مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (16) العدد (4) – (2016)
ISSN-1813-1646

تحديد الملوثات المايكروبية والكيميائية لنماذج الشاي في الاسواق العراقية

سارة ثامر هادي[1] وكركز محمد ثلج
قسم علوم الاغذية – كلية الزراعة – جامعة تكريت

الخلاصة

هدف البحث الى تحديد الملوثات المايكروبية والملوثات من العناصر الثقيلة في عينات أنواع الشاي الاسود والاخضر التي جمعت من الاسواق المحلية في مدينة تكريت، العراق. بّينت النتائج أن قيم الأس الهيدروجيني لمشروبات الشاي الأسود كانت عند قيم 4.7-4.9 بينما في عينات الشاي الأخضر عند 5.3-5.5، وكان محتواها من الملوثات المايكروبية من البكتريا الهوائية والمكورات العنقودية والبكتريا اللاهوائية وأنواع الفطريات في أعداد كلية من كل منها في الحدود غير المسموح بها اعتمادا الى المواصفات الاورُبية ، بينما كان تركيز العناصر الثقيلة ضمن الحدود المسموح بها مقارنة مع المواصفة القياسية العراقية لمشروبات الشاي.

الكلمات المفتاحية:
الملوثات ، المايكروبية والكيميائية ، الشاي الاسود ، الشاي الاخضر.

للمراسلة:
كركز محمد ثلج
البريد الالكتروني:
krkzmoh@yahoo.com

Determine the Microbial and Chemical Pollutions for Tea Samples in Iraqi Markets

Saraa T. Hadi and Karkaz M. Thalij
Food Sci. Dept.- College of Agriculture- Tikrit University- Iraq.

ABSTRACT

The aim of the study is to determine the microbial pollutants and the contaminants from heavy metals in tea samples that collected from Tikrit city markets in Iraqi. The results showed that pH of drinks black tea was when values at 4.9-4.7 while in green tea samples at 5.5-5.3, and the microbial contamination from aerobic bacteria, Staphylococci, anaerobic bacteria and fungi in a total counts from each them were as at not allowed levels depending to the European standard specifications, while the concentration of heavy metals within the permissible limits compared to the Iraqi standard specification for tea drinks.

Key words:
Microbial, Chemical, Pollutions, green tea, black tea.

Correspondence:
Karkaz M. Thalij
E-mail:
krkzmoh@yahoo.com

المقدمة :

اكتشف الشاي صدفة من قبل Zhen hung إبان الأمبراطورية الصينية 2737 ق.م (Wheeler و Weeler ، 2004) ويعد الآن من أكثر المشروبات استهلاكاً في بلدان اسيا (Zeveri وآخرون ، 2006) . يزرع الشاي في أكثر من 30 بلداً ، وتعد الصين، اليابان، تايوان، الهند، بنغلادش ، سريلانكا و كينيا (Graham ، 1992 و Shaheen وآخرون ، 2006) من أكثر البلدان زراعة لهذا المحصول. يعد الشاي بأنه المشروب الأكثر استهلاكاً في العالم بعد الماء (Mazzant وآخرون ، 2009). هناك أنواع عديدة منه منها الشاي الأخضر والأسود والشاي الأسود الصيني (الاولنج) ، ويتميز بأنه يمتلك تأثيرات صحية متنوعة في حالة استهلاكه، منها كونه مضاد للالتهابات (Dona وآخرون ، 2003)، في معالجة التهاب المفاصل (Haqqi وآخرون ، 1999) ، وأن زيادة أستهلاك الشاي الأخضر تبين بأنها تقلل من مخاطر الإصابة بأمراض الكبد (Varilek وآخرون، 2001). كما أن المستخلص منه ذو تأثير مانع لحصول التليف الكبدي (Li وآخرون ، 2004) اذ إن وجود مادة EGCG يعود لها التأثير المضاد للأكسدة (Valcic وآخرون، 1999) كما أن وجود البولفينول

