

Heavy Metal Content in Black Tea and their Infusions in North of Iran and Estimation of Possible Consumer Health Risk

Dariush Naghipour¹,
Abdoliman Amouei²,
Maedeh Dadashi³,
Mohammad Ali Zazouli⁴

¹ Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

² Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, Environmental Health Research Center (EHRC), Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

³ MSc of Environmental Health Engineering, School of Health, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, Health Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 29, 2016, Accepted September 25, 2016)

Abstract

Background and purpose: Heavy metals in tea causes harmful effects on the health of consumers. The aim of this study was to determine the concentrations of arsenic, lead, cadmium, chromium, cobalt and nickel in black tea and their infusions, and evaluation of their health hazards in Rasht, Iran.

Materials and methods: A cross-sectional study was carried out in 54 samples of nine brands of black tea and their infusions including six Iranian and three foreign products that were selected randomly in 2014. After sample preparation, the concentration of heavy metals were determined by inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP-AES).

Results: The range of concentrations of arsenic, lead, cadmium, chromium, cobalt, and nickel in black tea were 0.03-0.1, 0.5-3.5, 0.07-0.6, 0.9-3.9, 1.8-6.7, and 1.7 to 8.9 mg per kg and in their infusions were 0.01-0.03, 0.1-0.4, 0.04-0.2, 0.4-0.8, 0.2-1.2, and 0.6-2.1 mg per kg, respectively. The concentrations of arsenic and cadmium (22%) and lead (11%) were reported to be below the detection limit in black tea samples.

Conclusion: Despite the high concentration of heavy metals in some samples of tea and their infusions, the estimated values of PTWI and THQ cause no consumer health risks according to the guidelines suggested by WHO and FAO. Nevertheless, continuous monitoring of heavy metals contamination in black tea and their infusions is highly necessary.

Keywords: black tea, infusion, heavy metals, PTDI, PTWI, THQ

ارزیابی میزان غلظت فلزات سنگین در انواع چای سیاه و دم نوش مصرفی شمال ایران و برآورد خطر سلامت در مصرف کنندگان

داریوش نقی پور^۱
عبدالایمان عمویی^۲
مائده داداشی^۳
محمدعلی ززولی^۴

چکیده

سابقه و هدف: فلزات سنگین در چای، اثرات زیان باری بر سلامت مصرف کنندگان ایجاد می نمایند. هدف از این مطالعه، تعیین غلظت فلزات سنگین در چای سیاه و دم نوش تولیدی در شهر رشت و برآورد شاخص خطر سلامت دم نوش بوده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی - مقطعی که در سال ۱۳۹۳ در شهرستان رشت انجام شد، ۵۴ نمونه چای از ۶ برند داخلی و ۳ برند خارجی و دم نوش آن ها به طور تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. پس از آماده سازی نمونه ها، اندازه گیری فلزات سنگین با دستگاه ICP-AES انجام شد.

یافته ها: گستره غلظت آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل در چای سیاه به ترتیب ۰/۰۳ تا ۰/۱، ۰/۵ تا ۳/۵، ۰/۰۷ تا ۰/۶، ۰/۹ تا ۳/۹، ۱/۸ تا ۶/۷ و ۱/۷ تا ۸/۹ میلی گرم بر کیلوگرم و دم نوش تولیدی به ترتیب ۰/۰۱ تا ۰/۰۳، ۰/۱ تا ۰/۴، ۰/۰۴ تا ۰/۲، ۰/۸ تا ۰/۴، ۰/۲ تا ۱/۲ و ۰/۶ تا ۲/۱ میلی گرم بر کیلوگرم به دست آمد. میزان آرسنیک و کادمیوم در ۲۲ درصد و سرب در ۱۱ درصد از نمونه های چای زیر حد تشخیص گزارش گردید.

استنتاج: علی رغم بالا بودن غلظت برخی از فلزات سنگین در نمونه های چای و دم نوش تولیدی، برآورد شاخص های PTWI و THQ و مقایسه آن ها با حدود پیشنهادی WHO و FAO، هیچ گونه اثرات نامطلوبی را بر سلامت مصرف کنندگان چای نشان نمی دهد. با این وجود نظارت و پایش مستمر بر میزان غلظت فلزات سمی در نمونه های چای اهمیت دارد.

واژه های کلیدی: چای سیاه، دم نوش، فلزات سنگین، میزان دریافت روزانه و هفتگی، شاخص خطر سلامت

مقدمه

کشور دنیا و در گستره طول جغرافیایی ۴۵ درجه شمالی تا ۳۴ درجه جنوبی کره زمین کشت می شود (۳). ایران یکی از تولید کنندگان مهم چای در دنیا می باشد. مصرف سرانه چای در ایران بیش از ۱/۶ کیلوگرم در سال است که این میزان بالاترین رقم سرانه مصرف چای در دنیا را

چای یکی از قدیمی ترین نوشیدنی های پر مصرف در سراسر دنیا می باشد. تقریباً ۹۸ درصد از مردم جهان، چای را به عنوان اولین نوشیدنی قابل دسترس تلقی می نمایند (۱). روزانه تقریباً ۱۸ تا ۲۰ میلیارد فنجان چای در دنیا مصرف می شود (۲). گیاه چای در بیش تر از ۴۵

E-mail: iamouei1966@gmail.com

مؤلف مسئول: عبدالایمان عمویی - بابل: مرکز تحقیقات سلامت محیط، دانشگاه علوم پزشکی بابل

۱. استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۲. دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات سلامت محیط، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۳. کارشناسی ارشد بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۴. دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۵/۳/۱۶ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۷/۴

به خود اختصاص می‌دهد (۴). هر ساله تقریباً ۳۴ هزار هکتار از زمین‌های استان‌های گیلان و مازندران به زیر کشت گیاه چای قرار می‌گیرند که نیمی از آن به مصرف داخلی و بقیه به کشورهای دیگر صادر می‌شود (۵).

