

مقایسه محتوای فلوراید چهار نوع چای به دو روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی

دکتر مریم کرمی نوگورانی^۱ - دکتر شهرزاد جوادی نژاد^۱ - دکتر نوید دیده بان^۲ - دکتر سید مرتضی طالبی^۳

۱- استادیار گروه آموزشی دندانپزشکی کودکان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

۲- دندانپزشک

۳- استاد گروه آموزشی شیمی آنالیز دانشکده شیمی دانشگاه اصفهان

چکیده

زمینه و هدف: چای به عنوان ماده‌ای با محتوای بالای فلوراید شناخته شده است و مصرف آن می‌تواند با میزان کلی جذب فلوراید بدن در ارتباط باشد. با توجه به اینکه مقدار فلوراید انواع چای می‌تواند با هم متفاوت باشد، بنابراین هدف از این مطالعه، مقایسه محتوای فلوراید چهار نوع چای ایرانی و خارجی متداول در ایران بادو روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی، دو نمونه چای ایرانی (گلستان، مظفر) و خارجی (لیپتون، سیلان) از نوع چای سیاه بسته‌بندی شده با تاریخ بسته‌بندی یکسان تهیه شد. از هر نوع چای سه نمونه با سری ساخت متفاوت تهیه گردید. جهت یکسان سازی شرایط تهیه چای، به ازای چهار گرم از چای خشک، صد میلی لیتر آب مقطر در حال جوش اضافه گردید، سپس مخلوط روی حمام آب گرم با حرارت ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و میزان استخراج فلوراید پس از بیست دقیقه به روشهای اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی اندازه‌گیری شد. به منظور تحلیل داده‌ها از آزمونهای *ANOVA*، *Duncan* و *Paired-T* استفاده گردید.

یافته‌ها: هر چهار نوع چای حاوی مقادیر قابل توجه فلوراید بودند (۲/۷-۴/۴۴ مگاپاسکال با روش کروماتوگرافی یونی و ۲/۷۷-۴/۳۸ مگاپاسکال با روش اسپکتروفتومتری). در هر دو روش اندازه‌گیری، تفاوت معنی‌داری بین غلظت فلوراید چهار نوع چای وجود داشت ($P < 0.05$) و غلظت فلوراید چای لیپتون به طور معنی‌داری از سه نوع چای دیگر بیشتر بود. بر اساس این مطالعه بین روشهای اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی برای تعیین غلظت فلوراید تفاوت معناداری وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: میانگین غلظت فلوراید چای لیپتون در هر دو روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی نسبت به سایر نمونه‌ها به طور معناداری بیشتر است. اختلاف معنی‌داری بین اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی در اندازه‌گیری فلوراید چای وجود ندارد.

کلید واژه‌ها: چای - فلوراید ها - طیف‌سنجی نوری - کروماتوگرافی تبادل یونی.

پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۵/۲۵

اصلاح نهایی: ۱۳۸۹/۵/۹

وصول مقاله: ۱۳۸۸/۱۱/۱۱

نویسنده مسئول: دکتر مریم کرمی نوگورانی، گروه آموزشی دندانپزشکی کودکان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

e.mail: maryam_karami@yahoo.com

مقدمه

بررسی منابع فلوراید در رژیم غذایی کودکان چهار ساله (در این سن اکثر دندانهای دائمی در حال شکل‌گیری هستند) در استان فارس پرداختند، نتایج این بررسی نشان داد مصرف چای ۳۱٪-۳۸٪ فلوراید جذب‌شده را تشکیل می‌دهد. (۲)، در بعضی از روستاهای کشور چین که فلوروزیس به صورت اندمیک وجود دارد، ارتباط بسیار محکمی بین مصرف چای و فلوروزیس مشاهده شده است. (۱)

