

## DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DE FLÚOR EM CHÁS

LARISSA CRISTINE A. DA COSTA<sup>1</sup>; CATARINA F. S. MORAES<sup>2</sup>; JULIANA C. E. SANTOS<sup>2</sup>; FERNANDA P. BALBINOT<sup>2</sup>; DIOGO L. R. NOVO<sup>2</sup>; MARCIA F. MESKO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – cristine.andradec@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – cj.ta@hotmail.com; julliana-c-e@hotmail.com;  
fer.p.balbinot@gmail.com; diogo.la.rosa@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – marciamesko@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

O chá é uma das bebidas mais consumidas do mundo, e vários órgãos de saúde incentivam o consumo de alguns tipos de chás devido às propriedades medicinais, como atividades anti-inflamatória, antioxidante, antidiabética, entre outras (KHAN, 2013). Um elemento que pode ser encontrado nas folhas de chás é o flúor, principalmente na forma de fluoreto, o qual é absorvido pelas plantas por meio do solo e do ar. É válido mencionar que até 98% da concentração total de flúor pode se acumular nas folhas, portanto, quando feita a infusão do chá, quantidades substanciais deste elemento podem ser extraídas para a bebida, impactando negativamente o metabolismo humano (YI, 2008).

O consumo moderado de flúor atribui benefícios à saúde devido a sua contribuição na prevenção de cáries dentárias e no fortalecimento dos ossos. Nesse sentido, a ingestão de flúor entre 0,01 a 4,0 mg por dia é recomendada, podendo variar entre adultos e crianças, e entre homens e mulheres (PALMER, 2012). Todavia, é importante ressaltar que algumas espécies de chás, como o chá preto, possuem concentrações elevadas de flúor em sua composição, e o consumo contínuo desses chás pode causar efeitos adversos para a saúde humana (CAO, 2004), causando intoxicação crônica como a fluorose esquelética e/ou dentária (YI, 2008).

Estudos demonstram que o teor de flúor em chás pode variar entre 23 mg kg<sup>-1</sup> e 1175 mg kg<sup>-1</sup>, dependendo do método de fabricação utilizado e sua forma de comercialização (sachês, tabletes, bastões, engarrafado, etc) (YI, 2008) (SHU, 2003) (WHYTE, 2004), (LU, 2004). Existem métodos oficiais para a quantificação de flúor em folhas de chá. O método 975.04 da Associação de Químicos Agrícolas Oficiais (AOAC) recomenda que o preparo de amostra para determinação de flúor em plantas seja realizado utilizando o método de extração. Neste método utiliza-se 20 mL de solução extratora (HNO<sub>3</sub> 0,05 mol L<sup>-1</sup>) e 20 mL de solução neutralizante de (KOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>) para posterior determinação por potenciometria com eletrodo íon-seletivo (ISE). Porém, esse método pode não ser adequado para fluoretos inorgânicos insolúveis ou compostos orgânicos de flúor, considerando as características da solução extratora e a utilização de condições brandas durante a etapa de preparo de amostra (CHOUDARY, 2019).

Considerando essa limitação, e a necessidade em se obter informações confiáveis sobre a concentração total de flúor em chás, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos adequados para esta finalidade, considerando tanto o preparo de amostra quanto a etapa de determinação. As folhas de chá possuem uma matriz complexa, rica em matéria orgânica, requerendo que a etapa de preparo de amostra seja cautelosamente desenvolvida, a fim de

transformar a amostra, que é sólida, em uma solução adequada à análise, proporcionando a eliminação da fração orgânica da matriz, evitando interferências e possíveis perdas do analito por volatilização.

Nesse sentido, a combustão iniciada por micro-ondas (MIC) vem sendo amplamente proposta para essa finalidade, uma vez que a reação de combustão proporciona uma eficiente decomposição de amostras com essas características, além de possibilitar a escolha de uma solução adequada para a estabilização dos analitos. A MIC é executada em frascos fechados e pressurizados com oxigênio, diminuindo as possibilidades de contaminações oriundas do meio externo e perdas dos elementos por volatilização. Além disso, a possibilidade de executar uma etapa de refluxo pode garantir a obtenção de recuperações quantitativas dos analitos. Vale ressaltar que geralmente os digeridos obtidos após a MIC são compatíveis com diversas técnicas de determinação, incluindo a cromatografia de íons com detecção condutimétrica (IC-CD), uma técnica multielementar e compatível com a determinação de não-metals em suas formas iônicas mais estáveis (KRUG, 2019). Assim, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver um método para determinação de flúor total em chás por IC-CD após decomposição por MIC.

