

Comparison of fluoride concentration in several types of green tea consumed in Iran

S. Maleki Kambakhsh*

M. Hejazi**

A. Rahmaninejad***

S. Babazadeh****

*Assistant Professor of Pediatric Dentistry, Dental Caries Prevention Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

**Assistant of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

***Dentist, School of Dentistry, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

****Ph.D. Student of Oral and Dental Health and Social Dentistry, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Abstract

Background: Tea is known as a source of fluoride that not only can prevent tooth decay but also can increase the risk of dental fluorosis in overuse or in combination with other sources of fluoride.

Objective: The aim of this study was to compare the fluoride concentration in three brands of green tea consumed in Iran.

Methods: This experimental study was conducted in Qazvin University of medical Science during 2012. Three brands of green tea (bag type and packed type) were evaluated. Two bags of every bag type and two 1-gram samples of every packed type were selected. Each time, the samples were placed in 100 ml distilled boiling water and were restored in an incubator at 80 °C. Three and ten minutes after tea brewing, the fluoride concentration of filtrated water was measured by chromatography and was recorded in milligram per liter. Data were analyzed using ANOVA and repeated measures ANOVA.

Findings: The fluoride concentration in bag type green tea was more than packed type. The fluoride concentration was not different among three brands of green tea. The fluoride concentration after ten minutes brewing was not significantly different from the concentration after three minutes brewing.

Conclusion: With regards to the results, it seems that green tea brand and the brewing time does not affect fluoride release. The fluoride release in bag type green tea is more than packed type.

Keywords: Dental Fluorosis, Fluorides, Tea, Chromatography

Citation: Maleki Kambakhsh S, Hejazi M, Rahmaninejad A, Babazadeh S. Comparison of fluoride concentration in several types of green tea consumed in Iran. *J Qazvin Univ Med Sci.* 2016; 20 (1): 30-36.

Corresponding Address: Mandana Hejazi, Dental Caries Prevention Research Center, School of Dentistry, Qazvin University of Medical Sciences, Shahid Bahonar Blvd., Qazvin, Iran

Email: mandana.hejazi@yahoo.com

Tel: +98-28-33365280

Received: 22 Jun 2015

Accepted: 8 Nov 2015

مقایسه غلظت فلوراید چندگونه چای سبز مصرفی در ایران

دکتر صابر بابازاده****

دکتر احمد رحمانی نژاد**

دکتر ماندانا حجازی**

دکتر سارا ملکی کامبخش*

* استادیار دندان پزشکی کودکان مرکز تحقیقات پیشگیری از پوسیدگی دندان دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
 ** دستیار تخصصی دندان پزشکی کودکان دانشکده دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
 *** دانش‌آموخته دندان پزشکی عمومی دانشکده دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
 **** دانشجوی دکتری تخصصی سلامت دهان و دندان و دندان پزشکی اجتماعی دانشکده دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

آدرس نویسنده مسؤل: قزوین، بلوار شهید باهنر، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات پیشگیری از پوسیدگی دندان، تلفن ۰۲۸-۳۳۳۶۵۲۸۰

Email: mandana.hejazi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۱

* چکیده

زمینه: چای به عنوان یک منبع فلوراید شناخته شده است که می‌تواند علاوه بر اثرات پیشگیری از پوسیدگی، در صورت مصرف بی‌رویه یا همراه با سایر منابع فلوراید، خطر بروز فلوروزیس دندان را افزایش دهد.

هدف: مطالعه به منظور مقایسه غلظت فلوراید ۳ نوع چای سبز مصرفی در ایران انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۱ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. در این مطالعه از ۳ نوع چای سبز (کیسه‌ای و بسته‌بندی) استفاده و از هر نمونه چای کیسه‌ای، دو کیسه و از هر نوع چای بسته‌بندی دو نمونه یک گرمی انتخاب شد. نمونه‌ها هر بار در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در حال جوش قرار داده شد و جهت دم کشیدن در انکوباتور ۸۰ درجه قرار گرفت. غلظت فلوراید پس از ۳ و ۱۰ دقیقه دم کشیدن و فیلتر شدن به روش کروماتوگرافی اندازه‌گیری و برحسب میلی‌گرم بر لیتر ثبت شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری آنووا و اندازه‌گیری مکرر تحلیل شدند.