[1] البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

في تركيبه له تأثير واسع ضد حصول الطفرات والتسرطن (Fujiki وآخرون، 1999)، وله دور في علاج الاسهال والتيفوئيد (Lu وآخرون، 2003) ، ومضاد للفطريات (Takabayashi وأخرون ، 2004)، ويستخدم في تحضير المستحضرات الصيدلانية ومواد التجميل ومعجون الاسنان (Arburjai وآخرون ، 2003). يعد البولفينول المكون الرئيس للشاي الاخضر، إذ يمثل تركيزه مايقارب 25 الى 30% على اساس الوزن الجاف (Yao وآخرون ، 2006). تتأثر تراكيز المواد الكيميائية الفعالة في الشاي في اختلاف ظروف النمو كالمناخ وموسم الزراعة ونوع التربة وغيرها من الظروف والعمليات الزراعية وكذلك طريقة التصنيع والتعبئة (Lin وآخرون ، 2003)، لذلك فإن محتوى الشاي الأخضر من مضادات الأكسدة يكون أكثر مما في أنواع الشاي الأسود، الذي يعود الى اختلاف عمليات التصنيع لكل منهما(Zaveri ، 2006). وتعد أوراق الشاي مصدراً غنياً للعناصر المعدنية من الأنواع F, I, P, K, Na, Br, Al, Ti, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu وأن محتواها يعد قليلا من البروتين والفيتامينات والكربوهيدرات (Srividhya وآخرون، 2011).

نظرا لقلة الدراسات التي تؤكد تأثيرات الشاي بأنواعة المختلفة في صحة الانسان ولتنوع طرائق التصنيع والتعبئة ولاسيما في السنوات الأخيرة وانتشار علامات تجارية كثيرة فقد كان هدف الدراسة في تحديد الملوثات المايكروبية والملوثات من العناصر الثقيلة في انواع الشاي من نوعيه الاسود والاخضر.

مواد وطرائق البحث :

جمع العينات: جمعت ست علامات تجارية من الشاي الأسود والأخضر الشائعة الاستهلاك من أسواق مدينة تكريت تضمنت العلامات التجارية (محمود ، احمد ، وزة) لكل من الشاي الاسود والاخضر وبخمس مكررات لكل منها. نقلت العينات الى المختبر وتم حفظها مباشرة في الثلاجة عند 4 ° م لحين الاستخدام وكما في(Robert and Greenwood, 2003).

اعداد العينات للفحص المايكروبي: تم وزن 25 غم من كل عينة واضيف الى فلاسك حجم 250 مل يحتوي على 225 مل من البيتون المحضر حسب تعليمات الشركة المصنعة (Oxoid) الذي تم تعقيمه بأستخدام الموصدة على 121 ° م لمدة 20 دقيقة للحصول على تخفيف 10^{-1}. وبعد التحريك لمدة 10 دقائق تم اكمال التخافيف حسب الحاجة لكل عينة. تم التحري عن وتقدير اعداد الاحياء المجهرية وبمكررين لكل عينة ولكل نوع من الاحياء المجهرية المحددة وكما في (Benson, 2001).التي كانت التالية:

1. الأعداد الكلية للبكتريا اللاهوائية: التي تم الحصول على اعدادها بعد التنمية على وسط الاكار المغذي Nutrient agar عند حرارة 37 ° م لمدة 24 ساعة.
2. الاعداد الكلية للمكورات العنقودية: التي تم الحصول على اعدادها من خلال التنمية على وسط المانيتول الملحي الصلب Mannitol salt agar عند حرارة 37 ° م لمدة 24 ساعة.
3. الاعداد الكلية من البكتريا اللاهوائية: تم تحديد اعدادها الكلية بعد زراعتها على وسط Choclate Agar . وبعد مزج الوسط جيدا في الاطباق وضعت داخل حاويات الظروف اللاهوائية (Anaerobic Jar) بصورة مقلوبة مع عدة الظروف اللاهوائية (Gas pak) لجعل الظروف لاهوائية ثم حضنت الاطباق عند 37م° مدة 48 ساعة.
4. الاعفان بعد ان تم تلقيح 1 مللتر من كل من التخفيفين الاخيرين وتلقيحها بطريقة النشر(Spreading) على كل من اوساط Potato Dextrose Agar و Malt Extract Agar والمجهزة من شركة (Oxoid) تم التحضين عند 30 م^{o} لمدة 5–7 ايام.

