

Investigation of Heavy Metals Accumulation in Different Tissues of Laboratory Rat

ABSTRACT

Background and Aim: In recent decades, industrial, agricultural and urban activities have led to pollution and accumulation of heavy metals in soils and plants which directly or indirectly affects humans and animals lives. Nowadays, pollutant accumulation in most agricultural products is much higher than the permissible limit due to the excessive use of fertilizers. The main objective of the present study was to investigate the accumulated proportions of heavy metals such as copper, lead and cadmium in different tissues of laboratory rat.

Materials and Methods: In this study, the accumulation and distribution of heavy metals were investigated in different organs of rats under various nutritional conditions. The experiment was conducted in a completely randomized design with greenhouse strawberry treatments in three groups. Different groups of rats (27 rats) were fed strawberries infected with heavy metals by oral gavage within a three-month period. Regarding the average weight of rats, 0.5 gram of fresh strawberry was considered for each rat. In addition, heavy metals solution including cadmium (15.773 mg / l), lead (41.560 mg / l) and copper (9.445 mg / l) were exerted to the plant. In the next stage of procedure, heavy metals (cadmium, copper and lead) accumulated in different organs of the rats (kidney, liver, pancreas, Testicle, spleen, and brain) were measured.

Results: Results showed that the concentrations of studied heavy metals in the strawberries were 7.7, 26 and 3.2 mg/kg for cadmium, lead and copper respectively, which were higher than Iranian standard level. The statistical results showed that there was a significant difference between the different organs in the intake of the heavy metals, so that in the infected treatment, the most and lowest amounts of cadmium were in the kidney (0.41 g / day) and the brain (0.24 g / day), respectively. Heavy metals caused reduction in the rate of weight gain of rats. The accumulation of these elements was higher in the kidney, liver and pancreas than other organs. The least accumulation of heavy metals was related to the rat's brain, while highest proportion of the heavy metals accumulation was in the kidney.

Conclusion: The results demonstrated that if strawberry quality is not evaluated properly and distributed throughout community in the contaminated form, it can pose many harmful effects on the community's health. Therefore, the quality control should be carried out with high precision.

Document Type: Research article

Keywords: Contamination, Lead, Toxicity, Cadmium, Copper

Sepideh yeganeh shali

MSc graduated, Soil chemistry, Faculty of Agriculture, Bu Ali Sina University, Hamadan.

Ghasem Rahimi

Assistant Prof. Soil science, Faculty of Agriculture, Bu Ali Sina University, Hamadan.

Leila Jahanban

Department, faculty, University (Institution), Marivan, Iran.

Salahedin Moradi

Department, Faculty, University (Institution), Marivan, Iran.

Eisa Ebrahimi

* Ph. D. Student, Soil Science Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. (Corresponding Author), E-mail: Ebrahimi.soilphysic@yahoo.com

Received: 2018/06/05

Accepted: 2018/07/16

► **Citation:** Yeganeh Shali S, Rahimi GH, Jahanban L, Moradi S, Ebrahimi E. Investigation of Heavy Metals Accumulation in Different Tissues of Laboratory Rat. *Iranian Journal of Research in Environmental Health*. Summer 2018;4(2): 94-103.

بررسی میزان تجمع فلزات سنگین در بافت‌های مختلف موش‌های آزمایشگاهی

سپیده یگانه شالی

کارشناس ارشد شیمی خاک، دانشکده کشاورزی،
دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران.

قاسم رحیمی

استادیار، گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی،
دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران.

لیلا جهانبان

مری، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، میوان،
ایران. صندوق پستی ۱۹۳۹۵-۳۶۹۷

صلاح‌الدین مرادی

مری، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، میوان،
ایران. صندوق پستی ۱۹۳۹۵-۳۶۹۷

عیسی ابراهیمی

* دانشجوی دکتری خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی،
دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

(نویسنده مسئول)، ایمیل:

Ebrahimi.soilphysic@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: در دهه‌های اخیر، تمرکز فعالیت‌های صنعتی، کشاورزی و شهرنشینی باعث آلودگی و تجمع عناصر سنگین در خاک و گیاهان شده است که به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم بر زندگی انسان‌ها و حیوانات اثر می‌گذارد. در حال حاضر در اکثر محصولات کشاورزی تجمع آلاینده‌ها به دلیل استمرار مصرف نامتعادل کودها که از دید مصرف کنندگان به دور مانده، بسیار بیشتر از حد مجاز است. مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان جذب فلزات سنگین مس، سرب و کادمیوم بر روی اندام‌های مختلف موش‌های تحت تغذیه گیاه توت‌فرنگی آلوده انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجمع و توزیع عناصر سنگین در اندام‌های مختلف موش صحرایی که تحت شرایط مختلف غذایی قرار گرفته بودند، مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه گروه‌های مختلف موش (تعداد ۲۷ موش) با توت‌فرنگی آلوده به عناصر سنگین به صورت گاوآز دهانی در طی یک دوره ۳ ماهه، هر روز تغذیه شدند. با توجه به متوسط وزن موش‌ها برای هر کدام 0.5 g توت‌فرنگی تازه در نظر گرفته شد. عناصر سنگین کادمیوم ($15/773 \text{ mg/L}$)، سرب ($41/560 \text{ mg/L}$) و مس ($9/445 \text{ mg/L}$) به صورت محلول به گیاه اضافه شد. در ادامه آزمایش، عناصر سنگین (کادمیوم، مس و سرب) تجمع یافته در اندام‌های مختلف موش (کلیه، کبد، پانکراس، بیضه، طحال و مغز) اندازه‌گیری شدند. **یافته‌ها:** غلظت عناصر مورد بررسی در توت‌فرنگی‌های تولیدی بالاتر از حد استاندارد ایران بودند؛ به‌گونه‌ای که میزان عناصر در میوه توت‌فرنگی برای کادمیوم، سرب و مس به ترتیب برابر با $26.7/7$ و $3/2 \text{ mg/kg}$ میوه به‌دست آمد. بر اساس نتایج مطالعه، بین اندام‌های مختلف اختلاف معنی‌داری در جذب عناصر وجود داشت؛ به‌گونه‌ای که در مورد عنصر کادمیوم در تیمار آلوده در کلیه (0.41 g/d) که بیشترین مقدار بود، اختلاف معنی‌داری با اندام مغز (0.24 g/d) که کمترین جذب کادمیوم را داشت، مشاهده شد. عناصر سنگین سرعت افزایش وزن موش‌ها را کاهش داد. تجمع این عناصر در کلیه، کبد و پانکراس بالاتر از سایر اندام‌ها بود. مغز کمترین تجمع را در بین اندام‌های مورد بررسی نشان داد. بالاترین جذب عناصر توسط کلیه بود.

نتیجه‌گیری: به طور کلی نتایج نشان داده است در صورتی که کیفیت توت فرنگی مورد ارزیابی قرار نگیرد و به صورت آلوده در جامعه توزیع شود می‌تواند اثرات زیان بار بسیاری بر سلامت جامعه داشته باشد و این کنترل کیفیت باید با دقت بالا صورت گیرد.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

کلید واژه‌ها: آلودگی، سرب، سمیت، کادمیوم، مس

◀ **استناد:** یگانه شالی س، رحیمی ق، جهانبان ل، مرادی ص، ابراهیمی ع. بررسی میزان تجمع فلزات سنگین در بافت‌های مختلف موش‌های آزمایشگاهی. *فصلنامه پژوهش در بهداشت محیط*. تابستان ۱۳۹۷. ۴: ۳۹۴-۳۹۷.