یافته‌ها: میزان غلظت فلوراید در انواع کیسه‌ای چای سبز بیش‌تر از نوع بسته‌بندی آن بود، ولی بین گونه‌های مختلف چای سبز مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری در غلظت فلوراید وجود نداشت. افزایش زمان دم کشیدن تا ۱۰ دقیقه، تفاوت معنی‌دار آماری را در میزان غلظت فلوراید آزاد شده ایجاد نکرد.

نتیجه‌گیری: براساس یافته‌ها، به نظر می‌رسد نوع چای سبز مصرفی و زمان دم کشیدن در میزان آزادسازی یون فلوراید تأثیری نداشته باشد و تنها این میزان در چای‌های کیسه‌ای بالاتر از چای‌های بسته‌بندی است.

کلیدواژه‌ها: فلوروزیس دندان، فلوراید، چای، کروماتوگرافی

* مقدمه

درصد آن نیز چای سبز است که عموماً در کشورهای آسیایی به مصرف می‌رسد.^(۱) براساس شواهد، چای سبز به عنوان دارو در کنترل خون‌ریزی، تسریع ترمیم زخم‌ها، تنظیم درجه حرارت بدن، کاهش وزن، درمان آسم و کاهش تنش و فشارخون به کار می‌رود.^(۴-۶) همچنین به علت محتوای بالای مواد ضداکسیدان به عنوان یک عامل ضدسرطان قوی^(۸و۷) و پیشگیری‌کننده از بیماری‌های قلبی نیز شناخته شده است.^(۱۰و۹) فلوراید ماده اولیه ضدپوسیدگی دندان‌هاست که به صورت سیستمیک

چای یکی از رایج‌ترین نوشیدنی‌ها در میان مردم است که از برگ‌های خشک گیاه کاملیاسینزیز تهیه می‌شود. سالانه حدود سه میلیون کیلوگرم چای در سراسر دنیا تولید و مصرف می‌شود.^(۱) پرورش گیاه چای نیازمند مناطق گرم و مرطوب است؛ بنابراین در مناطق جغرافیایی محدودی تولید می‌شود. در آفریقا، آمریکای جنوبی و شرق نزدیک مقادیری از چای را تولید می‌کنند.^(۳و۲) ۷۸ درصد از چای‌های تولید شده در دنیا، چای سیاه است که به طور معمول در کشورهای غربی مصرف می‌شود و ۲۰

مقادیر زیاد فلوراید قرار بدهد که ممکن است موجب فلوروزیس دندان‌ها شود.^(۱۸)

مطالعه اصفهانی‌زاده و همکاران نیز نشان داد بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فلوراید به ترتیب مربوط به چای احمد ($3/27 \pm 0/23$ قسمت در میلیون) و زرین ($0/7 \pm 0/02$ قسمت در میلیون) بود. مطالعه زرابروک نشان داد که میزان فلوراید با افزایش زمان دم کردن بیش‌تر می‌شد و بهترین زمان برای دم کردن چای حدود ۵ دقیقه بود.^(۲۰،۹)

از آنجا که چای به عنوان یک منبع فلوراید محسوب می‌شود، بنابراین خطر بروز فلوروزیس دندان‌ها یا اسکلتی در افرادی که بسیار چای می‌نوشند یا چای‌هایی با محتوای بالای فلوراید مصرف می‌کنند، بیش‌تر است.^(۱۲) این موضوع زمانی اهمیت بیش‌تری پیدا می‌کند که جذب فلوراید حاصل از مصرف چای با سایر منابع فلوراید از جمله فلوراید آب شرب همراه شود.^(۴) مطالعه کوبلار نشان داد که مصرف روزانه ۵ فنجان چای می‌تواند ۹ تا ۱۰۱ درصد میزان فلوراید مورد نیاز یک شخص بالغ ۷۰ کیلوگرمی را فراهم کند و مقادیر بیش از حد، عوارض ایجاد می‌کند.^(۲۱)

جهت دستیابی به فواید بالقوه چای سبز و اجتناب از عوارض آن و با توجه به این که نوشیدن چای در میان ایرانیان بسیار متداول است، مطالعه حاضر با هدف مقایسه غلظت فلوراید سه نوع چای سبز متداول در ایران انجام شد.

