



_Riscos e benefícios de beber chá verde: podemos potenciar os benefícios para a saúde aumentando o seu consumo em Portugal?

Risks and benefits associated with green tea consumption: is it possible to potentiate the health benefits through increasing Portuguese consumption?

Ricardo Assunção^{1,2,3}, Magdalena Twarużek⁴, Robert Kosicki⁴, Carla Viegas^{3,5,6}, Susana Viegas^{3,5,6}

ricardo.assuncao@insa.min-saude.pt

(1) Centro de Estudos do Ambiente e do Mar, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal

(2) Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(3) Centro de Investigação em Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

(4) Department of Physiology and Toxicology. Faculty of Biological Sciences, Kazimierz Wielki University, Bydgoszcz, Poland

(5) Health and Technology Research Center. Escola Superior de Tecnologia da Saúde, Instituto Politécnico de Lisboa, Lisbon, Portugal

(6) Comprehensive Health Research Center. Faculdade de Ciências Médicas, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

_Resumo

O chá é consumido há anos, tendo o chá verde recebido particular destaque, atendendo principalmente aos potenciais efeitos benéficos para a saúde que o seu consumo regular poderá potenciar. Alguns destes efeitos são atribuídos aos polifenóis, nomeadamente à epigallocatequina-3-galato (EGCG). Por outro lado, o chá pode também encontrar-se contaminado por micotoxinas, i.e., metabolitos secundários produzidos por fungos que poderão afetar negativamente a saúde. Neste estudo, pretendeu-se integrar os riscos (devidos à exposição a micotoxinas e à ingestão de níveis elevados de EGCG) e benefícios (pela ingestão moderada de EGCG) associados ao consumo de chá verde. Os dados respeitantes à contaminação do chá verde por micotoxinas foram obtidos através da análise de 38 micotoxinas, e seus metabolitos, em 20 amostras de chá verde (10 obtidas em granel e 10 em saquetas) disponíveis nas superfícies comerciais da região de Lisboa, através de metodologias cromatográficas. Oito das vinte amostras apresentaram valores quantificáveis de micotoxinas. Relativamente aos teores em EGCG, bem como aos dados de consumo de chá verde pela população adulta, foram considerados aqueles reportados pela Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA). Concluímos que o consumo atual de chá verde não foi associado a uma preocupação para a saúde, atenta a ingestão de micotoxinas e EGCG nas amostras analisadas. Os cenários hipotéticos considerados, estabelecendo um consumo crescente de chá verde em Portugal, revelaram que o consumo de até sete chávenas por dia deverá maximizar os potenciais efeitos benéficos para a saúde. Este estudo pretende contribuir para o estabelecimento futuro de recomendações de consumo de chá verde em Portugal.

_Abstract

Tea has been consumed for thousands of years, however, particular interest has been dedicated to green tea. This interest has been motivated by the associated health benefits following its regular consumption, some of which are due to its polyphenol constituents, such as epigallocatechin-3-gallate (EGCG). Contrarily, tea could be contaminated by mycotoxins, secondary metabolites of fungi, negatively affecting the human health. Here, we aimed to assess the balance between risks (due to myco-

toxins and intake of high levels of EGCG) and benefits (due to moderate intake of EGCG) associated with the consumption of green tea. For the evaluation of potential mycotoxin contamination in green tea, 20 samples (10 in bulk and 10 in bags) available in different Lisbon markets were analyzed for 38 mycotoxins and their metabolites, through a chromatographic method. The used EGCG levels, as well as green tea consumption data were those reported by the European Food Safety Authority (EFSA). Eight samples out of 20 presented quantifiable values of the considered toxins. We conclude that the current levels of mycotoxins and EGCG intake in the analyzed green tea samples were not associated with health concerns. Scenarios considering an increasing consumption of green tea in Portugal revealed that drinking up to seven cups per day should maximize the associated health benefits. The present study contributes to the future establishment of green tea consumption recommendations in Portugal.