در گذشته گیاه چای تنها در خاک طبیعی کشت می‌شد، در

چای حاوی مقادیر نسبتاً زیاد فلوراید می‌باشد و مصرف آن می‌تواند به‌طور مشخصی بر مجموع جذب فلوراید مؤثر باشد. گیاه چای فلوراید و آلومینیوم را به روش انتشارساده جذب و در برگهای خود ذخیره می‌کند. در کشورهای مثل ایران و کشورهای خاور دور که نوشیدن چای از نظر فرهنگی جزئی از رژیم غذایی روزانه است، محتوای فلوراید چای در ایجاد استحکام ساختمان دندان و نیز جلوگیری از پوسیدگی نقش مهمی ایفا می‌کند. (۱)، ظهوری و همکاران به

روش بررسی

در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی، دو نمونه چای ایرانی (گلستان، مظفر) و خارجی (لیپتون، سیلان) از نوع چای سیاه بسته‌بندی شده با تاریخ ساخت یکسان و با سه نوع سری ساخت مختلف از مراکز خرید مجزا و از هر نوع چای سه نمونه تهیه گردید.

گروه ۱- چای سیلان (Ceylon tea): سیلان یا سریلانکا به عنوان سومین کشور تولید کننده چای شناخته شده است که حدوداً ۱۹٪ از کل نیاز جهانی چای را برآورده می‌کند. (۷)، چای سیاه سیلان به دو صورت اصلی برگهای چای (Leaf grades) و چای شکسته (Broken grade) بسته بندی می‌شود که هر کدام انواع بسیار متنوعی دارند. نمونه مورد استفاده در این مطالعه از نوع چای شکسته شرکت چای سیلان به اسم بروکن پکوا (Broken Peko)، محتوی دانه‌های گرد و تقریباً درشت چای و دارای طعم برگومات (Bergomat) بود که بعد از آماده‌سازی (دم کردن) تولید نوعی چای با رنگ روشن یکدست می‌نماید.

گروه ۲- چای گلستان (Golestan) انواع مختلفی از این نوع چای به صورت چای سبز، چای سیاه بسته‌بندی شده و چای کیسه‌ای تولید و عرضه می‌گردد. نمونه مورد استفاده در این بررسی از نوع چای سیاه بسته بندی شده، محتوی برگهای چای کشت شده در شمال کشور، به صورت ساده و بدون هیچ‌گونه افزودنی و طعم دهنده بود.

گروه ۳- چای مظفر (Mozafar): این نوع چای، تولید شده توسط شرکت چای مظفر واقع در شهرک صنعتی شهر لاهیجان در استان گیلان، از برگهای چای کشت شده در زمینهای شهر لاهیجان به دست می‌آید و دارای محصولات متنوعی است. نمونه مورد استفاده در این مطالعه از نوع چای سیاه چای شکسته، محتوی برگهای خرد شده چای سیاه و بدون هیچ‌گونه طعم دهنده بود.

گروه ۴- چای لیپتون (Lipton): این نوع چای در قرن نوزدهم توسط سر توماس لیپتون (Sir Thomas Lipton)

حالی که امروزه غالباً در خاکهای غنی شده به عمل می‌آید و در نتیجه میزان فلوراید آن بالاتر است. لذا بسیاری از کشورهای خاور دور امروزه با مشکل فلوروزیس ناشی از مصرف زیاد چای مواجه هستند. (۱، ۳)

برگ چای بر اساس فرآیند اکسیداسیون به انواع چای سبز (اکسید نشده)، چای نیمه تخمیریافته (Olong Tea) و چای سیاه (کاملاً اکسید شده) تقسیم می‌شود، ضمن اینکه انواع دارویی (Herbal Tea) و آماده برای مصرف چای (Ready to drink) در بازار موجود است. اگر چه مکانیسم دقیق عملکرد فلوراید در پوسیدگی دندان به خوبی درک نشده ولی به طور مشخص سه مکانیسم کلی برای آن در نظر گرفته‌اند که عبارتند از: افزایش مقاومت نسج دندان به دمنرالیزاسیون و افزایش روند رمینرالیزاسیون و کاهش توان پوسیدگی‌زایی پلاک دندانی.

