

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos

Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção



Dissertação

Determinação de flúor total em folhas de chás *in natura*, infusões e resíduos: explorando a mobilização elementar e caracterização da composição centesimal.

Jenifer Heller Cerqueira

Pelotas, 2024

Jenifer Heller Cerqueira

Determinação de flúor total em folhas de chás *in natura*, infusões e resíduos: explorando a mobilização elementar e caracterização da composição centesimal.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área de Concentração: Bioquímica e Bioprospecção).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcia Foster Mesko

Coorientador: Dr. Filipe Soares Rondan

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

C411d Cerqueira, Jenifer Heller

Determinação de flúor total em folhas de chás *in natura*, infusões e resíduos [recurso eletrônico] : explorando a mobilização elementar e caracterização da composição centesimal / Jenifer Heller Cerqueira ; Márcia Foster Mesko, orientadora ; Filipe Soares Rondan, coorientador. — Pelotas, 2024.
67 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. Fluoreto. 2. Ingestão crônica diária. 3. Quociente de risco alvo. 4. Chás emagrecedores. 5. Chás calmantes. I. Mesko, Márcia Foster, orient. II. Rondan, Filipe Soares, coorient. III. Título.

CDD 663.94

Jenifer Heller Cerqueira

Determinação de flúor total em folhas de chás *in natura*, infusões e resíduos: explorando a mobilização elementar e caracterização da composição centesimal.

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestra em Ciências (Área de Concentração: Bioquímica e Bioprospecção), Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, da Universidade Federal de Pelotas.

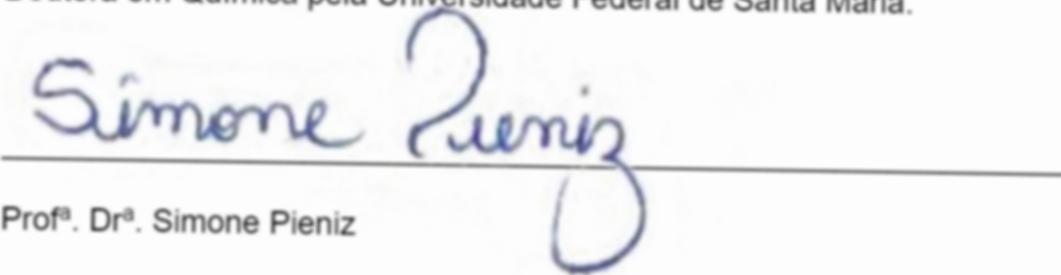
Data da defesa: 11 de abril de 2024

Banca examinadora:



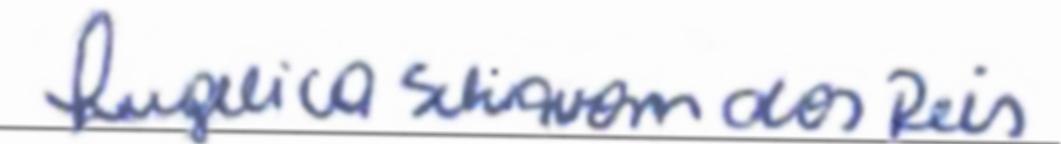
Prof^a. Dr^a. Márcia Foster Mesko (Orientadora)

Doutora em Química pela Universidade Federal de Santa Maria.



Prof^a. Dr^a. Simone Pieniz

Doutora em Microbiologia Agrícola e do Ambiente pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.



Dr^a. Angélica Schiavom dos Reis

Doutora em Bioquímica e Bioprospecção pela Universidade Federal de Pelotas.

“Na vida você pode encontrar cores e caminhos tão embaralhados, que no primeiro momento você pode achar impossível de montar. Mas o tempo vai passando, você vai crescendo, aprendendo, melhorando. E aí chega um dia em que você compreende, que aquelas cores embaralhadas, aqueles caminhos tão difíceis de trilhar, só existiram para você tornar o impossível de muitos, o seu possível particular.”

John Eygânnis

AGRADECIMENTOS

Como mestranda, tive o privilégio de encontrar pessoas que enriqueceram meus estudos, tornando a área de Bioquímica e Bioprospecção ainda mais envolvente e fascinante. Desejo expressar minha gratidão especial:

À Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção pela oportunidade concedida para a minha formação e pelo apoio recebido durante a execução deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da bolsa de mestrado.

À minha orientadora, Profa. Dr. Márcia Foster Mesko, gostaria de expressar minha imensa gratidão por sua orientação dedicada e pelo apoio inestimável ao longo deste projeto. Agradeço profundamente por compartilhar não apenas seus vastos conhecimentos, mas também por ser um modelo inspirador de conduta ética na vida profissional. Sua orientação foi fundamental para meu crescimento acadêmico e pessoal, e sou imensamente grata por isso. Além disso, reconheço e valorizo imensamente os esforços incansáveis para viabilizar a concretização deste projeto. Seu comprometimento e apoio foram fundamentais para o sucesso desta jornada, e por isso, minha gratidão é imensurável.

Ao Dr. Filipe Soares Rondan, meu coorientador por sua paciência, por ter me auxiliado, ensinado e motivado diariamente no LCCBio. Sou profundamente grata pelo apoio.

À banca examinadora pelas valiosas contribuições e considerações, que enriqueceram significativamente este trabalho.

Expresso meu agradecimento aos integrantes do LCCBio pela colaboração fundamental em meu projeto, bem como pelos momentos descontraídos compartilhados.

A minha mãe Rejane Rutz Heller e meu pai Emiliano Scotti Cerqueira, pelo amor e constante apoio, incentivo e inspiração.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Resumo

CERQUEIRA, Jenifer Heller. **Desenvolvimento de método analítico para a determinação de flúor total em folhas de chás *in natura*, infusões e resíduos**: explorando a mobilização elementar e caracterização da composição centesimal. 2024. 67f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Bioprospecção) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024

Este estudo teve como objetivo desenvolver um método para a determinação de flúor em plantas medicinais, infusões e resíduos sólidos resultantes do processo de infusão. Inicialmente, as amostras foram caracterizadas quanto à sua composição centesimal, e a combustão iniciada por micro-ondas foi avaliada como método de preparo para as plantas *in natura*, suas infusões e resíduos remanescentes. As condições instrumentais foram otimizadas para a determinação de flúor, avaliando técnicas com diferentes princípios de detecção, como a potenciometria com eletrodo íon-seletivo (ISE) e a cromatografia de íons (IC). O método proposto foi validado e aplicado para determinar a concentração e a distribuição do flúor nas frações oriundas das plantas medicinais analisadas. Dentre as condições otimizadas, a solução absorvedora de NH_4OH 100 mmol L^{-1} foi a mais eficaz para absorção de flúor após decomposição da amostra por MIC. Amostras sólidas foram preparadas na forma de comprimidos, com uma massa otimizada de 600 mg. Para o preparo das infusões por MIC, utilizaram-se invólucros com celulose microcristalina como auxiliar de combustão (300 μL de infusão, 400 mg de celulose e 100 μL de solução ignitora – NH_4NO_3 6 mol L^{-1}). As concentrações de flúor nas infusões de chá foram quantificadas diretamente em três das nove amostras analisadas: chá preto (224 mg kg^{-1}), camomila (39 mg kg^{-1}) e erva-doce (15 mg kg^{-1}). Dentre essas, apenas o chá preto apresentou concentrações detectáveis de flúor em todas as frações, com 421 mg kg^{-1} no chá *in natura* e 155 mg kg^{-1} no resíduo pós-infusão. A análise direta da infusão foi consistente com as concentrações totais de flúor na infusão após preparo por MIC, demonstrando que o flúor presente na infusão está na forma de fluoreto. O método proposto permitiu a quantificação efetiva do flúor total em amostras de chá e suas frações, combinando a MIC para preparo da amostra e a IC como técnica de determinação. Para os três chás, preto, camomila e erva-doce, com flúor detectável, os valores de ingestão diária crônica (CDI) foram de 0,064, 0,011 e 0,004 mg/kg/dia , respectivamente. Os valores de quociente de risco alvo (THQ) foram de 1,07, 0,18 e 0,07, respectivamente, com valores acima de 1 indicando um risco potencial à saúde, o que foi observado em específico no chá preto. Esses resultados ressaltam a importância do monitoramento dos níveis de flúor no chá para garantir a segurança do consumidor.

Palavras-chave: fluoreto, ingestão crônica diária; quociente de risco alvo; chás emagrecedores; chás calmantes.

Abstract

CERQUEIRA, Jenifer Heller. **Development of an analytical method for the determination of total fluorine in fresh tea leaves, infusions and residues:** exploring elemental mobilization and characterization of the proximate composition. 2024. 67p. Dissertation (Master's degree in Biochemistry and Bioprospecting) – Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting, Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2024.

This study aimed to develop a method for determining fluoride in medicinal plants, infusions, and solid residues from the infusion process. Initially, the samples were characterized for their proximate composition, and microwave-induced combustion (MIC) was evaluated as a preparation method for fresh plants, their infusions, and infusion residues. Instrumental conditions were optimized for fluorine determination, assessing techniques with different detection principles, such as ion-selective electrode potentiometry (ISE) and ion chromatography (IC). The proposed method was validated and applied to determine the concentration and distribution of fluorine in the fractions of the analyzed medicinal plants. Among the optimized conditions, the 100 mmol L⁻¹ NH₄OH absorbing solution proved to be the most effective for fluorine absorption after sample decomposition by MIC. Solid samples were prepared as tablets, with an optimized mass of 600 mg. For infusions prepared by MIC, wrappers with microcrystalline cellulose as a combustion aid were used (300 µL of infusion, 400 mg of cellulose, and 100 µL of ignition solution – NH₄NO₃ 6 mol L⁻¹). Fluorine concentrations in tea infusions were quantified directly in three of the nine tea samples analyzed: black tea (224 mg kg⁻¹), chamomile (39 mg kg⁻¹), and fennel (15 mg kg⁻¹). Among these, only black tea showed detectable fluoride concentrations in all fractions, with 421 mg kg⁻¹ in the fresh tea and 155 mg kg⁻¹ in the post-infusion residue. Direct infusion analysis was consistent with total fluorine concentrations in the infusion after MIC preparation, indicating that fluorine in the infusion is in the form of fluoride ions. The proposed method effectively quantified total fluoride in tea samples and their fractions, combining MIC for sample preparation and IC for determination. For the three teas with detectable fluoride, chronic daily intake (CDI) values were 0.064, 0.011, and 0.004 mg/kg/day for black tea, chamomile, and fennel, respectively. The target hazard quotient (THQ) values were 1.07, 0.18, and 0.07, respectively, with values above 1 indicating a potential health risk, which was specifically observed in black tea. These findings highlight the importance of monitoring fluoride levels in tea to ensure consumer safety.

Keywords: fluoride; daily chronic intake; target hazard quotient; weight loss teas; calming teas.

Lista de Figuras

- Figura 1.** Via de absorção, distribuição e retenção do flúor. Adaptado de KABIR; GUPTA; TRIPATHY (2019)..... 22
- Figura 2.** Componentes do sistema de combustão iniciada por micro-ondas (a) frascos e suportes de quartzo (b) frascos com capa de proteção acoplados ao rotor (c) equipamento de forno micro-ondas modelo Multiwave 3000®. Fonte: Google Imagens 30
- Figura 3.** Recuperações obtidas para flúor em chá preto utilizando diferentes soluções absorvedoras durante o método de MIC. Adição de padrão de 200 mg kg⁻¹ de F (50%) e 400 mg kg⁻¹ de F (100%)..... 43

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Parâmetros operacionais utilizados para a determinação de flúor por IC.....	36
Tabela 2.	Resultado das avaliações do volume de amostra de infusão para preparo por MIC utilizando celulose microcristalina, amostra líquida de infusão e solução ignitora.....	41
Tabela 3.	Concentrações de flúor em chá preto utilizando diferentes soluções absorvedoras durante o preparo da amostra por MIC (média \pm desvio padrão, n=3).....	42
Tabela 4.	Concentrações de flúor em chá preto determinadas por IC e ISE após preparo por combustão iniciada por micro-ondas.....	46
Tabela 5.	Concentrações de flúor em diferentes frações de chás (média \pm desvio padrão, n = 3).....	47
Tabela 6.	Composição centesimal das amostras de chás (média \pm desvio padrão, n = 3).....	51
Tabela 7.	Valores de CDI e THQ para flúor considerando a ingestão de chá preto, camomila e erva doce para adultos.....	54

Sumário

1	Introdução.....	11
2	Objetivos.....	13
2.1	Objetivos gerais.....	13
2.2	Objetivos específicos.....	13
3	Revisão Bibliográfica.....	14
3.1	Plantas medicinais.....	14
3.1.1	<i>Chás emagrecedores</i>	15
3.1.2	<i>Chás calmantes</i>	18
3.2	Efeitos das plantas medicinais na saúde.....	19
3.3	Flúor.....	19
3.4	Ingestão de flúor via alimentar.....	20
3.5	Metabolismo do flúor.....	21
3.6	Técnicas analíticas para a determinação de flúor.....	23
3.6.1	<i>Cromatografia de íons</i>	24
3.6.2	<i>Potenciometria com eletrodo íon-seletivo</i>	24
3.7	Métodos de prepare de amostra visando à posterior determinação de flúor.....	25
3.7.1	<i>Combustão iniciada por micro-ondas</i>	26
3.8	Ingestão Diária Crônica (CDI).....	27
3.9	Coeficiente de Risco Alvo (THQ).....	28
4	Materiais e Métodos.....	29
4.1	Amostras e material de referência certificado.....	29
4.2	Instrumentação	29
4.3	Reagentes.....	31

4.4	Processos de descontaminação.....	32
4.5	Preparo de infusões.....	32
4.6	Preparo das amostras por combustão iniciada por micro-ondas.....	33
4.6.1	<i>Avaliação da forma de introdução da amostra no sistema de combustão</i>	33
4.6.2	Avaliação da massa de amostra.....	34
4.6.3	<i>Avaliação da solução absorvedora</i>	35
4.7	Determinação de flúor nas diferentes frações das plantas.....	35
4.8	Avaliação da composição centesimal.....	37
4.9	Avaliação de risco para a saúde.....	38
5	Resultados e Discussão.....	39
5.1	Avaliação do método de MIC.....	39
5.1.1	<i>Forma de introdução e massa de amostra</i>	39
5.1.2	<i>Solução absorvedora</i>	42
5.2	Limites de detecção e quantificação e análise de material de referência certificado.....	44
5.3	Determinação de flúor em diferentes frações de chás.....	45
5.4	Determinação da composição centesimal.....	51
5.5	Avaliação de risco para a saúde.....	54
6	Conclusão.....	55
7	Perspectivas futuras.....	57
	Referências.....	58

1 Introdução

O chá é uma das bebidas mais consumidas no mundo, e está presente em lendas chinesas que relatam seu consumo desde o ano de 2737 a.C. (BRAIBANTE *et al.*, 2014). Dois terços da população mundial consomem chá regularmente, fazendo dele a bebida não alcoólica mais consumida depois da água (BRODY *et al.*, 2019; SINGH *et al.*, 2017). A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (do inglês, *Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO*), projeta um aumento de 2,2% na produção global de chá preto, alcançando uma produção de até 4,4 milhões de toneladas até o ano de 2027 (FAO, 2018).