مطالعات گسترده دانشمندان مختلف مبین این موضوع است که مصرف گیاه چای، تاثیرات مثبت زیادی بر سلامت انسان دارد. از جمله می‌توان به پیش‌گیری از بروز بیماری‌های قلبی - عروقی، جلوگیری از ابتلا به بیماری پارکینسون، کنترل انواع سرطان و جلوگیری از اختلالات سیستم ایمنی بدن (۸-۶) اشاره نمود. مهم‌ترین علت انتشار و ورود فلزات سنگین در محیط زیست و مواد غذایی شامل انجام فعالیت‌های صنعتی، استفاده از سموم کشاورزی و سوخت‌های فسیلی می‌باشد (۹). ورود فلزات سنگین به بدن انسان از طریق استنشاق هوا، آشامیدن آب، خوردن غذا و کشیدن سیگار انجام می‌گیرد (۱۰). مهم‌ترین راه‌های ورود فلزات سنگین در برگ چای شامل ورود آلودگی از طریق خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، کاربرد فاضلاب‌های شهری در آبیاری مزارع چای، استفاده بی‌رویه از سموم و کودهای شیمیایی و سرانجام فرآوری و تولید چای در کارخانه‌های چای می‌باشد (۱۱). یکی از اساسی‌ترین مشکلات فلزات سنگین، عدم وجود مسیر متابولیسمی در سلول‌های بدن انسان و سایر موجودات زنده می‌باشد (۱۲). هم‌چنین در طبیعت نیز این گونه آلاینده‌ها از طریق فرآیندهای شیمیایی و زیستی تجزیه نمی‌شوند. ورود این گونه از ترکیبات سمی به زنجیره غذایی و رسیدن به غلظت‌های بحرانی، اثرات زیان بار متابولیکی و فیزیولوژیکی بر موجودات زنده به ویژه انسان برجای می‌گذارد (۱۳). فلزات سنگین پس از ورود به بدن از بدن دفع نشده و در بافت‌های نظیر چربی، عضلات، استخوان‌ها و مفاصل انباشته شده و موجب اختلال در سیستم‌های استخوانی، عصبی، گوارشی، کلیوی و گردش خون می‌شوند (۱۰، ۱۲). در صورتی که افراد از چای حاوی فلزات سنگین مصرف نمایند، مقدار قابل توجهی از فلزات سنگین وارد

بدن‌شان می‌شود (۹، ۱۳). مصرف بالای فلزات سنگین می‌تواند شانس مبتلا شدن به سرطان‌های ریه، بینی، حنجره و پروستات را افزایش دهد (۱۴، ۱۵). آرسنیک یک ماده شیمیایی سمی است که به‌طور وسیع در محیط پراکنده شده و در فرم‌های ترکیبات معدنی و آلی وجود دارد. این عنصر کارسینوژن بوده و مصرف آن ممکن است بر دستگاه گوارش، سیستم‌های قلبی - عروقی و عصبی اثر بگذارد (۱۶). کادمیوم پس از ورود به بدن باعث آسیب به کبد، کلیه، اسکلت بدن و نیز بروز پوکی استخوان شود (۱۷). سازمان بهداشت جهانی، حداکثر مجاز کادمیوم در آب آشامیدنی را ۰/۰۰۳ میلی‌گرم در لیتر توصیه می‌نماید (۱۸). در نشست مشترک سازمان بهداشت جهانی و سازمان خواربار و کشاورزی، میزان دریافت قابل تحمل هفتگی کادمیوم را ۰/۰۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن برآورد نمودند (۱۹).

کروم شش ظرفیتی از جمله فلزات سنگین خطرناک است که از طریق دهان، پوست و سیستم تنفس وارد بدن انسان می‌شود و عوارض گوناگونی از قبیل درماتیت، زخم و التهاب در معده، خونریزی سیستم گوارشی، التهاب در بینی، گلو و ریه را ایجاد می‌کند (۱۴). میزان رهنمون کروم در آب و آشامیدنی‌ها توسط سازمان بهداشت جهانی ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر گزارش گردید (۱۸). سرب سبب آسیب به کلیه، کبد، عقب‌ماندگی ذهنی، قلعج‌های شکمی، نازایی و نیز کاهش تشکیل هموگلوبین در خون می‌شود (۱۲). میزان مجاز سرب برای غذا و آشامیدنی‌ها در استاندارد اروپا و چین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در کشورهای استرالیا، کانادا و هند ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در ژاپن ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد (۱۹). بر اساس استاندارد ۶۲۳ ایران، حدود مجاز فلزات سنگین سرب، آرسنیک، کادمیوم و جیوه به ترتیب ۱، ۰/۵، ۰/۱ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین گردیده است (۲۰، ۲۱). نیکل باعث حساسیت پوستی، فیروز ریه، امراض قلبی و کلیوی، سرطان ریه و استخوان می‌گردد (۹). کبالت یکی از عناصر ضروری

رایج ترین نوشیدنی مردم استان گیلان است، هدف از این مطالعه بررسی میزان غلظت فلزات سنگین آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل در چای سیاه و دم نوش مصرفی شهر رشت و میزان دریافت قابل تحمل تقریبی روزانه و هفتگی و نیز مقدار شاخص خطر سلامت فلزات مورد مطالعه از راه نوشیدن چای در ساکنین این منطقه بوده است.

مواد و روش ها

این مطالعه توصیفی- مقطعی در سال ۱۳۹۳ در شهرستان رشت بزرگ ترین شهر و مرکز استان گیلان انجام گرفته است. نمونه های چای به صورت تصادفی از ۹ برند داخلی و خارجی (گلستان، لنگر، خرم، بهار، علی نیا، سحر، نوری، سیلان، محمود و احمد) و دم نوش آن ها به همراه یک نمونه شاهد با ۳ تکرار مجموعاً به تعداد ۵۴ نمونه انتخاب گردید. ۱ گرم از نمونه های چای خشک، دقیقاً توزین گردیده و بعد از افزودن ۵ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ جهت پیش هضم به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس کلیه نمونه ها به مدت ۰/۵ ساعت تا دمای ۸۰ درجه سانتی گراد روی هات پلیت حرارت داده شده و ۱ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ به همراه ۵ میلی لیتر اسید پرکلریک غلیظ به آن ها اضافه گردید. عملیات هضم نمونه ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۳۰ درجه سانتی گراد به منظور خروج بخارات اسیدهای نیتریک و پرکلریک و شفاف شدن نمونه ها ادامه یافت. سپس نمونه ها از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده و با آب مقطر در داخل بالن ژورنه به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد (۲۴). در این مطالعه نمونه های شاهد شامل آب مقطر و بدون استفاده از چای خشک نیز به همین روش تهیه گردید. آماده سازی نمونه های دم نوش نیز با اضافه نمودن ۵۰ میلی لیتر آب داغ به ۱ گرم چای خشک و صاف سازی نمونه ها بعد از ۱۰ دقیقه و تنظیم $pH=2$ با ۱ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ انجام شد. به علت کاهش حجم نمونه های دم نوش در زمان دم کشی،

بدن انسان است که در ساختار ویتامین B12 حضور دارد. این فلز سیستم خون سازی بدن را تحریک کرده و تولید هموگلوبین را افزایش می دهد. اثرات حاد مسمومیت با کبالت شامل آسم، التهاب ریه ها و خس خس کردن سینه می باشد (۶).