عوامل متعددی از جمله نوع چای، میزان اکسیداسیون برگ چای، نوع خاک، سن برگ، نوع چای، کیفیت و مرغوبیت چای، مدت زمانی که از برداشت چای گذشته، میزان بلوغ برگ چای، نوع آب مصرفی، جنس قوری و طول مدت دم کردن چای و مؤثر بر میزان فلوراید نوشیدنی چای مؤثر است. (۱-۶)

روش اسپکتروفتومتری روش استاندارد و کم هزینه‌ای می‌باشد که سالهاست جهت اندازه‌گیری میزان فلوراید چای مورد استفاده قرار می‌گیرد. درحالی که روش کروماتوگرافی یونی روش جدیدتری می‌باشد که انجام آن هزینه بالایی دارد، لذا از اهداف این مطالعه مقایسه این دو روش از نظر دقت در اندازه‌گیری غلظت فلوراید چای بود. روش جدید و پر هزینه کروماتوگرافی در صورتی مورد پیشنهاد برای مطالعات آینده می‌باشد که نتایج به دست آمده بر بالاتر بودن میزان دقت این روش دلالت داشته باشد. با این مقدمه، این مطالعه با مقایسه محتوای فلوراید چهار نوع چای ایرانی و خارجی به دو روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی انجام شد.

شده از مواد تعویض آنیونی است و قابلیت جداسازی آنیون‌های مختلف را داراست. یون‌های مختلف موجود از جمله یون فلوراید در ستون دستگاه جداسازی شده و سپس به وسیله هدایت سنج (Detector) تعیین مقدار گردید. در این روش با مقایسه پیک حاصل از نمونه با پیک‌های محلولهای استاندارد فلوراید غلظت فلوراید در نمونه مشخص شد.

دستگاه کروماتوگرافی یونی ساخت شرکت Metrohm سوییس مدل ۷۶۱ مجهز به دکتور هدایت‌سنجی و یک سیستم فرونشاندن می‌باشد. انتقال نمونه به ستون دستگاه توسط یک سیستم تزریق ۲۵ میکرولیتری انجام شد. ستون مورد استفاده عبارت بود از یک ستون صدوپنجاه میلی‌متری با قطر داخلی سه میلی‌متر از نوع Metrosep آنیونی ساخت سوییس.

نمونه تزریقی به ستون به وسیله محلول تامپون کربنات در طول ستون جریان داده شد. سرعت جریان فاز متحرک ۰/۷۵ میلی لیتر بر دقیقه و فشار ستون ۶/۸ مگاپاسکال بود. دمای ستون در طول مدت زمان جداسازی و اندازه‌گیری ۱۹ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. سیستم فرونشاندن دستگاه در هنگام اندازه‌گیری در حین کار توسط محلول بیست میلی مولر اسید سولفوریک بازیابی می‌گردید.

دستگاه کروماتوگرافی یونی قبل از استفاده به مدت نیم ساعت با فاز متحرک شستشو داده می‌شد تا کروماتوگرام در یک خط پایه و ثابت تنظیم گردد. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمونهای Paired-T و Duncan, ANOVA استفاده شد.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار میزان غلظت فلوراید چهار نمونه چای (گلستان، مظفر، سیلان و لیپتون) به دو روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی در جدول یک ارائه شده است.

- هر چهار نوع چای حاوی مقادیر قابل توجه فلوراید بودند
۲/۷-۴/۴۴ مگاپاسکال با روش کروماتوگرافی یونی و
۲/۷۷-۴/۳۸ مگاپاسکال با روش اسپکتروفتومتری).

