

ALEKSANDRA A.
PERIĆ-GRUJIĆ
VIKTOR V. POCAJT
MIRJANA Đ. RISTIĆ

Tehnološko-metalurški fakultet,
Univerzitet u Beogradu, Beograd

STRUČNI RAD

UDK 663.9:543.42:546.3

DOI: 10.2298/HEMIND0905433P

ODREĐIVANJE SADRŽAJA TEŠKIH METALA U ČAJEVIMA SA TRŽIŠTA U BEOGRADU, SRBIJA

U ovom radu su ispitivane koncentracije bakra, cinka, mangana, nikla, kadmijuma i olova u uzorcima čajeva (crni, zeleni, nana, kamilica) uzetih iz lokalnih prodavnica u Beogradu u maju 2008. godine. Priprema uzoraka vršena je mokrom i suvom digestijom. Koncentracije odabranih metala u rastvorima posle digestije određivane su plamenom atomskom apsorpcijom spektrofotometrijom. U svim uzorcima posle suve digestije, najviša je bila koncentracija mangana (26,0 do 199,3 mg/kg), dok kadmijum nije detektovan ni u jednom uzorku. Sadržaj bakra je varirao od 7,7 do 14,1 mg/kg, cinka od 6,9 do 26,9 mg/kg, olova od 5,1 do 13,7 mg/kg, a nikla od 1,4 do 4,4 mg/kg. U oba ispitivana uzorka čaja od lista nane koncentracija olova je bila iznad 10 mg/kg, koliko je dozvoljeno zakonskom regulativom Republike Srbije.

Čaj je jedno od najpopularnijih i najviše konzumiranih pića u svetu [1,2], tako da se dnevno popije oko 18 do 20 milijardi šolja čaja [3]. Pojedini autori posebno ističu povoljan uticaj čajeva na zdravlje ljudi, jer sadrže hranljive elemente u tragovima [4,5].

Jedan od parametara koji se veoma često određuje u čajevima je sadržaj metala. Njihovo prisustvo u namirnicama je neophodno pratiti zato što su neki esencijalni, kao gvožđe, cink, bakar, hrom (III), kobalt i mangan, a neki toksični (olovo i živa). Međutim, kako nedostatak, tako i povišene koncentracije esencijalnih elemenata, mogu imati negativan uticaj na zdravlje ljudi [6].

Sadržaj metala u namirnicama je definisan maksimalno dozvoljenim koncentracijama, koje predstavljaju onu količinu toksične supstance koja kod odrasle osobe od 70 kg, konzumiranjem tokom celog života, neće izazvati neželjene, toksične efekte.

Koji metal/metali su prisutni u čajevima obično zavisi od tipa (zeleni ili crni) i geološkog porekla [3]. Do kontaminacije čaja teškim metalima može doći tokom gajenja biljnih vrsta (utiče sastav zemljišta, prisutne hranljive materije, veštačka đubriva), kao i tokom procesa proizvodnje i pakovanja.

Danas se veliki broj publikovanih radova bavi određivanjem sadržaja metala u čajevima; neki metali su prisutni na nivou mg/g (Ca, Na, K, Mg i Mn), a neki na nivou µg/g (Cr, Fe, Co, Ni, Cu, Zn i Cd). Prema jednom od istraživanja, nenutritivni teški metali su obično prisutni u čajevima u sledećim opsezima koncentracija: Ni (2,46–8,90 µg/g), Pb (0,03–14,8 µg/g), Co (ispod granice detekcije od 2,35 µg/g) i Cd (ispod granice detekcije od 0,37 µg/g) [7].

Određivanje sadržaja metala u čajevima je veoma važno da bi se odredilo da li se njihova koncentracija nalazi u okviru propisanih vrednosti, odnosno da li je kvalitet čaja zadovoljavajući, tako da ne utiče negativno na zdravlje ljudi koji ga konzumiraju [8].

Radovi o sadržaju metala u čajevima u Srbiji nisu publikovani u poslednje vreme, iako se ispitivanja kontinualno vrše u okviru institucija nadležnih za praćenje kvaliteta namirnica. U ovom radu je određivan sadržaj bakra, cinka, mangana, kadmijuma, nikla i olova u dve vrste čaja koje se najčešće sreću u publikovanim radovima (crni i zeleni) i u dve vrste biljnih čajeva koje su veoma zastupljene u našoj zemlji (nana i kamilica). Cilj istraživanja je bio dobijanje preliminarnih podataka o sadržaju Cu, Zn, Mn, Ni, Cd i Pb u čajevima. Dobijeni rezultati biće korišćeni u budućim ispitivanjima čajeva i infuzija različitim metodama.