در مطالعه شکوهمیان و همکاران، غلظت فلزات سنگین سرب، کادمیوم و آرسنیک در ۱۰۵ نمونه چای سیاه و دم نوش آن ها در استان های مازندران و گیلان مورد مطالعه قرار گرفت. این پژوهش نشان داد که موقعیت جغرافیایی و مدت زمان عمل آوری چای بر افزایش میزان غلظت این عناصر در نمونه ها موثر می باشد (۴). ززولی و همکاران، میزان غلظت سرب و کادمیوم را در چندین نمونه چای سیاه تجارتي مورد مطالعه قرار دادند. در این مطالعه مشخص گردید که در صورت افزایش مدت زمان عمل آوری چای از ۱۵ دقیقه به ۳۰ دقیقه، غلظت کادمیوم و سرب در نمونه ها افزایش چشم گیری خواهد داشت (۲۲).

در مطالعه انصاری و همکاران در زمینه تعیین میزان غلظت فلزات سنگین سرب، کادمیوم، نیکل و آلومینیوم در ۳۰ نمونه چای داخلی و ۳۰ نمونه چای وارداتی، میزان آلومینیوم در نمونه چای ایرانی و وارداتی به ترتیب $699/2$ و $388/3$ میلی گرم بر کیلوگرم به دست آمد. در حالی که غلظت سایر عناصر مورد مطالعه به روش جذب اتمی، غیر قابل تشخیص بوده است (۲۳). در مطالعه Zhong و همکاران روی ۲۵ نمونه از انواع چای مصرفی در کشور چین به روش اسپکترومتری جذب اتمی با کوره گرافیتی، گستره غلظت فلزات سرب، کادمیوم، کروم، مس و نیکل به ترتیب $0/48$ تا $10/57$ ، $0/01$ تا $0/39$ ، $0/27$ تا $2/45$ ، $7/73$ تا $63/71$ و $2/7$ تا $13/41$ میلی گرم بر کیلوگرم به دست آمد (۲۴). Seenivasan و همکاران، نقش ابزارهای خرد کننده برگ چای در کارخانه های تولید و فرآوری چای را در افزایش غلظت کروم در این گونه محصولات بسیار موثر دانستند (۱۱).

با توجه به این که گیاه چای و دم نوش آن،

میزان $1 < \text{THQ}$ باشد، در آن صورت اثرات سرطان‌زایی در مصرف‌کننده غیر محتمل می‌باشد. اگر میزان $\text{THQ} > 1$ باشد، اثرات نامطلوب بهداشتی ممکن است. در صورتی که $\text{THQ} > 10$ باشد، خطر بالای سمیت مزمن پیشنهاد می‌گردد (۲۵).

$$\text{رابطه (۲)} \quad \text{THQ} = \frac{\text{میزان دوز مورد مواجهه}}{\text{میزان دوز مرجع}}$$

$$\text{رابطه (۳)} \quad \frac{\text{مدت زمان مصرف چای} \times \text{سراجه مصرف چای} \times \text{غلظت فلز}}{\text{میزان دوز مورد مواجهه}} = \text{میانگین طول عمر} \times \text{میانگین وزن بدن}$$

طبق رابطه (۳)، در این مطالعه سراجه مصرف چای ۶ گرم در روز، مدت زمان مصرف چای ۶۰ سال، میانگین وزن بدن مصرف‌کنندگان چای ۶۵ کیلوگرم و میانگین طول عمر افراد ۷۰ سال در نظر گرفته شده است (۴).

میزان دوز مرجع (RFD=Reference Dose)، در واقع میزان حداکثر دریافت روزانه یک فلز سنگین در چای یا ماده غذایی است که در آن میزان، ایجاد بیماری یا سمیت در مصرف‌کننده غیر محتمل باشد. به همین علت در این مطالعه RFD برای هر فلز سنگین معادل میزان تقریبی دریافت روزانه قابل تحمل (PTDI Provisional Tolerable Daily Intake) در نظر گرفته شده است. از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ به منظور تعیین میانگین و انحراف معیار و سطح معنی‌داری آماري انواع نمونه‌های چای و دم‌نوش استفاده گردیده است. در این مطالعه سطح معنی‌داری آماري $p < 0/05$ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

الف- تعیین میزان غلظت فلزات سنگین آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل در نمونه‌های چای خشک در جدول شماره ۱، میانگین و انحراف معیار غلظت فلزات سنگین آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل در انواع چای خشک با برندهای داخلی و خارجی ارائه شده است.

۱- آرسنیک

نتایج جدول شماره ۱ نشان می‌دهد که میانگین غلظت آرسنیک در انواع چای خشک داخلی و خارجی

حجم هر یک از نمونه‌ها با آب مقطر در داخل بالن ژوژه به ۵۰ میلی‌لیتر رسید. محلول‌های استاندارد آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از محصولات شرکت مرک آلمان تهیه و جهت رقیق‌سازی نمونه‌های مورد نظر و کالیبراسیون دستگاه از آن‌ها استفاده گردید. مقادیر غلظت فلزات سنگین آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل در نمونه‌های مختلف به روش اسپکترومتری جذب اتمی (Inductively Coupled Plasma- Atomic Emission Spectrometry) ICP-AES، پس از تهیه منحنی‌های استاندارد در طول موج‌های ۱۸۹، ۲۸۳/۵، ۲۲۸/۸، ۲۶۷/۷، ۲۲۸/۶ و ۲۳۱/۶ نانومتر و حدود تشخیص ۰/۳، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۰۵، ۲/۱، ۱/۲ تعیین شد (۱۱).