تولید شد. (۷-۸)، چای لیپتون در واقع ترکیبی از انواع چای است که از انواع مختلف گیاه چای از سراسر جهان انتخاب شده است که از آن جمله سریلانکا، هند، چین و کنیا را می‌توان نام برد. انواع مختلفی از این نوع چای به شکل محصولات تجاری مختلف مثل چای دارویی، چای کیسه‌ای (Tea bag)، چای آماده برای مصرف (Ready to drink)، چای سبز، چای سیاه با نشان زرد (yellow label)، چای سیاه طعم دار (Flavored black tea)، چای خنک (Ice tea) و ... تولید و عرضه می‌شود. (۸-۹)

نمونه مورد استفاده در این مطالعه از نوع چای سیاه بسته بندی شده با نشان زرد محتوی دانه‌های گرد و ریز چای و تهیه شده از برگهای ابتدایی و جوان بیش از بیست نوع گیاه چای از سراسر جهان بود، همچنین بعد از آماده‌سازی تولید رنگ نسبتاً غلیظی می‌کرد.

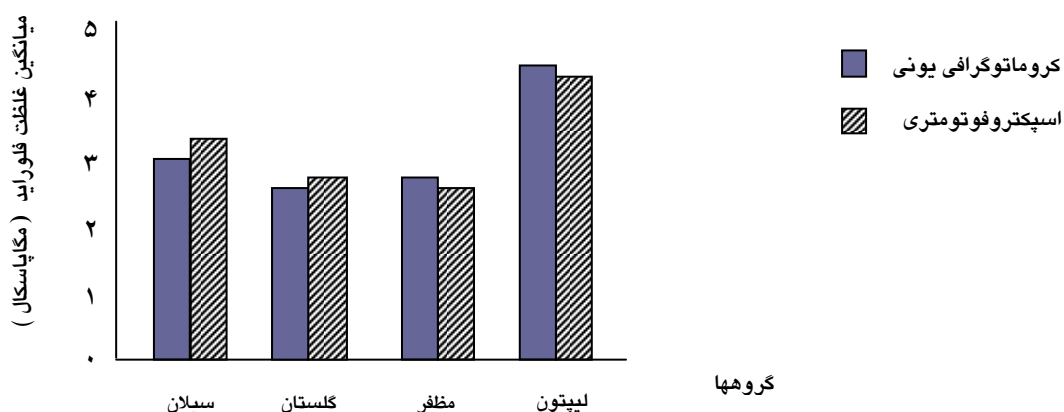
جهت استاندارد کردن نحوه دم کردن چای، چهار گرم از هر نمونه به وسیله ترازوی Sartorius (با دقت ۰/۱ میلی‌گرم) دقیقاً اندازه‌گیری شد. پنجاه میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر در حال جوش به هر نمونه افزوده گردید. مخلوط بر روی حمام آب گرم در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت بیست دقیقه حرارت داده و آماده سازی شد. سپس مخلوط درون بالن ژوژه (Volumetric flask) صاف گردید و با آب مقطر دو بار تقطیر حجم نمونه به صد میلی لیتر رسانده شد. از این نمونه برای اندازه‌گیری غلظت فلوراید به روشهای اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی استفاده گردید.

در این روش که از دستگاه اسپکتروفتومتری ساخت شرکت Shimadzu ژاپن جهت جداسازی فلوراید موجود در نمونه استفاده شد، حجم مشخصی از نمونه از ستون حاوی رزین آنیونی OH^- عبور داده شد. سپس فلوراید جمع شده در روی ستون به وسیله محلول «سودا» استخراج و معرف مناسب بر آن افزوده گردید. شدت رنگ کمپلکس رنگی حاصل با محلولهای استاندارد فلوراید مورد مقایسه قرار گرفته، غلظت فلوراید در نمونه‌ها محاسبه گردید.