بعد التنمية على كل من الاوساط الزرعية والفترات الملائمة لتنمية الانواع البكتيرية او الاعفان تم حساب اعداد المستعمرات لكل منها وكما في(Robert and Greenwood, 2003).

تقدير الاس الهيدروجيني: تم تحديد الاس الهيدروجيني في انواع مشروبات الشاي بوساطة جهاز pH meter وبصورة مباشرة حسب الطريقة المذكورة في (A.O.A.C ، 2004).

تقدير العناصر المعدنية : تم تقدير المعادن الثقيلة في الشاي باستخدام جهاز الامتصاص الذري Atomic Absorption type E LCO)) حسب الطريقة المتبعة في (A.O.A.C ، 2004) في قسم الهندسة الكيمياوية جامعة تكريت بعد الترميد الجاف للعينات وبالطريقة الآتية:

أخذ وزنٍ معلومٍ من الشاي في جفنة خزفية ثم بخر باستخدام الفرن الكهربائي عند درجة حرارة 100 مْ وللتخلص من أكبر كمية من الماء نقلت الجفن الى فرن الترميد عند درجة حرارة 600 مْ لحين ثبات الوزن والحصول على مسحوق ابيض أو رمادي وثبات الوزن واحتساب وزن الرماد من خلال المعادلة الأتية :

وزن الرماد= وزن العينة قبل الترميد (عينة+جفنة)– الوزن بعد الترميد (جفنة+رماد)

$$\text{النسبة المئوية للرماد} = \frac{\text{وزن الرماد}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

ولتقدير نوعية المعادن المطلوب الكشف عنها ونسبتها وهي الرصاص والكادميوم والزنك والنحاس، فقد تم اضافة 5 مل من حامض النتريك بتركيز 5% إلى الرماد المتحصل عليه ومزجها جيدا ثم رشح باستخدام ورق الترشيح وقدرت باستخدام جهاز الامتصاص الذري لكل معدن مراد تحديده وقياسه عن طريق وضع العينة وهي بصورة سائل شفاف في الجهاز وتقدير نسبتها مباشرة كما في (A.O.A.C،2004).

النتائج والمناقشة :

يبين الجدول 1. قيم الأس الهيدروجيني في مشروب انواع الشاي الأسود والأخضر وبستة علامات تجارية ، اذ كانت في أنواع مشروبات الشاي الأسود من العلامات **محمود واحمد** عند 4.9 و4.8 على التوالي التي تبينت بأنها أقل قيمة مما في أنواع مشروبات الشاي الأخضر للعلامة نفسها إذ تراوحت عند 5.3 و5.5 على التوالي. إن الاختلاف في قيم الأس الهيدروجيني الموضحة في النتائج يمكن أن يرجع إلى الاختلاف في نوعية المواد الفعالة الموجودة في كلا النوعين من الشاي وتركيزها إذ ان وجود مركبات التانينات في الشاي الأسود يمكن ان يكون السبب في انخفاض قيم الأس الهيدروجيني في عينات منه وارتفاعها في أنواع الشاي الأخضر على الرغم من وجود مركبات القلويدات التي يمكن ان يكون تركيز وجودها منخفضاً في أنواع الشاي الأسود.

جدول (1) قيم الاس الهيدروجيني في مشروب الشاي الأسود والأخضر

نوع الشاي	علامة الشاي	قيم الاس الهيدروجيني
الاسود	محمود	4.9 ± 0.02^{b}
	وزة	4.9 ± 0.05^{b}
	احمد	4.8 ± 0.07^{b}
الاخضر	محمود	5.3 ± 0.03^{a}
	وزة	5.5 ± 0.04^{a}
	احمد	5.5 ± 0.04^{a}

b-a:الاحرف المختلفه في العمود الواحدتعني وجود فروقات معنويه عندمستوى الاحتماليه 0.05.