در این مطالعه مقادیر (PTDI Provisional Tolerable Daily Intake) یا میزان دریافت تقریبی قابل تحمل روزانه و (PTWI Provisional Tolerable Weekly Intake) یا میزان دریافت تقریبی قابل تحمل هفتگی فلزات سنگین در نمونه‌های چای خشک و دم‌نوش مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین میزان ارزیابی خطر سلامت بر اساس شاخص برآورد سیل خطر یا (THQ Target Hazard Quotient) در فلزات سنگین مورد مطالعه با استفاده از معادلات زیر انجام شد.

$$\text{رابطه (۱)} \quad \text{PTDI} = \frac{\text{سراجه مصرف چای} \times \text{غلظت فلز}}{\text{میانگین وزن بدن}}$$

در رابطه (۱) PTDI بر حسب $\text{mg kg}^{-1} \text{day}^{-1}$ غلظت فلز سنگین در چای بر حسب mg kg^{-1} میزان سراجه مصرف چای بر حسب گرم در روز (۶ گرم در روز) و میانگین وزن مصرف‌کنندگان چای بر حسب (kg) ۶۵ کیلوگرم می‌باشد. در رابطه (۲)، میزان THQ برای هر فلز سنگین از تقسیم میزان دوز مورد مواجهه فلز سنگین بر میزان دوز مرجع آن فلز حاصل می‌گردد. از این شاخص به عنوان یک معیار ارزیابی و برآورد میزان خطرات بهداشتی بالقوه و درازمدت فلزات سنگین در مصرف‌کنندگان مواد غذایی استفاده می‌شود. اگر

۶- نیکل

۷۸ درصد، ۶۷ درصد، ۵۶ درصد و ۳۳/۳ درصد از نمونه ها زیر حد تشخیص بوده است.

ج- برآورد میزان دریافت تقریبی قابل تحمل روزانه و هفتگی و میزان سیبیل خطر فلزات سنگین در چای خشک و دم نوش تولیدی

در این بررسی میزان دریافت تقریبی قابل تحمل روزانه (PTDI) فلزات سنگین آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل در چای خشک بر حسب $\text{micg.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$ به ترتیب ۰/۰۱۸، ۰/۱۶، ۰/۰۰۶، ۰/۰۱۸، ۰/۳۹، ۰/۵۱ و میزان تقریبی قابل تحمل هفتگی (PTWI) بر حسب $\text{micg.kg}^{-1}.\text{w}^{-1}$ به ترتیب ۰/۴۲، ۰/۱، ۰/۱۳، ۰/۱۳، ۲/۷ و ۳/۶ تعیین گردید (جدول شماره ۱). در جدول شماره ۲، مقادیر PTDI و PTWI برای فلزات سنگین مورد مطالعه در دم نوش حاصل از چای خشک نیز به دست آمد. در این جدول میزان PTDI در آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل به ترتیب ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۹، ۰/۰۰۶، ۰/۰۷۳ و ۰/۱۳ و $\text{micg.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$ و میزان PTWI به ترتیب ۰/۰۰۹، ۰/۰۱۶، ۰/۰۶۴، ۰/۴۲، ۰/۵۱ و $\text{micg.kg}^{-1}.\text{w}^{-1}$ تعیین گردید.

در این مطالعه با محاسبه میزان دوز مواجهه توسط رابطه (۳) در بخش مواد و روش ها و با برابر فرض کردن میزان PTDI و میزان دوز مرجع، اندازه شاخص سیبیل خطر

در این مطالعه، میانگین میزان غلظت نیکل در نمونه های مورد نظر $5/6 \pm 2/4$ میلی گرم بر کیلوگرم، حد کمینه و بیشینه این فلز به ترتیب ۱/۷ و ۸/۹ میلی گرم بر کیلوگرم به دست آمد. میزان غلظت این فلز در نمونه های با کد E $8/9 \pm 4/7$ میلی گرم بر کیلوگرم) حداکثر و در نمونه های با کد J $1/7 \pm 0/5$ میلی گرم بر کیلوگرم) حداقل بوده است (جدول شماره ۱).

ب- تعیین میزان غلظت فلزات سنگین آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل در نمونه های دم نوش در جدول شماره ۲، میانگین میزان غلظت فلزات آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل در کلیه نمونه های دم نوش تولیدی به ترتیب $0/17 \pm 0/1$ ، $0/25 \pm 0/1$ ، $0/11 \pm 0/06$ ، $0/64 \pm 0/3$ ، $0/82 \pm 0/4$ و $1/4 \pm 0/7$ میلی گرم بر کیلوگرم، حداکثر غلظت این فلزات به ترتیب ۰/۰۳، ۰/۴، ۰/۲، ۰/۸، ۱/۴ و ۲/۱ میلی گرم بر کیلوگرم به دست آمد. حداکثر میزان غلظت آرسنیک، سرب و کادمیوم به نمونه های چای با کدهای A، H و A و حد بیشینه غلظت کروم، کبالت و نیکل در دم نوش نیز به کد F مربوط بوده است. در این مطالعه میزان غلظت آرسنیک، سرب، کادمیوم و سایر عناصر مورد مطالعه (کروم، کبالت و نیکل) به ترتیب در

جدول شماره ۲: غلظت فلزات سنگین بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم و میزان دریافت تقریبی قابل تحمل روزانه و هفتگی در دم نوش چای