A ingestão de chás e produtos naturais é uma prática tradicional visando à administração de diversos princípios ativos encontrados em plantas medicinais, com o intuito de tratar e prevenir enfermidades (BRASILEIRO *et al.*, 2019). Entretanto, vale ressaltar que o consumo de chás em excesso pode acarretar malefícios à saúde, devido à presença de compostos com potencial tóxico como, por exemplo, os compostos halogenados. Dentre os halogênios, o flúor (F) e suas espécies orgânicas vêm sendo bastante estudados, uma vez que compostos contendo esse elemento podem ser liberados no ar, nas águas subterrâneas e no solo por meio de erupção vulcânica ou como resultado da atividade industrial (em forma de fumaça e/ou poeira). Dessa forma, o flúor acaba entrando em contato com o corpo humano por meio da ingestão de água e alimentos contaminados (MCILWAIN; RUPRECHT; STOCKBRIDGE, 2021). A ingestão diária recomendada de flúor é de cerca de 4 mg (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997). No Brasil, a média de consumo diário de chá, que pode contribuir para a ingestão de flúor, é de aproximadamente 6 a 7 gramas por pessoa, o que equivale a cerca de 1 a 2 xícaras de chá por dia (HELGI LIBRARY, 2024).

O flúor pode estar naturalmente presente nas plantas e pode permanecer durante todo o seu crescimento, até o consumo final do produto que, geralmente, ocorre na forma de infusões das plantas. O flúor é responsável pela conservação da saúde bucal, porém, quando ingerido em concentrações elevadas, este pode causar malefícios à saúde humana (EKAMBARAM; ITTHAGARUN; KING, 2011). O consumo excessivo de flúor pode inibir metaloenzimas e enzimas glicolíticas,

ambas envolvidas em reações metabólicas importantes no nosso organismo (WAUGH, 2013). Além disso, o consumo a longo prazo de bebidas de chá contendo excesso de F pode levar a efeitos deletérios, como fluorose dentária e esquelética, danos hepáticos e renais, além de anomalias no desenvolvimento neurológico dentre outros efeitos que devem ser investigados (ZHOU; SUN; WEI, 2023).

Para garantir a qualidade das plantas medicinais consumidas em forma de chá, é crucial avaliar os níveis de flúor. Isso requer o desenvolvimento de métodos analíticos confiáveis para essa determinação, uma vez que a maioria dos métodos disponíveis são apropriados para a determinação de flúor em água e matrizes similares. Nesse contexto, os métodos de combustão são uma opção viável para amostras predominantemente orgânicas, como as plantas medicinais, enquanto técnicas como cromatografia iônica e potenciometria com eletrodo íon-seletivo têm sido amplamente utilizadas para a determinação de flúor. Portanto, é imprescindível realizar essas avaliações para assegurar a qualidade e segurança do consumo desses produtos pela população. Além disso, é essencial também avaliar a estimativa da ingestão diária crônica e o quociente de risco alvo relacionados à presença de flúor nos chás. Essas métricas fornecem uma visão abrangente dos potenciais efeitos à saúde associados ao consumo regular dessas plantas medicinais.

Portanto, o objetivo deste trabalho é avaliar os níveis de flúor em plantas medicinais consumidas na forma de chá, a fim de garantir a segurança e qualidade desses produtos para os consumidores. Para isso, será realizado o desenvolvimento e a aplicação de métodos analíticos apropriados para a determinação de flúor em matrizes orgânicas, bem como a avaliação da ingestão diária crônica e do quociente de risco alvo associados ao consumo de chás. Essas análises são essenciais para fornecer uma visão abrangente dos potenciais efeitos à saúde decorrentes da ingestão regular dessas infusões, contribuindo para o bem-estar da população.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver um método adequado para a determinação de flúor em plantas medicinais, suas infusões e resíduos sólidos remanescente do processo de infusão, estimar a ingestão diária crônica e o quociente de risco com estas bebidas.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar as amostras quanto sua composição centesimal;
- Avaliar os parâmetros do método de preparo de amostras de plantas medicinais *in natura* e suas infusões;
- Otimizar condições de análise instrumental para possibilitar a determinação de flúor, comparando técnicas de determinação com princípios de detecção distintos;
- Avaliar a exatidão do método de preparo de amostra;
- Aplicar o método proposto para determinar a concentração e a distribuição do analito em plantas medicinais (calmantes e emagrecedoras) nas suas frações (infusões e resíduos);
- Estimar a ingestão diária crônica e avaliar quociente de risco.

3 Revisão Bibliográfica

3.1 Plantas medicinais

Para garantir sua sobrevivência, o ser humano busca na natureza alternativas para melhorar suas condições de vida. Como auxílio, utilizam de plantas medicinais em sua forma *in natura* ou na forma de infusões, os quais podem fornecer princípios ativos capazes de alterar o funcionamento de órgãos e sistemas. No ano de 2008, cerca de 40% da população brasileira considerava os produtos de origem natural, especialmente os provenientes de plantas, como a única fonte de recurso terapêutico (FERRO, 2008).

A utilização de plantas medicinais é uma das formas mais antigas utilizadas para o tratamento de enfermidades, devido às propriedades curativas de substâncias presentes em determinadas espécies. Nesse sentido, o consumo dessas plantas tem apresentado um crescimento nos últimos anos. A facilidade de acesso da população às plantas e aos fitoterápicos, a crença de que o medicamento natural é inofensivo, e também por ser uma alternativa mais econômica, acabam por serem fatores que têm estimulado a adoção desse tipo de tratamento (GELATTI; OLIVEIRA; COLET, 2016).

O chá ocupa uma posição de destaque entre as três principais bebidas consumidas globalmente. De acordo com registros históricos, os chineses cultivam e utilizam árvores de chá há mais de 3.000 anos. O chá é amplamente apreciado como uma bebida de uso diário na China e em muitos outros países (BRAIBANTE *et al.*, 2014). Desde tempos antigos, o chá tem sido reconhecido como um produto para a promoção da saúde e tratamento de diversas doenças. Estudos anteriores destacaram os diversos benefícios do chá, incluindo atividades antioxidantes, propriedades bacteriostáticas e anticancerígenas, além da regulação do metabolismo lipídico (YAN *et al.*, 2020).

Essas plantas podem ser empregadas de diversas maneiras, como em infusões, folhas maceradas, sucos e fitoterápicos. De acordo com a resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de 2014, considera-se fitoterápico um produto derivado de matéria-prima ativa vegetal, excluindo substâncias isoladas, com a finalidade de prevenção, cura ou alívio, abrangendo os produtos tradicionais fitoterápicos. Esses podem ser simples, quando o ativo

é originário de uma única espécie vegetal medicinal, ou compostos, quando o ativo provém de mais de uma espécie vegetal. (ANVISA, 2014)

A utilização de plantas medicinais é respaldada pelo acúmulo de conhecimentos transmitidos por várias gerações, formando as bases para o tratamento de diversas doenças (EFFERTH; GRETEN, 2014). A Organização Mundial da Saúde (OMS) oficialmente reconheceu a utilização de plantas medicinais a partir de 1978, durante a Conferência Internacional sobre Cuidados Primários de Saúde, por meio da Declaração de Alma-Ata. (OPAS/OMS, 1978)

No Brasil, diversas iniciativas para a inclusão da fitoterapia e de outras práticas foram implementadas a partir de 1980. No ano de 2006, foram aprovadas a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos (PNPMF). A PNPMF abrangeu a fitoterapia, buscando assegurar o acesso seguro e a utilização racional de plantas medicinais e fitoterápicos. (BRASIL, 2006a; BRASIL, 2006b)

Originalmente, os primeiros tipos de chás surgiram da planta *Camellia sinensis*, um arbusto nativo da China (BAG *et al.*, 2022). Os diversos tipos de chá derivados dessa planta podem ser classificados com base no grau de oxidação ou fermentação das folhas secas: o chá verde não passa por oxidação; os chás amarelo, branco e oolong são parcialmente oxidados; o chá preto é totalmente oxidado; e o chá escuro (*Pu-erh*) é oxidado e posteriormente fermentado (WANG *et al.*, 2017).

3.1.1. Chás emagrecedores

A busca por chás como uma alternativa para perder peso é frequentemente motivada pela sociedade que sofre de obesidade, sendo este um dos principais motivos da procura dessas plantas. Isso se deve, principalmente, ao baixo custo e à escassez de relatos sobre a existência de efeitos colaterais associados (SILVEIRA *et al.*, 2008).

A obesidade representa um desafio de saúde em escala global, afetando tanto países desenvolvidos quanto em desenvolvimento. Suas taxas estão

crescendo rapidamente, sendo já caracterizada como uma pandemia (LEE *et al.*, 2016; MELDRUM; MORRIS; GAMBONE, 2017). Atualmente, a obesidade é reconhecida como um desafio significativo para a saúde pública, afetando uma considerável parcela da população e sendo associada a diversas patologias. No Brasil, o uso de fitoterápicos para tratar a obesidade tem se tornado cada vez mais comum devido à sua rapidez e acessibilidade econômica, sendo incorporado como uma prática rotineira na prescrição de nutricionistas. Esses medicamentos, rotulados como "naturais", são compostos por matérias-primas vegetais ativas, geralmente derivadas das folhas frescas de plantas (SILVA *et al.*, 2015; SAMOLIŸSKA *et al.*, 2017; BARRELLA *et al.*, 2017).

A *Camellia sinensis* tem ganhado destaque devido à presença de catequinas em sua composição, com destaque para o galato de epigalocatequina (EGCG). Essa substância, agindo sinergicamente com outros componentes, oferecem diversos benefícios não apenas na redução da gordura corporal, mas também na ação antioxidante. Isso contribui para a prevenção de doenças como diabetes, dislipidemias, além de problemas cardiovasculares e aterosclerose, entre outras condições. (BELTRAN *et al.*, 2014).

O consumo incorporado à dieta do chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) pode desempenhar um papel no controle da pressão sanguínea e na promoção do emagrecimento, graças ao notável poder antioxidante dessa planta. Nos últimos anos, tem havido um crescente interesse na pesquisa de compostos bioativos e antioxidantes, impulsionado, sobretudo, pelas descobertas sobre os efeitos prejudiciais dos radicais livres e outros agentes oxidantes no organismo (RUBIRA *et al.*, 2016). Estes compostos proporcionam diversos efeitos benéficos, entre eles, a ação diurética, impedindo a retenção de líquidos e a capacidade de evitar o acúmulo de gorduras, principalmente na região abdominal e quadril (AKINDAHUNSI; OLALEYE, 2003).

A planta *Equisetum arvense*, conhecida como "cavalinha", é muito reconhecida por seus diversos benefícios, tais como propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias, antidiabéticas, entre outros (AL-SNAFI, 2017). Além disso, apresenta efeitos citotóxicos e antígenotóxicos, ativando a transcrição antioxidante nas regiões promotoras de genes que induzem estresse

oxidativo, o que contribui para limitar a proliferação de células cancerígenas (BATIR-MARIN *et al.*, 2021; DORMOUSOGLOU *et al.*, 2022).

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é encontrada na região subtropical da América do Sul, como no norte da Argentina, Paraguai e Uruguai, além disso também está presente no Brasil, principalmente nos estados da Região Sul e no Mato Grosso do Sul. A erva-mate é comumente ingerida na forma de bebidas, tais como o chá-mate, chimarrão e tererê. O chimarrão, uma bebida característica da região Sul do Brasil, é preparado por meio da infusão da erva em água quente, sendo servido em uma cuia de porongo, na qual as folhas e pequenos ramos da planta constituem a base para sua elaboração (CARDOZO *et al.*, 2021). As bebidas à base de erva-mate têm importantes atividades biológicas, principalmente pelo alto teor de compostos polifenólicos existentes, que são reconhecidos por sua atividade antioxidante. Além dos flavonoides (compostos polifenólicos como quercetina, rutina e ácido cafeico), a erva-mate é rica em outros compostos que também auxiliam no emagrecimento, como a cafeína e saponinas (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

O mate é usado pela medicina popular para perda de peso, como estimulante do sistema nervoso central, onde há evidências científicas que a ingestão de *Ilex paraguariensis* pode ser usada como antidepressivo, diurético e antirreumático. Complementarmente, seu extrato aquoso quando administrado via oral, pode causar uma redução significativa nos níveis de colesterol e triglicerídeos sanguíneos. (CASTADELLI *et al.*, 2011). Um estudo *in vivo*, empregando o extrato de *Ilex paraguariensis*, revelou sua capacidade de prevenir o ganho de peso corporal e melhorar os parâmetros lipídicos em ratos submetidos a uma dieta rica em gordura. Além disso, esta planta modula a expressão de genes associados à adipogênese (formação de tecidos adiposos) e lipogênese (reserva energética de longo prazo) em condições de obesidade. Esses achados sugerem o potencial da *Ilex paraguariensis* no tratamento da obesidade e suas comorbidades (UECKER *et al.*, 2019).

3.1.2. Chás calmantes

A ansiedade representa uma resposta natural do organismo ao estresse, manifestando-se como um estado emocional de tensão, preocupação, medo e pensamentos negativos. A ansiedade impulsiona indivíduos a realizar projetos, prosperar e planejar o futuro. No entanto, quando esse sentimento ocorre em excesso, sem uma causa identificável, torna-se uma condição patológica (GUERRA, 2021).

A ansiedade destaca-se como um dos transtornos psiquiátricos mais prevalentes na população em geral, apresentando sintomas comuns que podem surgir em qualquer indivíduo ao longo de sua vida. O significativo aumento nos casos de ansiedade nos tempos atuais é motivo de preocupação, sendo caracterizado por especialistas como o "mal do século" (ZENI *et al.*, 2021).

Nesse sentido, diversas plantas medicinais são empregadas no tratamento da ansiedade, e uma delas é a *Valeriana officinalis* conhecida popularmente como "valeriana". As raízes secas dessa planta são principalmente reconhecidas por suas propriedades hipnóticas e sedativas, sendo utilizadas em pacientes com ansiedade ao longo de períodos prolongados. Além disso, seu uso representa boa alternativa no tratamento da insônia (RODRIGUES *et al.*, 2021). Conforme os princípios da medicina persa, a valeriana desempenha uma função no alívio de dores de cabeça e melhoria da função cerebral. Diversas pesquisas indicaram que a valeriana possui um impacto positivo no tratamento para insônia, ansiedade e depressão (AZIZI *et al.*, 2020).

Matricaria recutita L., mais conhecida como Camomila, é uma planta medicinal pertencente à família *Asteraceae*. Ela é utilizada em diversas formas, como chá, soluções tópicas e óleos essenciais. A planta é especialmente rica em terpenos, conferindo não apenas propriedades calmantes, mas também ações anti-inflamatórias e antioxidantes (PACÍFICO *et al.*, 2018).

Dentre as plantas comumente utilizadas como calmantes, destaca-se a *Pimpinella anisum*, pertencente à família *Umbelliferae* e popularmente conhecida como anis verde ou erva doce. Esta planta possui propriedades parasitária, antiemética, antibacteriana e antifúngica (BEKARA *et al.*, 2016). As folhas e, principalmente, as sementes são frequentemente empregadas na forma de

infusão na terapia popular, visando diversos propósitos terapêuticos, como auxílio na digestão, tratamento de dores estomacais, limpeza da pele, combate ao ressecamento, e efeitos calmantes em situações como cólicas intestinais e má digestão (CAETANO, 2015).

