

## Study on lead levels in infusion time of imported green and black tea (*Camellia sinensis L*)

*Niloufar Ehsani*<sup>1</sup>, *Parisa Ziarati*<sup>2</sup>, *Maryam Salami*<sup>3</sup>

<sup>1</sup>PhD Student in Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup> Faculty Member, Department of Medicinal Chemistry, Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Faculty, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Associate Professor, Department of Food Science and Engineering, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran

### Abstract

**Background:** Nowadays, tea is the most popular and frequently consumed beverages in the world after water. There are some beneficial trace elements in tea such as fluoride, caffeine and essential minerals, although there may be heavy metals in tea leaves which threat seriously human health. Therefore, the main objective of current study was to determine and monitor lead content in imported black and green tea leaves (*Camellia sinensis L*) and time of infusion and to compare the release of Pb from them by the time factor.

**Materials and methods:** The mean content of lead in 450 brewed samples of green and black tea were determined in three different duration time of infusion (5, 10, and 15 minutes) by graphic atomic absorption spectrophotometer. Samples were prepared by wet digestion method due to international protocols AOAC by concentrated nitric and hydrochloric acid. Analysis of variance (ANOVA) was employed to detect significances among samples from different time of infusion in samples.

**Results:** The results showed that in the brew of dry black and green tea samples, the amount of lead was less than the allowable limit of the dry tea sample (1ppm). Also the amount in the brewed tea in 15 minutes was higher than 10 minutes and it was higher than 5 minutes.

**Conclusion:** The amount of lead in the brewed tea was lower than in the dry samples. The best time to brew tea is 5 minutes, when the amount of lead is the lowest and the organoleptic properties have the best conditions in terms of flavor.

**Keywords:** *Heavy metals, Lead, Essential elements, Dry tea, Beverages and brewed tea.*

**Cited as:** Ehsani N, Ziarati P, Salami M. Study on lead levels in infusion time of imported green and black tea (*Camellia sinensis L*). Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2021; 31(2): 173-183.

**Correspondence to:** Niloufar Ehsani

**Tel:** +98 9224984198

**E-mail:** niloufar.ehsani@tabrizu.ac.ir

**ORCID ID:** 0000-0001-6688-7503

**Received:** 4 May 2020; **Accepted:** 20 Oct 2020

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی

دوره ۳۱، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، صفحات ۱۷۳ تا ۱۸۳

## بررسی مقادیر سرب در نمونه‌های وارداتی چای سیاه و سبز (*Camellia sinensis* L) و تعیین عامل زمان دم کردن نمونه‌ها

نیلوفر احسانی<sup>۱</sup>، پریسا زیارتی<sup>۲</sup>، مریم سلامی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری علوم و مهندسی صنایع غذایی گرایش مهندسی صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

<sup>۲</sup> عضو هیات علمی گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۳</sup> دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** امروزه چای بعد از آب آشامیدنی، سالم‌ترین و پرمصرف‌ترین نوشابه در سطح جهان به شمار می‌آید. ترکیبات مفید در چای مانند فلوراید، کافئین و مواد معدنی ضروری و از طرفی دیگر فلزات سنگین و سمی اثرات نامطلوب بر روی انسان دارند. هدف از این مطالعه، سنجش میزان سرب در نمونه‌های چای سبز و سیاه وارداتی و بررسی عامل زمان دم کردن در آزاد شدن سرب بود. **روش بررسی:** در این تحقیق فلز سنگین سرب در ۴۵۰ نمونه از چای سبز و سیاه وارداتی و دم‌کرده نوشیدنی هر دو چای در سه زمان ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه مورد بررسی و آنالیز داده‌ها با نرم افزار SPSS22 و آزمون ANOVA انجام شد. آماده سازی نمونه‌ها، توسط نیتریک اسید غلیظ و هیدروکلریدریک اسید غلیظ به روش هضم مرطوب انجام شد و میزان سرب با دستگاه اسپکتروفتومتری جذب اتمی کوره‌گرافیتی آنالیز گردید. **یافته‌ها:** نتایج حاصل نشان داد که در دم‌کرده نمونه‌های چای سیاه و سبز خشک، مقدار سرب کمتر از حد مجاز نمونه چای خشک (ppm) و همچنین مقدارش در دم‌کرده چای در دقیقه ۱۵ بالاتر از دقیقه ۱۰ و آن نیز بالاتر از دقیقه ۵ شد. **نتیجه‌گیری:** مقدار سرب در دم‌کرده انواع چای پایین‌تر از نمونه‌های خشک بود. بهترین زمان برای دم کردن چای مدت زمان ۵ دقیقه است که میزان سرب در کمترین مقدار خواهد بود و ویژگی‌های ارگانولپتیک از لحاظ عطر و طعم بهترین شرایط را دارد. **واژگان کلیدی:** فلزات سنگین، سرب، عناصر ضروری، چای خشک، نوشیدنی و دم‌کرده چای.

### مقدمه

از نقطه نظر گیاه شناسی، چای گیاهی خزان ناپذیر و همیشه سبز از شاخه نهاندانگان و رده گیاهان دو لپه‌ای و از خانواده Theacea و جنس *Camellia sinensis* است (۱). به طور کلی، ۴ نوع چای در سراسر جهان وجود دارد: چای تخمیری (چای سیاه)، چای تخمیر نشده (چای سبز)، چای

نیمه تخمیری (چای اولانگ و پوچونگ)، چای سفید (۲). از آنجایی که چای یکی از مهم‌ترین نوشیدنی‌ها در تمام جهان است و ۷۵٪ از چای جهان از انواع چای سیاه است، مطالعات گوناگونی بر روی فلزات موجود در چای و نقش آنها در سلامتی انجام شده است. بدن انسان به عناصر فلزی و غیرفلزی برای رشد و سلامتی نیاز دارد که مقدار غلظت مناسب این عناصر برای افراد مختلف از نوزادان تا بچه‌ها و بزرگسالان از زن و مرد از یک عنصر به عنصر دیگر متفاوت است. گیاه چای قادر است مقادیر نسبتاً زیادی از عناصر ضروری برای بدن نظیر کبالت، کروم و ... و نیز عناصر غیرضروری و بلکه مضر نظیر کادمیم، سرب، قلع و ... را از

آدرس نویسنده مسئول: گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز -

تبریز - ایران (email: niloufar.ehsani@tabrizu.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0001-6688-7503

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۲/۱۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۹/۷/۲۹

چای به عنوان یکی از محبوب ترین نوشیدنی غیر الکلی است که از چین نشأت گرفته است. بوته گیاه چای در بیشتر از ۴۵ کشور گسترش یافته است. گیاه چای در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری با بارش مناسب و خاک های اسیدی به خوبی رشد می کند. منافع اقتصادی و اجتماعی از چای این حقیقت را قابل درک کرده است که حدود ۱۸ تا ۲۰ بیلیون فنجان چای به صورت روزانه در جهان مصرف می شود (۲).