_Introdução

O consumo de chá, e a sua produção, fazem parte da cultura de vários países, em particular do continente asiático. Na Europa, os portugueses terão sido, muito provavelmente, os primeiros europeus a contactarem com o chá, em meados do século XVI, como consequência das ligações com as culturas asiáticas, em particular da China e do Japão. Sendo considerada uma bebida rara e medicinal, é no seio da aristocracia portuguesa que o chá ganhou maior popularidade, acreditando-se que terá sido por intermédio de uma infanta portuguesa que o hábito de tomar chá a meio da tarde ganhou corpo em Inglaterra ⁽¹⁾. Em Portugal, apesar de haver uma produção modesta, o consumo de chá tem vindo a assumir uma tendência crescente. A produção nacional de chá está localizada principalmente nos Açores, na ilha de São Miguel ⁽¹⁾.



De entre os principais tipos de chá consumidos destacam-se os chás preto, branco, oolong, puerh e verde (2). Contudo, e como consequência das tendências dos últimos anos de promoção de hábitos saudáveis, o consumo de chá verde tem adquirido particular destaque, devendo-se essencialmente aos seus potenciais efeitos benéficos para a saúde (3). De entre estes efeitos, encontram-se a redução da ocorrência de doença cardiovascular (4), utilização enquanto estimulante, regulação da temperatura corporal e atividade antimicrobiana (5), regulação da glicémia e promoção da digestão (6). Estes efeitos foram associados a alguns dos componentes do chá verde como as vitaminas, microelementos, óleos essenciais e polifenóis (7). Os polifenóis têm despertado particular interesse dado o seu potencial benéfico para a saúde (e.g. capacidade antioxidante, anti-inflamatória, antimutagénica, antibacteriana), sendo que as catequinas e os flavonóides são os que apresentam maior relevância (8,9).

Apesar de poderem ser encontradas em diferentes alimentos, a principal fonte alimentar de catequinas é o chá verde (10). Considerando as suas propriedades antioxidantes, estes compostos poderão desempenhar um papel importante na prevenção de doenças cuja patogénese esteja associada a stress oxidativo (11). Contudo, nos extratos de chá verde, a principal catequina habitualmente presente, epigallocatequina-3-galato (EGCG), tem sido associada a efeitos hepatotóxicos. A este respeito, a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA, na sigla em inglês) reportou evidência científica de que uma ingestão igual ou superior a 800 mg/dia produziu um aumento estatisticamente significativo nas transaminases séricas num grupo de intervenção, quando comparado com o grupo controlo (12). Assim, apesar de todos os potenciais benefícios associados à ingestão destes compostos pelo consumo de chá verde, alguma moderação deverá ser considerada por forma a evitar as potenciais consequências adversas associadas a um elevado consumo.

Por outro lado, e considerando a forma como é produzido, o chá poderá ser contaminado por fungos habitualmente presentes no ambiente e, caso existam condições propícias, i.e. temperatura e humidade, poderão produzir micotoxinas

(toxinas produzidas por fungos). A produção de micotoxinas poderá ocorrer em qualquer fase da produção, desde o seu cultivo, colheita, processamento ou armazenamento (13). De entre as micotoxinas conhecidas, as aflatoxinas e a ocratoxina A são as mais comumente encontradas em chás, apesar de outras micotoxinas também já terem sido identificadas, designadamente as fumonisinas, deoxinivalenol e as eniانتinas (14).

Neste contexto, o consumo de chá verde poderá estar associado a potenciais efeitos benéficos e adversos para a saúde, o que dificultará o estabelecimento de recomendações relativas ao seu consumo. Assim, a avaliação do risco-benefício, i.e., a avaliação combinada dos riscos e dos benefícios associados aos diferentes componentes do chá verde em análise, constitui uma ferramenta com significativa importância (15,16).