کد	تعداد نمونه	آرسنیک میانگین \pm انحراف معیار	سرب میانگین \pm انحراف معیار	کادمیوم میانگین \pm انحراف معیار	کروم میانگین \pm انحراف معیار	کبالت میانگین \pm انحراف معیار	نیکل میانگین \pm انحراف معیار
A	۳	$0/33 \pm 0/11$	$0/11 \pm 0/05$	$0/11 \pm 0/05$	$0/4 \pm 0/4$	$0/5 \pm 0/2$	$0/8 \pm 0/4$
B	۳	ND	ND	ND	$0/5 \pm 0/2$	$0/2 \pm 0/1$	$0/6 \pm 0/3$
C	۳	ND	ND	$0/2 \pm 0/1$	$0/8 \pm 0/5$	$0/4 \pm 0/5$	$1/8 \pm 0/6$
D	۳	ND	$0/2 \pm 0/1$	ND	ND	ND	ND
E	۳	ND	ND	$0/11 \pm 0/07$	$0/7 \pm 0/4$	$0/5 \pm 0/3$	$2/1 \pm 1/7$
F	۳	$0/11 \pm 0/01$	ND	ND	$0/6 \pm 0/3$	$0/9 \pm 0/5$	$1/2 \pm 0/6$
G	۳	ND	ND	ND	ND	ND	ND
H	۳	ND	$0/4 \pm 0/2$	$0/06 \pm 0/04$	$0/4 \pm 0/2$	$1/2 \pm 0/8$	$1/7 \pm 0/6$
J	۳	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		$0/01 - 0/03$	$0/1 - 0/4$	$0/04 - 0/2$	$0/5 - 0/8$	$0/2 - 1/4$	$0/6 - 2/1$
	سطح معنی داری (Pvalue)	۰/۰۳۲	۰/۰۳۸	۰/۰۳۴	۰/۰۴	۰/۰۴۱	۰/۰۴۲
	PTDI ($\text{micg.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$)	۰/۰۱۳	۰/۰۲۳	۰/۰۰۹۲	۰/۰۶	۰/۰۷۳	۰/۱۳
	PTWI ($\text{micg.kg}^{-1}.\text{w}^{-1}$)	۰/۰۰۹	۰/۰۱۶	۰/۰۶۴	۰/۴۲	۰/۵۱	۰/۹۱
	PTWI _{WHO} ($\text{micg.kg}^{-1}.\text{w}^{-1}$)	۲/۱	۲۵	۷	۶۳۷	-----	-----

سلامت (THQ) مربوط به هر یک از فلزات سنگین برآورد گردید. بر این اساس میزان THQ برای آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل در نمونه‌های چای سیاه به ترتیب ۰/۷۸، ۰/۸۱، ۰/۸۳، ۰/۸۸، ۰/۸۵ و ۰/۸۶ و در دم نوش تولیدی به ترتیب ۰/۸۰، ۰/۸۷، ۰/۸۸، ۰/۸۷ و ۰/۸۸ و ۰/۸۵ به دست آمد.

بحث

آرسنیک یک عنصر جهش‌زا، سرطان‌زا و بسیار سمی برای گیاهان و حیوانات می‌باشد (۱۵،۳). مطالعات فراوانی در زمینه وجود آرسنیک در مواد غذایی و آشامیدنی انجام شده است. در این مطالعه میزان آرسنیک در ۲۲ درصد از نمونه‌های چای خشک زیر حد تشخیص این عنصر (۱/۲ میکروگرم بر کیلوگرم) می‌باشد. میانگین غلظت آرسنیک در نمونه‌های برگ چای $1/3 \pm 0/3$ میلی‌گرم بر کیلوگرم و حداکثر آن در نمونه‌های چای با کد C $1/9 \pm 0/5$ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به دست آمد. در مطالعه حمیدی و همکاران میزان آرسنیک در کلیه نمونه‌های چای خشک زیر حد تشخیص بوده است (۲۶). در مطالعه Shi و همکاران روی برگ‌های سبز و جوان چای میزان غلظت آرسنیک در گستره ۰/۰۲ تا ۰/۰۷ گزارش شد (۲۷).

در مطالعه Cao و همکاران روی برگ تازه چای، میزان آرسنیک در نمونه‌های مختلف در دامنه غلظت ۰/۰۲ تا ۰/۰۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است (۲۸) به طوری که غلظت این عنصر در مطالعه حاضر، بالاتر از مقادیر به دست آمده در چهار مطالعه مزبور است. در مطالعه حاضر میزان آرسنیک در ۷۸ درصد از نمونه‌های دم‌نوش در مدت ۱۰ دقیقه زیر حد تشخیص بوده است. میانگین غلظت آرسنیک در نمونه‌های دم‌نوش $0/01 \pm 0/02$ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۳۳ درصد مقدار موجود در نمونه‌های چای خشک می‌باشد. در مطالعه شکوهمیان و همکاران، میانگین غلظت آرسنیک در نمونه‌های دم‌نوش بعد از ۱۵ دقیقه، ۰/۴۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد (۴).

Yuan و همکاران گزارش کردند که در خروج و انتقال آرسنیک از چای خشک به داخل دم‌نوش، دو عامل مدت زمان و درجه حرارت آب بسیار موثر می‌باشند (۲۹). به طوری که در درجه حرارت زیاد، آرسنیک در داخل برگ چای باقیمانده و به داخل دم‌نوش مایع منتقل نمی‌گردد (۳). سرب به عنوان یکی از آلاینده‌های مهم محیط زیست و خاک مطرح می‌باشد. پیامدهای نامطلوب بهداشتی سرب بر سلامت انسان در غلظت‌های کم سبب گردیده تا سازمان‌های مختلف، حد مجاز سرب را در مواد غذایی و آشامیدنی‌ها به عنوان یکی از منابع مهم ورود این فلز سنگین به بدن انسان تعیین نمایند (۱۲،۱۰). در این مطالعه میانگین میزان سرب در انواع نمونه‌های چای $1/7 \pm 1/2$ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گستره غلظت آن ۰/۵ تا ۳/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد. در این مطالعه مقدار حداکثر فلز سرب در نمونه‌ها بیش‌تر از ۱۰ برابر غلظت حداقل آن بوده است. در کلیه نمونه‌های چای مورد مطالعه میزان سرب پایین‌تر از حد مجاز وزارت بهداشت ایران (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود.