تاکنون ۵۱ اثر مختلف از چای گزارش شده که مهم ترین این خواص عبارتند از: ضد درد، ضد آمیب، ضد آلزایمر (ضد فراموشی)، ضد آرتروز، ضد تصلب شرايين، ضد باکتری، ضد سرطان، ضد افسردگی، ضد قند خون، ضد التهاب، ضد جهش ژنی، ضد نیتروز آمین، ضد اکسیدان، ضد اسپاسم، ضد ویروس، قابض، مقوی قلب، محرک سیستم عصبی مرکزی، ادرار آور، محافظ کبد، کاهنده پرفشاری خون، محرک قدرت ایمنی بدن، کاهش دهنده چربی خون، کاهش دهنده تری گلیسریدها و محرک مجاری تنفسی. خواص مذکور بین چای سبز و معمولی مشترک بوده و بسته به درصد مواد موجود در آنها ممکن است در قدرت اثر آنها تفاوت وجود داشته باشد (۶).

چای برای شست و شو و رفع خستگی چشم بسیار مفید است و همچنین به عنوان مرهم مورد استفاده قرار می گیرد (۷). عوارض مصرف بیش از حد چای به ترکیبات موجود در آن از قبیل پلی فنل (تانن ها)، زانتان ها، زانتین ها و کافئین مربوط است که دارای اثرات خوب در مصارف متعادل و اثرات بد در مصارف بسیار زیاد هستند. مواد مذکور به طور خالص و به تنهایی دارای عوارض هستند، درحالی که به همراه ترکیبات طبیعی چای، بی زیان هستند.

می توان گفت که هیچ مقاله یا گزارشی در مورد اثرات جانبی چای با مصرف معمول وجود ندارد و به طور مثال تنها یک مورد مربوط به خانمی است که روزانه معادل ۶۵ گرم چای خشک به مدت ۵ سال مصرف می کرده است و عوارض کبدی در او مشاهده شد که ممکن است مربوط به این مساله باشد. این میزان مصرف چای حداقل ده برابر مقدار مصرف توصیه شده برای مصرف روزانه است (۷).

دلایل اصلی مصرف چای سبز از دیدگاه پژوهشگران، به قرار زیر است:

- جلوگیری از سرطان به علت وجود آنتی اکسیدان های موجود در آن با مصرف چای سبز کلسترول خون و بیماری های قلبی به میزان قابل توجهی کاهش می یابد.
- چای سبز به عنوان داروی ضد پیری

خاک به خصوص خاک های اسیدی و آلوده جذب و در برگ های خود ذخیره کند (۳). اگرچه غلظت فلزات در دم کرده چای معمولاً اندک است، اما می تواند بخش مهمی از کل عناصر ورودی به بدن را تشکیل دهد، زیرا به مقدار زیادی نوشیده می شود. اندازه گیری فلزات مهم در چای می تواند مقدار ورودی این عناصر را به بدن از طریق چای، نسبت به کل مقدار روزانه ورودی آنها تعیین کند (۴). ایراد اصلی فلزات سنگین این است که در بدن متابولیزه نمی شود. در واقع فلزات سنگین پس از ورود به بدن، دیگر از بدن دفع نشده و در بافت های بدن انباشته می شود، همین امر موجب بروز بیماری ها و عوارض متعددی در بدن می شود. آنها رشد و گسترش عفونت های ویروسی، باکتریایی و قارچی را نیز افزایش می دهند، فلزات سنگین همچنین جایگزین دیگر املاح و مواد معدنی مورد نیاز در بدن می شوند. برای مثال فلزات سنگین در بافت های عروق، عضلات و استخوان ها و مفاصل رسوب می کنند و یا در صورت کمبود روی در مواد غذایی کادمیوم جایگزین آن خواهند شد. مضرات فلزات سنگین شامل اختلالات عصبی (پارکینسون، آلزایمر، افسردگی، اسکیزوفرنی)، انواع سرطان ها، فقر مواد مغذی، بر هم خوردن تعادل هورمون ها، چاقی سقط جنین، اختلالات تنفسی و قلبی عروقی، آسیب به کلیه ها، کبد و مغز، آلرژی و آسم، ناباروری، خستگی و کم خونی، تخریب ژن ها، اختلالات پوستی است. لذا بررسی میزان فلزات سنگین در مواد غذایی از اهمیت فزاینده ای برخوردار است (۳). سرب سبب اختلال در واکنش های آنزیمی بدن و به خصوص در سنتز مولکول "هم" می شود که قسمت اساسی هموگلوبین بوده و برای انتقال اکسیژن در تمام بدن انسان، جزء اساسی است. همچنین سبب کاهش عمر گلبول های قرمز خون شده و باعث عوارض کلیوی، قلبی، عصبی، کم خونی و ضایعات مغزی می شود. سرب با عبور از کیسه و بند جفت، روی جنین اثرات سوء می گذارد و در استخوان های دراز بدن (مانند دست و پا) ایجاد رسوبات شیار مانند می کند. سرب سبب توهّم زایی و کاهش حافظه می شود. سرب در کودکان سبب تاخیر در رشد و نمو می شود. روی قلب اثر گذاشته و سبب افزایش فشار خون می شود. ترکیبات سرب، موتازن و کارسینوژن است و سرطان کلیه و ریه می دهد. سرب سبب درد در دستگاه گوارشی می شود. سرب در مردان سبب کاهش تعداد و غلظت اسپرم می شود و در فرآیند اسپرم سازی اختلال ایجاد می کند. در مجموع، سرب اگر به طور دائم و مزمن وارد بدن انسان شود، تقریباً روی تمامی سیستم های بدن انسان اثر می کند (۵).

تجمع کنند، به تدریج سمیت خود را آشکار می کنند. آشکار شدن غلظت های بالا برای ایجاد حالت سمی در بدن لازم نیست. همانطور که فلزات در بافت های بدن تجمع می کنند، بعد از مدتی، به سطوح غلظت سمی می رسند (۹).

در چای ترکیباتی وجود دارند که برای سلامتی انسان مفید هستند، مانند فلوراید، کافئین و مواد معدنی ضروری. مطالعات نشان داده اند که عناصر کمیاب و ناچیزی (فلزات با جرم اتمی بالا) در چای وجود دارند، که به علت این است که گیاه چای به طور طبیعی در خاک های بسیار اسیدی رشد می کند، جایی که عناصر کمیاب چای به طور بالقوه از طریق ریشه گیاه چای، جذب می شوند. آلودگی برگ های چای به فلزات سنگین ممکن است یک تهدید جدی برای سلامتی انسان را در بر داشته باشد، زیرا آنها در محیط زیست تخریب پذیر نیستند و در محیط باقی می ماند و وارد زنجیره غذایی می شوند. عناصر کمیاب چای ممکن است اثرات مفید و نامطلوب بر روی انسان داشته باشد. به عنوان مثال تجمع مس در مقادیر کم در چای ضروری و در مقادیر بالاتر سمی هستند. مصرف مداوم چای می تواند نیاز روزانه به برخی از عناصر را برطرف کند. تاکنون تلاش های بسیاری برای تعیین محتویات فلزات سنگین چای، جداسازی آنها و اندازه گیری های مقدار آنها انجام شده است. ترکیبات فلزی برگ های چای با توجه به نوع چای (سبز، سیاه و سفید) و منشأ رویش آنها متفاوت است. تعیین عناصر کمیاب موجود در چای از دو جنبه مهم است: ارزش تغذیه ای این عناصر و محافظت در برابر هر گونه اثر سوء احتمالی (۲، ۱۰).