## 2. METODOLOGIA

Neste estudo foram utilizadas amostras comerciais de chás em sachês das espécies *Camelia sinensis* (chá preto e chá verde), *Cymbopogonno citrus Stapf.* (chá de capim cidreira) e *Peumus boldus* (chá de boldo), adquiridos no comércio local da cidade de Pelotas/RS. Inicialmente, foram feitas infusões das amostras em água ultrapura seguindo as instruções contidas nas embalagens dos produtos. Em seguida, essas soluções foram diluídas e analisadas por IC-CD, a fim de identificar qual destas espécies de chá apresenta a maior concentração de flúor disponível em sua composição. A partir dessa informação, foi selecionada a amostra de chá preto para ser utilizada no desenvolvimento do método.

A amostra foi seca a 60° C por aproximadamente 24 h, até peso constante. Após a amostra foi moída em gral de porcelana com pistilo e, posteriormente, armazenada em frascos de polipropileno. Na MIC, inicialmente foram estudadas a forma de introdução da amostra no sistema, na forma de invólucros ou de comprimidos, e a massa máxima que pode ser eficientemente decomposta. No interior de invólucros, foram avaliadas massas de 100 a 900 mg de amostras. As amostras foram envolvidas em filmes de polietileno (PE), selados com uma fonte de aquecimento e o excesso de filme removido. Para as amostras comprimidas, foi avaliado a massa de 500 mg de amostra utilizando-se uma prensa hidráulica (40 kN). Os comprimidos, assim como os invólucros, foram dispostos sobre suportes de quartzo, com disco de papel filtro previamente umedecido com 50 µL da solução ignitora ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$  6 mol L<sup>-1</sup>), os quais foram introduzidos em frascos de quartzos contendo 6 mL de solução absorvedora. Os frascos foram fechados, fixados ao rotor, pressurizados com 20 bar de O<sub>2</sub>, inseridos no forno micro-ondas (Multiwave 3000®, Anton Paar, Áustria) e submetidos ao seguinte programa de irradiação: i) 1400 W por 50s (etapa de ignição e combustão), ii) 0 W por 3 min(etapa de combustão), iii) 1400 W por 5 min (etapa de refluxo) e iv) 0 W por 20 min (etapa de resfriamento).

Para a escolha da solução absorvedora, foram preparadas soluções de diferentes concentrações (25, 50 e 100 mmol L<sup>-1</sup>) de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . A escolha da concentração mais adequada da solução absorvedora foi realizada com base em ensaios de recuperação, adicionando-se uma solução padrão contendo o

equivalente a 100% da concentração de flúor presente na amostra. Para esta avaliação, adicionou-se 20  $\mu\text{L}$  da solução padrão de fluoreto de 700  $\text{mg L}^{-1}$  à amostra previamente a prensagem. As soluções obtidas foram aferidas a 25 mL e armazenadas até a análise por (IC-CD). Para tanto, foi utilizado um cromatógrafo de íons (ICS-5000, Dionex/Thermo Fisher Scientific, EUA). As condições operacionais utilizadas estão descritas na tabela 1.

**Tabela 1.** Parâmetros operacionais para a determinação de flúor em chá por IC-CD.

Parâmetros	Condição
<b>IC-CD</b>	
Fase móvel	KOH
Gradiente da fase móvel	5 a 90 $\text{mmol L}^{-1}$
Vazão do eluente ( $\text{mL min}^{-1}$ )	0,28
Volume de injeção ( $\mu\text{L}$ )	50
Tempo de análise (min)	33
Modo de integração de sinal	Área do pico
Modo de detecção	Condutividade

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação ao ensaio de massa e a forma de introdução das amostras no sistema, inicialmente foi avaliado o uso do filme de PE para envolver as amostras, e a decomposição de 100 e 900 mg de chá. Utilizando 900 mg de amostra não foi possível obter uma combustão completa. Nos testes utilizando 700 e 800 mg de amostra, obteve-se uma combustão completa, porém a queima gerou uma chama intensa, que danificou o equipamento. Nesse sentido, foi avaliada a introdução da amostra no sistema na forma de comprimido, obtendo-se uma combustão completa de até 500 mg de amostra. Vale ressaltar que devido às limitações da prensa hidráulica, não foi possível comprimir massas superiores. Desta forma, o uso de comprimidos de 500 mg de chá foi definido como condição do método para os estudos subsequentes.