3.2 Efeitos das plantas medicinais na saúde

Cerca de 80% da população global faz uso de aproximadamente 20.000 plantas, incluindo aquelas mencionadas anteriormente, para finalidades medicinais incorporadas em sua dieta (DHAKAD *et al.*, 2019; MAHENDRAN; RAHMAN, 2020). Apesar de inúmeros benefícios oferecidos pelos fitoterápicos, o uso desorientado pode causar sérios problemas à saúde, uma vez que as plantas podem ser contaminadas pelo flúor presente na atmosfera, oriunda de atividades antropogênicas, como fundições de alumínio, fábricas de vidros, cerâmicas e adubos minerais. A exposição ao flúor pode induzir efeitos tóxicos não só nas plantas, mas também nos animais. Assim, as toxicidades das plantas medicinais podem gerar problemas à saúde do indivíduo, modificações metabólicas e vários distúrbios no organismo (WEINSTEIN; DAVISON, 2004).

A intoxicação causada pelas plantas medicinais é clinicamente difícil de obter um diagnóstico preciso, necessitando assim de mais estudos e métodos de identificação, previamente ao seu consumo (OLIVEIRA; MAYWALD; ROSA, 2013). Dessa forma, as informações acerca do potencial toxicológico e mutagênico de muitas das plantas utilizadas para finalidades medicinais ainda são escassas (LOPES *et al.*, 2011).

3.3 Flúor

O flúor é o 13º elemento em ordem de abundância, com ampla distribuição na crosta terrestre e presente no solo, água, ar, vegetais e animais. O ser humano consome flúor pela ingestão de vegetais, bebidas, como água e chás, e animais, como camarão e peixes (BUSCARILO, 2006). A quantidade de flúor ingerida na dieta é difícil de ser estabelecida, em função das variações

individuais, regionais e culturais na alimentação e da industrialização dos alimentos (SINGH, KUMARI; SINAM, 2018).

Os compostos de flúor, dependendo da concentração, possuem efeitos desejáveis ou tóxicos ao organismo humano. A ingestão de uma pequena quantidade diária de flúor é considerada benéfica na prevenção de cáries, e a concentração ótima situa-se entre 2,0 e 4,0 mg dia⁻¹ para crianças e adultos (WHO, 2002). No entanto, o consumo de elevadas doses de fluoretos pode acarretar efeitos prejudiciais no esmalte dentário, fluorose nos ossos (CAO *et al.*, 2003; HARINARAYAN *et al.*, 2006) e alterações em órgãos como fígado e rins (XIONG *et al.*, 2007).

Muitas plantas são capazes de acumular grandes concentrações de fluoreto durante seu crescimento, mesmo com solos com quantidades normais desse íon (XIE; YE; WONG, 2001), o que pode explicar as altas concentrações encontradas. Existem fatores intrínsecos à planta que podem explicar altas taxas de íon fluoreto, tal como a idade da folha, tipagem genética, chuvas, altitude, adubo e o tipo de solo (HAYACIBARA *et al.*, 2004). A liberação de íons de flúor no ambiente é desencadeada pelo intemperismo de minerais que contêm flúor, além de ser influenciada por atividades vulcânicas e geotérmicas. (VITHANAGE; BHATTACHARYA, 2015). Devido a isso, alguns estudos reportados em literatura demonstram que elevadas concentrações de flúor foram detectadas em águas subterrâneas de vários países europeus, africanos e asiáticos (KUMARI; KHAN, 2017; SINGH; GOTHALWAL, 2018).

3.4 Ingestão de flúor via alimentar

Diversas pesquisas indicaram que, entre as diferentes formas de exposição ao flúor, a água potável é a principal fonte acessível desse elemento, podendo ser o principal fator contribuinte para a toxicidade do flúor. (JAGTAP *et al.*, 2012). Apesar da quantidade de água consumida variar conforme temperatura e umidade do local, estado de saúde e dieta dos indivíduos e outros fatores, estima-se que entre 75 e 90% da ingestão total de flúor ocorra por meio do consumo de água potável. (FAWELL *et al.*, 2006; MEENAKSHI; MAHESHWARI, 2006; ABOULEISH, 2016).

Praticamente todos os cereais, vegetais de folhas verdes, bebidas e até mesmo o leite materno contêm pelo menos pequenas quantidades de flúor. A presença de flúor nesses alimentos varia de acordo com as regiões e é influenciada principalmente pelo tipo de alimento, assim como pelo teor de flúor no solo e na água utilizada para irrigação. (DAGNAW, CHANDRAVANSI; ZEUGE, 2017). A carne de animais e peixes possui baixos teores de flúor, mas é importante notar que o flúor também se acumula nos ossos desses animais, os quais são consumidos como alimento muitas vezes. (MURRAY, 1986).

Ao usar água fluoretada na preparação de bebidas quentes, como chá, ocorre um aumento na concentração de flúor na bebida, podendo atingir até $1,5 \text{ mg L}^{-1}$. Esse fenômeno ganha relevância ao considerar a ingestão total de flúor na dieta. A quantidade total de flúor ingerida por um indivíduo que consome quatro xícaras de chá por dia, feito com água fluoretada, ultrapassa em 5 mg a dose diária recomendada de flúor, apenas com a contribuição dessa fonte (WAUGH, 2013).

3.5 Metabolismo do flúor

A administração sistêmica de flúor pode ser realizada por meio da fluoretação da água de abastecimento público, tratamento de águas em escolas, água engarrafada contendo flúor, adição de flúor em alimentos como sal, leite, farinha e cereais, e o uso de suplementos dietéticos fluoretados, como gotas, comprimidos e preparações vitamínicas. O flúor ingerido por essa via é transportado pela corrente sanguínea, depositando-se, principalmente, nos ossos e, em menor proporção, nos dentes (CABRAL, 2014). A Figura 1 ilustra as vias de captação, metabolismo, distribuição e retenção do íon fluoreto (F^-). De acordo com Domingos e colaboradores (2018), é importante ponderar sobre as formas de administração do flúor, uma vez que os efeitos decorrentes da administração sistêmica estão vinculados a possíveis complicações no organismo (DOMINGOS; RICCI-DONATO; RUSSI 2018).

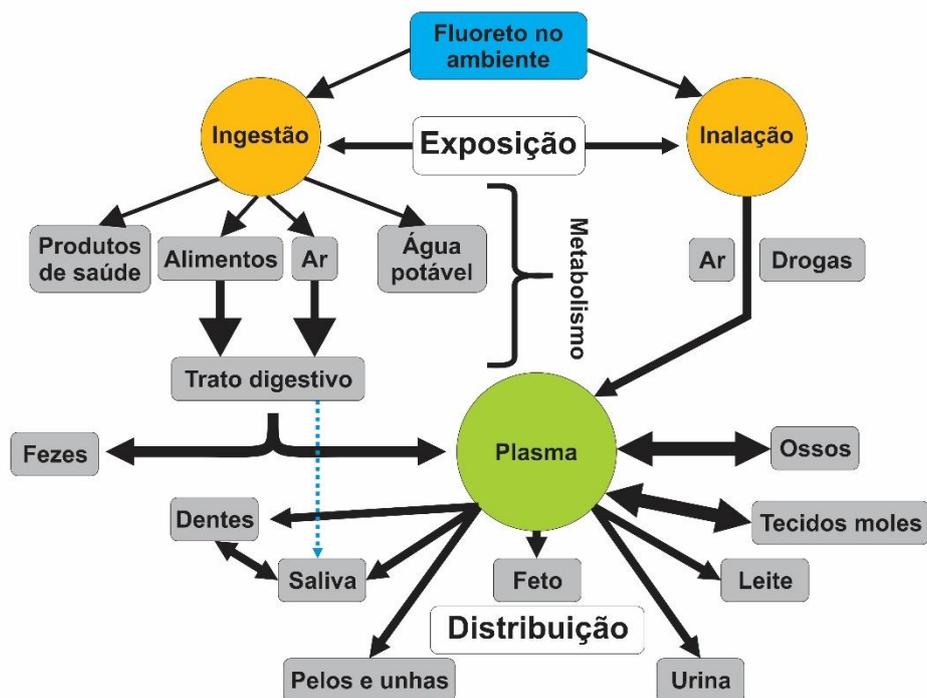


Figura 1. Via de absorção, distribuição e retenção do flúor. Adaptado de KABIR; GUPTA; TRIPATHY (2019).

O flúor consumido através da alimentação é eficientemente absorvido pelo trato gastrointestinal, contribuindo para a concentração plasmática de flúor (MARTYNEZ-MIER, 2012). Após entrar na corrente sanguínea, uma fração do flúor é depositada em várias partes do corpo, como dentes, esqueleto e tecidos moles, enquanto o restante é eliminado por meio da urina, saliva, fezes e transpiração (BUZALAF; WHITFORD, 2011).

Conforme mencionado pela Direção Geral de Saúde (DGS), aproximadamente 75 a 90% do flúor ingerido é absorvido através do trato digestivo, sendo que a mucosa bucal contribui com menos de 1% desse processo. No ambiente ácido do estômago, o fluoreto é convertido em ácido fluorídrico (HF), e até 40% do fluoreto ingerido é absorvido no estômago na forma de HF. A absorção do fluoreto é influenciada pelo pH estomacal, sendo que em condições de pH mais elevado, há uma redução na formação de HF. Como observado por Botto (2007), a absorção aumenta com valores mais baixos de pH (BOTTO, 2007).

O fluoreto que não é absorvido no estômago é absorvido no intestino, não sendo influenciado pelo pH. No entanto, na presença de concentrações elevadas de cátions como cálcio, magnésio e alumínio, o fluoreto forma complexos insolúveis, o que pode reduzir sua absorção no trato gastrointestinal. (FAWELL *et al.*, 2006).

Conforme Sousa (2015) relata, a absorção no trato gastrointestinal ocorre por difusão simples no estômago (na forma de ácido não dissociado, HF) e no intestino delgado por meio de transporte dependente do gradiente de fluoreto. Após a absorção, o flúor é disseminado pelo corpo através da corrente sanguínea. Esse elemento pode circular na forma iônica ou como compostos orgânicos lipossolúveis. A forma iônica, que circula livremente sem ligação a proteínas, componentes plasmáticos ou tecidos moles, é a que está disponível para ser absorvida pelos tecidos duros, conforme indicado pela DGS. Aproximadamente 99% do flúor é retido em áreas ricas em cálcio, como os ossos e dentes (dentina e esmalte), onde se incorpora à rede cristalina, sem se acumular nos tecidos moles. (FAWELL *et al.*, 2006).

Os níveis de flúor no plasma aumentam aproximadamente 10 minutos após a absorção, atingindo o pico máximo após 60 minutos (SOUSA, 2015). O retorno aos níveis basais ocorre dentro de 11 a 15 horas. Cerca de 50% do fluoreto absorvido, que não é utilizado, é excretado principalmente pela urina, podendo também ser eliminado através do suor e das fezes (FAWELL *et al.*, 2006).

3.6. Técnicas analíticas para a determinação de flúor

A técnica de determinação escolhida para a determinação de um analito deve levar em conta alguns parâmetros, como o método de preparo de amostra utilizado, as especificidades do analito e sua concentração na amostra, a disponibilidade do equipamento, entre outros fatores (KRUG; ROCHA, 2019). Nesse sentido, existem diferentes técnicas utilizadas para a determinação de flúor. Dentre as técnicas mais comumente utilizadas, pode-se citar a cromatografia de íons (IC, do inglês *Ion Chromatography*) e a potenciometria com eletrodo íon-seletivo (ISE, do inglês *Ion-Selective Electrode*), as quais são

técnicas de baixo custo quando comparadas a outras técnicas de determinação mais sofisticadas e, geralmente, apresentam-se adequadas para a determinação de flúor em diferentes tipos de amostras (MELLO *et al.*, 2013).

3.6.1. Cromatografia de íons

A IC é uma técnica analítica de separação muito utilizada para a determinação de flúor na sua forma iônica de fluoreto (F^-). Essa técnica se baseia no princípio de troca iônica para realizar a separação das espécies contidas em uma amostra. Para isso, são utilizadas uma fase móvel, que se trata de uma solução eletrolítica, definida como eluente, que tem a finalidade de arrastar os íons até fase estacionária. A fase estacionária é geralmente composta por uma resina, que possui em sua composição grupos funcionais com cargas opostas, que são capazes de interagirem seletivamente com o analito, através de reações de troca iônica (COLLINS; BRAGA; PIERINA, 2006). Assim, à medida que a amostra percorre a fase estacionária, as espécies ficam retidas nesta por tempos diferentes, resultando em tempos de retenção (t_R) distintos para cada analito, e posteriormente, baseada no t_R de cada analito, estes chegam sequencialmente em um detector de condutividade e o sinal analítico é gerado.

Apesar de apresentar interferências com algumas espécies iônicas que apresentam o mesmo t_R dos analitos, esta técnica apresenta diversas vantagens, como o baixo custo de aquisição e manutenção quando comparadas a técnicas espectrométricas que fazem o uso de plasma; adequada capacidade de separação e determinação de flúor, bem como compatibilidade com diversas matrizes amostrais (MELLO *et al.*, 2013).

3.6.2. Potenciometria com eletrodo íon-seletivo

A ISE é uma técnica eletroanalítica utilizada para a determinação de íons. Essa técnica se baseia na medida do potencial gerado pelos íons em uma solução pela utilização de um eletrodo de medida e um eletrodo de referência. Assim, a diferença de potencial medida entre os eletrodos gera um sinal proporcional à concentração dos analitos na solução medida, que é dado em milivolt (mV) (FATIBELLO-FILHO, 2019).

A ISE apresenta algumas desvantagens, como a ocorrência de interferências pela presença de outros íons em solução e um elevado tempo para estabilização do equipamento. Por outro lado, por ser uma técnica que apresenta um baixo custo e uma simplicidade em seu uso, esta é muito utilizada para a determinação de flúor em diferentes amostras, sendo utilizada em vários métodos oficiais (MELLO *et al.*, 2013).

A maioria das técnicas analíticas utilizadas para a determinação de flúor, como a IC e a ISE, necessitam que a amostra esteja na forma líquida para realizar a análise. Assim, tendo em vista que os chás *in natura* são sólidos, é necessário realizar a conversão destes em uma solução que contenha os analitos que serão posteriormente determinados. Para tanto, a etapa de preparo de amostra é essencial para garantir tal conversão e possibilitar a determinação de flúor, pelas técnicas mencionadas acima, por exemplo (KRUG; ROCHA, 2019).

3.7. Métodos de preparo de amostra visando à posterior determinação de flúor

A etapa de preparo de amostra é considerada a mais crítica dentro da sequência analítica, uma vez que é nela que podem ocorrer os principais erros que levarão a resultados errôneos durante a determinação, como a perda dos analitos e contaminações. Assim como para a escolha da técnica de determinação, a escolha do método de preparo de amostra deve levar em conta alguns parâmetros, como a compatibilidade da solução final com a técnica de determinação, a disponibilidade de amostra, a matriz da amostra, entre outros (KRUG; ROCHA, 2019).

Assim, para o preparo de amostras sólidas e majoritariamente orgânicas, os métodos de combustão vêm sendo utilizados quando se visa a posterior determinação de halogênios, como o flúor. Dentre os diferentes métodos de combustão relatados na literatura, a combustão iniciada por micro-ondas (MIC, do inglês *Microwave-Induced Combustion*) tem apresentado destaque por suas diversas vantagens frente aos outros métodos (KRUG; ROCHA, 2019).