سرب از نظر فراوانی در پوسته زمین کمتر از عناصر مس و روی بوده و سی و یکمین عنصر فراوان در پوسته زمین است. عدد اتمی سرب ۸۲، به رنگ خاکستری کدر و فلزی سمی، چکش خوار و سنگین ترین عنصر پایدار است. مقاومت به خوردگی خوبی داشته و در مجاورت هوا روی سطح سرب لایه ای از کربنات تشکیل می شود که بقیه فلز را از خورده شدن محافظت می کند. قابلیت ریخته گری خوب سرب به علت نقطه ذوب پایین آن است (۱۱).

دریافت روزانه ۵ میکروگرم سرب به ازای هر کیلوگرم وزن بدن انسان سبب مسمومیت مزمن می شود. نیمه عمر مغز استخوانی سرب ۳۲ سال است. نیمه عمر کلیوی سرب حدود ۷ سال است (۵).

هدف از این مطالعه، سنجش میزان سرب در نمونه های چای سبز و سیاه وارداتی و بررسی عامل زمان دم کردن در آزاد شدن سرب بود.

• با نوشیدن چای سبز، متابولیسم چربی های بدن تسریع شده و چربی اضافی در بدن ذخیره نمی شود.

• چای سبز به عنوان دارویی برای کاهش خطر ابتلا به ورم مفاصل، ناشی از روماتیسم

• درصد بالای فلوراید در چای سبز استخوان ها و دندان ها را در مقابل آسیب (پوسیدگی و پوکی) محافظت می کند.

• چای سبز مانع از ذخیره گلوکز در سلول های چربی می شود.

• چای سبز فعالیت سلول های مغز به ویژه بخش های مربوط به حافظه را تقویت و تحریک می کند، باعث کاهش میزان استیل کولین در سلول های مغز و مانع از تخریب سلول های مغز و بیماری آلزایمر می شود.

• آنتی اکسیدان های موجود در چای سبز مانع از تخریب سلول های مغز و بروز بیماری پارکینسون است.

• چای سبز با کنترل عملکرد و محافظت از ساختار دیواره رگ ها، مانع از بروز فشار خون بالا می شود.

• پلی فنل ها و پلی ساکارید های موجود در چای سبز باعث کاهش قند خون می شود.

• ویتامین C موجود در چای سبز با تقویت سیستم ایمنی، بدن را در مقابل بیماری های فصلی مانند سرماخوردگی و آنفلوآنزا در زمستان، اسهال و استفراغ در فصل تابستان و حساسیت های فصل پاییز، مقاوم می کند.

• تنوفیلین موجود در چای سبز باعث آرامش و رفع التهاب و حساسیت دستگاه تنفس می شود.

• نوشیدن چای سبز گوش را در برابر عفونت و تورم محافظت می کند.

• تبخال مشکلی است که عاملی ویروسی دارد، اما با چای سبز می توان بهبود آن را تسریع کرد.

• چای سبز با از بین بردن باکتری های نامناسب محوطه دهان، بوی بد دهان و تنفس بد بو را نیز مرتفع می کند.

• اپی گالوکاتچین گالات (EGCG) ترکیب ضد حساسیتی در چای سبز، با تاثیر بر سیستم ایمنی بدن، بدن را در مقابل حساسیت ها مقاوم می کند. این ترکیب با عملکردی عایق مانند مانع از اتصال ویروس HIV روی سلول های سیستم ایمنی بدن و ایجاد ضعف در سیستم ایمنی بدن می شوند (۸).

فلزات سنگین ممکن است در محیط رها شوند و در هوا، آب آشامیدنی و غذا یافت می شوند یا تعداد محدودی تولیدات شیمیایی توسط انسان ایجاد می شوند. فلزات سنگین از طریق تنفس، همراه غذا، یا جذب از طریق پوست وارد بدن می شوند که اگر با سرعتی بیش از راه های سم زدایی بدن در بافت ها

## مواد و روشها

در این مطالعه مقطعی، هدف اصلی اندازه گیری میزان سرب در انواع نمونه‌های چای سبز و سیاه وارداتی و همچنین بررسی عامل زمان دم کردن در آزاد شدن سرب در نوشیدنی چای بود. ۲۲۵ نمونه چای سیاه خشک وارداتی (از نوع کلکته هندوستان) و ۲۲۵ نمونه چای سبز خشک وارداتی (از نوع ژنمایکای چین) در بسته های ۱۰۰ گرمی از دو برند معتبر پر فروش از بازار تهران در سری های ساخت مختلف به صورت تصادفی، در پاییز ۱۳۹۶ دریافت و برای آزمون اندازه گیری سرب به آزمایشگاه تحویل داده شد. همه آزمایش ها با ۳ بار تکرارپذیری صورت گرفت. در مجموع ۵۰۰ نمونه چای خشک و ۱۵۰۰ نمونه دمنوش بررسی شد.

در این مطالعه متغیر موجود، مقدار سرب در انواع چای سیاه و سبز و دم کرده آنها به صورت نوشیدنی در ۳ زمان مختلف دم کردن بود.

تمامی استانداردهای استوک و مواد مورد نیاز در این مطالعه از نوع آنالیز و آب مورد استفاده، آب دیونیزه بوده که از شرکت چشمه زلال سبلان تهیه شد. در تمامی مراحل از ظروفی استفاده گردید که به مدت ۲۴ ساعت در نیتریک اسید ۱۰٪ قرار داشتند (شستشوی اسیدی شده) و در نهایت با آب دیونیزه شست و شو شدند.

## آماده سازی نمونه‌های خشک چای سیاه و سبز

حدود ۰/۵۰۰ گرم از هر نمونه چای پودر شده، در داخل ارلن ۲۵۰ میلی لیتری توزین شد. به هر کدام از ارلن ها ۵۰ میلی لیتر مخلوط اسید (با نسبت ۴ به ۱ از نیتریک اسید ۶۵٪ و هیدروکلریک اسید ۳۷٪) افزوده شد و به مدت یک شبانه روز در دمای محیط قرار داده شد. سپس ارلن‌ها را روی هات پلیت گذاشتیم تا به آرامی بجوشند. حرارت دادن آنقدر ادامه یافت تا بخارات قهوه ای رنگ خارج و محلول داخل ارلن کاملا شفاف شد و حجم اسید داخل ارلن ها، تقریبا به ۵ تا ۱۰ میلی لیتر رسید. پس از خنک شدن، محتوی داخل ارلن‌ها توسط قیف شیشه‌ای و کاغذ صافی، به بالن ژوژه ۵۰ میلی لیتری انتقال یافت و در نهایت با آب دیونیزه به حجم رسانده شد. پس از این مراحل نمونه جهت اندازه گیری عنصر سرب به دستگاه جذب اتمی کوره گرافیتی مدل RAYLEIGH-WFX-210 تزریق شد.

