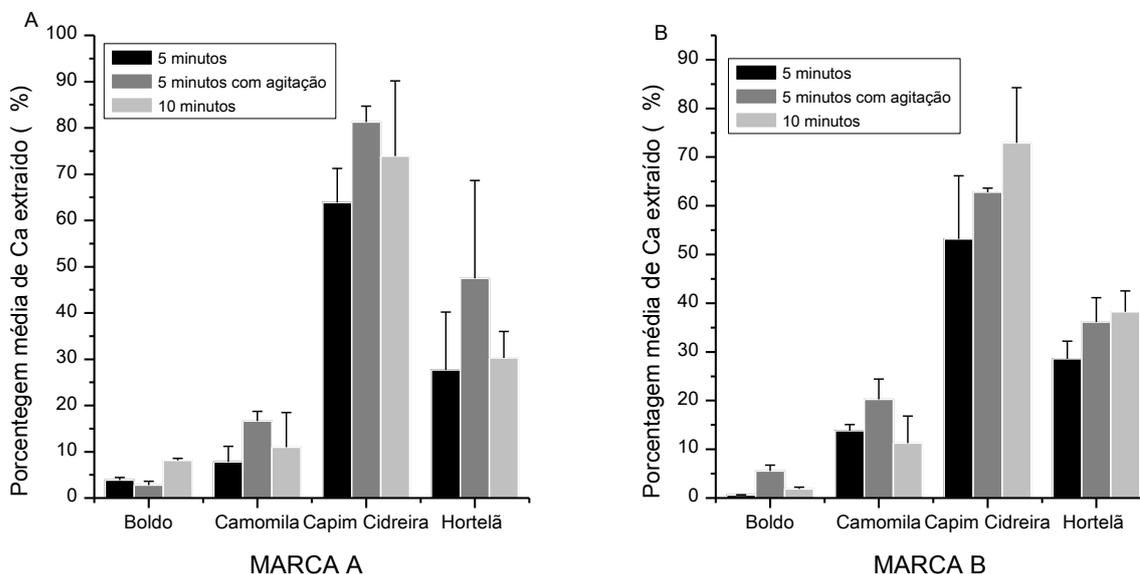


**Figura 7.** (A) Concentração de cálcio no extrato seco dos chás analisados. (B) Concentração de magnésio no extrato seco dos chás analisados.

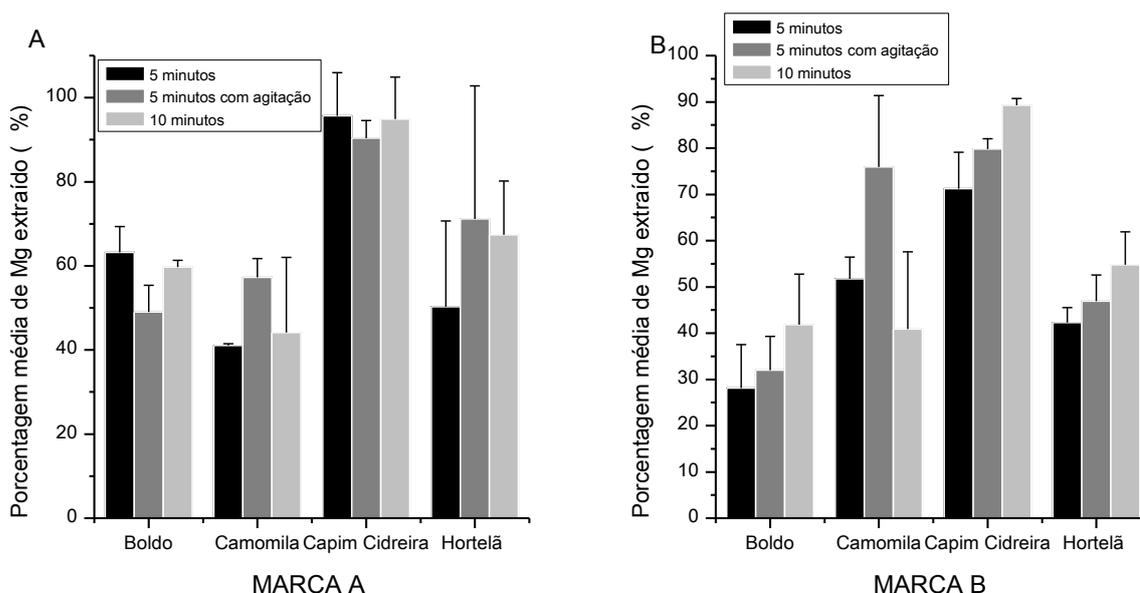
Os resultados encontrados estão de acordo com o demonstrado por Ødegård e Lund (1997), apesar do Ca e Mg terem características químicas semelhantes, o Mg é menos fortemente ligado ao material orgânico nas folhas de chás. A extração de Ca não foi uniforme, variando consideravelmente em relação aos chás em questão. Pode-se observar que no chá de boldo a extração foi baixíssima, em contrapartida, no chá de capim Cidreira foi elevada (Figura 8). Como também o chá onde houve maior extração de Mg foi o de Capim Cidreira (Figura 9).