* مواد و روش‌ها:

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۱ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین، بر روی سه نوع چای سبز ۱، ۲ و ۳ به دو شکل بسته‌بندی و کیسه‌ای انجام شد. تاریخ تولید انواع مختلف چای با اختلاف حداکثر ۲ ماه، مشابه یکدیگر انتخاب شد و جهت یکسان‌سازی، نمونه‌ها به مدت ۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در اُون قرار داده شد تا رطوبت آن‌ها گرفته شود. سپس با خشکانه به طور

و موضعی باعث کنترل پوسیدگی دندان‌ها می‌شود.^(۱۲،۱۱) چای سبز نیز علاوه بر خاصیت شستشودهندگی به علت داشتن مقادیر قابل ملاحظه‌ای تانن و فلوراید از ایجاد حفره و پیشرفت پوسیدگی در دندان‌ها جلوگیری می‌کند. همچنین با از بین بردن باکتری‌های نامناسب محوطه دهان در کاهش بوی بد دهان مؤثر است.^(۱۴،۱۳،۶)

مطالعه‌ها نشان داده‌اند هر قدر سن گیاه چای بیش‌تر باشد، به دلیل جذب طولانی مدت فلوراید از خاک، ذخایر این ماده در گیاه افزایش می‌یابد. بنابراین مقدار فلوراید در برگ‌های قدیمی و ساقه‌ها، در مقایسه با جوانه‌ها و برگ‌های تازه گیاه، حدود ۱۰ تا ۲۰ برابر بیش‌تر است. همچنین مقدار فلوراید در انواع مختلف چای (سیاه، سبز، سفید و اولانگ) متفاوت است.^(۱۵) همچنین عواملی نظیر اسیدیته خاک، میزان اکسیداسیون، روش فرآوری، میزان دما و درجه سختی آب و زمان‌های مختلف دم کردن نیز بر میزان آزادسازی فلوراید حین آماده‌سازی چای مؤثرند.^(۱۶)

مطالعه قوک و همکاران با هدف تعیین میزان غلظت فلوراید موجود در انواع چای‌های رایج در بازار نشان داد که میزان فلوراید چای‌های بدون کافئین به طور معنی‌داری از چای‌های دارای کافئین و چای‌های گیاهی بالاتر بود.^(۱۷)

ال تورفان و همکاران نیز با اندازه‌گیری محتوای فلوراید ۲۶ نمونه چای سیاه کیسه‌ای و غیرکیسه‌ای تولید شده در ترکیه، سریلانکا، هند و کنیا نتیجه گرفتند که غلظت فلوراید در محلول‌های حاصل از جوشاندن چای به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب بین ۰/۵۷ تا ۳/۷۲ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود. مقایسه بین انواع چای نشان داد که بیش‌ترین محتوای فلوراید مربوط به چای‌های تولید شده در کشور ترکیه بود. همچنین چای‌های سیاه کیسه‌ای نسبت به انواع چای‌های سیاه غیرکیسه‌ای فلوراید بالاتری داشتند. این محققان نتیجه‌گیری کردند که مصرف فراوان برخی از انواع چای‌های مورد بررسی به ویژه چای‌های سیاه کیسه‌ای می‌تواند فرد را در معرض

جدول ۱- مقایسه میانگین مقدار غلظت یون فلوراید (میلی گرم بر لیتر) چای‌های مورد بررسی بر حسب زمان دم کشیدن

سطح معنی‌داری	زمان دم کشیدن		
	۱۰ دقیقه	۳ دقیقه	چای
۰/۹۴	۲/۲±۱	۲/۱۱±۰/۹۸	چای ۱
	۱/۹۱±۰/۸۴	۱/۸۵±۰/۸۲	چای ۲
	۱/۸۶±۰/۶۶	۱/۸۱±۰/۶۷	چای ۳

*** بحث و نتیجه‌گیری:**

این مطالعه نشان داد میزان غلظت فلوراید در انواع کیسه‌ای چای سبز بیش‌تر از نوع بسته‌بندی آن بوده و این میزان در چای‌های سبز مورد مطالعه و زمان‌های مختلف دم کشیدن تفاوت معنی‌داری نداشت.