## آماده سازی نمونه‌های دم کرده چای سیاه و سبز

برای هر یک از نمونه‌های چای سیاه و سبز ۳ فنجان مخصوص تست ارگانولپتیک در نظر گرفته شد. حدود ۲/۸ گرم از هر یک از نمونه‌های چای خشک سیاه و سبز، داخل

فنجان های مذکور توزین شد و به هر کدام از فنجان‌ها ۱۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه جوش افزوده شد. برای دم کردن هر یک از نمونه‌های چای سیاه و سبز ۳ زمان مختلف ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه در نظر گرفته شد. پس از طی هر یک از زمان‌های دم کردن، نمونه‌ها روی قیف و کاغذ صافی در داخل ارلن صاف شد و ۲۵ میلی لیتر از این محلول صاف شده به ارلن ۲۵۰ میلی لیتری منتقل و در نهایت برای اینکه حجم محلول کاهش یابد بر روی حرارت قرار داده شد. پس از خنک شدن، مخلوط اسید (با نسبت ۴ به ۱ از نیتریک اسید و هیدروکلریک اسید) اضافه شد و روی هات پلیت حرارت گذاشته شد، تا محلول شفافی به دست آمد. محلول باقیمانده داخل ارلن به بالن ۵۰ میلی لیتری منتقل شد و با آب دیونیزه به حجم رسانده شد. پس از این مرحله مقدار عنصر سرب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتری جذب اتمی کوره گرافیتی اندازه گیری شد. برای اندازه گیری سرب از دستگاه اسپکتروفوتومتری جذب اتمی کوره گرافیتی مدل RAYLEIGH-WFX-210 استفاده شد. پس از انتخاب برنامه مربوط به عنصر سرب، طول موج و شرایط نوری دستگاه برای عنصر سرب تنظیم شد. ۳۰ دقیقه زمان دادیم تا لامپ عنصر مورد نظر گرم شود. برای عنصر سرب از قسمت کوره گرافیتی و اتوسمپلر دستگاه استفاده شد. در قسمت شاهد (Sample Blank) نیتریک اسید ۰/۱ نرمال قرار داده شد (جدولهای ۱ و ۲).

استانداردهای مربوط به منحنی کالیبراسیون (به ترتیب از غلظت کم به زیاد)، شاهد و نمونه‌های آماده شده در تیوب‌های مخصوص در قسمت اتوسمپلر قرار و دستور تزریق و خواندن جذب هر یک از محتوی تیوب ها را دادیم. برای هر یک از استانداردها و نمونه‌ها دو بار تزریق انجام شد. RSD دو بار تکرار باید حداکثر ۱۰ باشد. پس از خوانده شدن مقدار جذب هر یک از استانداردها و به دست آمدن غلظت آن ها، منحنی کالیبراسیون توسط دستگاه رسم شد. از روی این منحنی مقدار غلظت سرب در هر یک از نمونه‌ها تعیین شد (شکل ۱).

## تحلیل آماری

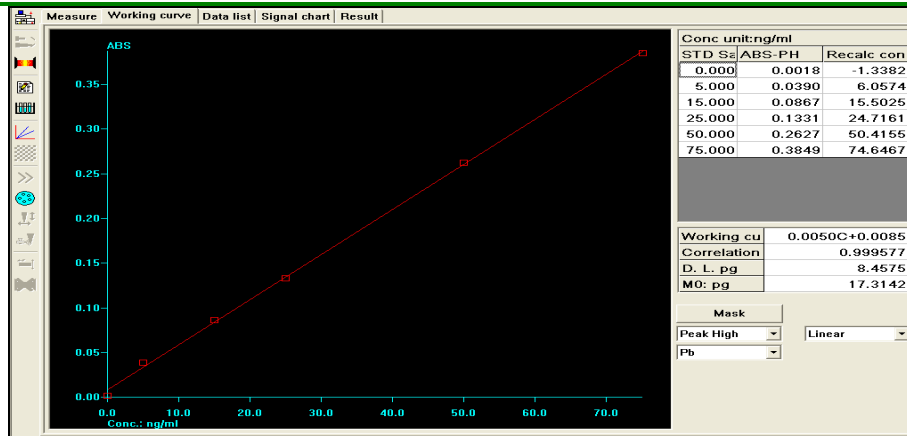
برای تحلیل داده‌ها از آزمون ANOVA و نرم‌افزارهای SPSS.۲۲ و MINITAB18 استفاده شد. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۱. پارامترهای دستگاهی جهت خواندن میزان سرب موجود در نمونه های خشک چای و دم کرده آن‌ها (Lead Analysis Condition)

عناصر/شرایط دستگاه	سرب
طول موج	۲۸۳/۳ nm
(شکاف) پهنای باند	۰/۲ nm
منبع تابش	لامپ هالو کاتد
پاسخ	تصحیح زمینه با دوتریوم
روش اندازه گیری	کوره گرافیتی
ولتاژ فتومولتی پلایر	۳۸۴۷
جریان هالوکاتد لامپ	۱/۸ mA
جریان دوتریوم	۶۴/۰ mA

جدول ۲. پارامترهای کنترلی کوره گرافیتی جهت خواندن میزان سرب موجود در نمونه های خشک چای و دم کرده آن‌ها (Atomization Lead Condition)

مرحله	دما (°C)	سرعت (ثانیه)	زمان نگهداری (ثانیه)
خشک شدن	۹۵	۱۰	۲۰
خاکستر شدن	۴۰۰	۱۰	۱۵
اتمی شدن	۲۲۰۰	۰	۵
تمیز شدن	۲۴۰۰	۰	۲



شکل ۱. منحنی کالیبراسیون سرب

سبز-ویژگی‌ها و روش‌های آزمون) بیشینه  $1 \text{ mg/kg DW}$  است.

مقایسه مقادیر سرب ( $\text{mg/kg DW}$ ) در نمونه‌های چای خشک و دم کرده آنها

در نمونه‌های دم کرده چای سیاه، بیشترین مقدار سرب در نمونه دم کرده در ۱۵ دقیقه به میزان  $0.739 \text{ mg/kg DW}$  بود و کمترین مقدار سرب در نمونه دم کرده در ۵ دقیقه به میزان  $0.239 \text{ mg/kg DW}$  دیده شد (نمودار ۱). در نمونه‌های دم کرده چای سبز، بیشترین مقدار سرب در نمونه دم کرده در ۱۵ دقیقه به میزان  $0.996 \text{ mg/kg DW}$  بود و کمترین مقدار سرب در نمونه دم کرده در ۵ دقیقه به میزان  $0.284 \text{ mg/kg DW}$  دیده شد (نمودار ۲). در مقایسه بین نمونه چای خشک سیاه و سبز، بیشترین میزان سرب

## یافته‌ها

غلظت عنصر سرب ( $\text{mg/kg DW}$ ) در نمونه‌های خشک

چای سیاه و سبز و دم کرده آنها

یک نمونه چای سیاه خشک، یک نمونه چای سبز خشک و دم کرده هر کدام از آنها در سه زمان ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه آماده‌سازی شد و توسط دستگاه جذب اتمی مورد آنالیز قرار گرفت. غلظت سرب در نمونه‌های چای خشک سیاه و سبز و دم کرده آنها به ترتیب در جدول‌های ۳ و ۴ آورده شده است. کلیه اندازه‌گیری‌ها حداقل در سه مرتبه انجام شد.