Chen و همکاران در سال ۲۰۰۷ میلادی میزان سرب در ۵۷ نمونه از انواع چای مصرفی در شهر پکن را در حدود ۰/۲ تا ۶/۳۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش کردند (۳۰). در مطالعه ززولی و همکاران حداکثر میزان سرب به چای شریعت (۱۵/۴۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و حداقل آن به چای شهرزاد (۰/۵۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مربوط بوده است (۲۲). در مطالعه‌ای دیگر توسط صلاحی‌نژاد و همکاران، میانگین میزان غلظت فلز سرب در نمونه‌های چای خشک داخلی $1/91$ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد (۵). در زمینه مطالعات روی میزان غلظت سرب در نمونه‌های دم‌نوش چای، گزارش‌های زیادی وجود ندارد. یکی از دلایل این موضوع، قابلیت انحلال کم ترکیبات سرب در نمونه‌های برگ چای و عدم آزاد شدن این عنصر در دم‌نوش تولیدی است. در مطالعه حاضر میانگین غلظت سرب در نمونه‌های دم

نوش ۰/۲۳±۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم و برابر ۱۳/۵ درصد میزان سرب در نمونه‌های چای خشک می‌باشد. در ۶۷ درصد از نمونه‌های دم‌نوش، میزان سرب زیر حد تشخیص بوده است. در مطالعه شکوهمیان و همکاران، میزان غلظت سرب در دم‌نوش بعد از ۱۵ دقیقه ۰/۹۹±۰/۷ میلی گرم بر کیلوگرم به دست آمد (۴). یکی از دلایل تفاوت میزان غلظت فلزات سنگین در نمونه‌های مختلف دم‌نوش علاوه بر شرایط خاک و هوای منطقه، مدت زمان دم‌کشی و عمل آوری دم‌نوش می‌باشد (۴). در مطالعه حاضر نیز مدت زمان دم‌کشی ۱۰ دقیقه بوده که این کاهش زمان می‌تواند یکی از دلایل کاهش غلظت سرب در نمونه‌های دم‌نوش تولیدی باشد. کادمیوم از قدیم‌الایام به عنوان یک ماده سرطان‌زا در انسان و هم‌چنین در حیوانات نیز به عنوان عامل سرطان‌زا در اندام‌های مختلف شناخته شده است (۳). کاربرد کودهای فسفات دار یکی از منابع آلودگی گیاهان و محصولات کشاورزی می‌باشد. بر اساس یک مطالعه بیش از ۵۰ درصد مقدار کادمیوم ورودی در مناطق کشاورزی از طریق مصرف کودهای شیمیایی بوده است (۱۷). در این مطالعه میانگین میزان کادمیوم در انواع نمونه‌های چای ۰/۲±۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم و گستره غلظت آن از ۰/۰۷ تا ۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم بوده است. میزان کادمیوم در ۲۲ درصد از نمونه‌های چای زیر حد تشخیص این عنصر می‌باشد. در مطالعه حاضر در بیش از ۷۸ درصد از نمونه‌های چای، میزان کادمیوم کم‌تر از حد سمیت در مواد غذایی و چای (۰/۳ میلی گرم بر کیلوگرم) بود. در مطالعه ززولی و همکاران حداکثر میزان کادمیوم در چای شریعت (۱/۹۲ میلی گرم بر کیلوگرم) و حداقل آن در چای احمد (۰/۰۹ میلی گرم بر کیلوگرم) به دست آمد (۲۲). در مطالعه صلاحی نژاد و همکاران، میزان غلظت کادمیوم در نمونه‌های چای خشک کم‌تر از ۰/۷۶ میلی گرم بر کیلوگرم بوده است (۵).

در مطالعه Cao و همکاران، میزان غلظت کادمیوم در نمونه‌ها از زیر حد تشخیص تا ۰/۰۱ میلی گرم بر

کیلوگرم به دست آمد (۲۸). در این مطالعه میانگین غلظت کادمیوم در نمونه‌های دم‌نوش ۰/۱±۰/۰۶ میلی گرم بر کیلوگرم و در ۵۶ درصد از نمونه‌ها زیر حد تشخیص می‌باشد. در مطالعه شکوهمیان و همکاران میزان غلظت کادمیوم در نمونه‌های دم‌نوش چای بعد از ۱۵ دقیقه ۰/۴۶±۰/۲۴ میلی گرم بر کیلوگرم به دست آمد (۴). اگرچه که عنصر کروم یک ماده ریز مغذی اساسی برای رشد و نمو موجودات زنده و حیوانات است اما ورود آن به داخل زنجیره غذایی سبب اثرات نامطلوب بر سلامت انسان خواهد شد. این عنصر معمولاً به دو صورت کروم ۳ و ۶ ظرفیتی در طبیعت یافت می‌شود. کروم ۳ ظرفیتی کم محلول و سمیت آن کم است در حالی که کروم ۶ ظرفیتی محلول در آب بوده و برای موجودات زنده و انسان بسیار سمی می‌باشد (۳). در این مطالعه میانگین غلظت کروم در نمونه‌های چای خشک ۱/۲±۰/۲ میلی گرم بر کیلوگرم و گستره غلظت ۰/۹ تا ۳/۹ میلی گرم بر کیلوگرم به دست آمد. در مطالعه Tokalioglu و همکاران میزان کروم در برگ تازه چای در گستره ۱/۱۶ تا ۲/۸۷ میلی گرم بر کیلوگرم بوده است (۳۱). در مطالعه Narin و همکاران مقدار این عنصر در برگ چای در حدود غلظت کم‌تر از ۱۰ تا ۱۴/۸ میلی گرم بر کیلوگرم به دست آمد (۱۸). Zhong و همکاران غلظت کروم را در گستره ۰/۲۷ تا ۲/۴۵ میلی گرم بر کیلوگرم گزارش نمودند (۲۴). در مطالعه صلاحی نژاد و همکاران میزان غلظت کروم در نمونه‌های چای خشک کم‌تر از ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم بوده است (۵). در مطالعه حاضر میزان غلظت کروم در نمونه‌های دم‌نوش، ۰/۳±۰/۶۴ و حد بیشینه آن ۰/۸ میلی گرم بر کیلوگرم می‌باشد. در این پژوهش، میزان غلظت کروم موجود در چای خشک ورودی به دم‌نوش در مدت زمان ۱۰ دقیقه، ۳۳ درصد بوده است. بر اساس مطالعه Natesan و همکاران ۱۶/۵ درصد از غلظت کروم موجود در چای خشک در مدت زمان ۱ دقیقه به داخل دم‌نوش منتقل گردیده به طوری که با افزایش این مدت به ۱۰ دقیقه، این میزان به ۴۲/۲

یک مطالعه توسط Waqar و همکاران میانگین غلظت نیکل در نمونه‌های چای در عربستان سعودی $9/8 \pm 4/5$ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است (۳۴).