3.7.1. Combustão iniciada por micro-ondas

O método de combustão iniciada por micro-ondas une as vantagens dos métodos de combustão em sistemas fechados e a utilização da radiação micro-ondas como fonte alternativa de energia (FLORES *et al.*, 2004). A MIC se baseia na decomposição da amostra em um sistema fechado, pressurizado com oxigênio, pela interação da radiação micro-ondas com uma solução de ignição. Esse método apresenta diversas vantagens, como a decomposição completa das amostras, permitindo a conversão de uma amostra sólida, como o chá em uma solução compatível com diferentes técnicas de determinação; a possibilidade de utilizar soluções alcalinas diluídas para absorver os analitos, as quais são recomendadas para a absorção de flúor, por exemplo; a obtenção de baixos valores de brancos, que irão resultar em baixos limites de detecção e quantificação (LODs e LOQs), devido à elevada pureza dos materiais utilizados no sistema de combustão, entre outros (KRUG; ROCHA, 2019).

O sistema utilizado para realizar o processo de combustão por MIC compreende um forno micro-ondas, frascos e suportes para as amostras produzidos com quartzo, bem como tampas de politetrafluoroetileno (PTFE) de alta pureza. O forno micro-ondas possui um software que permite programar os parâmetros, como a potência das micro-ondas e o tempo de permanência em cada etapa do programa de irradiação.

Durante a etapa de combustão, elevadas temperaturas são atingidas (> 1500 °C), promovendo a total oxidação da matéria orgânica em seus respectivos produtos de oxidação (CO₂ e H₂O), e liberando os analitos presentes na amostra para que estes sejam absorvidos por uma solução absorvedora contida nos frascos de quartzo. Após a combustão da amostra, é possível realizar uma etapa de refluxo, na qual a solução é aquecida no interior dos frascos e, quando na forma de vapor, entra em contato com as paredes frias superiores dos frascos, condensa e retorna à base dos frascos, promovendo uma lavagem do sistema e garantindo que todo o analito seja carregado para a solução absorvedora (FLORES, 2014). Assim, a MIC oferece eficiência para a decomposição de amostras em sistemas fechados. A utilização da radiação micro-ondas como fonte de energia, combinada com um ambiente pressurizado com oxigênio, resulta em uma decomposição completa das amostras,

minimizando interferências e obtendo baixos limites de detecção e quantificação. Esse método é altamente vantajoso para análises químicas, permitindo a absorção eficaz dos analitos em soluções compatíveis com diversas técnicas de determinação (KRUG; ROCHA, 2019).

3.8. Ingestão Diária Crônica (CDI)

A ingestão diária crônica (CDI, do inglês *chronic daily intake*) é uma medida que quantifica a quantidade de uma substância química ingerida diariamente por um indivíduo ao longo de um período prolongado. Essa métrica é particularmente útil em estudos de avaliação de risco, e se busca entender os efeitos potenciais de exposições contínuas a baixas doses de contaminantes. A CDI é calculada usando a seguinte fórmula:

$$CDI = \frac{C \times IR \times EF \times ED}{BW \times AT}$$

onde, C é a concentração do contaminante no alimento ou água (mg/kg ou mg/L); IR é a taxa de ingestão do alimento ou água contaminada (kg/dia ou L/dia); EF é a frequência de exposição (dias/ano); ED é a duração da exposição (anos); BW é o peso corporal do indivíduo (kg); AT é o tempo médio de vida (dias). A CDI é expressa em mg/kg/dia e é utilizada como um parâmetro essencial para a estimativa de riscos à saúde humana decorrentes de exposições ambientais (USEPA, 1992; EPA, 2004).

3.9. Coeficiente de Risco Alvo (THQ)

O coeficiente de risco alvo (THQ, do inglês *target hazard quotient*) é um índice utilizado para avaliar o risco potencial de exposição a um contaminante químico (ZHANG; JIANG, 2013). O THQ é baseado na relação entre a CDI e a dose de referência (RfD), que é a quantidade diária máxima de um contaminante que pode ser ingerida ao longo da vida sem que ocorram efeitos adversos à saúde. A fórmula para calcular o THQ é:

$$THQ = \frac{CDI}{RfD}$$

Onde, CDI é a ingestão diária crônica (mg/kg/dia); RfD é a dose de referência (mg/kg/dia). Se o THQ for menor que 1, considera-se que a exposição ao contaminante não representa um risco significativo à saúde. No entanto, se o THQ for igual ou superior a 1, indica um potencial risco à saúde, sugerindo a necessidade de medidas para reduzir a exposição.

4 Materiais e Métodos

4.1. Amostras e material de referência certificado

Para a realização do presente estudo, foram utilizadas amostras de plantas *in natura* das espécies *Camellia sinensis* (chá verde e preto), *Hibiscus sabdariffa* L. (hibisco), *Equisetum arvense* (cavalinha), *Ilex paraguariensis* (erva-mate), *Valeriana officinalis* L. (valeriana), *Matricaria recutita* L. (camomila), e *Pimpinella anisum* L. (erva doce). Estas espécies foram escolhidas uma vez que são amplamente utilizadas no cenário nacional para fins terapêuticos no tratamento de condições como perda de peso e ansiedade. As amostras foram adquiridas em estabelecimentos de produtos naturais da cidade de Pelotas-RS. Após a aquisição das amostras, estas foram submetidas a uma etapa de pré-tratamento. Primeiramente, as amostras foram moídas em moinho de facas, utilizando todas as frações presentes nas plantas, como folhas, galhos e raízes. Posteriormente, as amostras foram submetidas à secagem em estufa convencional a 60 ± 5 °C por 24 h. A amostra de chá preto foi escolhida para a otimização dos métodos, uma vez que, segundo a literatura, esta espécie apresenta elevadas concentrações de flúor (MENDES *et al.*, 2020).

Para a avaliação dos parâmetros do método desenvolvido, foi utilizado o material de referência certificado (CRM) BCR 060, de planta aquática, que possui valor informado para flúor (24 mg kg^{-1}). Previamente a sua utilização, este foi submetido à secagem de acordo com as recomendações do fabricante (estufa à 60 °C por 24 h).

4.2. Instrumentação

O preparo das amostras por combustão iniciada por micro-ondas foi realizado em um forno micro-ondas (Multiwave 3000[®], Anton Paar, Áustria), equipado com frascos de quartzo (capacidade interna de 80 mL, pressão máxima de 80 bar e temperatura máxima de 300 °C). Além disso, um rotor para fixar os frascos, com oito posições, suportes de quartzo, e um sistema para a pressurização de oxigênio. Os componentes do sistema utilizado podem ser observados na Figura 2.

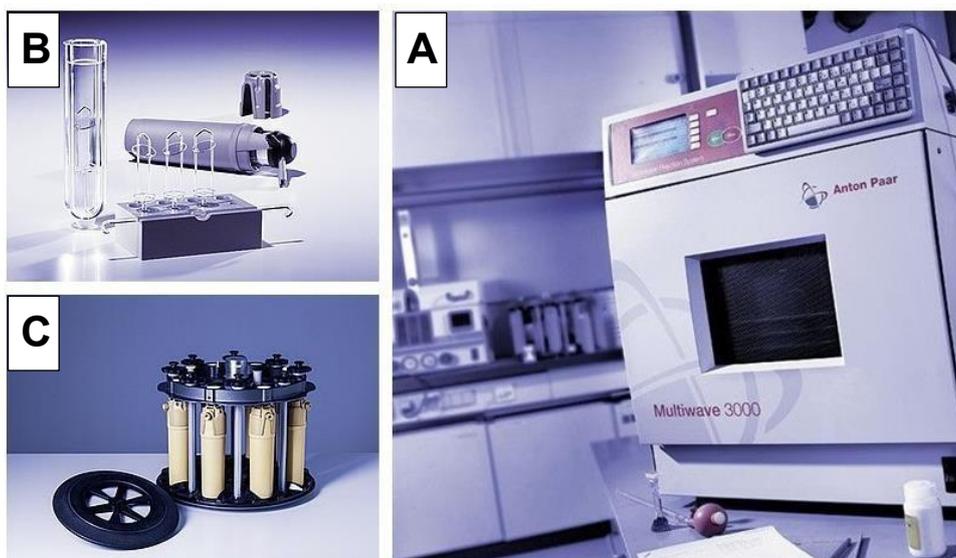


Figura 2. Componentes do sistema de combustão iniciada por micro-ondas (a) frascos e suportes de quartzo (b) frascos com capa de proteção acoplados ao rotor (c) equipamento de forno micro-ondas modelo Multiwave 3000. Fonte: Google Imagens.

Para realizar a determinação de flúor, após o preparo das amostras, foi utilizado um potenciômetro (HI 3221 Meter, Hanna Instruments, Brasil), equipado com um eletrodo íon-seletivo para fluoreto (HI 4110, Hanna Instruments). Adicionalmente, foi utilizado um cromatógrafo líquido (ICS-5000+, Dionex/Thermo Fischer Scientific, USA) equipado com um amostrador automático AS-AP, um cartucho gerador de eluente (KOH – EGC 500 KOH), uma supressora eletrolítica com sistema de autorregeneração, uma coluna de troca iônica (IonPac® AS11-HC, 4 μm , 2 x 250 mm) e uma pré-coluna (IonPac® AG11-HC, 4 μm , 2 x 50 mm).

Para a determinação da composição centesimal, foram utilizados um sistema sohxlet, um forno tipo mufla (ZEZIMAQ, Minas Gerais), uma chapa de aquecimento (IKA, RHB2, Synth, Brasil) e uma estufa convencional (400/2ND, De Leo, Brasil). Esta última foi utilizada também para a secagem de reagentes, amostras e vidrarias em geral. A moagem das amostras foi realizada em moinho de facas. O preparo dos comprimidos utilizados no método de MIC foi realizado com o auxílio de uma prensa hidráulica (Shimadzu, Filipinas) aplicando uma força de 60 kN.

A descontaminação dos papéis filtro (Qualy 15 Ø, Jprolab, Brasil) e dos filmes de polietileno de baixa densidade (LDPE – do inglês, *low-density polyethylene*) utilizados para a produção de invólucros foi realizada em um banho ultrassônico (USC 2800 A, Unique, Brasil). Previamente à etapa de determinação por IC, as amostras foram filtradas com filtro de seringa de PTFE (Filtrilo, KASVI, 22 µm, Brasil).

Para o preparo de soluções, diluições de amostras, lavagem de vidrarias entre outras atividades de rotina, foi utilizada água ultrapura (18,2 MΩ cm) obtida pela purificação da água destilada em um sistema de purificação (Simplicity® UV, Millipore, Merck KgaA, Alemanha). Para a pesagem de amostras e reagentes em geral, foi utilizada uma balança analítica (AY 220, Shimadzu, Japão) com capacidade máxima de 220 g e resolução de 0,0001 g.

Todos os resultados foram estatisticamente avaliados pela análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey ou teste t de *Student* (com nível de confiança de 95%) utilizando o software GraphPad InStat versão 3.00 (GraphPad, San Diego, EUA).

4.3. Reagentes

Todos os reagentes utilizados neste estudo foram de elevada pureza. Para a descontaminação do sistema utilizado para o método de MIC, foi utilizado ácido nítrico concentrado (65% m/m, Synth, Brasil). Álcool etílico bidestilado (96°, GL, Hyplass, Brasil) foi utilizado para a descontaminação de vidrarias, dos papéis filtro, bem como dos filmes de LDPE. Para suportar as amostras líquidas durante o preparo dos invólucros, foi utilizado celulose microcristalina (Synth).

A solução de ignição utilizada para dar início ao processo de combustão (NH_4NO_3 6 mol L⁻¹) foi preparada a partir da solubilização em água do seu respectivo sal (Merck, Alemanha). Para o preparo dos padrões de fluoreto, NaF (Merck) foi dissolvido em água. Para o preparo das diferentes concentrações das soluções absorvedoras avaliadas, alíquotas do reagente concentrado (NH_3 27% m/m, Synth) foram utilizadas. O oxigênio molecular com pureza de 99,96% (White Martins, Brasil) foi utilizado para a pressurização do sistema de combustão.

4.4. Processos de descontaminação

Para a descontaminação de vidrarias e materiais de uso geral, estes foram submersos em álcool etílico bidestilado e submetidos a um banho ultrassônico por 20 min a temperatura ambiente e, após, os materiais foram lavados com água ultrapura e levados à secagem. O mesmo procedimento foi adotado para a descontaminação dos papéis filtro, filmes de LDPE e frascos utilizados para a introdução das amostras no sistema cromatográfico.

Para a descontaminação do sistema de combustão, os componentes foram submetidos a um programa de irradiação com micro-ondas, utilizando 6 mL de HNO₃ concentrado. O procedimento foi repetido utilizando 6 mL de água ultrapura. Entre cada etapa de descontaminação, todos os componentes foram enxaguados com água ultrapura e secos com ar comprimido. O programa de irradiação utilizado consiste em duas etapas: *i)* 1400 W por 10 min (aquecimento) e; *ii)* 0 W por 20 min (resfriamento).

4.5. Preparo de infusões

As amostras de plantas foram utilizadas para o preparo de suas respectivas infusões. Para tanto, foram utilizadas as amostras após o pré-tratamento na proporção comumente utilizada no preparo de infusões (1 g para cada 100 mL de água). Assim, 2 g de cada amostra foram dispostos em um béquer e, logo após foram adicionados 200 mL de água ultrapura a temperatura de 100 ± 5 °C, permanecendo em imersão por cerca de 5 minutos. Após, as soluções foram filtradas com auxílio de papel filtro. O sobrenadante foi armazenado sob refrigeração (~ 5 °C) e o resíduo foi seco em estufa a 60 ± 5 °C por 24 h e armazenado em frascos de polipropileno fechados.

Ambas frações, infusão e resíduo, foram posteriormente analisadas. A fração líquida (infusão) foi analisada diretamente, após diluição, por ISE e IC, bem como foi preparada por MIC para posterior determinação da concentração total de flúor também por ambas técnicas de determinação. O resíduo, após preparo por MIC, foi também analisado por ISE e IC.

4.6. Preparo das amostras por combustão iniciada por micro-ondas

Para o desenvolvimento de um método de preparo de amostras utilizando a combustão iniciada por micro-ondas, se deve otimizar alguns parâmetros, como a forma de introdução da amostra no sistema, a massa de amostra a ser utilizada, bem como a solução absorvedora mais adequada para o analito. Dessa forma, esses parâmetros foram devidamente avaliados para as diferentes frações das amostras utilizadas no presente estudo.

4.6.1. Avaliação da forma de introdução da amostra no sistema de combustão

Inicialmente, se deve definir a forma de introdução das amostras no sistema. Assim, foram avaliadas duas formas de introdução das amostras sólidas (plantas *in natura* e resíduo obtido após o processo de infusão): na forma de invólucros e na forma de comprimidos. A produção dos invólucros se baseia na pesagem da amostra sobre um filme de LDPE (8 x 8 cm) e, após a adição da amostra, o filme é selado com uma fonte de aquecimento, resultando em um embrulho contendo a amostra a ser decomposta no seu interior. Para o preparo dos comprimidos, uma porção de amostra previamente pesada é adicionada ao pastilhador e pela ação da força aplicada (60 kN), com o auxílio de uma prensa hidráulica, são formados os comprimidos. Cabe destacar que o volume do pastilhador utilizado permite o preparo de comprimidos de até, no máximo, 500 mg de amostra por vez.