حد مجاز و استاندارد عنصر سرب در چای خشک سیاه طبق استاندارد ۶۲۳ (چای سیاه - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون) و چای خشک سبز طبق استاندارد ۱۰۷۶۸ (چای

جدول ۳. میانگین غلظت سرب در نمونه های چای خشک سیاه و دم کرده های آن (میلی گرم / کیلوگرم  $\pm$  انحراف معیار)

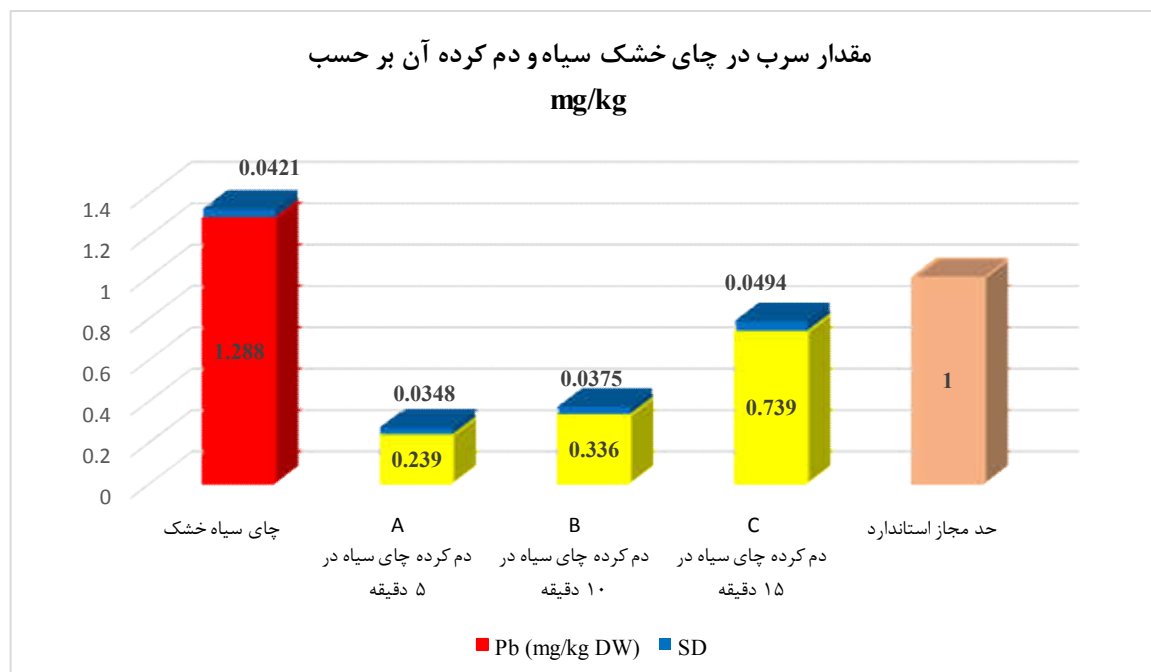
نمونه	Pb (mg/kgDW) $\pm$ SD*
چای سیاه خشک	<sup>a</sup> ۱/۲۸۸ $\pm$ ۰/۰۴۲۱
دم کرده چای سیاه در ۵ دقیقه	<sup>d</sup> ۰/۲۳۹ $\pm$ ۰/۰۳۴۸
دم کرده چای سیاه در ۱۰ دقیقه	<sup>c</sup> ۰/۳۳۶ $\pm$ ۰/۰۳۷۵
دم کرده چای سیاه در ۱۵ دقیقه	<sup>b</sup> ۰/۷۳۹ $\pm$ ۰/۰۴۹۴

\*SD= Standard Deviation

جدول ۴. میانگین غلظت سرب در نمونه های چای خشک سبز و دم کرده های آن (میلی گرم / کیلوگرم  $\pm$  انحراف معیار)

نمونه	Pb (mg/kgDW) $\pm$ SD*
چای سبز خشک	<sup>a</sup> ۱/۸۸۰ $\pm$ ۰/۰۱۵۱
دم کرده چای سبز در ۵ دقیقه	<sup>d</sup> ۰/۲۸۴ $\pm$ ۰/۰۰۸۲
دم کرده چای سبز در ۱۰ دقیقه	<sup>c</sup> ۰/۵۶۳ $\pm$ ۰/۰۰۹۲
دم کرده چای سبز در ۱۵ دقیقه	<sup>b</sup> ۰/۹۶۷ $\pm$ ۰/۰۱۹۳

\*SD= Standard Deviation



نمودار ۱. مقایسه میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) میزان سرب (mg/kg DW) در هر یک از نمونه های چای سیاه خشک و دم کرده های آن در زمان های مختلف با مقدار حد مجاز استاندارد ملی ایران به شماره ۶۲۳

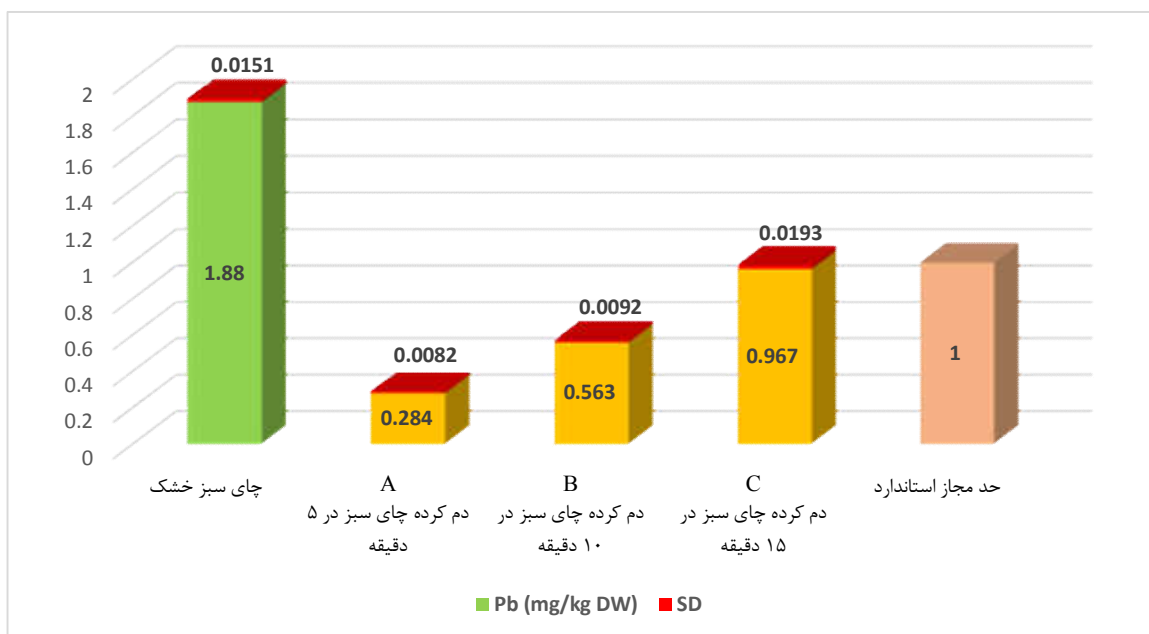
اختلاف معنی داری در فلز سرب در هر یک از زمان های دم کردن در هر دو نوع چای سبز و سیاه به صورت جداگانه (هر کدام از ستون های A و B و C) وجود نداشت، به این معنی که مقدار حاصله در فاصله اطمینان ۹۵٪ بیش از ۰/۰۵ بود ( $P > ۰/۰۵$ ).