Em relação à solução absorvedora, foram obtidas recuperações médias de flúor na faixa de 90 a 110% para todas as concentrações de  $\text{NH}_4\text{OH}$  avaliadas. Para a solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  25  $\text{mmol L}^{-1}$  obteve-se uma recuperação de 91%, para a solução de 50  $\text{mmol L}^{-1}$  a recuperação foi de 96% e a solução de 100  $\text{mmol L}^{-1}$  apresentou uma recuperação de 99%. Entretanto, foi observada diferença estatística na recuperação de flúor quando a solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  25  $\text{mmol L}^{-1}$  foi utilizada quando comparada às recuperações obtidas empregando as demais soluções (One-Way ANOVA, nível de confiança de 95%). Comparando as soluções de  $\text{NH}_4\text{OH}$  50 e 100  $\text{mmol L}^{-1}$ , as recuperações obtidas não apresentaram diferença estatística entre si (One-Way ANOVA, nível de confiança de 95%), indicando que ambas podem ser adequadas para a absorção de flúor. Assim, a solução  $\text{NH}_4\text{OH}$  50  $\text{mmol L}^{-1}$  foi escolhida para as avaliações posteriores por ser mais diluída, reduzindo assim os riscos de contaminação e possibilitando uma maior compatibilidade com a IC-CD. Para as próximas etapas deste estudo, serão

avaliados ensaios de recuperação em outros dois níveis de concentrações com as condições escolhidas.

A exatidão do método proposto também será avaliada analisando-se um material de referência certificado (CRM) de planta aquática, que será submetido às mesmas etapas de pré-tratamento que as amostras. Após a avaliação destes parâmetros, o método será aplicado para a análise de os outros tipos de chá. Por fim, as diferentes secagens também deverão ser avaliadas para todas as amostras, a fim de averiguar se a temperatura de secagem pode causar perdas do analito.

#### 4. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou a adequabilidade da MIC para o preparo de amostras de chá, em combinação com a IC-CD para a posterior determinação de flúor. Foi observada a necessidade de utilização da introdução da amostra no sistema na forma de comprimidos, possibilitando que a reação de combustão ocorresse de forma mais controlada. Por fim, é importante frisar que o estudo será continuado a fim de aplicar o método desenvolvido para a avaliação de concentração de flúor em diferentes espécies de chás, tendo em vista que estes produtos são amplamente consumidos e que concentrações elevadas deste elemento podem causar intoxicações severas ao ser humano.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- KHAN N., MUKHTAR H., Tea and health: studies in humans. **Current Pharmaceutical Design**, v. 19, p. 6141-6147, 2013.
- CAO, J. et al. Safety evaluation on fluoride content in black tea, **Food Chemistry**, v. 88, p. 233-236, 2004.
- SHU, W.S. et al. Fluoride and aluminium concentrations of tea plants and tea products from Sichuan Province, PR China, **Chemosphere**, v. 52, p. 1475–1482, 2003.
- WHYTE, M. P. et al. Skeletal fluorosis and instant tea, **The American Journal of Medicine**, v. 118, p. 78-82, 2005.
- LU, Y. et al. Fluoride content in tea and its relationship with tea quality, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4472-4476, 2004.
- YI, J. et al. Tea and fluorosis, **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 129, p. 76-81, 2008.
- HORWITZ, W., LATIMER, W., Association of Official Agricultural Chemists – **Official Methods of Analysis of Association of Official Agricultural Chemists International**, Chapter 3, p. 15, 2005.
- CHOUDHARY, S. et al. Impact of fluoride on agriculture: a review on its sources, toxicity in plants and mitigation Strategies, **International Journal of Chemical Studies**, v. 7, p. 1675–1680, 2019.
- KRUG, Francisco José. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. São Paulo: EditSBQ – Sociedade Brasileira de Química, 2019.
- MESKO, M. F. et al. Single analysis of human hair for determining halogens and sulfur after sample preparation based on combustion reaction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, p. 4873-4881, 2019.