در روش کروماتوگرافی یونی پس از آماده سازی مقدماتی، نمونه‌ها به دستگاه تزریق گردید. دستگاه دارای ستونهای پر

انتخابی اختلاف معناداری وجود داشت. ($P=0/006$) ضمناً بر اساس آزمون Duncan، تنها گروه چهار (چای لیپتون) با سه گروه دیگر اختلاف معناداری نشان داد. (نمودار ۱) - بر اساس آزمون Paired-T اختلاف معنی داری بین دو روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی در اندازه گیری میزان فلوراید چهار نوع چای وجود نداشت. ($P=0/93$)

- بر اساس آنالیز واریانس و با روش اندازه گیری اسپکتروفتومتری، بین میانگین فلوراید چهار نوع چای انتخابی اختلاف معناداری وجود داشت. ($P=0/001$) ضمناً بر اساس آزمون Duncan، تنها گروه چهار (چای لیپتون) با سه گروه دیگر اختلاف معناداری نشان داد. (نمودار ۱) - بر اساس آنالیز واریانس و با روش اندازه گیری کروماتوگرافی یونی، بین میانگین فلوراید چهار نوع چای



نمودار ۱: غلظت فلوراید چهار نمونه چای به روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار میزان فلوراید چهار نمونه چای به دو روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی

روش اندازه گیری فلوراید	نوع چای	میانگین (مگاپاسکال)	انحراف معیار	P.V
اسپکتروفتومتری	سیلان	۳/۱۱	۰/۲۸	P=0/001
	گلستان	۲/۷۷	۰/۱۳	
	مظفر	۲/۸۱	۰/۴۰	
	لیپتون	۴/۳۸	۰/۰۳۲	
کروماتوگرافی یونی	سیلان	۳	۰/۳۵	P=0/006
	گلستان	۲/۷	۰/۱۲	
	مظفر	۲/۹۶	۰/۶۳	
	لیپتون	۴/۴۴	۰/۰۷۷	

بحث

فلوراید می تواند هنگام دم شدن چای آزاد شده و توسط مصرف کنندگان دریافت گردد. فلوراید الکترون گاتیوترین عنصر شیمیایی است. اندازه کوچک این عنصر، میل ترکیبی

برگهای چای از نظر وجود فلوراید بسیار غنی است. ریشه گیاه چای فلوراید را به طریق انتشار ساده از خاک جذب و در برگهای خود ذخیره سازی می کند. (۱۰)، مقداری از این

تحقیق دمای آب مصرفی برای آماده سازی نمونه‌ها هشتاد درجه سانتی گراد انتخاب شده بود که نسبت به دمای آب در تحقیق حاضر پنج درجه کمتر بود. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که افزایش دمای آب، موجب افزایش معنی‌داری در آزادسازی فلوراید می‌شود. (۳، ۶، ۱۹) علت دیگر می‌تواند مربوط به نوع آب مصرفی باشد که در بررسی قبلی از آب شهری و در این مطالعه از آب مقطر دو بار تقطیر استفاده شد. به نظر می‌رسد آب با محتوای فلوراید پایین باعث سهولت در آزادسازی فلوراید از برگهای چای می‌شود. (۲۳) Hayacibara و همکاران در تحقیقی در سال ۲۰۰۴، میانگین غلظت فلوراید را در یکصد و هفتاد و هفت نمونه چای از انواع چای دارویی، چای فوری، چای سبز، چای اولانگ و چای سیاه موجود در بازار کشور برزیل، در زمان دم کردن سه دقیقه و با روش الکتروانتخابی یون فلوراید مورد محاسبه قرار دادند. (۳)، میانگین غلظت فلوراید در انواع چای سیاه استفاده شده در تحقیق برابر با ۲/۳۵ مگاپاسکال محاسبه شد. مقایسه میانگین غلظت فلوراید در زمان دم کردن سه دقیقه در تحقیق Hayacibara و میانگین غلظت فلوراید پس از بیست دقیقه در تحقیق حاضر نشان می‌دهد که افزایش زمان دم کردن موجب افزایش معناداری در میزان فلوراید چای مصرفی خواهد شد که این یافته با نتایج مطالعه Somer و Yuwono هماهنگی دارد. (۶، ۹)