Segundo Costa e colaboradores (2002) a extração de Ca em minutos de infusão nos chás de camomila e capim cidreira é aproximadamente 20% e 60% respectivamente, enquanto a extração de Mg nesses mesmos chás é de 35% e 40%

respectivamente. Sendo assim, o teor de Mg extraído está acima do esperado, e os valores de cálcio se aproximaram do proposto por Costa.



**Figura 8.**(A) Porcentagem média de Ca extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca A. (B) Porcentagem média de Ca extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca B.



**Figura 9.**(A) Porcentagem média de Mg extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca A. (B) Porcentagem média de Mg extraído no processo de infusões dos chás analisados da Marca B.

### 5.3.1 Ingestão diária média de Ca e Mg

Apesar do teor de Ca e Mg no chá ser elevado, a sua contribuição para a ingestão diária recomendada é baixa (Tabela 4), visto que esses elementos são requisitados em grande quantidade no organismo humano. Segundo Schwalfenberb e colaboradores (2013), 4 xícaras de chá verde podem fornecer 1% dos requisitos diários de cálcio e 5% das exigências de magnésio.

**Tabela 6.** Contribuição do Ca e Mg para a Ingestão diária recomendada (IRD), precronizada pela RDC 269/2005, levando em consideração o consumo de um sachê (1g) de chá por dia, com infusão de 5 minutos.

Chá	Cálcio		Magnésio	
	Ingestão diária* ( $\mu\text{g}/\text{d}$ )	Contribuição para IRD (%)	Ingestão diária* ( $\mu\text{g}/\text{d}$ )	Contribuição para IRD (%)
<b>Boldo</b>	466,1 $\pm$ 258,1	0,05	980,7 $\pm$ 522,7	0,38
<b>Camomila</b>	1102,3 $\pm$ 477,6	0,11	1338,1 $\pm$ 0232,8	0,51
<b>Capim Cidreira</b>	4660,2 $\pm$ 1098,5	0,47	2424,3 $\pm$ 265,1	0,93
<b>Hortelã</b>	4595,1 $\pm$ 1331,8	0,46	3107,5 $\pm$ 1041,0	1,20

\*Ingestão diária estimada

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O teor de Cd nos chá de camomila (marca A) esta acima do preconizado pela legislação brasileira, e a marca B está tendendo a ultrapassar o limite máximo.

Na maioria das análises feitas não houve diferença significativa na extração ao variar o tempo de infusão (5 e 10 minutos) e agitação da infusão (5 minutos com e sem agitação) no preparo do chá. A extração de manganês foi relativamente pequena, o que pode ser interessante devido seu potencial de toxicidade. Em média, nesse estudo, a eficiência da extração dos elementos químicos essenciais obedeceu à seguinte ordem:  $Mg > Fe > Ca > Mn$ .

A concentração e a extração do conteúdo elementar é característico de cada tipo de chá, a maior extração de Mg, Ca e Mn foi no chá de capim cidreira, enquanto o Fe foi mais extraído no chá de camomila.

A contribuição média do consumo de chás para as necessidades de ingestão diária dos elementos essenciais foi baixa e decresceu da seguinte forma  $Fe > Mg > Ca > Mn$ . A contribuição do consumo de chá para a ingestão diária máxima tolerável de As e Cd foram baixas, o que não descarta a hipótese de intoxicação em longo prazo, uma vez que esses elementos estão presentes em uma série de alimentos consumidos diariamente.