Para avaliar a forma de introdução das amostras líquidas (infusões) no sistema de MIC, foram avaliadas diferentes proporções de volume de amostra e de auxiliar de combustão (celulose microcristalina) e volume de solução de ignição (NH_4NO_3 , 6 mol L^{-1}) no interior de invólucros de LDPE. Para esse estudo, o auxiliar de combustão tem a função de absorver a amostra líquida e fornecer material orgânico suficiente para que ocorra a combustão da amostra.

A avaliação das diferentes formas de introdução da amostra no sistema foi realizada através de ensaios de massa. Esses ensaios baseiam-se em

decompor massas sucessivas de amostras para verificar a maior massa possível de ser decomposta no sistema de forma segura em termos de pressão do sistema e de intensidade de chama produzida durante o processo de combustão.

4.6.2. Avaliação da massa de amostra

Inicialmente, para a avaliação da maior massa de amostra sólida possível de ser totalmente decomposta de forma segura, foram decompostas pelo método de MIC, massas de 100 a 400 mg de plantas *in natura* na forma de invólucros, e de 400 a 700 mg de amostra na forma de comprimidos. Tendo em vista a capacidade máxima da prensa, para avaliação de massas superiores à 500 mg, foram produzidos dois comprimidos, um deles com 500 mg e o outro com uma massa completar.

Para a avaliação dos volumes de infusão submetidos à combustão, foram avaliados volumes de 50 a 400 μL de infusão, massas de auxiliar de combustão entre 200 e 400 mg e volumes de solução ignitora de 50 e 100 μL . Diferentes proporções dos três componentes foram avaliadas no interior dos invólucros previamente ao fechamento destes por aquecimento.

Para a decomposição das amostras (invólucros ou comprimidos), estas foram dispostas na base de suportes de quartzo contendo um disco de papel filtro umedecido com 50 μL de solução de ignição. Em seguida, os suportes contendo as amostras foram levados ao interior dos frascos de quartzo, os quais continham previamente 6 mL de água ultrapura. Os frascos foram fechados com tampas de PTFE, fixados a um rotor e pressurizados com 20 bar de O_2 . O rotor contendo os frascos com as amostras foram introduzidos no forno micro-ondas e submetidos a um programa de irradiação. O programa de irradiação utilizado consistiu em duas etapas: *i)* 1400 W por 5 min (etapa de combustão e refluxo) e, *ii)* 0 W por 20 min (etapa de resfriamento). Durante cada avaliação, foram verificados a pressão máxima atingida durante a combustão da amostra, a intensidade da chama formada no interior do frasco, bem como o aspecto final da solução, a fim de verificar se houve uma decomposição completa da amostra.

4.6.3. Avaliação da solução absorvedora

A otimização da solução absorvedora, que irá reter os analitos, é de extrema importância, uma vez que esta deve estabilizar os íons, com a mínima perda desses analitos durante a etapa de preparo de amostra. Assim, após a definição da massa de amostra do método, foram avaliadas diferentes concentrações (50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹) de NH₄OH como solução absorvedora. Para esta avaliação, foram realizados ensaios de recuperação, os quais consistem em adicionar uma concentração conhecida do analito à amostra previamente à decomposição. Nesse sentido, foram realizados ensaios de recuperação para todas as soluções avaliadas adicionando-se concentrações equivalentes à 50 e 100% da concentração de flúor, em massa, previamente determinada na amostra utilizada para a otimização do método. Após cada avaliação, as soluções obtidas após o preparo por MIC foram analisadas por IC.

4.7. Determinação de flúor nas diferentes frações das plantas

Para a determinação de flúor por ISE, previamente às análises, foi adicionada uma solução de ajuste da força iônica (TISAB II) na proporção de 1:50 mL (TISAB II : solução a ser analisada). Previamente às análises, as amostras foram diluídas, pelo menos duas vezes, e foram submetidas à leitura por ISE, permanecendo sob agitação durante esta etapa. Para determinar a concentração do analito nas amostras, foi realizada uma calibração externa utilizando soluções padrão (0,01 a 0,1 mg L⁻¹ de F⁻).

Para a determinação das amostras por cromatografia de íons, as soluções obtidas após o preparo das amostras foram filtradas, diluídas e dispostas no amostrador automático para serem analisadas no cromatógrafo. Para a análise das amostras, parâmetros previamente otimizados foram utilizados, os quais podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros operacionais utilizados para a determinação de flúor por IC.

Parâmetro	Condição
Fase móvel	KOH
Gradiente da fase móvel (mmol L ⁻¹)	1 a 90
Vazão de eluente (mL min ⁻¹)	0,28
Volume de injeção (µL)	50
Tempo de análise (min)	33
Método de integração do sinal	Área do pico
Modo de detecção	Condutividade
Curva de calibração externa	0,05 – 0,5 mg L ⁻¹

Os limites de detecção e quantificação dos métodos foram calculados para ambas técnicas de determinação. Para isso, foram realizadas dez leituras dos brancos analíticos e, utilizando a média e o desvio padrão obtidos a partir destas medidas (mg L⁻¹) foram calculados os limites de acordo com o método estabelecido pelo INMETRO (INMETRO, 2018). As equações utilizadas estão apresentadas abaixo, onde \bar{x} representa a média das leituras do branco, t é a distribuição de Student, que varia de acordo com o tamanho da amostra ($n-1$) e com o nível de confiança ($1-\alpha$), e s é o desvio-padrão amostral dos brancos na amostra. Para expressar os valores de ambos os limites em unidades de massa (mg kg⁻¹), foram considerados o volume de aferição e a massa de amostra utilizados durante a etapa de preparo das amostras, bem como as diluições quando necessárias.

$$\text{LOD} = \bar{x} + t_{(n-1, 1-\alpha)} \times s \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = \bar{x} + 10 \times s \quad (2)$$

4.8 Avaliação da composição centesimal

Para caracterizar a amostra quanto à sua composição inorgânica, foi realizada a determinação do teor de cinzas utilizando o método oficial da AOAC para plantas (AOAC 930.05, 2005). Amostras de aproximadamente 2 g foram pesadas em cadinhos de porcelana e submetidas a um programa de aquecimento em um forno tipo mufla, com uma rampa de aquecimento de 200 a 600 °C a uma taxa de 200 °C h⁻¹, seguida de uma permanência a 600 °C por 3 h. Após o tempo de permanência no forno, os cadinhos resfriaram e foi medida a massa resultante após o procedimento. Através da relação entre a massa de amostra inicial com a massa de material inorgânico resultante foi determinado o teor de cinzas, em porcentagem, presente na amostra.

Para determinar o teor de umidade nas amostras, foi empregado o método gravimétrico padrão. Inicialmente, aproximadamente 2 g de cada amostra foram pesados em cadinhos de porcelana previamente tarados. Esses cadinhos, contendo as amostras, foram então colocados em uma estufa de secagem pré-aquecida a uma temperatura constante de 105 °C por um período de 3 horas. Após esse tempo, os cadinhos foram removidos do forno e colocados em um dessecador para resfriamento. Posteriormente, os cadinhos com as amostras foram pesados novamente. A diferença entre a massa inicial e a massa final foi utilizada para calcular o teor de umidade, expresso como a porcentagem de água presente na amostra original (ADOLFO LUTZ, 1985).

Para determinar o teor de fibras nas amostras, foram pesados 2 g da amostra e envolvidos em papel de filtro, seguido por extração contínua em aparelho de Soxhlet com éter como solvente, para a remoção da gordura da amostra. O resíduo foi transferido para um frasco Erlenmeyer com solução ácida e agente de filtração, submetido a refluxo por 40 minutos. Após filtração e lavagens, o resíduo foi aquecido em estufa, incinerado em mufla a 550 °C e pesado após cada etapa de aquecimento e resfriamento até peso constante. A perda de peso correspondente foi registrada como a quantidade de fibra bruta (ADOLFO LUTZ, 1985).

4.9 Avaliação de risco para a saúde

A avaliação do risco à saúde foi conduzida com base nos teores médios de flúor nas infusões dos chás, utilizando os modelos de avaliação de risco à saúde humana da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (do inglês UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA, USEPA, 2011). Este estudo visa avaliar os riscos associados à ingestão de flúor presentes nos chás, a fim de verificar se as concentrações presentes nas amostras são seguras para o consumo da população. Para tanto, foi inicialmente calculada a ingestão diária crônica (do inglês, *Chronic Daily Intake* – CDI) e o quociente de risco alvo (do inglês target hazard quotient – THQ) de flúor nas infusões para a avaliação de risco à saúde de adultos. Essa medida representa a média diária da dose ao longo da vida de exposição ao flúor. Os valores de CDI e THQ foram calculados utilizando as seguintes equações:

$$CDI = \frac{C \times DI \times EF_r \times ED}{BW \times AT} \quad (3)$$

$$THQ = \frac{CDI}{R_f D} \quad (4)$$

Onde, C é a concentração de flúor na infusão (mg L^{-1}); DI é a taxa média diária de ingestão estimada de flúor por meio do consumo de chás (1 L dia^{-1}); EF_r é a frequência de exposição ($365 \text{ dias ano}^{-1}$); ED é a duração da exposição, ou seja, neste estudo foram considerados 30 anos para adultos (TSCHINKEL *et al.*, 2020); BW é o peso corporal médio de um adulto; AT é a média de tempo de exposição em dias ($30 \text{ anos} \times 365 \text{ dias/anos} = 10950 \text{ dias}$). $R_f D$ é a dose referência de flúor ($0,06 \text{ mg/kg/dia}$), a qual considera a dose de ingestão diária recomendada para flúor (4 mg/dia) (NATIONAL ACADEMIES, 2011) e o peso corporal (70 kg).

5 Resultados e discussão

5.1 Avaliação do método de MIC

Com o objetivo de determinar as condições mais adequadas para o desenvolvimento do método, inicialmente, foram analisados os parâmetros relacionados à introdução da amostra de chá, à massa a ser utilizada e à solução mais apropriada para a retenção dos analitos após a combustão. Após as otimizações necessárias, os melhores parâmetros foram selecionados para a avaliação da exatidão do método e posterior aplicação em diferentes espécies de chás. Com base na literatura, o chá preto foi escolhido como amostra para as otimizações, devido às suas conhecidas concentrações elevadas de flúor em comparação com outras variedades de chás documentadas. A seguir, serão discutidos os resultados de cada parâmetro avaliado.

5.1.1 Forma de introdução e massa de amostra

Para determinar a melhor abordagem de introdução da amostra e a quantidade máxima que poderia ser decomposta no sistema de combustão, as amostras sólidas foram preparadas de duas maneiras: na forma de invólucros e de comprimidos. Ao utilizar as amostras na forma de invólucros, foi observado que não foi possível decompor massas superiores a 100 mg, devido à intensidade da chama gerada durante a combustão. Assim, quando avaliada a decomposição de 200 mg de amostra, houve a danificação da tampa dos frascos, a qual é composta de material polimérico. Portanto, concluiu-se que a massa máxima viável para utilização de invólucros foi de 100 mg. Embora esse valor seja relativamente baixo, é consistente com os resultados de outro estudo realizado no grupo, que investigou a decomposição de chás industrializados na forma de sachês (COSTA, 2023).

Por outro lado, ao avaliar a decomposição da amostra em forma de comprimidos, foi possível decompor massas maiores. Para a produção desses comprimidos, foi utilizada uma prensa hidráulica e acessórios específicos para esta finalidade. No entanto, devido ao volume da amostra e a capacidade do compartimento da prensa, cada comprimido não pôde exceder 500 mg. Assim,

para avaliar massas superiores a 500 mg, foram produzidos dois comprimidos: um com 500 mg e outro com a quantidade complementar (100 mg, 200 mg, 300 mg, etc.).

Foram testadas massas de 100 a 800 mg de amostra na forma de comprimido. Observou-se que todas as massas avaliadas foram completamente decompostas. No entanto, a partir de 700 mg de amostra, foi observada uma intensidade elevada da chama durante a decomposição, o que poderia potencialmente danificar a tampa de vedação do sistema. Por precaução, visando preservar a integridade dos componentes do sistema, optou-se por selecionar 600 mg de amostra como a condição ideal do método.

É importante ressaltar que essa condição foi estabelecida tanto para amostras de chás *in natura* quanto para os resíduos remanescentes após o processo de infusão dos chás. Após a infusão, os resíduos foram separados do líquido por filtração e, em seguida, submetidos a secagem a 60 ± 5 °C em estufa convencional. Posteriormente, foram preparados comprimidos dos resíduos das infusões.

Para decompor a fração líquida da infusão e determinar a concentração de flúor total, os invólucros foram preparados sobre um filme de LDPE, contendo celulose microcristalina, a fração líquida da infusão e uma solução de ignição da combustão. Diferentes proporções dos componentes foram avaliadas, e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultado das avaliações do volume de amostra de infusão para preparo por MIC utilizando celulose microcristalina, amostra líquida de infusão e solução ignitora.

Massa de celulose (mg)	Volume de infusão (μL)	Volume de solução ignitora (μL)	Resultado
200	50	0	Combustão completa
200	100	0	Combustão incompleta
300	100	0	Combustão completa
300	200	0	Combustão incompleta
300	200	50	Combustão incompleta
300	200	100	Combustão completa
300	300	100	Combustão incompleta
400	300	100	Combustão completa
400	400	100	Combustão incompleta

Conforme observado na Tabela 2, a decomposição da fração líquida com o uso exclusivo de celulose microcristalina foi eficaz apenas para volumes reduzidos de infusão. Para um volume de 50 μL , a combustão completa foi alcançada com 200 mg de celulose. Quando o volume de infusão foi elevado para 100 μL , foi necessário aumentar a quantidade de celulose para 300 mg a fim de garantir a decomposição completa. Para volumes ainda maiores, tornou-se imprescindível adicionar uma solução ignitora ao invólucro, além de aumentar a massa de celulose. A condição que permitiu a decomposição do maior volume testado (300 μL de infusão) foi a combinação de 400 mg de celulose e 100 μL de solução ignitora.

Entretanto, o aumento excessivo da massa de celulose gera invólucros maiores, o que pode resultar em chamas elevadas durante a combustão. Simultaneamente, volumes maiores de líquidos (infusão e solução ignitora) dificultam a ignição, pois a presença de líquido absorve parte da radiação microondas, reduzindo a interação com o papel filtro umedecido com a solução de ignição, essencial para o início do processo de combustão no método MIC. Para

decompor volumes ainda maiores, seria necessário aumentar tanto a quantidade de celulose quanto o volume da solução ignitora.

Assim, a condição estabelecida para o método foi o uso de 400 mg de celulose, 300 μL de infusão e 100 μL de solução de ignição. Para amostras sólidas e líquidas, considerou-se como indicativo de uma combustão completa a presença de uma solução final límpida, sem resíduos ou fuligem no frasco e no suporte da amostra.

5.1.2 Solução absorvedora

Para a determinação da solução mais adequada para a absorção de flúor, foram avaliadas a água ultrapura e solução de hidróxido de amônio em concentrações de 50, 100, e 150 mmol L^{-1} . Inicialmente, a amostra de chá preto foi decomposta utilizando cada uma das soluções mencionadas e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Concentrações de flúor em chá preto utilizando diferentes soluções absorvedoras durante o preparo da amostra por MIC (média \pm desvio padrão, $n=3$).