در مقایسه بین زمان های دم کردن ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه، (مقایسه بین ستون های A و B و C) در فلز سرب در هر دو نوع چای سبز و سیاه اختلاف معنی داری وجود داشت و

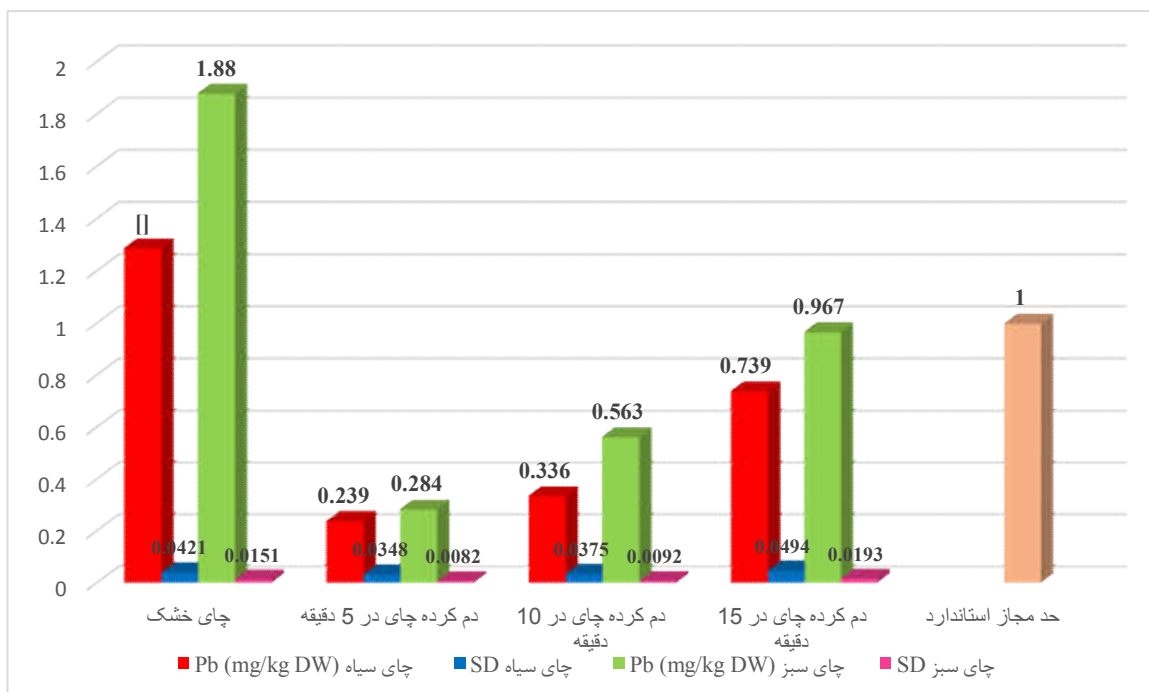
در چای سبز به میزان ۱/۸۸۰ mg/kg DW دیده شد (نمودار ۳).

در مقایسه میزان سرب در بین نمونه های دم کرده چای سیاه و سبز، بیشترین مقدار سرب در نمونه دم کرده در ۱۵ دقیقه در چای سبز به میزان ۰/۹۶۶ mg/kg DW و کمترین مقدار سرب در نمونه دم کرده در ۵ دقیقه در چای سیاه به میزان ۰/۲۳۹ mg/kg DW دیده شد (نمودار ۳).

با توجه به جداول مربوط به مقادیر بحرانی تست کوچران، نمودارهای رسم شده در این بررسی بیانگر این است که



نمودار ۲. مقایسه میزان میانگین (± انحراف معیار) میزان سرب (mg/kg DW) در هر یک از نمونه های چای سبز خشک و دم کرده های آن در زمان های مختلف با مقدار حد مجاز استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۷۶۸



نمودار ۳. مقایسه میزان میانگین (± انحراف معیار) میزان سرب (mg/kg DW) در برگهای چای سیاه و سبز به صورت خشک و دم کرده های آنها با توجه به عامل مدت زمان

### بحث

در مطالعه‌ای که توسط زازولی و همکارانش در شمال ایران بر روی چای سیاه و دم کرده چای انجام گرفت، میانگین میزان سرب  $2/30 \pm 1/60$  mg/kg گزارش شد. همچنین با افزایش

مقدار به دست آمده در فاصله اطمینان ۹۵٪ کمتر از ۰/۰۵ ( $P < 0/05$ ) بود.

در تبدیل نمونه‌های چای خشک هر دو نوع چای سیاه و سبز به نوشیدنی دم کرده آنها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0/05$ ).

نوشیدنی چای در جذب مواد معدنی به خوبی مشخص نشده است. از آنجا که دسترس پذیری زیستی بسیاری از فلزات در چای نامشخص است و به عواملی چون pH معده مرتبط است، می‌توان نتیجه گرفت که میزان جذب این فلزات در بدن بسیار کاهش می‌یابد (۱۶). متسورا و همکارانش در بررسی‌هایی که انجام دادند کاهش بیش از ۸۰٪ فلزات سنگین را از چای خشک به چای دم کرده اعلام کردند (۱۷).

در مطالعه‌ای که توسط آچودام و اووای در نیجریه بر روی مقدار فلزات سنگین در چای‌های عرضه شده صورت گرفت، دو روش آبی و خشک استفاده شد که در روش خشک، نمونه خشک شده توسط مخلوط اسیدها هضم و سپس مقدار آن اندازه‌گیری شد و در روش آبی عصاره گرم نمونه‌های چای بعد از جوشاندن و فیلتراسیون با مخلوط اسیدها هضم شد و سپس مقدار آن تعیین شد. نتایج نشان داد که مقدار فلزات به صورت زیر است: روی > کادمیوم > مس > سرب. همچنین در عصاره آبی چای سطح بالایی از آهن و منیزیم موجود بود. تغییرات و اختلاف در مقدار و محتوای فلزات سنگین در نمونه‌های مختلف چای به دلیل شرایط جغرافیایی، تغییرات فصلی و ویژگی‌های شیمیایی مناطقی است که گیاه چای در آنجا رشد می‌کند (۱۸).