نتایج در تحقیق Hayacibara نشان دهنده غلظت بالای فلوراید در انواع چای سیاه بود. همچنین نتایج نشان داد که مصرف یک لیوان چای می‌تواند حدود ۵۰٪ از حداکثر دوز مصرف مجاز فلوراید را در کودکان ۱-۴ سال فراهم کند. با وجود این نگرانی‌ای در مورد کودکان بزرگسال وجود ندارد، چرا که در برزیل فقط بزرگسالان مصرف کننده چای سیاه هستند. (۳)، ظهوری و همکاران به بررسی منابع فلوراید در رژیم غذایی کودکان چهار ساله (در این سن اکثر دندانه‌های دائمی در حال شکل‌گیری هستند) در استان فارس پرداختند، نتایج تحقیق نشان داد مصرف چای ۳۱٪-۳۸٪ فلوراید جذب شده را تشکیل می‌دهد. (۲)

Yuwono بیان کرد که بهترین طعم چای همراه با تولید

بالای آن و طول کم پیوند، قدرت واکنش سریع و قوی با اکثر عناصر را به آن می‌دهد.

فلوراید می‌تواند در کنترل پوسیدگی دندانی نقش مهمی ایفا کند (۱۱-۱۳)، اما از طرفی به علت نیمه عمر بالای این عنصر در بدن انسان، مصرف زیاد آن می‌تواند منجر به فلوروزیس مینای دندان و مسمومیت حاد و مزمن ناشی از مصرف فلوراید شود. (۱۴-۱۶)

عوامل متعددی از جمله نوع چای، میزان اکسیداسیون برگ چای، نوع خاک، سن برگ، نوع چای، کیفیت و مرغوبیت چای، مدت زمانی که از برداشت چای گذشته، میزان بلوغ برگ چای، جنس قوری و طول مدت دم کردن چای، میزان دمای آب، pH آب، درجه سختی آب، زمانهای مختلف دم کردن چای و ... مؤثر بر میزان فلوراید نوشیدنی چای مؤثر است. (۱-۶، ۸-۹، ۱۷-۲۰)

Kalayci و Somer در تحقیق خود، میانگین آزادسازی فلوراید را در سه نمونه چای از جمله چای لپتون، به روش الکتروانتخابی یون فلوراید به دست آوردند. (۶)، میانگین آزادسازی (غلظت) فلوراید مجموع نمونه‌ها در تحقیق Kalayci و Somer با روش الکتروانتخابی پس از بیست دقیقه برابر با ۳/۰۷ مگاپاسکال محاسبه شد. از آن جا که میانگین غلظت فلوراید مجموع نمونه در مطالعه حاضر به روش اسپکتروفتومتری ۳/۲۷ مگاپاسکال و در روش کروماتوگرافی یونی ۳/۲۹ مگاپاسکال محاسبه گردید مقادیر بدست آمده با نتایج مطالعه حاضر متناسب بود. اختلاف معناداری بین روش الکتروانتخابی فلوراید و روشهای اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی در اندازه‌گیری غلظت فلوراید چای وجود نداشت و از آنجا که روش کروماتوگرافی یونی روش بسیار پر هزینه و مشکلی است (۲۱)، می‌توان به عنوان یک پیشنهاد در تحقیقهای آینده از روشهای اسپکتروفتومتری و الکتروانتخابی فلوراید که آسان و کم هزینه هستند (۲۱-۲۲)، استفاده شود.

میزان غلظت فلوراید در نمونه چای لپتون در تحقیق Kalayci و Somer کمتر از میزان آن در مطالعه حاضر محاسبه شد. این تفاوت شاید به علت این است که در آن

به مدت بیست دقیقه و پس از رقیق‌سازی، به صورت تقریبی حاوی ۰/۱۱ میلی گرم یون فلوراید می‌باشد. از آنجا که نیاز روزانه یک فرد بالغ ۰/۶ میلی گرم فلوراید می‌باشد، میزان و غلظت چای مصرفی می‌تواند در میزان دریافت روزانه فلوراید نقش مهمی داشته باشد.