Solução absorvedora	Concentração de flúor (mg kg^{-1})
Água ultrapura	341 \pm 65
NH_4OH 50 mmol L^{-1}	406 \pm 49
NH_4OH 100 mmol L^{-1}	419 \pm 35
NH_4OH 150 mmol L^{-1}	424 \pm 22

Com base nos resultados obtidos, foram calculadas as concentrações a serem adicionadas às amostras antes das decomposições para realizar os ensaios de adição e recuperação. Assim, as amostras foram novamente decompostas utilizando as diferentes soluções avaliadas, com a adição de uma alíquota de 50 μL ou 100 μL de uma solução padrão de fluoreto com concentração de 2.000 mg L^{-1} , equivalente a 50% (200 mg kg^{-1}) e 100%

(400 mg kg⁻¹) das concentrações médias obtidas após a análise das diferentes soluções.

Embora os resultados não apresentem diferença estatística entre as quatro soluções avaliadas (ANOVA/Teste de Tukey, nível de confiança de 95%), observou-se uma diminuição nos desvios padrão com o aumento da concentração das soluções alcalinas, o que demonstra que as soluções mais concentradas tendem a proporcionar resultados mais precisos.

Os resultados de recuperação obtidos após a análise por IC para as diferentes soluções, nos dois níveis de adição avaliados (50 e 100%), estão apresentados na Figura 3. As barras maiores representam as médias e as barras de erros indicam os desvios padrão.

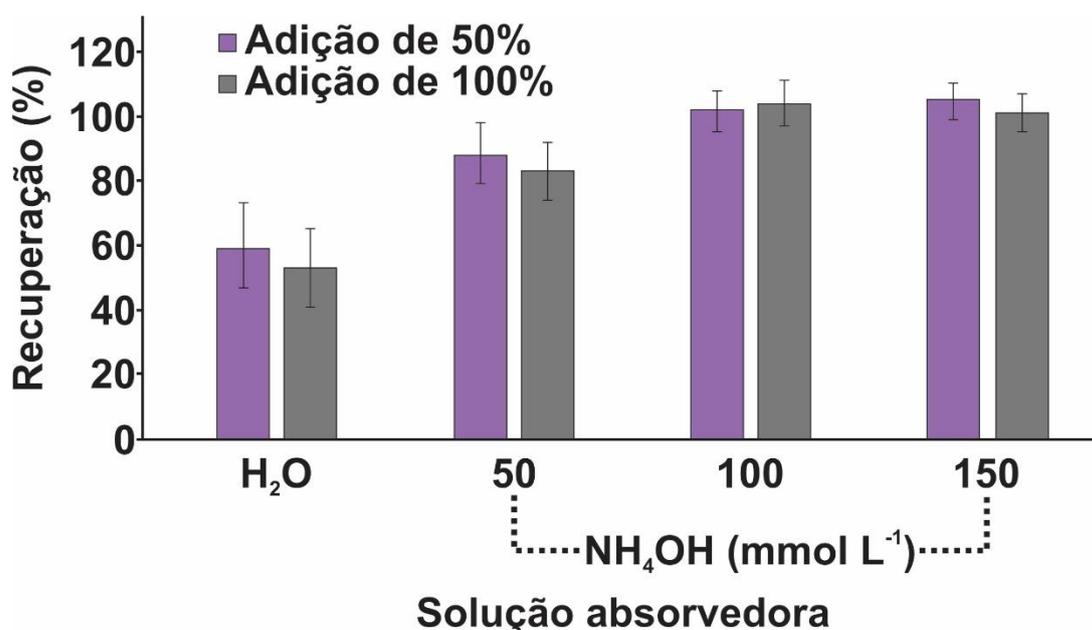


Figura 3. Recuperações obtidas para flúor em chá preto utilizando diferentes soluções absorvedoras durante o método de MIC. Adição de padrão de 200 mg kg⁻¹ de F (50%) e 400 mg kg⁻¹ de F (100%).

Como pode ser observado, quando utilizada a água ultrapura, baixas recuperações foram obtidas (59 e 53%, respectivamente) para as duas faixas de adição avaliadas. Similarmente, quando avaliada a solução de NH₄OH

50 mmol L⁻¹, baixas recuperações (88 e 83%) foram também observadas nos ensaios de 50 e 100%, respectivamente. Além disso, os desvios padrão relativos elevados (de 11% a 24%) indicaram uma baixa precisão das medidas e, conseqüentemente, dos resultados. As baixas recuperações obtidas quando a água ultrapura e NH₄OH 50 mmol L⁻¹ foram utilizadas podem estar associadas a dois fatores principais: o pH das soluções (em torno de 2 e 4, respectivamente) e a composição da amostra de chá preto, que contém concentrações elevadas de outros elementos, como halogênios e enxofre (COSTA, 2023). Dessa forma, as soluções mais diluídas não absorvem totalmente os elementos presentes na amostra, sendo necessária a utilização de soluções alcalinas mais concentradas.

Assim, quando avaliadas as soluções mais concentradas de NH₄OH (100 e 150 mmol L⁻¹), recuperações de 101 a 105% foram obtidas para os dois níveis de adição avaliados. Adicionalmente, foram obtidos baixos valores de desvios padrão relativos (< 7%). Esses resultados demonstram não só que as soluções são adequadas para a absorção de flúor na amostra, mas também que utilizando essas soluções mais concentradas, é possível absorver até o dobro da concentração de flúor presente na amostra inicialmente avaliada. Isso garante que o método seja aplicável a amostras com ampla faixa de concentração de flúor.

Com base nos resultados obtidos, a solução de NH₄OH 100 mmol L⁻¹ foi escolhida como condição ideal do método. Além de ser a solução mais diluída que apresentou recuperações adequadas, essa solução também se destacou por ter os menores desvios padrão relativos em comparação com as outras soluções avaliadas. Essa escolha ressalta não apenas a eficácia da solução na absorção de flúor, mas também sua reprodutibilidade, fundamentais para a precisão e exatidão dos resultados.

5.2 Limites de detecção e quantificação e análise de material de referência certificado

A partir do cálculo dos limites de detecção e quantificação, obtiveram-se valores de 30 e 50 mg kg⁻¹, respectivamente. Esses limites são relativamente altos em comparação com outros métodos reportados na literatura, devido à

necessidade de diluir as amostras pelo menos 15 vezes antes das análises por IC. Essa diluição, considerada no cálculo de ambos os limites, é necessária para que a concentração de hidróxido seja compatível com a concentração inicial do gradiente utilizado como eluente na cromatografia de íons.

Para avaliar a exatidão do método, foi realizada a análise de um material de referência certificado (BCR 060, planta aquática), com valor informado de flúor de 24 mg kg^{-1} . Como esse valor está abaixo dos limites de detecção e quantificação do método, foi adicionada ao material uma alíquota de fluoreto correspondente a 40 mg kg^{-1} , totalizando uma concentração de 64 mg kg^{-1} , o que possibilita sua quantificação pelo método. Para tanto, o material foi preparado na forma de comprimido, com a adição de $50 \text{ }\mu\text{L}$ de uma solução de fluoreto. Após a produção dos comprimidos, estes foram preparados conforme os parâmetros otimizados do método de MIC e analisados por IC. Os resultados mostraram uma concordância de $106 \pm 6\%$ ($68 \pm 4 \text{ mg kg}^{-1}$) em relação ao valor esperado (64 mg kg^{-1}), comprovando a exatidão do método para a determinação de flúor em matrizes de plantas.

5.3 Determinação de flúor em diferentes frações de chás

Após a otimização dos parâmetros do método de combustão iniciada por micro-ondas, incluindo a forma de introdução da amostra, a massa de amostra a ser utilizada e a solução absorvedora mais adequada, o método proposto foi aplicado para o preparo de nove chás *in natura* e seus resíduos resultantes após o processo de infusão. Todas as amostras foram submetidas ao pré-tratamento de secagem e moagem, seguidas do preparo da amostra por. As soluções obtidas foram analisadas pelas técnicas de cromatografia de íons e potenciometria com eletrodo íon-seletivo. Os resultados obtidos pela análise da amostra de chá preto estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Concentrações de flúor em chá preto determinadas por IC e ISE após preparo por combustão iniciada por micro-ondas.

Técnica de determinação	Concentração de flúor (mg kg⁻¹)
IC	428 ± 31
ISE	245 ± 30

Conforme pode ser observado na Tabela 4, as concentrações de flúor apresentaram diferenças estatisticamente significativas (Teste t de *Student*, nível de confiança de 95%) ao utilizar diferentes técnicas de determinação. Mesmo após aplicar distintas diluições e proporções variadas entre a amostra e a solução de ajuste da força iônica, os resultados obtidos por ISE demonstraram inconsistências, tanto entre si quanto em relação à IC. Além disso, o tempo necessário para a estabilização da medida foi consistentemente prolongado, exigindo até uma hora para a leitura de uma solução. Esse comportamento provavelmente está associado a interferências durante a etapa de determinação por ISE, como a presença de íons que resultam na redução do sinal analítico. Contudo, tais interferências não foram devidamente avaliadas, levando à escolha da técnica de IC como a condição do método proposto.

Além da análise das amostras sólidas (chás *in natura* e resíduos), as infusões obtidas após o processo de imersão dos chás *in natura* em água também foram analisadas diretamente por IC, a fim de verificar a distribuição de flúor nas diferentes frações. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Concentrações de flúor em diferentes frações de chás (média \pm desvio padrão, n = 3).

Amostra	Concentração de flúor (mg kg ⁻¹)		
	<i>In natura</i>	Resíduo	Infusão*
Preto	421 \pm 23	155 \pm 8	224 \pm 61
Verde	< 30**	< 30**	< 6†
Camomila	< 30**	< 30**	39 \pm 8
Erva doce	< 30**	< 30**	15 \pm 4
Erva-mate tradicional	< 30**	< 30**	< 6†
Erva-mate moída grossa	< 30**	< 30**	< 6†
Cavalinha	< 30**	< 30**	< 6†
Hibisco	< 30**	< 30**	< 6†
Valeriana	< 30**	< 30**	< 6†

*Análise direta: determinação de fluoreto na infusão; **LOD calculado considerando a decomposição por MIC e análise por IC; †LOD calculado considerando a análise direta das infusões por IC.

Inicialmente, é importante ressaltar que a determinação da concentração de flúor nas infusões por IC após preparo por de MIC não foi viável devido à quantidade limitada de amostra utilizada (300 μ L), o que não permitiu a obtenção de concentrações detectáveis pela técnica de análise (dados não incluídos na tabela). Conforme evidenciado na Tabela 5, somente a amostra de chá preto apresentou resultados quantificáveis em todas as frações analisadas. Além disso, as amostras de camomila e erva doce apresentaram concentrações de flúor mensuráveis pela análise direta da infusão; no entanto, a quantificação desse elemento nas demais frações dessas amostras não foi possível devido aos limites de detecção e quantificação do método. Da mesma forma, as demais amostras (chá verde, erva-mate, cavalinha, hibisco e valeriana) exibiram concentrações abaixo do LOD do método (30 mg kg⁻¹).

É importante ressaltar que as concentrações quantificadas na infusão se referem ao flúor na forma de fluoreto, uma vez que a análise por cromatografia de íons determina o elemento na forma do íon correspondente (F^-). Assim, pode-se inferir que camomila e erva doce contêm pelo menos as concentrações apresentadas na tabela em sua composição, embora possam conter valores superiores, porém em outra forma química, como moléculas, por exemplo.

Uma vez que foi possível realizar a determinação de flúor nas três frações do chá preto, é viável analisar a migração desse elemento durante o processo de infusão. Ao analisar a amostra de chá preto, observa-se que aproximadamente 50% do flúor presente na planta *in natura* é extraído para a água quente durante o processo de infusão, enquanto cerca de 40% permanece no resíduo. A fração restante (cerca de 10%) do flúor provavelmente é extraída para a infusão, porém em uma forma química diferente de fluoreto, uma vez que a análise direta dessa solução permite apenas a determinação deste íon.

Quando comparados os valores de concentração de flúor na amostra de chá preto, podem ser observadas diferenças entre as concentrações relatadas em dois estudos realizados com amostras da mesma espécie, provenientes também do Brasil (COSTA, 2023; MENDES *et al.*, 2020). As concentrações obtidas no presente estudo apresentaram valores intermediárias ($421 \pm 23 \text{ mg kg}^{-1}$) em relação às reportadas na literatura ($253 \pm 9 \text{ mg kg}^{-1}$ e $828 \pm 6 \text{ mg kg}^{-1}$). Além disso, não foi possível realizar a determinação das concentrações de flúor em nenhuma fração do chá verde, o qual é frequentemente relatado na literatura como tendo concentrações quantificáveis. Costa (2023), por exemplo, quantificou flúor no chá verde e também em sua infusão (223 e 198 mg kg^{-1} , respectivamente). Essa disparidade sugere a necessidade de investigações adicionais para compreender melhor a variação nas concentrações de flúor entre diferentes amostras de chá verde e seus produtos derivados.

As amostras do presente estudo e do estudo de Costa (2023) diferem em sua forma de comercialização: enquanto no presente estudo as amostras são *in natura*, no trabalho de Costa, as amostras foram adquiridas na forma de sachê, as quais passam por processamento antes da sua comercialização. Essa distinção pode ter influenciado as concentrações de flúor nas amostras de várias

maneiras, como a proporção de folhas e talos presentes nas amostras, a composição centesimal e o processamento prévio à comercialização.

As amostras *in natura* são comercializadas a granel, enquanto as amostras em sachê são embaladas individualmente em sacos plásticos e são previamente moídas. Este processo pode afetar as concentrações de flúor, uma vez que um estudo conduzido por Hernandez e colaboradores (2019) revelou que os chás em sachês liberam bilhões de microplásticos e nanopartículas durante o processo de infusão, potencialmente influenciando as concentrações de alguns elementos presentes nas amostras (HERNANDEZ *et al.*, 2019).

Klink e colaboradores (2018) conduziram uma análise das concentrações de flúor por potenciometria em infusões de 20 tipos de chá preto, divididos em 10 amostras de folhas *in natura* e 10 em sachês, todos originários do continente asiático (KLINK *et al.*, 2018). Os resultados revelaram uma tendência interessante: de modo geral, as concentrações de flúor nos chás de folhas *in natura* foram, em média, inferiores (155 mg kg^{-1}) às concentrações encontradas nos chás em sachês (259 mg kg^{-1}).

Essa disparidade nos níveis de flúor entre as duas formas de chá preto pode ser atribuída a uma série de fatores. Primeiramente, os processos industriais, como a moagem das folhas para a produção de sachês, bem como o processo de embalagem em sacos plásticos, podem aumentar a concentração de flúor devido a contaminações.

Mendes e colaboradores (2020) quantificaram flúor em amostras de camomila, encontrando concentração de flúor total de $25,8 \pm 0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ (MENDES *et al.*, 2020), valor que se aproxima dos obtidos pela análise direta da infusão no presente estudo ($39 \pm 8 \text{ mg kg}^{-1}$). Primeiramente, é crucial observar que as amostras analisadas nos dois estudos podem ter origens diferentes, sendo coletadas em locais distintos e talvez sob diferentes condições de cultivo e processamento. Além disso, como mencionado, é possível que as amostras estudadas por Mendes e colaboradores tenham sido obtidas na forma comercial, enquanto as amostras analisadas no presente estudo foram utilizadas na forma *in natura*.