EKSPERIMENTALNI DEO

Uzorkovanje

Osam uzoraka čaja uzeto je u maju 2008. godine iz prodavnica zdrave hrane u kojoj se prodaju u rinfuzi; četiri su bili uzorci čaja *Camellia sinensis L.*, familija *Theaceae*, dva crna i dva zelena, označeni kao C (crni) i Z (zeleni), a od četiri uzorka biljnih čajeva dva uzorka su od lista nane (*Mentha piperita*, familija *Lamiaceae*), označeni sa N i dva od cveta kamilice (*Matricaria chamomilla*, familija *Asteraceae*), označeni sa K.

Priprema uzoraka

Priprema uzoraka čajeva za analizu metala se obično vrši mikrotalasnom digestijom [9], mokrom digestijom mineralnim kiselinama [7,9] i suvom digestijom, spaljivanjem i rastvaranjem pepela u pogodnoj kiselini [10].

Priprema uzoraka u okviru ispitivanja prikazanih u ovom radu vršena je mokrom i suvom digestijom. Kod mokre digestije, oko 2,0 g uzorka (tačna masa izmerena je na 4 decimale) preliveno je u odgovarajućoj posudi sa 15 ml smeše koncentrovane azotne i koncentrovane hlorovodonične kiseline, u odnosu 3:1 (v/v), i zagrevano tokom 4 h na temperaturi koja je varirala između 110 i 130 °C [9].

Čvrsta faza je odvojena od rastvora filtriranjem, a rastvor je prebačen u merni sud od 25 ml i dopunjen destilovanom vodom. Na isti način pripremljena je i slepa proba. Kod suve digestije, oko 1,5 g uzorka (tačna

Autor za prepisku: M.Đ. Ristić, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, Beograd.

E-pošta: risticm@tmf.bg.ac.rs

Rad primljen: 1. jul 2009.

Rad prihvaćen: 19. oktobar 2009.

masa izmerena je na 4 decimale) žareno je postepenim podizanjem temperature za 50 °C/h, od sobne do 450 °C, na kojoj je uzorak držan 8 h. Pepeo dobijen žarenjem rastvoren je u 6 M HCl (1:1), a zatim je rastvor uparen do suva. Zaostao talog je rastvoren u 0,1 M HNO₃, tako da je krajnja zapremina bila 50 ml [10].

Digestija svakog uzorka rađena je u triplikatu.

Instrumenti i oprema

Teški metali određivani su u rastvoru posle mokre, odnosno posle suve digestije, na atomskom apsorpcionom spektrofotometru Philips-Pye SP 9 Unicam Ltd., Cambridge. Za izradu kalibracionih dijagrama upotrebljavani su standardni rastvori odgovarajućih koncentracija. Opseg koncentracija ispitivanih elemenata u standardnim rastvorima bio je 0,1–1,0 mg/dm³ za Cu, Zn, Pb, Ni i Cd, odnosno 1–10 mg/dm³ za Mn.

PRIKAZ REZULTATA

Rezultati ispitivanja uzoraka čajeva koji su za analizu pripremani metodom mokre digestije prikazani su u tabeli 1. Određivanje koncentracije elemenata atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom u rastvorima posle digestije je vršeno u triplikatu i relativna standardna devijacija koncentracija (*RSD*) u ponovljenim analitičkim merenjima bila je ±2%. Varijacija koncentracije elemenata u ponovljenim ispitivanjima bila je u opsegu ±8 %.

Tabela 1. Sadržaj ispitivanih metala u uzorcima čajevima pripremanih za analizu mokrom digestijom
Table 1. The concentration of the investigated metals in the tea samples prepared for analysis by wet digestion

Uzorak	Koncentracija, mg/kg			
	Cu	Zn	Mn	Ni
C1	2,7	3,8	63,9	1,1
C2	1,2	3,0	48,5	0,9
Z1	6,6	5,9	111,1	ND ^a
Z2	2,7	5,5	144,5	ND ^a
N1	ND ^a	13,2	17,0	1,1
N2	3,9	9,9	9,1	1,3
K1	ND ^a	3,3	1,6	1,7
K2	1,1	3,1	2,2	2,5

^aKoncentracija niža od granice detekcije

U svim uzorcima, koncentracije olova i kadmijuma bile su ispod granice detekcije (1 mg/kg za olovo i 0,1 mg/kg za kadmijum); koncentracije nikla u uzorcima zelenog čaja su takođe bile ispod granice detekcije (0,1 mg/kg), a u dva uzorka biljnih čajeva (N1 i K1) sadržaj bakra je bio ispod granice detekcije (0,5 mg/kg).