Dentre as perspectivas futuras temos, analisar a infusão em outros tempos, como por exemplo, três minutos, e avaliar a influência da temperatura da água sobre a extração. Além de determinar os elementos químicos nos alimentos na forma em que as pessoas os consomem, faz-se necessário avaliar a especiação, bioacessibilidade e biodisponibilidade dos metais. E ainda fiscalização, por parte da ANVISA dos chás comercializados.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFTAB, K. et al. Determination of different trace and essential element in lemon grass samples by x-ray fluorescence spectroscopy technique. **IFR**, v. 18, p. 265–270, 2011.

AKSUNER, N. et al. Determination of essential and non-essential elements in various tea leaves and tea infusions consumed in Turkey. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 5 n<sup>o</sup> 2. p. 126–132, 2012.

ALLOWAY, B. J.; AYERS, D. C. Chemical Principles of Environmental Pollution. **Water, Air, and Soil Pollution, An International Journal of Environmental Pollution**, v.102, n. 1-2, p.216, 1998.

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. 2<sup>a</sup> ed. London: Blackie Academic e Professional, 1995. 368p.

AMMANN, A. A. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): a versatile tool. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 42, p. 419–427, 2007.

ANDERSON, D. Male-mediated developmental toxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v.207, n.2, p. 506-513, 2005.

AQUARONE, E. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Blucher, 2001.

ASCHNER, M. et al. Manganese: Recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 221, p. 131, 2007.

ATSDR, AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for arsenic**. Atlanta, GA, 2005.

ATSDR, AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for cadmium**. Atlanta, GA, 2008.

BARBOSA JÚNIOR, F. et al. Toxicology of Metals and Metalloid. [Editorial]. **BioMed Research International**, Vol. 2014, Article ID 253738, may., 2014.

BASBEL, S.; ERDEMOGLU, S.B. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. **Science of the Total Environment**, Malatya, v. 359, p. 82– 89, 2006.

BATISTA, B. L. Avaliação do uso a cela de radiação dinâmica em espectrometria de plasmas com massa acoplada indutivamente (RDC-ICP-MS) para determinação de elementos químicos no sangue. Tese de Mestrado da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, 2009.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada n<sup>o</sup> 27, de 6 de agosto de 2010. Dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 09 de ago. 2010.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 42, de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre limites máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 de ago. 2013.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 219, de 22 de dezembro de 2006. Aprova a inclusão do uso das espécies vegetais e parte(s) de espécies vegetais para o preparo de chás constante da Tabela I do Anexo desta Resolução em complementação às espécies aprovadas pela Resolução ANVISA RDC nº 267, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 de dez. 2006a.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 267, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 23 de ago. 2005a.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteínas, vitaminas e minerais. **Diário Oficial da União, Brasília**, DF, 04 de dez. 2006b.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 277, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis. **Diário Oficial da União, Brasília**, DF, 26 de set. 2005b.

BRASIL. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003 ementa não oficial: Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. **Diário Oficial da União, Brasília**, de 26 de dezembro de 2003.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. J. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. Porto Alegre: AMGH, 2012.

CARDOSO, L; CHASIN, A.; **Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos**. Série Cadernos de Referência Ambiental. Centro de Recursos Ambientais. Salvador, BA, v. 6, 2001.

CHAVES, E, V. Absorção de metais pesados de solos contaminados do aterro sanitário e pólo industrial de Manaus pela espécie de planta *Senna multijuga*, *Schizolobium amazonicum* e *Caesalpin aechinata*. Tese de Doutorado da Universidade Federal do Amazonas. Manaus, 2008.

COSTA, L. M.; GOUVEIA, S.T; NOBREGA J. A. Comparison of Heating Extraction Procedures for Al, Ca, Mg, and Mn in Tea Samples. **Analytical sciences**, v. 18, mar., 2002.

CREWS, H. M. et al. **Use of the stable isotope (106) Cd for studying cadmium absorption in humans**. Toxicology Letters, v. 112/113, p. 201-207, 2000.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. Trad. de Adriano Brandelli et al. Ed 4. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 409-444.

DOUGLAS, C. R. Necessidades minerais. Tratado de fisiologia aplicado à nutrição, 1ª edição, São Paulo: Robe, p. 136-137, 2002.

EDEN, T. **The development of tea culture**. Longman, London, p. 1, 1958.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas, princípios e perspectivas**. 2º Ed. Editora Planta, 2006, p.401.

FÁVARO, D. I. T. et al. Determinação de alimentos minerais e traços por ativação neutrônica, em refeições servidas no restaurante da Faculdade de Saúde Pública/USP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 176-182, 2000.