_Objetivos

O presente estudo teve como objetivo avaliar os riscos (devidos à ingestão de micotoxinas e níveis elevados de catequinas) e benefícios (pela ingestão moderada de catequinas) associados ao consumo de chá verde, por forma a sustentar futuras recomendações de consumo desta bebida em Portugal.

_Material e métodos

Um total de 20 amostras de chá verde (10 amostras de chá em saquetas, 10 amostras de chá a granel) foram adquiridas nas superfícies comerciais da região de Lisboa. As amostras consideradas apresentavam diferentes proveniências (China, Portugal (Açores), Inglaterra, Japão, Indonésia, Sri Lanka e Nepal). Os níveis de contaminação por micotoxinas foram determinados através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, na sigla em inglês) com deteção por espectrometria de massa. Esta determinação considerou 38 micotoxinas e os seus metabolitos (15-Acetildeoxinivalenol, 3-Acetildeoxinivalenol, Aflatoxina B1 (AFB1), Aflatoxina B2, Aflatoxina G1, Aflatoxina G2, Aflatoxina M1, α -Zearalanol, α -Zearalenol, β -Zearalanol, β -Zearalenol, Deepoxideoxinivalenol, Deoxinivalenol, Diacetoxiscirpenol, DON-3- Gluco-



sídeo, Fumonisina B1 (FB1), Fumonisina B2, Fumonisina B3, Fusarenona-X, Gliotoxina, Griseofulvina, Toxina HT-2, Mevinolina, Moniliformina, Monoacetoxiscirpenol, Ácido micofenólico, Neosolaniol, Nivalenol, Ocratoxina A, Ocratoxina B, Patulina, Roquefortina C, Esterigmatocistina (STER), T-2 Tetraol, Toxina T-2, T-2 Triol, Zearalanona, Zearalenona), conforme descrito em Assunção *et al.* (17).

A ingestão atual de micotoxinas e de catequinas (particularmente EGCG) em Portugal através do consumo de chá verde foi estimada considerando: i) os dados de contaminação do chá verde por micotoxinas resultantes da análise das amostras colhidas na região de Lisboa (foram considerados apenas os resultados com valores quantificáveis); ii) os níveis de EGCG presentes no chá verde (de acordo com os valores reportados pela EFSA (12)); e iii) os dados de consumo de chá verde pela população adulta (de acordo com os valores reportados pela EFSA (12)).

De forma a avaliar potenciais cenários alternativos que possam sustentar o estabelecimento de recomendação futuras de consumo de chá verde, foram considerados diferentes cenários hipotéticos de consumo diário crescente de chá verde (de 1 a 10 chávenas por dia).

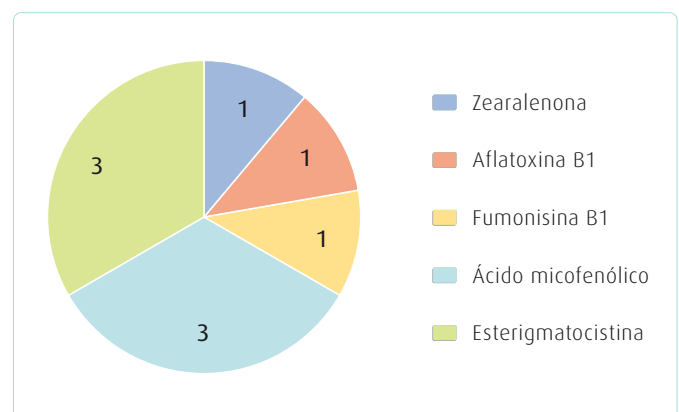
Para determinar se cada cenário apresenta risco ou benefício para o consumidor, foram consideradas três abordagens diferentes: i) para o EGCG, os valores de ingestão estimados foram comparados com o valor estabelecido para o qual não é expectável hepatotoxicidade (<800 mg de EGCG por dia) (12); ii) para as micotoxinas carcinogénicas, foi considerada a margem de exposição (MOE, *i.e.* rácio entre o valor inferior do intervalo de confiança da dose necessária para aumentar o efeito de interesse em 10% (BMDL10) e a exposição); e iii) para as micotoxinas não carcinogénicas, o quociente de perigo (HQ, *i.e.* rácio entre a exposição estimada e a dose diária tolerável (TDI)). Todos os cálculos foram realizados utilizando o software Microsoft® Excel 2016.