حسین و همکارانش در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۶ در پاکستان انجام شد، فلزات سنگین (سرب، کروم، کادمیوم، مس، آهن، نیکل، کبالت و منگنز) و عناصر دیگر مانند سدیم و پتاسیم را در هر دو نوع چای سیاه و سبز موجود در بازار به روش اسپکتروسکوپی جذب اتمی مورد بررسی قرار دادند. مقدار سرب در تمامی نمونه‌های مورد بررسی و مقدار کروم در یکی از نمونه‌های چای سیاه بالا گزارش شد (۱۹).

تسلیمی و همکارانش در مطالعه‌ای که با عنوان ارزیابی میزان آلومینیم و برخی عناصر سنگین در چای‌های پر مصرف شهر تهران در سال ۱۳۸۶ انجام شد، چهار گروه نمونه چای ایرانی، خارجی، مخلوط و کیسه‌ای در تهران را مورد مطالعه قرار دادند که در آن نمونه‌ها به روش هضم مرطوب آماده سازی شده و سپس مقدار نمونه‌ها با دستگاه اسپکترومتر ICP-OES تعیین شد. نتایج نشان داد که مقدار عناصر سرب، کبالت، کادمیوم در تمام نمونه‌ها کمتر از حد تشخیص دستگاه است. این بررسی نشان داد که مقادیر عناصر در اغلب نمونه‌های چای ایرانی بیشتر از سایر انواع چای است (۴).

لاشین و همکارانش مقدار فلزات سنگین در ۶ نوع مختلف از چای سیاه و سفید، یک نوع چای سبز (particle or tea bag) و دم کرده آنها را اندازه‌گیری و برای دم کردن چای‌ها از دو

زمان دم کشیدن چای ( پس از ۳۰ دقیقه) میانگین میزان سرب افزایش پیدا کرد، اما همچنان پایین‌تر از حد مجاز تعیین شده توسط سازمان جهانی بهداشت (۰/۳ mg/kgDW) و (۱۰) بود (۱۲). در مطالعه دیگری که شکوهیان و همکارانش در شمال ایران و در سال ۲۰۱۰ بر روی چای دم کشیده به روش ICP-AES انجام دادند، میانگین میزان سرب در چای دم کشیده (به مدت ۱۵ دقیقه)  $0.993 \pm 0.667$  mg/kg گزارش شد. همچنین در همان مطالعه با افزایش زمان دم کشیدن چای (پس از ۶۰ دقیقه) میزان سرب افزایش پیدا کرد (۱۳). نتایج بررسی‌های محمد علی زازولی و همکارانش و سکینه شکوهیان و همکارانش نشان می‌دهد که قابلیت حل شدن فلزات با افزایش مدت زمان دم کشیدن افزایش می‌یابد. همچنین با توجه به این دو مطالعه و مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که هر چند برگ چای و چای خشک به دلایل مختلف در طی رشد و سپس در مراحل فرآوری در کارخانه دچار آلودگی به فلزات سنگین می‌شود، ولی محتوای این فلزات در چای دم کشیده بسیار کاهش یافته و مقدار کمتری از این فلزات جذب بدن می‌شود. تجزیه و تحلیل در هر یک از نمونه‌های مورد آزمون انجام شد و مقدار غلظت فلزات سنگین سرب، کادمیوم و مس بررسی شد (۱۲، ۱۳). در بررسی که توسط حمید رضا رحمانی و همکارانش انجام شد، سرب حاصل از سوخت وسایل نقلیه به عنوان مهم‌ترین و بیشترین منبع آلوده کننده محیط ذکر شده است. غلظت سرب خاک در کنار جاده زیاد بوده و با فاصله از جاده کاهش یافت. زیاد بودن میزان سرب خاک در کنار جاده و کاهش ناگهانی آن با فاصله از کنار جاده را احتمالاً می‌توان در ارتباط با وزن نسبی زیاد ذرات سرب و سقوط سریع آنها دانست. تحقیقاتی که در این زمینه انجام شده نشان می‌دهد ذرات درشت سرب خارج شده از اتومبیل‌ها، بیشتر در کنار جاده و تا شعاع کمتر از ۱۰۰ متری رسوب کرده، اما ذرات ریز رسوب وارد هوا شده و در نهایت توسط باران و برف بر سطح خاک فرود می‌آید (۱۴). عوامل مختلفی می‌توانند بر میزان عناصر موجود در گیاه اثر بگذارند که این عوامل می‌توانند مربوط به خاک، اتمسفر و یا فرآوری باشند. رشد چای تحت تاثیر عواملی قرار می‌گیرد که تحت تاثیر تغییر فصل، مثل رطوبت نسبی هوا، اختلاف دمای شب و روز، طول روز، رطوبت در دسترس گیاه در خاک و دمای خاک، هستند. برداشت چای از بوته‌اش بیش از یک بار در سال صورت می‌گیرد به صورتی که برداشت اول در بهار و برداشت دوم در تابستان است (۱۵). درصد فلزات سنگین در دسترس برای جذب در دستگاه گوارش متفاوت است. سهم

چای بالا بود، در حالی که مقدار سرب، مس و روی کمتر از حداکثر حدود مجاز برای چای خشک است (۲۲).

لازم به ذکر است که این مطالعه کاملاً همسو با سایر مطالعات بیان شده در مورد مقدار سرب است که هر چه مدت زمان دم کرده چای طولانی تر شود، مقدار سرب در آن ها بالاتر می رود.

این مطالعه نشان داد که مقدار سرب در هر دو نوع چای سیاه و سبز به صورت خشک، خیلی بیشتر از مقدار سرب در دم کرده آنها است. همچنین این بررسی نشان داد که هر چه مدت زمان دم کرده چای طولانی تر شود، مقدار سرب در آنها بالاتر می رود. به طوری که مقدار سرب در چای دم شده در ۱۵ دقیقه خیلی بیشتر از مقدار سرب در چای دم شده در زمان ۵ دقیقه است. با این حال مقدار سرب در دم کرده انواع چای همیشه پایین تر از میزان سرب در نمونه های خشک چای است. بنابراین بهترین زمان برای دم کردن چای مدت زمان ۵ دقیقه است که میزان فلز سرب در کمترین مقدار ممکن خواهد بود و ویژگی های ارگانولپتیک از لحاظ عطر و طعم بهترین شرایط را دارد. نتایج آماری نشان می دهد که در تبدیل چای خشک به نوشیدنی چای به صورت دم کرده، غلظت سرب به صورت معنی داری کاهش یافت ( $P < 0.05$ ).

در دم کرده هر دو نوع نمونه چای سیاه و سبز میزان سرب در هر سه زمان دم شدن در حد مجاز استاندارد قرار گرفت. این بررسی نشان داد که نوشیدن چای سبب مسمومیت ناشی از فلزات نمی شود. بنابراین در صورت مصرف متعادل به عنوان یک نوشیدنی مفید شماره می شود.

نوآوری این مطالعه از این جهت قابل ذکر است که مدت زمان دم کشیدن انواع چای سبز و سیاه تا ۵ دقیقه کافی است و بهتر است مدت زمان دم کردن چای طولانی نشود، به علت اینکه سرب کمتری وارد نوشیدنی و دمنوش چای می شود و در نهایت میزان سرب کمتری نیز وارد بدن انسان شده و مسمومیت حاصل از تجمع سرب در بافت های بدن کاهش می یابد. نتایج حاصل از این مطالعه در علوم پزشکی و سلامتی انسان ها از این نظر کاربرد دارد.