FITSANAKIS, V. A. et al. Manganese (Mn) and Iron (Fe): Interdependency of transport and regulation. *Neurotoxicology Research*, Oxford, v. 18, p. 124-131, 2010.

FOOD AND NUTRITION BOARD. National Research Council, National Academy of Sciences: Recommended Dietary Allowances, 10th ed. Washington, DC, National Academy Press, 1989.

GALLAGHER, M. L. **Os nutrientes e seu metabolismo**. In: MAHAN, L. K.; ESCOTTSTUMP, S. Krause, alimentos, nutrição e dietoterapia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 39-143.

GOMES, E.C.; ELPO, E.R.S.; NEGRELLE, R.R.B. Armazenagem de chás no setor supermercadista. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.4, p.675-80, 2007.

GREENE, G. U. **Cadmium Compounds**. 2. Ed. New México: E. C. T. Institute Mining and technology, [S.l.], v. 3, p. 819-911, 1980.

IHA. D. S. Bioacumulação de Cd, Ni, Pb e Zn durante os crescimentos de *Salvinia minima* *Lemna valdiviana*. Tese de Doutorado da Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2014.

HARBOWY, M. E.; BALENTINE, D. A. Tea chemistry. **Critical Review in Plant Science**, v. 16, n. 5, p. 415–480, 1997.

HAYES W. A. Principles and Methods of Toxicology, 4ª edição, **Taylor e Francis**, Philadelphia, 2001, p. 654-682.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A. B. Trace elements from soil to human. Berlim: Springer-Verlag. 2007. 550p.

KALNY, P. et al. Determination of selected elements in different pharmaceutical forms of some polish herbal medicinal products. **Acta Polonae Pharmaceutica**, Warszawa, Vol. 69 No. 2, p. 279 - 283, 2012.

KLAASSEN, C.; WATKINS, B.J. **Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull**. 2ª ed, Porto Alegre:AMGH, 2012, 460 p.

KRAUSE, M. V.; MAHAN, L. K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Roca, p.981, 1993.

LARSSON, S. C.; VIRTANEN, M. J.; MARS, M. **Archives of Internal Medicine**, v. 168, p. 459-465, 2008.

NORDBERG G. F et al. Handbook on the Toxicology of Metals (Third Edition), (Versão On-line), 2007.

LORENZI, H.; MATOS F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2ª Ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2008, 512p.

LOZAK, A., et al. Determination of selected trace elements in herbs and their infusions. **Sci Total Environ**, v. 289, p. 33–40, 2002.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S.; KRAUSE. **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**, trad. Andrea Favano, 9ª ed., São Paulo: Roca, 1998.

MALAVOLTA, E., VITTI, G.C., OLIVEIRA, S.A., **Avaliação do estado nutricional das plantas, princípios e aplicações**, 2ªEd. Piracicaba:Potafos, 1997.

MALIK, J. et al. Determination of certain micro and macroelements in plant stimulants and their infusions. **Food Chemistry**, v. 111, p. 520–525, 2008.

MARIANO, X. M. AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE AMOSTRAS COMERCIAIS DE BOLDO-DO-CHILE (*Peumus boldus* Molina). Tese de Mestrado da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro Centro de ciências biológicas e da saúde. Rio de Janeiro, 2015.

MAZOKOPAKIS, E. E. et al. Wide Chamomile (*Matricaria recutita* L. L.) mouthwashes in metrotexate-induced oral mucositis. **Phytomedicine**, v.12, p.25-27, 2005.

MEHRA, A; BAKER, C.L. Leaching and bioavailability of aluminium, copper and manganese from tea (*Camellia sinensis*). **Food Chemistry**, v. 100, p. 1456, 2007.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**, 4ª Ed. Bern: International Potash Institute, 1987, 687p.

MICHALKE. B. Manganese speciation using capillary electrophoresis–ICPmassspectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1050, p. 69, 2004.

MIDIO, A. F., MARTINS, D. I., **Toxicologia de Alimentos**, São Paulo: Varela, 2000. 295p.

NARDI, E.; EVANGELISTA, F. S.; TORMEN, L.; SAINTPIERRE, T. D.; CURTIUS, A. J.; SOUZA, S. S.; JUNIOR, F. B. The use of inductively coupled plasma mass

spectrometry ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. **Food Chemistry**, v. 112, p. 727-232, 2009.