Koncentracija bakra u uzorcima pripremanim mokrom digestijom se nalazila u opsegu od ND do 6,6 mg/kg, koncentracija cinka je bila od 2,9 do 13,2 mg/kg,

koncentracija mangana od 1,6 do 144,5 mg/kg, a koncentracija nikla se kretala u opsegu ND–2,5 mg/kg.

Koncentracije ispitivanih teških metala u uzorcima čajeva i biljnih čajeva koji su za analizu pripremani metodom suve digestije prikazani su u tabeli 2. U svim uzorcima koncentracije kadmijuma bile su ispod granice detekcije instrumenta.

Tabela 2. Sadržaj ispitivanih metala u uzorcima čajevima pripremanih za nalaizu suvom digestijom
Table 2. The concentration of the investigated metals in the tea samples prepared for analysis by digestion

Uzorak	Koncentracija (mg/kg)				
	Cu	Zn	Mn	Ni	Pb
C1	9,2	6,9	178,0	1,4	5,1
C2	11,3	10,7	197,3	1,7	9,4
Z1	7,7	9,5	149,6	3,0	8,1
Z2	11,8	26,9	199,3	2,2	9,3
N1	13,9	16,3	69,9	4,4	13,5
N2	12,9	25,0	47,9	3,8	13,7
K1	14,1	17,5	26,0	2,2	5,1
K2	10,8	15,4	43,8	3,4	6,5

Koncentracija bakra u uzorcima pripremanim suvom digestijom se nalazila u opsegu od 7,7 do 14,1 mg/kg, koncentracija cinka je varirala od 6,9 do 26,9 mg/kg, a koncentracija mangana je bila između 26,0 i 199,3 mg/kg. Sadržaj kadmijuma u svim uzorcima je bio niži od granice detekcije; koncentracija nikla je bila od 1,4 do 4,4 mg/kg, a koncentracija olova od 5,1 do 13,7 mg/kg.

DISKUSIJA

Metode analize teških metala u uzorcima namirnica i uzorcima iz životne sredine se zasnivaju na različitim spektrometrijskim analitičkim tehnikama: atomska apsorpciona spektrofotometrija (AAS), optička emisiona spektrometrija sa indukovano spregnutom plazmom (ICP–OES) i masena spektrometrija sa indukovano spregnutom plazmom (ICP–MS). Priprema uzoraka u čvrstom agregatnom stanju za analitička ispitivanja uključuje njihovu destrukciju i prevođenje u rastvor. Ovaj korak obično traje najduže u odnosu na ostale operacije i najčešći je uzrok grešaka [11]. Metoda mokre digestije i mikrotalasna digestija uključuju primenu koncentrovanih kiselina, povišene temperature i, često, povišenog pritiska, tako da dolazi do potpunog prelaska ispitivanih metala u rastvor.

U okviru ispitivanja prikazanih u ovom radu odabrana je smeša kiselina HNO₃/HCl (3:1 v/v), jer je stepen izdvajanja teških metala mokrom digestijom i mikrotalasnom digestijom bio sličan [9]. Međutim, dobijeni rezultati ispitivanja čajeva ukazuju na znatno manji stepen izdvajanja svih metala, u poređenju sa suvom diges-

tijom, pri kojoj su uzorci žareni na 450 °C [10]; olovo ni u jednom uzorku posle mokre digestije nije detektovano, a bakar i nikel nisu detektovani u dva od osam ispitivanih uzoraka. Na osnovu dobijenih rezultata zaključeno je da preporučena metoda mokre digestije [9] nije pogodna za analizu sadržaja ispitivanih metala u čajevima, jer verovatno nije došlo do potpune oksidacije organske materije. Naime, poznato je da organska materija ima veoma važnu ulogu u kontroli vezivanja i otpuštanja metala, tako da je za određivanje ukupnog sadržaja metala potrebno izvršiti njenu razgradnju žarenjem uzoraka čaja [10] ili upotrebom jakog oksidacionog sredstva kakva je HClO₄ [11].

Koncentracije ispitivanih teških metala određene posle suve digestije i rastvaranja uzoraka variraju u širokom opsegu, u zavisnosti od vrste čaja. U svim uzorcima je bila najviša koncentracija mangana, a kadmijum nije detektovan ni u jednom uzorku.