روش استفاده کردند. در روش infusion (افزودن آب جوش به نمونه چای) غلظت منگنز بیشترین و مس کمترین بود. در روش brew (افزودن نمونه به چای به آب جوش) مقدار هر یک از فلزات به صورت زیر بود:  $Mn > Fe > Zn > Cu > Pb$ . برای اندازه گیری فلزات از دستگاه AAS (Atomic Absorption Spectrophotometry) و LSC (Liquid Solid Chromatography) استفاده شد. نتایج حاصله نشان داد میزان فلزات سنگین در حالت brew بسیار پایین تر از روش infusion است و این به خاطر شلاته شدن این فلزات با تانیک اسید و ترکیبات تانیکی که در حین جوشش ذرات چای به وجود می آید، است (۲۰).

ملکوتیان و همکارانش در مطالعه ای که در سال ۱۳۸۸ تحت عنوان بررسی میزان سرب، کروم، نیکل و مس در چای سیاه مصرفی تهران دادند، ۱۱ نمونه چای سیاه پرمصرف شهر تهران را به روش هضم مرطوب با نیتریک اسید و کلریدریک اسید هضم کرده و غلظت فلزات سنگین آن را با کمک دستگاه طیف سنجی جذب اتمی با شعله تعیین کردند که میزان سرب و نیکل بیش از مقدار مشخص شده و کروم و مس کمتر از حد مشخص شده توسط وزارت بهداشت ایران در نمونه های چای خشک بود (۲۱).

زیارتی و همکارانش در سال ۲۰۱۲ برای ارزیابی مقدار روی، مس، کادمیوم و سرب در برگ های چای و محصولات چای، ۱۰۰ نمونه چای پس از برداشت محصول از ۱۲ مزارع بزرگ چای در ۵ شهرستان لاهیجان، سیاهکل، لنگرود، رودسر و فومن در استان گیلان در شمال ایران و ۵۰ نمونه از ۵ کارخانه چای را به طور تصادفی جمع آوری کردند. نمونه های خاک مربوط به همان مکان و زمان برگ چای کنده شده، جمع آوری شد و به خوبی مخلوط شد. نتایج مربوط به خاک نشان داد که مقدار کادمیوم در نمونه های خاک جمع آوری شده از تمام مزارع ۵ شهرستان استان گیلان بالاتر از حد مجاز WHO بود و به طور میانگین مقدار کادمیوم در تمام نمونه های برگ

## REFERENCES

- Ziarati P, Khoshhal Z, Asgarpanah J, Qomi M. Contaminations of Heavy Metals in Tea Leaves, Finished Tea Products and Liqour in Gilan Province, Iran. *Intl J Farm Alli Sci* 2013; 2: 383-87.
- Karak K, Bhagat RM. Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: a review. *Food Res Int* 2010; 43: 2234-52.
- Darbanian M, Samiei Moghaddam Z, Salari R. Evaluation of Heavy Metals in two kind of tea: tea bag & packaging tea in mashhad factories in 2011. The 21st National Congress of Food Science and Technology of Iran; Shiraz, Iran, 2013. [In Persian]
- Taslimi A, Feyzipour Nameghi AR, Jamshidpour S, Sharifzadeh Ekbatani Z. Determination of aluminum and few other elements in teas consumed in Tehran in 2006. *JFST* 2011; 103-110. [In Persian]

5. Motaghi M, Ziarati P. Adsorptive Removal of Cadmium and Lead from Oryza Sativa Rice by Banana Peel as Biosorbent. *J Biomed Pharmacol* 2016; 9:739-749.
6. Shouhe Y. Evaluation of the composition and sensory properties of tea using near infrared spectroscopy and principal component analysis. *J Near Infrared Spectrosc* 2005; 13: 313-25.
7. Salehi Surmaghi MH. Medicinal Plants and phytotherapy. Tehran: Nutrition World; 2006. P.159-64. [In Persian]
8. Ziarati P, Namvar S, Sawicka B. Heavy Metals Bio-Adsorption by Hibiscus Sabdariffa L. from Contaminated Water. *J Scientific and technical; Technogenic and Ecological Safety* 2018; 4: 22-32.
9. Razzaghi N, Ziarati P, Rastegar H, Shoeibi S, Amirahmadi M, Conti GO, et al. The concentration and probabilistic health risk assessment of pesticide residues in commercially available olive oils in Iran. *J Food and Chemical Toxicology* 2018; 120: 32-40.
10. Ansari F, Norbaksh R, Daneshmandirani K. Determination of Heavy Metals in Iranian and Imported Black Tea. *IJEHSE* 2007; 4: 243-248. [In Persian]
11. Ziarati p, Mousavi Z, Pashapour S. Analysis of Heavy Metals in Cigarette Tobacco. *J Med Discov* 2017; 2:1 jmd16006.
12. 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: 1387-1393.
13. Shekoohiyan S, Ghoochani M, Mohagheghian A, Mahvi A.H, Yunesian M, Nazmara Sh. Determination of lead, cadmium and arsenic in infusion tea cultivated in north of Iran. *Iranian J Environ Health Sci Eng* 2012; 9: 37
14. Rahmani H, Kalbasi M, Hajrasuliha S. Lead-Polluted Soil along Some Iranian Highways. *JWSS* 2001; 4:31-42. [In Persian]
15. Karimzadeh L, Bagheri G A, 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 Mazandaran Uni Med Sci* 2013; 23 : 2-10. [In Persian]
16. Hamidi Ravari E, Daneshpajoo M. Measuring the lead, arsenic, copper, zinc, selenium. *Feyz* 2009; 13: 242-248. [In Persian]
17. Matsuura H, Hokura A, Katsuki F, Itoh A, Haraguchi H. Multiment determination and speciation of major-to-trace elements in black tea leaves by ICP-AES and ICP-MS with the aid of size exclusion chromatography. *Anal Sci* 2001; 17:391-8.
18. Achudume AC, Owoeye D. Quantitative assessment of heavy metals in some tea marketed in Nigeria. Bioaccumulation of heavy metals in tea. *Healty* 2010; 2: 1097-1100.
19. Hussian I, Khan F, Iqbal Y, Khalil SJ. Investigation of heavy metals in commercial tea brands. *J Chem Soc Pak* 2006; 28:246-51.
20. Lasheen YF, Awwad NS, El-khalafawy A, Abdel-Rassoul AA. Annual effective dose and concentration levels of heavy metals in different types of tea in Egypt. *Int J of Physic Sci* 2008; 3: 112-19.
21. Malakootian M, Mesreghani M, Danesh Pazhoo M. A Survey on Pb, Cr, Ni and Cu Concentrations in Tehran Consumed Black Tea: A Short Report. *JRUMS* 2011; 10: 138-143.
22. Naghipour D, Amouei A, Dadashi M, Zazouli MA. Heavy Metal Content in Black Tea and their Infusions in North of Iran and Estimation of Possible Consumer Health Risk. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2016; 26: 211-223. [In Persian]