_Resultados

Contaminação das amostras de chá verde por micotoxinas

As amostras de chá verde consideradas (n=20) foram analisadas para a presença e quantificação dos níveis de contaminação por micotoxinas. Nas amostras de chá obtidas a granel, cinco das 10 amostras apresentaram níveis detetáveis (acima do limite de deteção) de micotoxinas (50%), e destas, três amostras apresentaram valores quantificáveis (acima do limite de quantificação) das micotoxinas analisadas. O gráfico 1 apresenta a frequência com que as diferentes micotoxinas foram detetadas nas amostras a granel. A esterigmatocistina e o ácido micofenólico foram as micotoxinas mais frequentemente detetadas, e no máximo foram identificadas três micotoxinas simultaneamente na mesma amostra. Nas amostras de chá em saquetas, apenas o ácido micofenólico foi detetado em seis amostras (60%), sendo que esta micotoxina foi quantificável em cinco delas.

Gráfico 1: ▽ Frequência de deteção (acima do limite de deteção) de micotoxinas em amostras de chá verde obtidas a granel.



Determinação da ingestão estimada de micotoxinas e catequinas

A tabela 1 apresenta, de forma sumária, a ingestão estimada das micotoxinas quantificadas nas amostras de chá consideradas e de EGCG através do consumo de chá verde. Os valores apresentados correspondem à situação atual (ou seja, correspondendo ao consumo atual de chá em Portugal) e aos cenários alternativos (de 1 chávena até 10 chávenas por dia).



Tabela 1: ↓ Ingestão estimada de micotoxinas e catequinas e o risco associado.

Consumo de chá verde (g/dia)		Ingestão estimada de micotoxinas (ng/kg peso/dia) e catequinas (mg/dia)					Risco estimado associado à exposição a micotoxinas e catequinas				
Atual ^a		AFB1	FB1	ZEA	STER	EGCG ^c	AFB1 ^d	FB1 ^e	ZEA ^e	STER ^d	EGCG ^f
Mínimo	122,8	0,00002	0,0005	0,0003	0,00002	86,0	17445715	0,000005	0,000001	6978285900	11
Máximo	458,9	0,00009	0,0019	0,0011	0,00009	321,2	4669857	0,000019	0,000004	1867942679	40
Hipotético ^b											
1 cháv./dia	150	0,00003	0,0006	0,0004	0,00003	105	14285714	0,000006	0,000001	5714285714	13
2 cháv./dia	300	0,00006	0,0013	0,0007	0,00006	210	7142857	0,000013	0,000003	2857142857	26
3 cháv./dia	450	0,00008	0,0019	0,0011	0,00008	315	4761905	0,000019	0,000004	1904761905	39
4 cháv./dia	600	0,00011	0,0025	0,0014	0,00011	420	3571429	0,000025	0,000006	1428571429	53
5 cháv./dia	750	0,00014	0,0032	0,0018	0,00014	525	2857143	0,000032	0,000007	1142857143	66
6 cháv./dia	900	0,00017	0,0038	0,0022	0,00017	630	2380952	0,000038	0,000009	952380952	79
7 cháv./dia	1050	0,00020	0,0044	0,0025	0,00020	735	2040816	0,000044	0,000010	816326531	92
8 cháv./dia	1200	0,00022	0,0050	0,0029	0,00022	840	1785714	0,000050	0,000011	714285714	105
9 cháv./dia	1350	0,00025	0,0057	0,0032	0,00025	945	1587302	0,000057	0,000013	634920635	118
10 cháv./dia	1500	0,00028	0,0063	0,0036	0,00028	1050	1428571	0,000063	0,000014	571428571	131

Os valores identificados a negrito correspondem a valores de ingestão acima dos limites considerados seguros. O código de cores utilizado evidencia o nível de preocupação relativamente a potenciais efeitos para a saúde (verde = sem risco significativo; vermelho = com risco significativo). Não foi efetuada a avaliação do risco associado à exposição ao ácido micofenólico por inexistência de dados toxicológicos.