Bakar je prirodno prisutan sastojak čajeva, vezan za enzim polifenol oksidazu. U ispitivanim uzorcima, koncentracija bakra je bila niža od 15 mg/kg, a u sličnim ispitivanjima utvrđeno je da je uobičajeni opseg koncentracija bakra od 2 do 20 mg/kg [12]. Dobijene vrednosti za cink su niže od prosečne koncentracije cinka u uzorcima čaja, koja iznosi 28,2 mg/kg [13]. Prosečan sadržaj mangana u čajevima iz Pakistana je bio 175 mg/kg [14], slično kao u prikazanim ispitivanjima. Međutim, sadržaj mangana u biljnim čajevima, nani i kamilici, je znatno niži u odnosu na crni i zeleni čaj. Koncentracija kadmijuma je u svim ispitivanim uzorcima bila ispod granice detekcije (0,1 mg/kg); u sličnim ispitivanjima utvrđeno je da je koncentracija kadmijuma u uzorcima čaja ispod granice detekcije plamene atomske apsorpcione spektrofotometrije [15]. Koncentracija nikla je u svim uzorcima bila niža od 20 mg/kg, a uobičajeni opseg je od 2,9 do 22,6 mg/kg [13]. Sadržaj olova je u opsegu vrednosti koncentracija određenih sličnim ispitivanjima crnog čaja, u kojima je nađeno do 27,3 mg/kg [9]. Olovo može da potiče iz mineralnih đubriva koja ga sadrže kao nečistoću, cink-sulfata, koji se koristi da se obezbedi dovoljno ovog mikronutrijenta pri gajenju čajeva, i bakar oksihlorida, koji se koristi kao fungicid. Takođe, čajevi gajeni u blizini saobraćajnica su izloženi povišenim koncentracijama olova. Zemljišta na kojima se gaje čajevi su obično kisela, što utiče na povećanu mobilnost metala i povećano usvajanje. Posebno se ističe visoka koncentracija olova u biljnom čaju od lista nane, koja je iznad maksimalno dozvoljene koncentracije od 10 mg/kg propisane domaćom zakonskom regulativom [16]; maksimalno dozvoljene koncentracije ostalih ispitivanih metala nisu propisane.

ZAKLJUČAK

Uzorci čaja (crni i zeleni) i biljnog čaja (nana i kamilica) bili su podvrgnuti mokroj i suvoj digestiji, a za-

tim je određivan sadržaj bakra, cinka, mangana, nikla, kadmijuma i olova u rastvoru pripremljenom na odgovarajući način. Mokrom digestijom je dobijen znatno manji sadržaj ispitivanih elemenata, tako da se metoda ne preporučuje, jer ne dolazi do oksidacije organske materije i rastvaranja, za nju vezanih, metala.

Ispitivanje koncentracije pokazalo je da se sadržaj teških metala u uzorcima čajeva i biljnom čaju nalazi u granicama vrednosti koje se najčešće sreću u literaturi. Ističe se povećan sadržaj olova u uzorcima čaja od nane, koji je viši od zakonom propisane maksimalno dozvoljene koncentracije i ovakav čaj ne bi trebalo da se nalazi u prodaji.

Ispitivanje sadržaja metala u uzorcima čajeva biće nastavljeno, na većem broju uzoraka, metodom suve digestije. Pored ispitivanja koncentracije metala u čajevima dostupnim na tržištu, biće uključeno i njihovo određivanje u čajevima sa lokaliteta na kojima se gaje, radi kvantifikacije eventualne kontaminacije čajeva teškim metalima tokom gajenja, u odnosu na proces proizvodnje i pakovanja.

Zahvalnica

Istraživanja su realizovana u okviru naučnog projekta Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, broj 142002.