بر اساس روش کروماتوگرافی غلظت فلوراید در انواع چای کیسه‌ای ۲/۲۹ تا ۲/۸۱ میلی‌گرم بر لیتر در زمان ۳ دقیقه بود. بیش‌ترین میزان آن مربوط به چای ۱ و کم‌ترین میزان آن مربوط به چای ۳ گزارش شد. در مطالعه زرابروک در اتیوپی سه نمونه چای سبز بررسی و میزان غلظت فلوراید در بازه زمانی سه دقیقه، ۰/۷۸ تا ۱/۵۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شد که کم‌تر از مقادیر گزارش شده در مطالعه حاضر بود.^(۲۰) همچنین در مطالعه حاضر غلظت فلوراید در انواع چای کیسه‌ای ۲/۳۳ تا ۲/۹۱ میلی‌گرم بر لیتر در زمان ۱۰ دقیقه بود که بیش‌ترین آن مربوط به چای ۱ و کم‌ترین آن مربوط به چای ۳ بود. در مطالعه زرابروک غلظت فلوراید در این بازه زمانی ۱/۳۰ تا ۲/۴۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که اندکی کم‌تر از مقادیر به دست آمده در این مطالعه است.^(۲۰)

در مطالعه میلیوسکا در سال ۲۰۰۷ در لهستان از روش الکتروود انتخابی یونی استفاده شد که غلظت فلوراید پس از ۱۰ دقیقه ۰/۱۱ تا ۱/۴۲ میلی‌گرم بر لیتر و بسیار کم‌تر از مطالعه حاضر بود.^(۱۳) علل متفاوت بودن نتایج این مطالعه با سایر مطالعه‌ها را می‌توان نوع روش اندازه‌گیری و نوع چای مورد استفاده ذکر کرد. با در نظر گرفتن این

کامل خشک شدند. جهت بررسی میزان فلوراید، یک گرم چای خشک یا یک گرم از پک چای کیسه‌ای در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه بی‌نهایت خالص و در حال جوشیدن در داخل بشر قرار گرفت. قبل از کار، به دلیل وجود خلل و فرج میکروسکوپی در بشرها، این ظروف شیشه‌ای در حمام اسید نیتریک ۲۰ درصد به مدت ۲ ساعت نگه‌داری و سپس با آب دیونیزه شسته و در هود خشک شدند. نمونه‌های چای جهت دم کشیدن (در دو زمان ۳ و ۱۰ دقیقه) در انکوباتور ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.^(۲۲)

پس از زمان‌های موردنظر، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول توسط فیلتر ۰/۲ میکرون صاف و غلظت یون فلوراید با محلول بافری ۱/۲۵ میلی‌مولار بوراکس با جریان ۲ میلی‌لیتر بر دقیقه با استفاده از دستگاه یون کروماتوگرافی (مدل Knauer ، Analytical HPLC ، آلمان) اندازه‌گیری شد. در این روش کلیه آنیون‌ها از جمله یون فلوراید در ستون دستگاه جداسازی و مقدار آن‌ها توسط هدایت‌سنج تعیین شد. محلول بافری مسئول جریان یافتن نمونه تزریقی در طول ستون دستگاه با سرعت ثابت است و قبل از آغاز کار نیز دستگاه به مدت نیم ساعت با محلول بافری شسته شد تا کروماتوگرام در یک خط ثابت و پایه تنظیم شود.^(۲۲) داده‌ها با نرم‌افزار SPSS ۲۰ و آزمون‌های آماری آنووا و اندازه‌گیری مکرر تحلیل شدند.

*** یافته‌ها:**

میانگین غلظت یون فلوراید در انواع چای‌های کیسه‌ای ۲/۵۴±۰/۲۵ و چای‌های بسته‌بندی ۱/۳۷±۰/۰۷ و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود (P=۰/۰۰).

در مقایسه سه نوع چای، میانگین غلظت یون فلوراید تحت تأثیر زمان دم کشیدن نبود و مدت زمان ۳ و ۱۰ دقیقه دم کشیدن تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد (جدول شماره ۱).

قدیمی‌تر چای برای تهیه چای کیسه‌ای استفاده می‌شود.^(۲۴)

یکی از دشواری‌های موجود برای مقایسه مطالعه‌هایی از این دست، استفاده از واحدهای مختلف اندازه‌گیری (میلی‌گرم بر لیتر یا میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود که می‌تواند در مقایسه نتایج تفاوت‌هایی را ایجاد کند.