± Standard error الخطأ القياسي

اما الجدول 2. فقد وضح انواع الأحياء المجهرية وأعدادها الملوثة لأنواع الشاي الأسود والأخضر. تبين أن أنواع الشاي بعلاماته المختلفة احتوى على أنواع متنوعة وبأعداد مرتفعة من الملوثات المايكروبية التي تراوحت من الأنواع الهوائية التي حسبت على الوسط الغذائي الزرعي Nutrient Agar بين لو 13 إلى لو 58 و.ت.م/غم من أنواع الشاي للعلامات الأسود وزه واحمد على الترتيب. اما معدلات الانواع من المكورات العنقودية فقد تراوحت بين لو3 الى لو 31 و.ت.م/غم في علامات الشاي الاخضر وزه واحمد على الترتيب. وكانت اعداد انواع الملوثات من البكتريا المكونة للسبورات واللاهوائية بين لو 15 الى لو 28 و.ت.م/غم في الشاي الاخضر محمود و الأسود وزه على الترتيب ، وتراوحت الملوثات الفطرية بين لو 2 إلى لو 23 و.ت.م/غم في عينات من أنواع الشاي الأسود محمود و وزةعلى الترتيب ايضا.

أتفقت النتائج مع ماذكره Schlegel، (2000) في ان تلوث انواع الشاي من الملوثات المايكروبية يمكن أن يعود إلى التلوث في الحقل من بعض الأنواع ولاسيما المكونة للسبورات وكونيديات الفطريات وكذلك أثناء العمليات التصنيعية والتعبئة التي تستخدم لكل نوع من أنواع الشاي ولاسيما من أنواع المكورات العنقودية والأنواع الهوائية، التي سببت في ظهورها بأعداد متفاوتة من كل منها في أنواع الشاي (Swiderski ،1999).

جدول 2. الأعداد والانواع المايكروبية في انواع الشاي الاسود والاخضر.

نوع الشاي	العلامة التجارية	الانواع والاعداد الكلية من انواع الاحياء المجهرية (لو و.ت.م/غم) الملوثة لعينات الشاي			
		الهوائية	المكورات العنقودية	اللاهوائية	الفطريات
الاسود	محمود	17d±0.07	6c±0.03	23[b]±0.09	2d±0.03
	وزة	13e±0.09	13b±0.05	28a±0.08	23a±0.07
	احمد	58a±1.0	13b±0.04	27a±0.04	9c±0.06
الاخضر	محمود	23c±0.09	14b±0.06	15c±0.07	21a±0.03
	وزة	31b±1.05	3d±0.05	27a±0.05	15 b±0.06
	احمد	21c±0.08	31a±0.04	23b±0.04	8c±0.01

a–e:الاحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود اختلافات معنوية عند مستوى معنوية0.05.

± Standard error الخطأ القياسي

اما محتوى الشاي الأسود والأخضر من كل من عناصر الرصاص والنحاس والكادميوم والزنك فقد وضحها الجدول 3. حيث أظهرت النتائج أن أعلى تركيزاً للرصاص كان في عينات الشاي الأسود علامة وزة وهي عند 0.59 ملغم/ غم تلاه ماوجد في عينات الشاي الأخضر علامة محمود إذ كان عند 0.44 ملغم/ غم ، أما أقل نسبة منه فقد كان في عينات الشاي الأخضر نوع أحمد التي كانت عند 0.14 ملغم/غم أتفقت النتائج مع ماوجده Hussain و آخرون (2006) لتركيز عنصر الرصاص في عينات الشاي الاسود وكذلك مع ماوجده Seenivasan وآخرون (2008) الذين بينوا ان تركيز عنصر الرصاص قد تراوح بين 1.03- 0.48 ملغم/ كغم للشاي الأسود والأخضر. وقد كان تركيز عنصر الرصاص أقل من الحِّد المسموح به مقارنة مع ما مثبت من قبل المواصفات القياسية العراقية (1986) إذ كان الحد المسموح به عند 5 ملغم/ كغم .

أما تركيز عنصر النحاس فقد كان عند أعلى تركيزاً له في عينات نوع الشاي الأخضر علامة أحمد 3.03 ملغم/ كغم وان اقل تركيز له كان في نوع الشاي الأخضر علامة وزة عند 0.13 ملغم/ كغم و كانت التراكيز التي تم الحصول عليها في

دراستنا أقل مما وجدت في الدراسات الاخرى لكل من (Damayanthi وآخرون، 2009) الذي وجد أن عنصر النحاس تراوح تركيزه بين 20.8 إلى 42.1 ملغم/كغم من أنواع الشاي الأسود وكذلك أقل مما وجده (Nookabkaew وآخرون، 2006) التي كانت عند 3.07 الى 22.4 ملغم/ كغم .