Por fim, a ausência de informações na literatura sobre a concentração de flúor na infusão de erva doce ressalta uma lacuna no conhecimento científico relacionado a essa planta específica. Enquanto muitas pesquisas têm investigado os níveis de flúor em outras variedades de chás e infusões, como chá verde, chá preto e camomila, a escassez de dados sobre a erva doce pode ser resultado de diversos fatores.

Primeiramente, pode ser que o interesse científico na erva doce como uma fonte potencial de flúor ainda não tenha sido amplamente explorado. Em contraste com outras plantas mais populares, como o chá verde ou o chá preto, a erva doce pode não ter recebido a mesma atenção em termos de estudos de composição química e propriedades nutricionais. Além disso, as variações regionais e culturais no consumo de chás e infusões podem influenciar a priorização de pesquisas. Por exemplo, a erva doce pode ser mais comumente consumida em determinadas regiões ou em contextos específicos de uso, o que afeta o interesse científico e a disponibilidade de dados sobre suas propriedades.

No entanto, os resultados obtidos neste estudo, mesmo que preliminares, fornecem uma base para futuras investigações sobre a concentração de flúor na infusão de erva doce. Esses dados podem ser úteis para pesquisadores interessados em entender melhor a composição química dessa planta e seu potencial impacto na ingestão dietética de flúor.

De forma geral, vale ressaltar que outros fatores, como a composição do solo, possíveis agroquímicos utilizados durante o cultivo das plantas, condições climáticas e processamento pós-colheita estão diretamente relacionados às diferenças na composição elementar entre as amostras. Esses resultados destacam a importância de examinar cuidadosamente as diferentes formas e métodos de preparação do chá ao avaliar os níveis de flúor e outros compostos presentes nessas bebidas populares. Além disso, essas variáveis ressaltam a complexidade do processo de determinação das concentrações de flúor em amostras de chá, exigindo a consideração de múltiplos fatores na interpretação dos resultados analíticos.

Dessa forma, verificando as diferenças nas concentrações de flúor nas amostras de chá preto e verde entre as amostras utilizadas no presente estudo

e em outros relatados na literatura, foi realizada a análise da composição centesimal das amostras *in natura* e das amostras industrializadas em sachê utilizadas no trabalho de Costa (2023). Essa análise teve como objetivo identificar componentes majoritários com diferenças significativas entre as amostras.

5.4 Determinação da composição centesimal

Ao realizar os ensaios para determinar a composição centesimal dos chás, foram obtidos os resultados referentes aos teores de umidade, cinzas e fibras. Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6. Composição centesimal das amostras de chás (média \pm desvio padrão, n = 3).

Amostra	Composição centesimal (g/100 g)		
	Umidade	Cinzas	Fibras
Preto	11,4 \pm 0,07	6,13 \pm 0,12	9,26 \pm 0,11
Preto*	8,77 \pm 0,12	6,60 \pm 0,08	7,18 \pm 0,18
Verde	7,55 \pm 0,15	6,21 \pm 0,13	25,8 \pm 0,61
Verde*	9,39 \pm 0,34	5,34 \pm 0,02	11,7 \pm 0,48
Cavalinha	12,1 \pm 0,11	12,9 \pm 0,10	20,3 \pm 0,52
Hibisco	15,5 \pm 0,12	9,95 \pm 0,07	10,3 \pm 0,37
Erva-mate moída grossa	5,08 \pm 0,04	6,62 \pm 0,11	16,3 \pm 0,22
Erva-mate tradicional	1,58 \pm 0,09	6,50 \pm 0,11	15,8 \pm 0,33
Camomila	11,1 \pm 0,21	8,63 \pm 0,08	17,1 \pm 1,15
Erva doce	11,5 \pm 0,13	8,12 \pm 0,31	18,1 \pm 1,23
Valeriana	11,7 \pm 0,20	4,42 \pm 0,04	7,86 \pm 0,59

*Amostras em sachê

Observa-se que os teores de umidade variaram de 1,6 a 15,5%. Segundo a Farmacopeia Brasileira, teores de umidade entre 8 e 14% são considerados adequados para drogas vegetais. Nesse contexto, o chá de hibisco excede essa faixa considerada ideal, possivelmente devido à sua composição exclusiva de flores da planta, enquanto os demais chás estão dentro dos limites preconizados pela Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA, 2010).

Quando comparados os teores de umidade entre os chás *in natura* e os em sachês, valores distintos são observados. O chá preto em sachê ($8,77 \pm 0,12\%$) apresentou um teor inferior em relação à forma *in natura* ($11,4 \pm 0,07\%$), enquanto o chá verde em sachê ($9,39 \pm 0,34\%$) mostrou um teor superior ao chá verde *in natura* ($6,21 \pm 0,13\%$). Essas discrepâncias podem ser atribuídas às diferentes condições de processamento e armazenamento entre os chás *in natura* e os embalados.

A umidade presente nos chás pode ser atribuída a vários fatores, incluindo o conteúdo de água nas folhas de chá e as condições de armazenamento e processamento. Por exemplo, chás como o chá verde e o hibisco, que geralmente são menos oxidados e passam por um processo de secagem menos intenso, tendem a reter mais umidade do que chás mais oxidados, como o chá preto. Essa alta umidade pode afetar a qualidade e a estabilidade do chá ao longo do tempo, aumentando o risco de deterioração e crescimento microbiano.

Os teores de cinzas variaram consideravelmente, de 4,42 (valeriana) a 12,9% (cavalinha). A maior rigidez da cavalinha, apresentada na forma de tubos, pode justificar o teor mais elevado de cinzas nessa espécie. Essa alta concentração é compatível com a composição mineral característica dessa planta, rica em sílica e potássio (SAPEI et al., 2007).

Interessantemente, ao compararmos o chá preto em sachê com sua versão *in natura*, observamos teores de cinzas bastante similares ($6,60 \pm 0,08\%$ e $6,13 \pm 0,12\%$, respectivamente), sugerindo que o processo de fabricação dos sachês não impactou significativamente a concentração de minerais. Por outro lado, o chá verde em sachê apresentou menor concentração de cinzas ($5,34 \pm 0,02\%$) em comparação ao chá *in natura* ($6,21 \pm 0,13\%$), diferença estatisticamente significativa (Teste *t* de Student, 95% de confiança).

A análise dos teores de cinzas também pode fornecer informações sobre a pureza dos ingredientes utilizados na produção dos chás. Níveis elevados de cinzas podem indicar a presença de impurezas, como terra ou poeira, na matéria-prima. No entanto, é importante ressaltar que os teores de cinzas podem variar devido a diferentes fatores, incluindo a origem da matéria-prima, o método de processamento, as condições de cultivo, bem como a proporção de folhas e talos presentes na amostra.

Os teores de fibras variaram de $7,86 \pm 0,59\%$ (valeriana) a $25,8 \pm 0,61\%$ (chá verde). Comparando os chás preto e verde in natura e em sachês, os sachês apresentaram menores teores de fibras: $7,18 \pm 0,18\%$ e $11,7 \pm 0,48\%$, respectivamente, em relação às formas *in natura* ($9,26 \pm 0,11\%$ e $25,8 \pm 0,61\%$). Essa redução é atribuída ao processamento industrial, que pode remover parte das fibras das amostras.

Entre os parâmetros avaliados (umidade, cinzas e fibras), apenas o teor de fibras demonstrou uma relação inversamente proporcional às concentrações de flúor nas amostras. Chás sem sachês, com menores teores de fibras, apresentaram maiores concentrações de flúor. Contudo, esses dados são insuficientes para estabelecer causalidade. Outros fatores, como os mencionados anteriormente, provavelmente desempenham um papel mais relevante nas diferenças observadas nas concentrações de flúor.

5.5 Avaliação de risco para a saúde

Para avaliar o risco à saúde decorrente da ingestão de flúor por meio do consumo de chás, foi calculada a quantidade de flúor ingerida cronicamente ao consumir os chás avaliados. Para isso, foram utilizadas as concentrações de flúor nas infusões, uma vez que o consumo dos chás ocorre principalmente na forma de infusão. Após os cálculos, foi verificado que, para as três amostras com concentrações quantificáveis de flúor (chá preto, camomila e erva doce), os valores de CDI foram de 0,064, 0,011 e 0,004 mg/kg/dia, respectivamente. Os valores de THQ para os mesmos chás foram de 1,07, 0,18 e 0,07, respectivamente.

Tabela 7. Valores de CDI e THQ para flúor considerando a ingestão de chá preto, camomila e erva doce para adultos.

Amostra de chá	CDI (mg/kg/dia)	THQ
Preto	0,064	1,07
Camomila	0,011	0,18
Erva doce	0,004	0,07

Valores de THQ superiores a 1 indicam um risco potencial para a saúde. No contexto deste estudo, a amostra de chá preto apresenta um risco à saúde quando considerado seu consumo diário de 1 litro de chá ao longo de 365 dias. No entanto, os demais chás analisados apresentaram valores de THQ significativamente abaixo de 1, mesmo quando considerado o mesmo padrão de consumo das infusões. Portanto, esses chás podem ser considerados seguros em relação aos teores de flúor.

No entanto, é importante destacar que este cálculo considera apenas a ingestão de flúor por meio dos chás avaliados, não levando em conta outras fontes de exposição, como a água potável e outros alimentos, que também podem contribuir significativamente para a ingestão total desse elemento na dieta humana.

Além disso, é relevante observar os possíveis efeitos de práticas específicas, como a ingestão de água em jejum, na absorção do fluoreto. Ao acordar, o ambiente gástrico apresenta um pH naturalmente mais ácido, o que favorece a conversão do fluoreto em HF, sua forma mais facilmente absorvível pelo estômago. A ingestão de água nesse contexto pode potencializar essa absorção inicial do fluoreto, antes que o pH gástrico seja alterado pela ingestão de alimentos. Assim, o consumo frequente de alimentos e bebidas fluoradas em jejum pode, ao longo do tempo, resultar em maior biodisponibilidade do flúor no organismo. Esse mecanismo reforça a necessidade de monitoramento cuidadoso das quantidades recomendadas, especialmente considerando os possíveis efeitos cumulativos do flúor em condições específicas de pH.

6 Conclusão

O método desenvolvido permitiu a determinação quantitativa de flúor no chá preto, enquanto que os demais chás ficaram abaixo do limite de detecção do método. Isso evidencia que as espécies de chás avaliadas apresentam baixas concentrações deste elemento. O método desenvolvido foi avaliado quanto sua exatidão, demonstrando concordância com o valor informado pelo material de referência certificado e a recuperações quantitativas nos ensaios de adição de analito. Além disso, vale destacar que as otimizações do método em relação à forma de introdução da amostra, sua respectiva massa e também a solução absorvedora mais eficaz garantiram o desenvolvimento de um método confiável para a determinação de flúor em chás, resíduos após o processo de infusão, bem como a análise direta das infusões.

Os resultados obtidos revelaram diferenças significativas nas concentrações de flúor entre as amostras analisadas, destacando a importância de métodos analíticos confiáveis para a determinação desse elemento. Além disso, a avaliação da ingestão diária crônica e do quociente de risco alvo permitiu uma compreensão mais detalhada dos potenciais efeitos à saúde decorrentes do consumo desses produtos.

Foi observado que amostras como o chá preto apresentaram valores de THQ indicativos de risco à saúde com uma ingesta excessiva, enquanto chás como a camomila e erva doce apresentaram níveis mais baixos, sugerindo maior segurança para consumo. Essas diferenças ressaltam a importância da seleção cuidadosa de produtos para consumo, levando em consideração não apenas seus benefícios terapêuticos, mas também as quantidades ingeridas e seus potenciais riscos à saúde. Além disso, a comparação dos resultados obtidos neste estudo com os reportados na literatura destacou a variabilidade nas concentrações de flúor em diferentes tipos de chás e plantas medicinais, indicando a influência de fatores como a origem geográfica, as condições de cultivo e os métodos de processamento.

Os dados obtidos também reforçam o impacto potencial do flúor presente nessas infusões no contexto de ingestão crônica. A partir da determinação das concentrações de flúor em diferentes chás e plantas medicinais, foi possível

realizar uma análise abrangente dos potenciais riscos associados ao consumo regular desses produtos. Em síntese, este estudo fornece informações inéditas e importantes sobre a qualidade e segurança do consumo de chás e plantas medicinais, destacando a necessidade contínua de monitoramento e avaliação para garantir a saúde e o bem-estar dos consumidores. Portanto, futuros estudos devem investigar múltiplas fontes de ingestão de flúor para uma avaliação mais abrangente do impacto desse elemento na saúde humana.

7 Perspectivas Futuras

Para futuras investigações, recomenda-se a realização de queimas sucessivas nas amostras, utilizando a mesma massa otimizada em cada etapa e mantendo o mesmo volume de solução absorvedora (6 mL). A coleta da solução apenas na última etapa de queima possibilitaria concentrar uma maior quantidade de flúor na solução, permitindo a quantificação em amostras com baixas concentrações do elemento.

Além disso, sugere-se ampliar o estudo para incluir uma maior variedade de chás e misturas amplamente consumidas, especialmente aquelas com apelo emagrecedor, dada sua popularidade no mercado de produtos "naturais". Essa ampliação permitiria não apenas identificar as concentrações de flúor em diferentes produtos, mas também avaliar os riscos associados ao consumo regular dessas misturas, considerando os possíveis efeitos à saúde.

Outro aspecto relevante para estudos futuros é a análise das espécies químicas de flúor presentes nos chás e infusões, uma vez que diferentes formas do elemento podem ter impactos distintos na saúde. Isso proporcionaria uma visão mais completa sobre os riscos e benefícios do consumo desses produtos.

Essas recomendações visam aprimorar a precisão e a capacidade de detecção do método, ampliando seu uso em uma gama maior de amostras e contribuindo para um monitoramento mais eficaz da ingestão de flúor.

Referências

- ABOULEISH, M Y Z. Evaluation of fluoride levels in bottled water and their contribution to health and teeth problems in the United Arab Emirates. **The Saudi Dental Journal**, v. 28, n. 4, p. 194-202, 2016.
- AKINDAHUNSI, A. A.; OLALEYE, M. T. Toxicological investigation of aqueousmethanolic extract of the calyces of hibiscus sabdariffa l. **Journal of ethnopharmacology**, v. 89, p. 161–164, 2003.
- AL-SNAFI A. E. The pharmacology of *Equisetum arvense*- A review. **IOSR Journal of Pharmacy**, v. 7, n. 2, p. 31-42, 2017.
- ANVISA, Formulário de Fitoterápicos Farmacopeia Brasileira Brasília, 2011, pp. 523.
- ARAUJO, L. R. S. *et al.* Aceitação do chá verde e do chá termogênico como instrumento complementar por pessoas com desejo de emagrecer. **SANARE-Revista de Políticas Públicas**, v.14, 2015.
- AZIZI, H. *et al.* Effects of *Valeriana officinalis* (Valerian) on tensiontype headache: A randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 10, n. 3, p. 297-304, 2020.
- BAG, S. *et al.* Tea and its phytochemicals: hidden health benefits & modulation of signaling cascade by phytochemicals. **Food Chemistry**, v. 371, 131098, 2022.
- BARRELLA M. V. *et al.* Metals Content in Herbal Supplements. **Biological Trace Element Research**, v.175, p.488–494, 2017.
- BATIR-MARIN, D. *et al.* Neuroprotective and Antioxidant Enhancing Properties of Selective Equisetum Extracts. **Molecules**. v. 26, n. 9, p. 2565, 2021.
- BEKARA, A. *et al.* Effect of *Pimpinella anisum L.* on histological and biochemical damage in cerebrum and cerebellum of young rats intoxicated by lead acetate. **PharmacologyOnLine**, v. 1, p. 120-126, 2016.