^a EFSA, 2018 ⁽¹²⁾; ^b Cenários de consumo hipotéticos. 1 cháv./dia = 1 chávina por dia = 150 g; ^c Níveis de EGCG de acordo com EFSA, 2018 ⁽¹²⁾; ^d Margem de Exposição (MOE) = BMDL10/Exposição; ^e Quociente de perigo (HQ) = Ingestão/Valores de referência; ^f Percentagem de ingestão de EGCG comparada com o nível considerado de hepatotoxicidade ⁽¹²⁾; AFB1 = aflatoxina B1; FB1 = fumonisins B1; ZEA = zearalenona; STER = esterigmatocistina; EGCG = epigalocatequina-3-galato.

Na situação atual, verificou-se uma ingestão de micotoxinas estimada entre 0,00002 (para a AFB1 e STER) e 0,0019 (FB1) ng/kg peso/dia. Para os cenários alternativos, a ingestão estimada mais elevada foi determinada para a FB1. Relativamente ao risco associado, nenhum dos níveis de exposição associados aos cenários considerados demonstrou risco considerável para a saúde.

Relativamente às catequinas, a ingestão de EGCG na situação atual foi estimada entre 86,0 e 321,2 mg/dia. Nos cenários alternativos, o consumo de sete chávenas de chá verde por dia corresponde a uma ingestão de EGCG superior ao limite estabelecido pela EFSA e considerado como potencial indutor de hepatotoxicidade.

_Discussão

No presente estudo, o balanço entre os riscos (associados à ingestão de micotoxinas e elevados níveis de EGCG) e benefícios (relacionados com uma ingestão moderada de EGCG) devidos ao consumo de chá verde foram avaliados, num exercício de contribuir para o futuro estabelecimento de recomendações de consumo, maximizando os potenciais efeitos benéficos.

De acordo com os resultados obtidos, o fator limitante do aumento do consumo de chá verde em Portugal relaciona-se com os potenciais efeitos adversos associados à ingestão elevada de EGCG (>800 mg/dia) ⁽¹²⁾. Ainda assim,



considerando o consumo atual de chá verde, há margem para aumentar o seu consumo em Portugal, de forma segura e maximizando os potenciais efeitos benéficos para a saúde, até sete chávenas por dia.

_Conclusões

Considerando os potenciais efeitos benéficos para a saúde associados ao consumo de chá verde, os resultados obtidos no presente estudo estabelecem a base para investigação futura que suporte a definição de recomendações de consumo de chá verde. Assim, iniciativas de investigação futura neste domínio deverão dedicar-se a providenciar evidência científica, através do desenvolvimento de uma avaliação do risco-benefício completa, e desta forma, robustecendo futuras ações que salvaguardem a saúde da população.

Financiamento:

Os autores gostariam de agradecer ao Instituto Politécnico de Lisboa, Portugal, pelo financiamento ao projeto “*Resistant mycobiota and mycotoxigenic profile of tea and medicinal plants*” (IPL/2020/TEAResMyc_ESTeSL); ao *Polish Minister of Science and Higher Education*, através do programa “*Regional Initiative of Excellence*” em 2019-2022 (Grant No. 008/RID/2018/19); à FCT/MCTES pelo financiamento com fundos nacionais ao H&TRC (UIDB/05608/2020+UIDP/05608/2020) e ao CESAM (UIDP/50017/2020+UIDB/50017/2020). R.A. agradece pelo *FCT Individual CEEC 2018 Assistant Researcher Grant* CEECIND/01570/2018.