وقد احتوت عينات الشاي بنوعيه الأسود والأخضر على تركيز قليل جدا من عنصر الكادميوم التي كانت عند 0.004 ملغم/ كغم ماعدا في عينات الشاي الأسود علامة محمود التي احتوت على تركيز عند 0.013 ملغم/ كغم الذ يعد تركيزا منخفضا وغير مؤثرٍ في الصحة عند التراكيز المشار إليها، اتفقت النتائج مع وجده Hussain وآخرون، (2006) الذي لم يحدد في دراسته تواجد للكادميوم ماعدا في عينة واحدة احتوت على تركيز منه عند 0.25 ملغم/ كغم .

أما تركيز عنصر الزنك في عينات الشاي فقد كانت عند أقل تركيزاً لها في عينة الشاي الأسود علامة محمود 4.00 ملغم/ كغم وأكثرها في عينة الشاي الأخضر علامة محمود التي كانت عند 5.04 ملغم/ كغم، فكان تركيز عنصر الزنك في عينات الشاي أقل مما وجد في الدراسات السابقة إذ وجد Srividhy وآخرون، (2011). أن تركيز الزنك في الشاي الأسود عند 25 ملغم/ كغم وفي الشاي الاخضر عند 26.39 ملغم/ كغم وقد أشارت دراسة أخرى قام بها Nookabkaew وآخرون (2006) إلى أن تركيز عنصر الزنك كان بين10.13إلى 55.40 ملغم/ كغم في عينات الشاي المدروسة.

يعد الزنك من العناصر المعدنية الضرورية لمعظم الكائنات الحية ولاسيما الانسان(Hussain وآخرون، 2006) وقد يعزى سبب زيادة تركيز النحاس في المواد الغذائية ولاسيما المعلبة إلى التلوث البيئي من هذا العنصر من الاماكن التي يتواجد فيها بتراكيز عالية ولاسيما الصناعية فيها وانتقاله الى المحاصيل الزراعية أو انتقاله في أثناء العمليات التصنيعية للأغذية من الادوات والعلب المستخدمة في التصنيع فضلا عن وجوده في بعض المبيدات الحشرية أو الفطرية التي سهلت من انتقاله بتراكيز عالية إلى المواد الغذائية الطازجه والمعلبة (Onianwa وآخرون 2001) ويمكن ان يعزى السبب في زيادة تركيز الكادميوم في الأغذية المعلبة إلى التراكيز العالية منه والملوثة للمياه والتربة، والتي يمكن أن تصل إلى الماء ومنه تنتقل إلى النبات الذي يمكن أن يستهلك من قبل الحيوان أو الانسان مسبباً الحالات المرضية وحسب التراكيز المنقولة (ATSDR ،1999) و قد يعزى السبب في زيادة تركيز الزنك إلى وجوده بتراكيز عالية في التربة (Janardhan وآخرون، 2007)، إضافة الى إمكانية انتقاله من خلال طرح الفضلات إلى الأنهر ومن ثم انتقاله عن طريق السلسلة الغذائية الى الانسان.

جدول 3. تركيز العناصر الثقيلة في عينات انواع الشاي الاسود والاخضر

نوع الشاي	نوع العلامة التجارية	تراكيز العناصر الثقيلة في عينات الشاي (ملغم/كغم)			
		الرصاص	النحاس	الكادميوم	الزنك
الاسود	محمود	$0.37^{a}\pm0.03$	$1.53^{b}\pm0.06$	$0.0136^{a}\pm0.0001$	$4.02^{b}\pm0.67$
	وزة	$0.59^{a}\pm0.04$	$1.76^{b}\pm0.03$	$0.004^{b}\pm0.0001$	$4.47^{b}\pm0.73$
	احمد	$0.37^{a}\pm0.01$	$0.76^{c}\pm0.06$	$0.004^{b}\pm0.0001$	$5.0^{a}\pm0.89$
الاخضر	محمود	$0.44^{a}\pm0.04$	$1.63^{b}\pm0.09$	$0.004^{b}\pm0.0001$	$5.04^{a}\pm0.70$
	وزة	$0.22^{b}\pm0.03$	$0.13^{d}\pm0.01$	$0.004^{b}\pm0.0001$	$4.75^{a}\pm0.81$
	احمد	$0.14^{b}\pm0.01$	$3.03^{a}\pm0.03$	$0.004^{b}\pm0.0001$	$4.87^{a}\pm0.74$

c-a الحروف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود فروقات معنويه عند مستوى الاحتمالية 0.05.