LITERATURA

- [1] T.K. Mondal, A. Bhattacharya, M. Laxmikumaran, P.S. Ahuja, Recent advances of tea (*Camellia sinensis*) biotechnology, *Plant Cell Tiss. Org.* **76** (2004) 195–254.
- [2] S. Seenivasan, N. Manikandan, N.N. Muraleedharan, R. Selvasundaram, Heavy metal content of black teas from south India, *Food Control* **19** (2008) 746–749.
- [3] P. Fernandez-Caceres, M.J. Martin, M. Pablos, A.G. Gonzalez, Differentiation of tea (*Camellia sinensis*) varieties and their geographical origin according to their metal content, *J. Agric. Food Chem.* **49** (2001) 4775–4779.
- [4] W.Z. Han, Y.Z. Shi, L.F. Ma, J.Y. Ruan, Arsenic, Cadmium, Chromium, Cobalt, and Copper in different types of Chinese tea, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **75** (2005) 272–277.
- [5] P. Pohl, B. Prusisz, Fractionation analysis of manganese and zinc in tea infusions by two-column solid phase extraction and flame atomic absorption spectrometry, *Food Chem.* **102** (2007) 1415–1424.
- [6] M.J. Gibney, H.V. Vorster, F.J. Kok, *Introduction to Human Nutrition*, Blackwell Publishing, 2009, str. 188.
- [7] M. Yemane, B. S. Chandravanshi, T. Wondimu, Levels of essential and non-essential metals in leaves of tea plant (*Camellia sinensis* L.) and soil of Wushwush farms, Ethiopia, *Food Chem.* **107** (2008) 1236–1243.
- [8] N. S. Mokgalaka, R. I. McCrindle and B. M. Botha, Multielement analysis of tea leaves by inductively coupled plasma optical emission spectrometry using slurry

- nebulization, *J. Anal. At. Spectrom.* **19** (2004) 1375–1378.
- [9] I. Narin, H. Colak, O. Turkoglu, M. Soyak, M. Dogan, Heavy metals in black tea samples produced in Turkey, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **72** (2004) 844–849.
- [10] Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th Ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, 2000, Official Method 999.11.
- [11] T.G. Kazi, M.K. Jamali, M.B. Arain, H.I. Afridi, N. Jalbani, R.A. Safraz, R. Ansari, Evaluation of an ultrasonic procedure for total heavy metals determination in environmental and biological samples, *J. Hazard. Mater.* **161** (2009) 1391–1398.
- [12] A. Mehra, C.L. Baker, Leaching and bioavailability of aluminium, copper and manganese from tea (*Camelia sinensis*), *Food Chemistry* **100** (2007) 1456–1463.
- [13] A. Marcos, A. Fisher, G. Rea, S.J. Hill, Preliminary study using trace element concentrations and a chemometrics approach to determine the geographical origin of tea, *J. Anal. Spectrometr.* **13** (1998) 521–525.
- [14] F. Yasmeen, R. Aleem, J. Anwar, Determination of iron and manganese in tea samples by flame atomic absorption spectroscopy, *J. Chem. Soc. Pakistan* **22** (2000) 94–97.
- [15] L. Ferrara, D. Montesano, A. Senatore, The distribution of minerals and flavonoids in the tea plant (*Camelia sinensis*), *Farmaco* **56** (2001) 397–401.
- [16] Pravilnik o količinama pesticida, metala i metaloida i drugih otrovnih supstancija, hemioterapeutika, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama, Službeni list SRJ br. 5/92.

SUMMARY

DETERMINATION OF HEAVY METAL CONCENTRATIONS IN TEA SAMPLES TAKEN FROM BELGRADE MARKET, SERBIA

Aleksandra A. Perić-Grujić, Viktor V. Pocaajt, Mirjana Đ. Ristić

Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

(Professional paper)

Tea is one of the world's most popular beverages. Economic and social interest in tea is clear from the fact that about 18–20 billion tea cups are being consumed daily in the world. Consequently, chemical components in tea leaves have received great interest because they are related to health and disease. Various reports have discussed the potential health implications of some chemical factors such as heavy metals in tea, particularly since tea bush is known to accumulate trace metals. Metallic constituents of tea leaves depend on the type of tea and geological origin. In the present study four tea samples (two black and two green) and four herbal tea samples (two *Mentha piperita* and two *Matricaria chamomilla*) were collected from the local market in Belgrade, Serbia, in May 2008. The sample preparation has been performed using wet and dry digestion procedures. The metal content (Cu, Zn, Mn, Cd, Ni and Pb) in the digested samples has been analyzed by using flame atomic absorption spectrometry. The comparison of wet and dry digestion has shown significant differences in results, indicating that dry digestion is more appropriate method. The levels of the examined metals obtained by dry digestion in this study compared well with those reported for tea samples from some other parts of the world. Among the investigated metals, the most abundant nutritive metal, Mn, has been the highest with 26.0 to 199.3 mg/kg, while fortunately toxic heavy metal, Cd, has been below the detection limit (0.1 mg/kg). The concentrations of lead and nickel have been in the range 5.1–13.7 and 1.4–4.4, respectively. The content of lead in two samples (*Mentha piperita*) has been higher than the maximum permissible concentration of 10 mg/kg specified by the national legislation.

Ključne reči: Teški metali • Čaj • Digestija

Key words: Heavy metals • Tea • Digestion