BELTRAN, C. B. *et al.* Os benefícios do chá verde no metabolismo da gordura corporal. **Revista Científica da FHO**, v. 2, p. 41-49, 2014.

BOTTO, C. M. F. **Análise do teor de flúor nas águas de abastecimento público do Ceará**. 2007. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

BRAIBANTE, M. E. F. *et al.* A Química dos Chás. **Química Nova na Escola**, v. 0, n. 0, p. 1-8, 2014.

BRASILEIRO, B. G. *et al.* Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no “Programa de Saúde da Família”, Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p.629-636, 2008.

BRODY, H. *et al.* Tea. **Nature Outlook**, v. 566, n. 7742, S1. 2019.

BUSCARIOLO I. A.; PENHA S. S.; ROCHA R. G. Intoxicação crônica por flúor. Prevalência de fluorose dentária em escolares. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 27, n. 1, p.83-87, 2006.

BUZALAF, M. A. R.; WHITFORD, G. M. Fluoride metabolism. In: BUZALAF, M. A. R. **Fluoride and the oral environment**. Basel, Switzerland: Karger Publishers, 2011. p. 20–36.

CABRAL, R. **Flúor e Fluorose Dentária na Região Autónoma dos Açores. Governo Regional dos Açores**, Secretaria Regional da Saúde, Direção Regional da Saúde, Entidade Reguladora de Serviços de Águas e Resíduos dos Açores. 2014.

CAETANO, N. L. B. *et al.* Plantas medicinais utilizadas pela população do município de Lagarto-SE, Brasil-ênfase em pacientes oncológicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 748-756, 2015.

CAO, J. *et al.* Brick tea fluoride as a main source of adult fluorosis. *Food and Chemical Toxicology*, v. 41, n. 4, p. 535-542, 2003.

CARDOZO, A. G. L. *et al.* Yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. – *hil.*): a comprehensive review on chemical composition, health benefits and recent

advances. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e590101120036, 2021.

CASTALDELLI, A.P. A. et al. Efeito da erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St. - Hil.) no comportamento e fisiologia de ratos Wistar. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 4, p. 514-519. 2011.

COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., PIERINA, S. B., **Fundamentos de Cromatografia**. Editora da Unicamp, 2006.

COSTA, L. C. A. **Desenvolvimento de método para determinação de halogênios e enxofre em chás em única análise**. 2023. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

DAGNAW, L. A.; CHANDRAVANSI, B. S.; ZEWGE, F. Fluoride content of leafy vegetables, irrigation water, and farmland soil in the rift valley and in non-rift valley areas of Ethiopia. Research report, **Fluoride**, v. 50, n.4, p. 409–429, 2017.

DHAKAD A. K. et al. Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera* Lam. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 11, p.2870–2903. 2019.

DOMINGOS, P. A. S; RICCI-DONATO, H.; RUSSI H. A. K. F. D. Riscos do uso do flúor sistêmico: revisão de Literatura. **Journal of Research in Dentistry**, v. 6, n. 4, p. 86-90, 2018.

DORMOUSOGLU, M. et al. Investigation of the Genotoxic, Antigenotoxic and Antioxidant Profile of Different Extracts from *Equisetum arvense* L. **Antioxidants**. v. 11, n. 7, p.1393, 2022.

EFFERTH, T.; GRETEN, H. J. Traditional medicine with plants – present and past. *Medicinal & Aromatic Plants*, v. 3, n. 3, 1000e151, 2014.

EKAMBARAM, M.; ITTHAGARUN, A.; KING, N. M. Ingestion of fluoride from dentifrices by young children and fluorosis of the teeth – A Literature Review, **Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 36, n. 2, p. 111-122. 2011.

EPA (Environmental Protection Agency). **Risk Assessment Guidance for Superfund Volume I: Human Health Evaluation Manual (Part E, Supplemental Guidance for Dermal Risk Assessment)**. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Emergency and Remedial Response, Washington, DC, 2004.

FAO – Food and Agricultural Organization. **Global tea consumption and production driven by robust demand in China and India**. 2018 Disponível em: <https://www.fao.org/newsroom/detail/Global-tea-consumption-and-production-driven-by-robust-demand-in-China-and-India/en>. Acesso em: mar. 2024.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5 ed., Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa, vol. 2, 546p. 2010.

FATIBELLO-FILHO, O. et al. **Potenciometria – Aspectos teóricos e práticos**, EdUFSCar, 267p. 2019, pp.11-123.

FAWELL, J. *et al.* Fluoride in Drinking-water. World Health Organization (WHO), IWA Publishing, London, UK, 2006. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/43514>. Acessado em: março/2024.

FERRO, D. **Fitoterapia – Conceitos Clínicos** – 1. Ed., São Paulo, Atheneu, 2008, p.44-62.

FLORES, E. M. M. *et al.* Microwave assisted sample combustion: a technique for sample preparation in trace element determination. **Analytical Chemistry**, v. 76, n. 13, p. 3525-3529, 2004.

FLORES, E. M. M. **Microwave-assisted sample preparation for trace element determination**. Newnes, 2014.

GELATTI, G. T.; OLIVEIRA, K. R.; COLET, C. F. Potenciais interações relacionadas ao uso de medicamentos, plantas medicinais e fitoterápicos em mulheres no período do climatério. **Revista de Pesquisa (Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. Online)**. v. 8, n. 2, p. 4328-4346, 2016.

GUERRA, M. **Ansiedade saiba tudo sobre o mal do século: causas, consequências, sintomas, tratamentos e muito mais**. 2021. Disponível em: <https://mariangelaguerra.com.br/ansiedade/>, acesso em: março/2024.

HARINARAYAN, C. V. *et al.* Fluorotoxic metabolic bone disease: An osteo-renal syndrome caused by excess fluoride ingestion in the tropics. **Bone**, v. 39, n. 4, p. 907-914, 2006.

HAYACIBARA, M. F. *et al.* Fluoride and aluminum in teas and tea-based beverages. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, p. 100-105, 2004.

HELGI LIBRARY. "Tea Consumption Per Capita in Brazil." Dados de 2024. Disponível em: <https://www.helgilibrary.com/indicators/tea-consumption-per-capita/brazil/> . Acessado em: abril/2024.

HERNANDEZ, L. M. *et al.* Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea. *Environmental Science & Technology*, v. 53, n. 21, p. 12300–12310, 2019.

HORWITZ, W.; LATIMER, G. W. **Official Methods of Analysis of Association of Official Agricultural Chemists International**. 18.ed. USA: AOAC, 2005.

INMETRO – Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos, DOQ-CGCRE-008, 2020. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?organismo=calibensaios. Acessado em: março/2024.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. São Paulo: IMESP, 3. ed., 1985. p. 56.

JAGTAP, S. *et al.* Fluoride in Drinking Water and Defluoridation of Water. **Chemical Reviews**, v. 112, p. 2454-2466, 2012.

KABIR, H., GUPTA, A. K., TRIPATHY, S. Fluoride and human health: Systematic appraisal of sources, exposures, metabolism, and toxicity. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 50, n.11, p. 1116-1193, 2019.

KRUG, F. J., ROCHA, F. R. P., **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**, EditSBQ, 2019.

KUMARI, S; KHAN, S. Defluoridation technology for drinking water and tea by green synthesized Fe₃O₄/Al₂O₃ nanoparticles coated polyurethane foams for rural communities. **Scientific Reports**, v. 7, n. 8070, p. 1-12, 2017.

LEE, S. H. *et al.* Is increased antidepressant exposure a contributory factor to the obesity pandemic? **Translational Psychiatry**, v. 6, p.e759, 2016.

LOPES, G. A. D. *et al.* Plantas medicinais: indicação popular de uso no tratamento de hipertensão arterial sistêmica (has). **Revista Ciência em Extensão**, v. 6, n. 2, p. 143 -155, 2011.

MAHENDRAN, G.; RAHMAN, L. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha × piperita* L.)—A review. *Phytotherapy Research*. v. 34, n. 9, p. 2088-2139, 2020.

MARTYNEZ-MIER, E. A. Fluoride: Its metabolism, toxicity, and role in dental health. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, p. 28–32, 2012.

MCILWAIN, B. C.; RUPRECHT, M. T.; STOCKBRIDGE, R. B. Membrane Exporters of Fluoride Ion. **Annual Review of Biochemistry**, v. 90, p. 559-579, 2021.

MEENAKSHI; MAHESHWARI, R. C. Fluoride in drinking water and its removal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 137, n. 1, p. 456-463, 2006.

MELDRUM, D. R.; MORRIS, M. A.; GAMBONE, J. C. Obesity pandemic: causes, consequences, and solutions-but do we have the will? **Fertil Esteril**, v. 107, n. 4, p. 833–839, 2017.

MELLO, P. A. *et al.* Analytical methods for the determination of halogens in bioanalytical sciences: a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, p.7615-7642, 2013.

MENDES, A. L. G. *et al.* A Sample preparation method for fluoride detection by potentiometry with ion-selective electrode in medicinal plants. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 231, 109459, 2020.

Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS – PNPIC-SUS**. Brasília: Ministério da Saúde; 2006a.

MURRAY, J. Appropriate use of fluorides for human health. Áustria, World Health Organization. 1986.

National Academies – Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. (2011) Dietary Reference Intakes (DRIs): Estimated Average Requirements. Disponível em: <https://nap.nationalacademies.org/>. Acessado em: março/2024.

OLIVEIRA, E. M. A.; MAYWALD, P. G.; ROSA, G. A. Distribuição de plantas medicinais e fitoterápicos através do SUS. **Encontro Anual de Ciências**. v. 3, n. 1, 2013.

OLIVEIRA, I. *et al.* Efeito do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* (erva mate): estudo em ratos Wistar. **Revista Interdisciplinar**, v. 7, n. 3, p. 77-82, 2014.

Organização Pan-Americana de Saúde/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Declaração de Alma-Ata: Conferência Internacional sobre Cuidados Primários de Saúde**. AlmaAta: URSS; 1978.

PACÍFICO, D. M.; *et al.* Prospecção científica e tecnológica de *Matricaria recutita* L. (Camomila). **Revista GEINTEC: Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 8, n. 2, p. 4339-4356, 2018.

Presidência da República. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. **Aprova a política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Diário Oficial da União 23 jun 2006. 2006b.

RODRIGUES, J.J.C. *et al.* Efeitos farmacológicos do fitoterápico valeriana no tratamento da ansiedade e no distúrbio do sono. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 41827-41840, 2021.

RUBIRA, T. H. S.; DOS SANTOS, J. F.; VIANA, A. C. O uso do *Hibiscus sabdariffa* como alimento funcional. Rev. Conexão Eletrônica – Três Lagoas, v. 13, n. 1, 2016.

SAMOLIŤSKA, W. *et al.* Determination of Minerals in Herbal Infusions Promoting Weight Loss. *Biological Trace Element Research*, v. 175, p. 495–502, 2017.

SAPEI, L. *et al.* Structural and analytical studies of silica accumulations in *Equisetum hyemale*. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 389, p. 1249–1257, 2007.

SILVEIRA, P. F. *et al.* Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 618-626, 2008.

SINGH, A.; GOTHALWAL, R. (2018). A reappraisal on biodegradation of fluoride compounds: Role of microbes. **Water and Environment Journal**, v. 32, n. 3, p. 481–487, 2018.

SINGH, B. N. *et al.* Black tea: Phytochemicals, cancer chemoprevention, and clinical studies. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, p. 1394-1410, 2017.

SINGH, G.; KUMARI, B.; SINAM, G. Fluoride distribution and contamination in the water, soil and plants continuum and its remedial technologies, an Indian perspective – A review. **Environmental Pollution**, 239, 95–108, 2018.

SOUSA, E. **Biomonitoramento da ingestão de fluoretos em pré-escolares residentes de zona rural com teores residuais de flúor na água**. 2015. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2015.

TSCHINKEL, P. F. S. *et al.* The hazardous level of heavy metals in different medicinal plants and their decoctions in water: a public health problem in Brazil. **BioMed Research International**, v. 2020, 2020.

UECKER, J. N. *et al.* *Ilex paraguariensis* extract prevents body weight gain in rats fed a high-fat diet. **Ciência e Tecnologia de Alimentos (Online)**, v. 39, p. 620-626, 2019.

USEPA IRIS (US Environmental Protection Agency's Integrated Risk Information System). 2011. **Environmental Protection Agency Region I**, Washington, DC, USA, 2019. [http:// www.epa.gov/iris/](http://www.epa.gov/iris/).

USEPA. Guidelines for Exposure Assessment. U.S. **Environmental Protection Agency**, Risk Assessment Forum, Washington, DC, 1992.

VITHANAGE, M.; BHATTACHARYA, P.. **Fluoride in drinking water: Health effects and remediation**. In: LICHTFOUSE, E.; SCHWARZBAUER, J.; ROBERT, D. (Eds.), *Environmental chemistry for a sustainable world* (pp. 105–151). Basel, Switzerland: Springer International Publishing. 2015.

WAUGH, D. Public Health Investigation of Epidemiological data on Disease and Mortality in Ireland related to Water Fluoridation and Fluoride Exposure. The Government of Ireland, The European Commission and World Health Organisation. 2013.

WEINSTEIN, L. H.; DAVISON, A. **Fluorides in the environment: effects on plants and animals**. Oxford: CABI Publishing, 287 p. 2004.

World Health Organization, **Fluorides**. Geneva: WHO, 268 p. 2002.

XIAO, J. *et al.* Trace elements in successive tea infusions made via a brewing method widespread in China: Implications for human exposure. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 115, p. 104989, 2023.

XIE, Z.; YE, Z. H.; WONG, M. H. Distribution characteristics of fluoride and aluminium in soil profiles of an abandoned tea plantation and their uptake by six woody species. **Environment International**, v. 26, p. 341-346, 2001.

XIONG, X. Z. *et al.* Dose–effect relationship between drinking water fluoride levels and damage to liver and kidney functions in children. **Environmental Research**, v. 103, p. 112-116, 2007.

YAN, Z. *et al.* Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. **Animal Nutrition**, v. 6, p. 115-123, 2020.

ZENI, F. *et al.* Plantas medicinais e fitoterápicos na promoção à saúde no transtorno de ansiedade: uma revisão da literatura de apoio aos profissionais. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 33, n. 1, p. 6-17, 2021.

ZHANG, H.; JIANG, Y. The THQ Approach: A Simple Method for Evaluating Health Risks. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 15, p. 9000-9006, 2013.

ZHOU, J.; SUN, D.J.; WEI, W. Necessity to pay attention to the effects of low fluoride on human health: an overview of skeletal and non-skeletal damages in epidemiologic investigations and laboratory studies. **Biological Trace Element Research**, v. 201, p. 1627-1638, 2023.