ODEGARD, K. E.; LUND, W. J. **Anal. At. Spectrom**, v.12, p. 403, 1997.

OLIVEIRA, J. E. D., MARCHINI, J. S. **Ciências nutricionais: aprendendo a aprender**. 2ª Ed. São Paulo: Sarvier, 2008.

OLIVEIRA, J. P. Crescimento e nutrição mineral de porta-enxertos de seringueira (*Havea spp.*) em função da idade. Tese de Mestrado da Universidade Federal, Rural da Amazônia. Belém, 2006.

PEREIRA, R. M. Determinação de constituintes inorgânicos em amostras de ervas e raízes medicinais por espectrometria de absorção atômica com chama. Tese de Mestrado da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo horizonte, 2010.

POF, Pesquisa de Orçamentos Familiares\_ Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil 2008-2009, IBGE, 2011.

QUARESMA, M. C. B.; CASSELLA, R. J.; GUARDIÃ, M. de La; SANTELLI, R. E. Rapid on-line sample dissolution assisted by focused microwave radiation for silicate analysis employing flame atomic absorption spectrometry: iron determination. **Talanta**, v. 62, p. 807, 2004.

SANTOS, G. C. G. D. Comportamento do B, Zn, Cu, Mn e Pb em solo contaminado sob cultivo de plantas e adição de fontes de matéria orgânica como amenizantes do efeito tóxico. Tese de Doutorado da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2005.

SCHWALFENBERG, G.; GENUIS, S. J.; RODUSHKIN, I. The Benefits and Risks of Consuming Brewed Tea: Beware of Toxic Element Contamination. **Hindawi Publishing Corporation Journal of Toxicology**, 2013.

SEVEROGLU, Z. et al. Trace metal levels in edible wild fungi. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 10, p. 295–304, 2013.

SILVA, M. L. S. Avaliação do comportamento de elementos traço essenciais e não essenciais em solo contaminado sob cultivo de plantas. Tese de Doutorado da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2006.

SOTO, C. et al. Effect of extraction conditions on total phenolic content and antioxidant capacity of pretreated wild *Peumus boldus* leaves from Chile. **Food and bioproducts processing**, v. 92, p. 328–333, 2014.

SOUZA, J. R. P. et al. Ação do estresse térmico na sobrevivência de mudas e produção de camomila originadas de sementes importadas e nacionais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 233-236, abr./jun., 2006.

SOYLAK, M.; CIHAN, Z.; YILMAZ, E. Evaluation of trace element contents of some herbal plants and spices retailed in Kayseri, Turkey. **Environ Monit Assess**, v. 184, p. 3455–3461, 2012.

STEVENSON, F. J.; ARDAKANI, M. S. Organic matter reactions involving micronutrients in soils. In MORTVEDT, J. J.; GIODANO, P. M.; LINDSAY, W. L. *Micronutrients in agriculture*. p. 79-114, 1972.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A., WELNA, M., & POHL, P. Elemental analysis of teas and their infusions by spectrometric methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 35, p.165–181, 2012.

VEREP, B. et al. The trace element analysis in freshwater fish species, water and sediment in Iyidere stream (Rize-Turkey). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.15, p. 658–665, 2012.

VULCANO, I. R. C.; SILVEIRA, J. N.; ALVAREZ-LEITE, E. D. Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, jul./set., 2008.

YEMANE, M.; CHANDRAVANSI, B. S & WONDIMU, T. Levels of essential and non-essential metals in leaves of the tea plant (*Camellia sinensis*L.) and soil of Wushwush farms, Ethiopia. **Food Chemistry**, v. 107, p. 1236, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Arsenic**. Environmental Health Criteria. Geneva, 1981.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Cadmium**. Environmental Health Criteria. Geneva, p.134, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Drug Information Herbal Medicines**. Environmental Health Criteria. Geneva, v. 16., 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Evaluation of certain food additives and contaminants**. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Health risks of heavy metals from long-range transboundary air pollution**. Environmental Health Criteria Geneva, p. 144, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Trace Elements in Human Nutrition and Health**. Environmental Health Criteria. Geneva, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Worldwide prevalence of anaemia: WHO global database on anaemia**. Geneva: WHO, 2008.

ZHENG, H. et al. Analysis of Trace Metals and Perfluorinated Compounds in 43 Representative Tea Products from South China. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 6, 2014.