± Standard error الخطأ القياسي .

المصادر :

(ASTDR). Agency for Toxic Substance and Disease Registry. (1999) . U. S. Department of Health and Human Services , Puplic Health Service CADMIUMCAS., 9:7740-43.

AOAC., (2004). Association of Official Chemists, 12th ed ., Washington, D.C. Swiderski , F.: Towaronawstwo Ywnosci Przetworzonej . SGGW Warszawa (1999).

Arburjai T, Natsheh FM. Plants used in cosmetics. Phytother Res 2003; 17:987-1000.

Benson, H. F.(2001). Microbiological applications Laboratory manual in general microbiology, 8th ed., McGraw-Hill companies, Inc. New York.

Damayanthi ,A .D. M., Amarakoon , A.M.T., Mahanama , K. R.R . Assessment of heavy metals in black tea produced in different agro- ecological region of Srilanka .***2009***; *pp 273-275.*

Dona M, Dell'Aica I, Calabrese F, Benelli R, Morini M, Albini A, Garbisa S. Neutrophil restraint by green tea: inhibition of inflammation, associated angiogenesis, and pulmonary fibrosis. J Immunol 2003; 170:4335-4341.

Fujiki H, Suganuma M Okabe S. Mechanistic findings of green tea as cancer preventive for humans. Proc Soc Exp Biol Med 1999; 220: 225-228.

Graham, H.N., 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. Prev. Med., 21: 334-350.

Robents, D. and Greenwood, M. (2003). Practical Food Microbiology. 3d. ed. Blackwell Publishing ltd, 350 Main Street, Nalden, Massachusetts 02148-5018, USA, pp: 296.

Haqqi TM, Anthony DD, Gupta S, Ahmad N, Lee MS, Kumar GK, Mukhtar H. Prevention of collagen-induced arthritis in mice by a polyphenolic fraction from green tea. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96:4524-4529.

Ho, C.T., C.W. Chen, U.N. Wanasundara and F. Shahidi, 1997. Natural antioxidants from tea in natural antioxidants. Champaign, IL: AOCS Press, pp: 213-223.

Hussain, I., Khan, F.,Iqbal, Y. and Khalil, S ***.(2006).*** Investigation of Heavy metals in commercial Tea Brand . Jour .Chem . Soc. *Pak.. 28: 246-251*.

Janardhan , K .; Reddy , J . ; Rajesh Kumar , C .; Rama chadraiah , T.; Spectrophotometric determination of Zinc in Food Using N-ethyl -3- Carba zoleca rboxaldehyde-3-Thio semicarbozone : Evaluation of a new analytical regent , Food Chemistry : 101, 585 – 591.

Li Y.M., Zhang X.G., Zhou H.L., Chen S.H., Zhang Y., Yu C.H. 2004. Effects of tea polyphenols on hepatic fibrosis in rats with alcoholic liver disease. Hepatobiliary Pancreat Dis Int.; 3: 577-579.

Lin, Y.-S., Y.-J. Tsai, J.-S. Tsay and J.-K. Lin, 2003. Sakthivel, P. Geraldinea and P.A. Thomas, 2009.Factors affecting the levels of tea polyphenols caffeine in tea leaves. J. Agric. Food Chem., 51: 1864-1873.

Lu H., Meng X., Li C., Sang S., Patten C., Sheng S., Hong J., Bai N., Winnik B., Ho C.T. and Yang, C.S. 2003. Glucuronides of tea catechins: enzymology of biosynthesis and biological activities. Drug Metab Dispos; 31:452-461.