با توجه به محبوبیت مصرف چای و با در نظر گرفتن این نکته که میزان مصرف روزانه و غلظت چای مصرفی افراد به شدت متفاوت است، جهت تأمین نیاز روزانه فلوراید یا جلوگیری از عوارض ناشی از مصرف بیش از حد فلوراید، بایستی نوع چای به عنوان یک عامل در کنار سایر عوامل انتخاب چای مورد توجه افراد قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

اگر چه محتوای فلوراید هر چهار نوع چای مورد استفاده در این مطالعه قابل‌توجه بود، میانگین غلظت فلوراید چای لیپتون در هر دو روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی نسبت به سایر نمونه‌ها به طور معناداری بیشتر بود. در ضمن اختلاف معنی‌داری بین دو روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی یونی در اندازه‌گیری میزان فلوراید چای وجود نداشت.

احساس شادابی بعد از مصرف در زمان دم کردن (آماده‌سازی) پنج دقیقه حاصل می‌شود. (۹)، علت این مسئله آزادسازی غلظت مناسبی از تانن‌های چای است. تانن‌ها نوعی از آمینواسیدهای موجود در چای هستند که به علت توانایی عبور از سد خونی مغز اثرات سایکولوژیک مشخصی را در غلظت‌های متفاوت ایجاد می‌کنند. (۲۴-۲۵)، افزایش زمان دم کردن موجب افزایش تانن‌های چای می‌شود. پس از گذشت پنج دقیقه از دم کردن چای میزان آزادسازی تانن‌ها به گونه‌ایست که تولید نوعی احساس شادابی همراه با کاهش استرس و خستگی بعد از مصرف خواهد کرد. در حالی که در زمان ۱۵ دقیقه، با افزایش غلظت تانن‌ها، اثرات مخربی بر سیستم سایکولوژیک همراه با تولید نوعی حس رخوت و خستگی آغاز می‌شود. این نتایج با تعدادی از تحقیقات در زمینه اثرات سایکولوژیک چای هماهنگی دارد. (۲۵-۲۸)

از آنجایی که غلظت رنگ چای حاصل از دم کردن چهار گرم چای لیپتون در صد میلی لیتر آب حدود چهار برابر بیشتر از غلظت رنگ چایی که معمولاً توسط مصرف کنندگان چای انتخاب می‌کنند، می‌باشد، می‌توان بیان کرد یک فنجان از چای لیپتون (حاوی صد میلی لیتر نوشیدنی چای) که به طور معمول در منازل استفاده می‌گردد پس از آماده‌سازی

REFERENCES

1. Shu WS, Zhang ZQ, Lanc Y, Wong MH. Fluoride and aluminum concentrations of tea plants and tea products from Sichuan province, PR china. Chemosphere 2003 Sep; 52(9): 1475-82.
2. Zohouri FV, Rugg-Gunn AJ. Sources of dietary fluoride intake in 4-years old children residing in low, medium and high fluoride areas in Iran. Int Food Sci Nutr. 2000 Sep; 51 (5):317-26.
3. Hayacibara MF, Queiros CS, Tabchoury CP, Cury JA. Fluoride and aluminum in teas and tea-based beverages. Rev Saude Publica. 2004 Feb; 38 (1): 100-5.
4. Lu Y, Guo WF, Yang XQ. Fluoride content in tea and relationship with tea quality. J Agric Food Chem. 2004 Jul; 52(14): 4472-6.
5. Lung SC, Hsiao PK, Chiang KM. Fluoride concentrations in three types of commercially packed tea drink in Taiwan. J Expo Anal Environ Epidemiol. 2003 Jan; 13(1): 60-73.