در مطالعه Narin و همکاران در ترکیه حداکثر میزان غلظت نیکل در چای خشک $16/5 \pm 1/5$ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شد (۱۸). در این مطالعه میانگین غلظت نیکل در نمونه‌های دم نوش $1/4 \pm 0/7$ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد. در این مطالعه میزان غلظت کروم موجود در چای خشک انتقالی به دم نوش در مدت زمان ۱۰ دقیقه، ۳۳ درصد بوده است. در مطالعه Marbaniang و همکاران میزان غلظت نیکل در دم نوش تولیدی $1/7 \pm 0/7$ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد (۳۳). در این مطالعه رتبه بندی مقادیر فلزات سنگین در نمونه‌های چای و دم نوش تولیدی آن‌ها به صورت $As > Cd > Pb > Cr > Co > Ni$ می‌باشد.

با توجه به مقایسه مقادیر به دست آمده PTWI فلزات سنگین مورد نظر در این مطالعه با مقادیر PTWI پیشنهادی از سوی WHO این نتیجه به دست می‌آید که مقادیر PTWI مربوط به هر یک از فلزات سنگین در نمونه‌های چای خشک و دم نوش تولیدی از میزان‌های توصیه شده سازمان بهداشت جهانی پایین‌تر است (۱۹). به طوری که علی‌رغم بالا بودن میزان غلظت آرسنیک و کادمیوم از حد مجاز در برخی از نمونه‌های چای خشک و دم‌نوش تولیدی در این مطالعه به علت پایین بودن مقادیر PTWI محاسبه شده، هیچ‌گونه خطری بر سلامت مصرف‌کنندگان ایجاد نخواهد شد.

میزان THQ یا شاخص خطر سلامت برای آرسنیک، سرب، کادمیوم، کروم، کبالت و نیکل در نمونه‌های چای سیاه در این مطالعه به ترتیب $0/78$ ، $0/81$ ، $0/83$ ، $0/88$ ، $0/85$ و $0/86$ و در دم‌نوش تولیدی به ترتیب $0/80$ ، $0/87$ ، $0/88$ ، $0/87$ ، $0/88$ و $0/85$ به دست آمد. به طور کلی مقادیر THQ کم‌تر از ۱ بدین مفهوم است که میزان مواجهه هر یک از آلاینده‌های فلزی مورد مطالعه کم‌تر از دوز مرجع آن می‌باشد. به طوری که

درصد افزایش یافت (۳۲). در مطالعه Marbaniang و همکاران میزان غلظت کروم در دم‌نوش تولیدی $0/2 \pm 0/2$ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است (۳۳).

کبالت یکی از عناصر ضروری بدن انسان است که در ساختار ویتامین B12 حضور دارد. این فلز سیستم خون‌سازی بدن را تحریک کرده و تولید هموگلوبین را افزایش می‌دهد (۳). در این مطالعه میانگین غلظت کبالت در انواع چای $4/2 \pm 2/2$ و گستره آن $1/8$ تا $6/7$ میلی‌گرم بر کیلوگرم با کمینه غلظت در چای با کد E و بیشینه غلظت در کد H به دست آمد. در مطالعه Chen و همکاران، میزان غلظت کبالت در چای سیاه $0/2$ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش گردید (۳۰). در مطالعات Waqar و همکاران، حداکثر غلظت کبالت در برگ چای $11 \pm 3/4$ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد (۳۴). میانگین میزان کبالت در دم‌نوش تولیدی $0/4 \pm 0/82$ ، حداقل و حداکثر آن به ترتیب زیر حد تشخیص و $1/4$ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است. در این مطالعه میزان غلظت کبالت موجود در چای خشک انتقالی به دم‌نوش در مدت زمان ۱۰ دقیقه، ۳۳ درصد تعیین شد. در مطالعه Marbaniang و همکاران میزان غلظت کبالت در نمونه‌های برگ چای و دم‌نوش آن‌ها به ترتیب $1/9 \pm 0/3$ و $1/3 \pm 0/02$ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش گردید (۳۳).

اهمیت نیکل در مقادیر کم به عنوان یک ماده مغذی در رشد و نمو گیاهان مشخص شده است. با این وجود این عنصر در غلظت‌های بالا به عنوان یک ماده سمی و آلاینده برای اکثر موجودات زنده و گیاهان مطرح می‌باشد (۳). در این مطالعه میانگین غلظت نیکل $5/6 \pm 2/4$ و دامنه تغییرات آن از $1/7$ تا $8/9$ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد.

در مطالعه صلاحی نژاد و همکاران میزان غلظت نیکل در نمونه‌های چای خشک ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است (۵). در مطالعه Tokalioglu و همکاران میزان نیکل در نمونه‌های برگ تازه چای در گستره $6/6$ تا $11/7$ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد (۳۱). بر طبق

در این مطالعه غلظت آرسنیک و کادمیوم در برخی از نمونه‌های چای و دم‌نوش از حد مجاز بالاتر بوده اما به علت کاهش قابل توجه مقادیر شاخص‌های PTWI و THQ حاصله از کلیه فلزات سنگین مورد مطالعه در نمونه‌های مختلف چای سیاه و دم‌نوش آن‌ها در مقایسه با حدود پیشنهادی WHO و FAO، مصرف چای و دم‌نوش تولیدی تمامی نمونه‌ها، هیچ‌گونه اثر نامطلوبی بر سلامت مصرف‌کنندگان در طول دوره زندگی آن‌ها نخواهد داشت. با این وجود نظارت و پایش مستمر بر میزان غلظت این گونه از آلاینده‌های سمی و جلوگیری از ورود آن‌ها به زنجیره عملیات کاشت، داشت و برداشت چای و نیز نحوه عمل‌آوری و استفاده از برگ و انفوزیون آن‌ها اهمیت دارد.