Mazzanti ,G .; Ippolito ,F . M.; Moro , P. A.; Cassetti, F.; Raschetti , R .; Santuccio, C.; Mastrangelo ,S . 2009. Hepatotoxicity from green Tea : a review of the Literature and two unpublished cases . Eur J Clin pharmacol 65, 4 331-341.

Mondal, T.K., A. Bhattacharya, M. Laxmikumaran and P.S. Ahuja, 2004. Recent advances of tea (*Camellia sinensis*) biotechnology. Plant Cell, Tissue. Organ Culture, 76: 195-254.

Nookabkaew, S., Rangkadilok, N., Satayavivad , J. Determination of Trace Elementes in Herbal TEA Products and Their Infusions Consumed in Thiland.***2006***; *Jf060571W*.

Onianwa , P . C . ; Adeyemo , A. O .; Idowu , O. E . and Ogabiela , E.E .(2001). Copper and Zinc contents of Nigraian Foods and estimates of The adult dietary in

Seenivasan S., Manikandan N., Muraleedharan N.N. Selvasundaram R., Heavy metal content of black teas from south India, Food Control. 2008; 19: 746- 749.

Shaheen, S.M., M.N. Hossen, M. Ahmed and M.S. Amran, 2006. Green Tea in Health Care: A natural medicine, a natural drink. J. Applied Sci. Res., 2: 306-309.

Srividhya, B . ;Subramanian, R .;Raj, V .(**2011)** . Determination of Lead, Manganese,Copper , Zinc , Cadmium , Nickel and Chromium in Tea Leaves . *int . J . pharm . Sci , Vol 3 , Issue 4, 257-258* .

Srividhya, B . ;Subramanian, R .;Raj, V .(**2011)** . Determination of Lead , Manganese,Copper , Zinc , Cadmium , Nickel and Chromium in Tea Leaves . *int . J . pharm . Sci , Vol 3 , Issue 4, 257-258* .

Takabayashi F, Harada N, Yamada M, Murohisa B, Oguni I. Inhibitory effect of green tea catechins in combination with sucralfate on Helicobacter pylori infection in Mongolian gerbils. J Gastroenterol 2004; 39:61-63.

Valcic S, Muders A, Neil EJ, Liebler DC, Timmermann BN. Antioxidant Chemistry of Green Tea Catechins. Identification of Products of the Reaction of (−)-Epigallocatechin Gallate with Peroxyl Radicals Chem Res Toxicol 1999; 12: 382–386.

Varilek GW, Yang F, Lee EY, deVilliers WJ, Zhong J, Oz HS, Westberry KF, McClain CJ. Green tea polyphenol extract attenuates inflammation in interleukin-2-deficient mice, a model of autoimmunity. J Nutr 2001; 131:2034-2039.

Wang, Y., Y. Mei, D. Feng and L. Xu, 2006. (-)- Epigallocatechin-3-gallate protects mice fro concanavalin ainduced hepatitis through suppressing immune-mediated liver injury. Clin. Exp. Immunol., 145: 485-492.

Wheeler, D.S. and W.J. Wheeler, 2004. The medicinal chemistry of tea. Drug Dev. Res., 61: 45-65.

Wolfram, S., D. Raderstorff, M. Preller, Y. Wang, S.R. Teixeria, C. Riegger and P. Weber, 2006. Epigallocatechin gallate supplementation alleviates diabetes in rodents. J. Nutr., 136: 2512-2518.

Yang, C.S. and J.M. Landau, 2000. Effects of tea consumption on nutrition and health. J. Nutr., 130: 2409-2412

Yao, L.H., Y.M. Jiang, N. Caffin, B.D. Arcy, N. Datta, X. Liu, R. Singanusong and Y. Xu, 2006. Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. Food Chem., 96: 614-620.

Zaveri, N.T., 2006. Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses in cancer and noncancer applications. Life Sci., 78: 2073-2080.

Roberts, D. and Greenwood, M. 2003. Practical Food Microbiology. 3ed. Blackwell Publishing Inc., 350 Main Street, Malden, Massachusetts 02148-5018, USA, Pp: 296.

Winn, C.W., D.S. Allen M.W. Janda W.E. Koneman W.G. Procop C.P. Schreckenberger and L.G. Woods 2006. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Sixth Edtion, Lippincott Williams Wilkins.