Referências bibliográficas:

- (1) Silva RME. O Chá em Portugal: História e Hábitos de Consumo Universidade do Minho, Braga; 2014. <http://hdl.handle.net/1822/33070>
- (2) Sedova I, Kiseleva M, Tutelyan V. Mycotoxins in Tea: Occurrence, Methods of Determination and Risk Evaluation. *Toxins (Basel)*. 2018 Oct 30;10(11):444. <http://www.mdpi.com/2072-6651/10/11/444>
- (3) Dufresne CJ, Farnworth ER. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *J Nutr Biochem*. 2001 Jul;12(7):404-21. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0955286301001553>
- (4) Dogra D, Ahuja S, Krishnan S, et al. In vitro cardioprotective effect of Indian *Camellia sinensis* extract against hydrogen peroxide induced hypertrophy. *J Pharm Res*. 2011;4(6):1877-9. <http://jpr solutions.info/newfiles/journal-file-56ded45e69b786.56476720.pdf>
- (5) Kubo I, Muroi H, Himejima M. Antimicrobial activity of green tea flavor components and their combination effects. *J Agric Food Chem*. 1992 Feb 1;40(2):245-8. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00014a015>
- (6) A. Samali. Qualitative and quantitative evaluation of some herbal teas commonly consumed in Nigeria. *African J Pharm Pharmacol*. 2012 Feb 15;6(6):384-88. <http://dx.doi.org/10.5897/AJPP11.658>
- (7) Sereshti H, Samadi S, Jalali-Heravi M. Determination of volatile components of green, black, oolong and white tea by optimized ultrasound-assisted extraction-dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography. *J Chromatogr A*. 2013 Mar 8;1280:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.01.029>
- (8) Abd El-Aty AM, Choi J-H, Rahman MM, et al. Residues and contaminants in tea and tea infusions: a review. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2014;31(11):1794-804. <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.958575>
- (9) Zhang L, Zhang Z, Zhou Y, et al. Chinese dark teas: Postfermentation, chemistry and biological activities. *Food Res Int*. 2013 Oct;53(2):600-7. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.016>
- (10) Bernatoniene J, Kopustinskiene D. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. *Molecules*. 2018 Apr 20;23(4):965. <https://doi.org/10.3390/molecules23040965>
- (11) Braicu C, Ladomery MR, Chedea VS, et al. The relationship between the structure and biological actions of green tea catechins. *Food Chem*. 2013 Dec;141(3):3282-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.122>
- (12) Younes M, Aggett P, Aguilar F, et al. Scientific opinion on the safety of green tea catechins. *EFSA J*. 2018 Apr;16(4): e05239. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5239>
- (13) Viegas C, Sá F, Mateus M, et al. Commercial green tea from Portugal: Comprehensive microbiologic analyses. *Int J Food Microbiol*. 2020 Nov;333:108795. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108795>
- (14) Haas D, Pfeifer B, Reiterich C, et al. Identification and quantification of fungi and mycotoxins from Pu-erh tea. *Int J Food Microbiol*. 2013 Sep;166(2):316-22. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.024>
- (15) Assunção R, Pires S, Nauta M. Risk-Benefit Assessment of Foods. *EFSA J*. 2019 Sep;17(S2): e170917. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.e170917>
- (16) Assunção R, Alvim P, Brazão R, et al. Building capacity in risk-benefit assessment of foods: Lessons learned from the RB4EU project. *Trends Food Sci Technol*. 2019 Sep;91:541-8. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.028>
- (17) Assunção R, Twaruzek M, Kosicki R, et al. Drinking Green Tea: Despite the Risks Due to Mycotoxins, Is It Possible to Increase the Associated Health Benefits? *Toxins (Basel)*. 2021 Feb 5;13(2):119. <https://doi.org/10.3390/toxins13020119>