سپاسگزاری

از حمایت‌های بی‌دریغ رئیس و کارشناسان محترم آزمایشگاه شیمی مواد غذایی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی گیلان، تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

- Dufresne CJ, Famworth ER. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *J Nut Biochem* 2001; 12(7): 404-421.
- Demirak A, Yilmaz F, Tuna AL, Ozdemir N. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. *Chemosphere* 2006; 63(9): 1451-1458.
- Karak T, Bhagat RM. Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: A review. *Food Res Int* 2010; 43(9): 2234-2252.
- Shekoohian S, Ghoochani M, Mohagheghian A, Mahvi AH, Yunesian M, Nazmara S. Determination of lead, cadmium and arsenic in infusion tea cultivated in north of Iran. *Iranian J Environ Health Sci Eng* 2012; 9(1): 37 (Persian).
- Salahinejad M, Aflaki F. Toxic and essential mineral elements contents of black tea levels and their tea infusions consumed in Iran. *Biol Trace Elem Res* 2010; 134(1): 118-121.
- Yemane M, Chandravanshi BS, Wondimu T. Levels of essential and non-essential metals in leaves of the tea plant (*Camellia sinensis* L.) and soil of Wushwush farms, Ethiopia. *Food Chemistry* 2008; 107(3): 1236-1243.
- Kumar A, Nair AGC, Reddy AVR, Garg AN. Availability of essential elements in Indian and US tea brands. *Food Chemistry* 2005; 89(3): 441-448.
- Hussain I, Khan F. Investigation of heavy metals in commercial tea brands. *J Chem Soc Pak* 2006; 28(3): 246-253.

9. Huang YF, Peng LX, Liu Y, Zang ZF, Lv LY, Zhao G. Evaluation of essential and toxic elements concentrations in different parts of Buckwheat. *Czech J Food Sci* 2013; 31(3): 249-255.
10. Amouei AI, Yousefi Z, Mahvi AH, Naddafi K, Tahmasbizadeh M. Heavy metal concentrations in industrial, agricultural and highway soils in northern Iran. *Environmental Justice* 2012; 5(3):153- 157.
11. Seenivasan S, Manikandan N, Nair Muraleedharan. Chromium contamination in black tea and its transfer into tea brew. *Food Chemistry* 2008; 106(3): 1066-1069.
12. Achudume A, Owoeye D. Quantitative assessment of heavy metals in some tea marketed in Nigeria. *Health* 2010; 9(2): 1097-1100.
13. Soomro MT, Zahir E, Mohiuddin S, Khan AN, Naqvi II. Quantitative assessment of metals in local brands of tea in Pakistan. *Pak. J Biol Sci* 2008; 11(2): 285-289.
14. Sofuoglu SC, Kavcar P. An exposure and risk assessment for fluoride and trace metals in black tea. *J Hazard Mater* 2008; 158(2-3): 392-400.
15. Wong MH, Zhang ZQ, Wong JW, Lan CY. Trace metal contents (Al, Cu, Zn) of tea and soil from two tea plantations, and tea products from different provinces of China. *Environ Geochem Health* 1998; 20(2): 87-94.
16. Mandal BK, Suzuki KT. Arsenic round the world: a review. *Talanta* 2002; 58(1): 201-235.
17. de Meeûs C¹, Eduljee GH, Hutton M. Assessment and management of risks arising from exposure to cadmium in fertilizers. *Sci Total Environ* 2002; 291(1-3): 189-206.
18. Narin J, Colak H, Torkoglu O, Soylak M, Dogan M. Heavy metals in black tea samples produced in Turkey. *Bulltin of Contamination and Toxicology* 2004; 72(4): 744-749.
19. FAO/WHO. Evaluation of certain food additives and contaminants. 73rd ed report of the joint FAO/WHO int/trs/ TRS. 2013.
20. Institute of Standards and industrial research of Iran (ISIRI). Black tea specification and test methods. No.623. 2nd ed. 2007; ICS: 67, 140.10. (Persian).
21. Karimzadeh L, Bagheri GA, Pour Ali A, Gholipour M, Mohammadi Z, Moshrefi B, et al. Evaluation of lead, cadmium and copper in black tea leaves in Mazandaran factories, spring and summer 2011. *J Mazand Univ Med Sci* 2013; 23(99): 2-10 (Persian).
22. Zazouli MA, Mohseni Bandpei A, Maleki A, Saberian M, Izanloo H. Determination of cadmium and lead contents in black tea and tea liquor from Iran. *Asian J Chem* 2010; 22(2): 1387-1393 (Persian).
23. Ansari F, Norbakhsh R, Daneshmandirani K. Determination of heavy metals in Iranian and imported black tea. *Iran J Environ Health Sci Eng* 2008; 4(4): 243-248 (Persian).
24. Zhong WS, Ren T, Zhao LJ. Determination of lead, cadmium, chromium, copper and nickel in Chinese tea with high- resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis* 2016; 24(1): 46-55 (Persian).
25. Rezaee E, Mirlohi M, Fallah A, Babashahi M. A systematic review on exposure to toxic and essential elements through black tea consumption in Iran: Could It be a Major Risk for Human Health? *Int J Prev Med* 2014; 5(11): 1351- 1359.
26. Hamidi R, Daneshpajoo M. Measuring the lead, arsenic, copper, zinc, selenium, sodium, potassium, nickel, and magnesium ions in

- black tea. Feyz, J Kashan Univ Med Sci 2009; 13(13): 242-248 (Persian).
27. Shi YZ, Jin LM, Zhu YS. The contents status quo and the accumulation characteristic of heavy metal in tea. China Tea 2007; 6: 7-19.
28. Cao H, Qiao L, Zhang H, Chen J. Exposure and risk assessment for alluminium and heavy metals in Pureh tea. Sci Total Environ 2010; 408(14): 2777-2784.
29. Yuan C, Cao E, He B, Jiang G. Arsenic species and leaching characters in tea (*Camellia sinensis*). Food Chemical Toxicol 2007; 45 (12): 2381-289.
30. Chen Y, Xu J, Yu M, Chen X, Shi J. Lead contamination in different varieties of tea plant (*Camellia sinensis*) and factors affecting lead bioavailability. J Sci Food Agric 90(9): 1501-1507.
31. Tokalioglu S, Kartal S. Bioavailability of soil- extractable metals to tea plant by BCR sequential extraction procedure. Instrumentation Science and Technology 2004; 32(4): 387-400.
32. Natesan S, Ranganathan V. Contents of various elements in parts of the tea plant and in infusion of black tea from southern India. J Sci Food Agric 1990; 51 (1): 125- 139.
33. Marbaniang DG, Baruah P, Decruse R, Dkhar ER, Diengdoh DE, Nongpiru CL. Study of trace metals (Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd) composition in tea available at Shillong, Meghalaya, India. International Journal of environmental Protection (IJEP) 2011; 1(1): 13- 21.
34. Waqar A, Mian AA. Levels of selected heavy metals in black tea varieties consumed in Saudi Arabia. Bull Environ Contam Toxicol 2008; 81 (1): 101-104.