سازمان جهانی بهداشت حداکثر مقدار مصرف روزانه مجاز فلوراید را برای کودکان ۲ میلی‌گرم و برای بزرگسالان ۴ میلی‌گرم در روز توصیه کرده است.^(۲۲) بنابراین طبق نتایج مطالعه حاضر مصرف روزانه ۱ گرم چای کیسه‌ای و ۲ گرم چای بسته‌بندی می‌تواند حداقل ۵۰ درصد مقدار مصرف مجاز فلوراید روزانه را برای کودکان و حداقل ۲۵ درصد مقدار مجاز روزانه مصرفی را برای بزرگسالان فراهم کند. البته جذب فلوراید از طریق چای، به مقدار چای به کار رفته، تعداد فنجان‌های مصرفی، مدت زمان آماده‌سازی در آب‌جوش و میزان فلوراید آب شرب بستگی دارد که باید در مطالعه‌های آتی مد نظر قرار گیرد. همچنین پیشنهاد می‌شود در پروژه‌های بعدی مقدار فلوراید چای را با استفاده از آب با غلظت‌های معین فلوراید (۱/۰ قسمت در میلیون، ۲/۰ قسمت در میلیون و غیره) تعیین کنند. به طور کلی بین انواع مختلف چای سبز مورد بررسی تفاوت معنی‌داری در میزان آزادسازی یون فلوراید مشاهده نشد، ولی انواع چای کیسه‌ای در مقایسه با نوع بسته‌بندی حاوی مقادیر بالاتری از فلوراید بودند. همچنین مدت زمان ۳ و ۱۰ دقیقه دم کشیدن تفاوت قابل توجهی در میزان فلوراید آزاد شده ایجاد نکرد.

*سپاس‌گزاری:

این مقاله حاصل پایان نامه مقطع دندان‌پزشکی عمومی مرکز تحقیقات پیشگیری از پوسیدگی دندان دانشگاه علوم پزشکی قزوین است.

نکته که دقت اندازه‌گیری روش‌های آزمایشگاهی متفاوت است، در مطالعه حاضر از روش یون کروماتوگرافی (یکی از مناسب‌ترین روش‌های موجود) استفاده شد.^(۲۳) یکی از عوامل مؤثر در میزان فلوراید موجود در چای، خاک کشت شده در آن است.^(۱۶)

در مطالعه حاضر غلظت فلوراید در انواع چای بسته‌بندی ۱/۳۲ تا ۱/۴۹ میلی‌گرم بر لیتر در زمان ۱۰ دقیقه بود. در مطالعه میلیوسکا بر روی ۱۱ نمونه چای سبز بسته‌بندی، غلظت فلوراید پس از ۱۰ دقیقه ۰/۷۹ تا ۲/۱۴ میلی‌گرم بر لیتر بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت.^(۱۳)

در مطالعه حاضر افزایش زمان دم کشیدن، میزان فلوراید آزاد شده از چای سبز را تغییر معنی‌داری نداد، در حالی که برخی مطالعه‌ها حاکی از افزایش میزان یون فلوراید آزاد شده با گذشت زمان بوده است. با توجه به این که در آن مطالعه‌ها انواع چای سیاه بررسی شده که محتوای فلوراید آن‌ها با چای سبز متفاوت است، شاید بتوان این تفاوت را توجیه کرد. از طرف دیگر در مطالعه‌های فوق زمان دم کشیدن تا ۳۰ دقیقه و حتی بیش‌تر بوده است که این مطلب نیز می‌تواند دلیل دیگری برای به دست آوردن نتایج متفاوت باشد.^(۲۴،۲۰،۱۹،۱۶،۱۳)

لازم به ذکر است مدت زمان‌های ۳ و ۱۰ دقیقه دم کشیدن در مطالعه حاضر با توجه به دستور شرکت سازنده چای سبز برای انواع کیسه‌ای و بسته‌بندی در نظر گرفته شده بود. در مطالعه حاضر برای دقیق‌تر شدن مطالعه و امکان‌پذیر کردن مقایسه، از هر دو نوع چای (بسته‌بندی و کیسه‌ای) به مقدار ۱ گرم آزمایش شد. براساس نتایج مطالعه کنونی، تفاوت غلظت یون فلوراید چای سبز کیسه‌ای و بسته‌بندی از لحاظ آماری معنی‌دار بود که با در نظر گرفتن مقادیر یکسان از هر دو نوع چای، به نظر می‌رسد تفاوت حاصله مربوط به کیفیت برگ‌های چای مورد استفاده و روش فرآوری آن‌ها باشد. در برخی مطالعه‌ها عنوان شده است که به طور معمول از برگ‌های

*مراجع:

1. Wierzejska R. Tea and health-a review of the current state of knowledge. *Prezql Epidemiol* 2014; 68 (3): 501-6, 595-9.
2. Chang K. World tea production and trade current and future development. Food and Agriculture Organization of the United Nation. Rome 2015.
3. Hicks A. Current status and future development of global tea production and tea products. *AU J T* 2009 Apr; 12 (4): 251-64.
4. Cabrera C, Artacho R, Gimenez R. Beneficial effects of green tea: a review. *J Am Coll Nutr* 2006 Apr; 25 (2): 77-99
5. Li MJ, Yin YC, Wang J, Jiang YF. Green tea compounds in breast cancer prevention and treatment. *World J Clin Oncol* 2014 Aug 10; 5 (3): 520-8.
6. Gaur S, Agnihotri R. Green tea: a novel functional food for the oral health of older adults. *Geriatr Gerontol Int* 2014 Apr; 14 (2): 238-50.
7. Henning SM, Wang P, Carpenter CL, Heber D. Epigenetic effects of green tea polyphenols in cancer. *Epigenomics* 2013 Dec; 5 (6): 729-41.
8. Hu G, Zhang L, RongY, Ni X, Sun Y. Downstream carcinogenesis signaling pathways by green tea polyphenols: a translational perspective of chemoprevention and treatment for cancers. *Curr Drug Metab* 2014 Jan; 15 (1): 14-22.
9. Yarmolinsky J, Gon G, Edwards P. Effect of tea on blood pressure for secondary prevention of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Rev* 2015 Apr; 73 (4): 236-46.
10. Larsson SC. Coffee, tea, and cocoa and risk of stroke. *Stroke* 2014 Jan; 45 (1): 309-14.
11. Dean JA, Avery DR, McDonald RE: *Dentistry for the child and adolescent*. 9th ed. Maryland Heights, Missouri: Elsevier; 2011. 194-5.
12. Pinkham JR, Casamassimo PS: *Pediatric dentistry: infancy through adolescence*. 4th ed. Michigan: Sanders; 2013. 521.
13. Miliowska E, Inkielewicz I, Czarnowski W, Szefer P. Assessment of fluoride concentration and daily intake by human from tea and herbal infusion. *Food Chem Toxicol* 2008 Mar; 46 (3): 1055-61.
14. Reygaert WC. The antimicrobial possibilities of green tea. *Front Microbiol* 2014 Aug 20; 5: 434.
15. Fung KF, Zhang ZQ, Wong JW, Wong MH. Aluminium and fluoride concentration of three tea varieties growing at Lantau Island, Hong Kong. *Environ Geochem Health* 2003 Jun; 25 (2): 219-32.
16. Kalayci S, Somer G. Factors affecting the extraction of fluoride from tea: Application to three tea samples. *Fluoriude* 2003; 36 (4): 267-70.
17. Quock RL, Gao JX, Chan JT. Tea fluoride concentration and the pediatric patient. *Food Chem* 2012 Feb 1; 130 (3): 615-7.
18. Emekil-Alturfan E, Yarat A, Akhyuz S. Fluoride levels in various black tea,herbal and fruit infusions consumed in Turkey. *Food Chem Toxicol* 2009 Jul; 47 (7): 1495-8.
19. Esfehanizade K, Hemmati G, Valaeei N. Effect of brewing time on the amount of fluoride released from tea. *J Research in dentistry* 2010; 4 (22): 63-8.
20. Zerabruk S, Chandravanshi BS, Zewge F. Fluoride in black and green tea (*Camelliasinensis*) infusions in Ethiopia: measurement and safety evaluation. *Bull Chem Soc Ethiop* 2010; 24 (3): 327-38.

21. Koblar A, Tavcar G, Ponikvar M. Fluoride in teas of different types and forms and the exposure of humans to fluoride with tea and diet. *Food Chem* 2012; 130: 286-90.
22. Karami-Nogourani M, Javadinejad Sh, Dideban N, Talebi M. Comparison of the fluoride content of four tea brands using spectrophotometry and ionic chromatography methods. *The Journal of Islamic Dental Association of IRAN* 2010; 22 (3): 167-74. [In Persian]
23. Itota T, Carrik TE, Rosby S, Al-Naimi OT, Yoshiyama M, McCabe 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.
24. Sofuoglu SC, Kavcar P. An exposure and risk assessment for fluoride and trace metals in black tea. *J Hazard Mater* 2008 Oct 30; 158 (2-3): 392-400.