6. Kalayci S, Somer G. Factors affecting the extraction of fluoride from tea: Application to three tea samples. *Fluoride* 2003; 36(41): 267-70.
7. Burgstahler AW, Lockhart JS. Effect of carbon treatment on aqueous fluoride determination. *Fluoride* 1997 Jan; 26(1):33-6.
8. Mahvi AH, Zazoli MA, Younecian M, Esfandiari Y. Fluoride content of Iranian black tea and tea liquor. *Fluoride* 2006 Oct-Dec; 39(4):266-268.
9. Yuwono M. Determination of fluoride in black, green and herbal teas by ion selective electrode using a standard addition method. *Fluoride* 2005; 52(9): 130-4.
10. Zhen Y. Tea: Bioactivity and therapeutic potential, 1st ed. New York: Taylor & Francis; 2002, 40-190.
11. Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, De Natale A, Pollio A. Anti-cariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia* 2009 Jul; 80(5):255-62.
12. Yu H, Oho T, Xu LX. Effects of several tea components on acid resistance of human tooth enamel. *J Dent*. 1995 Apr; 23(2):101-5.
13. Linke HA, LeGeros RZ. Black tea extract and dental carries formation in hamsters. *Int J Food Sci Nutr*. 2003 Jan; 54(1):89-95.
14. Whyte MP, Totty WG, Lim VT, Whitford GM. Skeletal fluorosis from instant tea. *J Bone Miner Res*. 2008 May; 23(5):759-69.
15. Simpson A, Shaw L, Smith AJ. The bioavailability of fluoride from tea. *J Dent*. 2001 Jan; 29(1): 15-21.
16. Burt BA. The changing pattern of systemic fluoride intake. *J Dent Res*. 1992 May; 71(5):1228-37.
17. Behrendt A, Oberste V, Wetzel WE. Fluoride concentration and PH of iced tea products. *Caries Res*. 2002 Nov-Dec; 36(6):405-10.
18. Fung KF, Zhang ZQ, Wong JWC, Wong MH. Fluoride contents in tea and soil from tea plantations and the release of fluoride into tea liquor during infusion. *Environ pollut*. 1999; 104(2):197-205.
19. Gulati P, Singh V, Gupta MK, Vaidya V, Dass S. Studies on the leaching of fluoride in tea infusions. *Sci total Environ*. 1993 Sep; 138(1-3):213-21.
20. McKay DL, Blumberg JB. The role of tea in human health. *J Am Coll Nutr*. 2002 Feb; 21(1): 1-13.
21. Itota T, Carrik TE, Rosby S, Alnaimi OT, Yoshiyama M, Mc Cabe JF. Determination of fluoride ions released from resin-based dental materials using ion-selective electrode and ion chromatograph. *J Dent*. 2004 Feb; 32(2): 117-22.
22. Chan JT, Koh SH. Fluoride content in caffeinated, decaffeinated and herbal teas. *Caries Res*. 1996 Jan; 30(1):88-92.
23. Malde MK, Simonsen P, Julshamn K, Bjorvatn K. Releasing and absorption of fluoride from tea leaves, depending on the fluoride content of water. *Clin Dent Res*. 2005 Dec. 36(2): 915-17.
24. Gomez-Ramirez M, Rycroft JA, Owen GN, Mahoney J, Shpaner M, Foxe JJ. The deployment of inter sensory selective attention: A high density electrical mapping study of the effects of theanine. *Clin Neuropharmacol*. 2007 Jan-Feb; 30(1):25-38.
25. Kimura k, Ozeki M, Junenja L, Ohira H. L-Theanine reduces psychological and physiological stress responses. *Biol Psychol*. 2007 Jan; 74(1): 39-45.
26. Hindmarch I, Quinlan PT, Moore KL, Parkin C. The effects of black tea and other beverages on aspects of cognition and psychomotor performance. *Psychopharmacology (Berl)*. 1998 Oct; 139(3): 230-8.

27. Quinlan P, Lane J, Aspinall L. Effects of hot tea, coffee and water ingestion on physiological response and mood. The role of caffeine, water and beverage type. *Psychopharmacology (Berl)* 1997 Nov; 134(2): 164-73.
28. Stepoe A, Gibson EL, Vuononvitra R, Williams ED, Hamer M, Rycroft JA, Erusulimsky JD, Wardle J. Psychological effects of tea. *Psychopharmacology (Berl)* 2007 Jan; 190(1): 81-90.