مقدمه

در سال‌های اخیر با توجه به افزایش گلخانه‌ها و استفاده از کشت هیدروپونیک در تولید محصولات کشاورزی و برای افزایش تولید در واحد سطح و از طرفی از بین بردن آفات و بیماری‌های گیاهی، استفاده از کود و سموم کشاورزی به شدت افزایش یافته است. آلودگی ناشی از عناصر سنگین در کودها و سموم، اثر زیان‌باری بر روی کیفیت محصولات، منابع آب و سلامتی انسان و حیوانات دارد (۱، ۲). ماندگاری عناصر سنگین در محصولات کشاورزی، تهدیدی برای سلامتی انسان است (۳، ۴). بروز سرطان‌ها، سکنه‌های قلبی و مغزی، افزایش مشکلات کلیوی و اداری، اختلالات روحی و روانی، افسردگی‌ها، اختلالات ژنتیکی، تولید نوزادان ناقص‌الخلقه، رفتارهای تهاجمی و خشونت‌آمیز، بیماری‌های روحی - روانی، کاهش بهره‌مندی و عدم تمرکز فکری، همگی از پیامدهای آلودگی محیط زیست به عناصر سنگین می‌باشند (۵، ۶). کادمیوم و سرب، جزء خطرناک‌ترین عناصر سنگین هستند که به شدت باعث آلودگی زیست محیطی می‌شوند. کادمیوم به سرعت باعث آسیب رسیدن به کلیه، استخوان و ریه می‌شود. همچنین این عنصر با تغییر در متابولیسم جذب کلسیم در بدن موجب پوکی استخوان می‌شود (۷). سرب به مقدار زیادی در استخوان تجمع می‌یابد، اما حساس‌ترین اندام‌ها برای این عنصر سیستم عصبی، کلیه و مغز استخوان است (۸). عناصر مس، آهن و روی، جزء عناصر ضروری برای بدن موجودات زنده هستند. غلظت‌های بالایی از این عناصر می‌تواند برای بدن مضر باشد، اما غلظت کم آنها نیز می‌تواند تأثیر متقابل با عناصر سنگین ایجاد کند. همچنین عناصر سنگین در بدن جذب سایر عناصر را در بدن مختل می‌کند (۹). مقدار تجمع این عناصر در بدن موجودات بستگی به مراحل مختلف مرحله تولد، تولید مثل، سن و نژاد حیوان دارد (۱۰). مطالعات و بررسی تأثیر عناصر سنگین بر موجودات زنده در دهه‌های اخیر به شدت افزایش یافته است. مطالعه بر روی پستانداران کوچک به خصوص جوندگان نشان داده است که آنها قادر به جمع‌آوری طیف وسیعی

از آلاینده‌ها در بدن خود می‌باشند (۱۱، ۱۲).

علاوه بر این، الگوی توزیع عناصر سنگین در اندام‌های مختلف جوندگان شبیه انسان است. در پژوهش‌های زیادی از جوندگان برای کنترل آلودگی محیط زیست و همچنین برای ارزیابی خطر قرار گرفتن در معرض عناصر سنگین برای مردم ساکن در یک منطقه آلوده استفاده شده است (۱۳، ۱۴). Martiniakova و همکاران (۲۰۱۰) میزان عناصر سنگین تجمع یافته در استخوان ران موش گردن زرد و موش چوبی که به صورت آزاد در مناطق آلوده اسلواکی زندگی می‌کنند را اندازه‌گیری و با هم مقایسه کردند، نتایج آنها نشان داد نیکل، آهن، مس و روی در بافت استخوان موش چوبی به میزان بیشتری تجمع یافته است و همچنین طول و وزن استخوان در موش گردن زرد بیشتر بود (۱۵). قرار گرفتن در معرض دوز 2 mg/kg کادمیوم بعد از 24 h ، تغییراتی در سطح پروتئین متاتولین در کبد، بیضه، کلیه موش به وجود آورده است (۱۶). غلظت‌های سرب و کادمیوم حتی در مقادیر کم باعث آسیب رسیدن به کبد، کلیه و بیضه جوندگان ساکن در نزدیکی کارخانه فولادسازی و تصفیه روی شده است (۱۷). بسیاری از مطالعات تجربی نشان داده‌اند که عناصر سنگین می‌تواند منجر به نارسایی کلیوی شدید، نفروپاتی مزمن و تغییرات فیزیولوژیکی شود (۲۰-۱۸). اثرات سمی عناصر سنگین بر روی تولید مثل مردان به یک نگرانی عمده تبدیل شده است (۲۱، ۲۲). بنابراین طیف گسترده‌ای از مطالعات در سطح سلولی و مولکولی بر روی انسان و حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است (۱۸، ۲۳، ۲۴). تحقیقات انجام شده حاکی از آن است که مصرف آب آشامیدنی حاوی سرب، کادمیوم، جیوه و مس در موش سوری نر بعد از ۷ هفته علاوه بر بالا بودن سطح کراتینین پلاسما، اوره و اوریک اسید عوارضی نظیر کاهش سطح گلوکوتانین و سوپراکسیدسوماتاز در کلیه و بیضه ایجاد می‌کند (۲۵).

بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان جذب فلزات سنگین مس، سرب و کادمیوم بر روی اندام‌های مختلف موش‌های تحت تغذیه گیاه توت‌فرنگی آلوده انجام شد.

روش کار

برای انجام این پژوهش توت‌فرنگی رقم گاویتا به جیره غذایی موش صحرایی اضافه شد. از نمونه نشاء توت‌فرنگی رقم گاویتا برای کشت در گلخانه (در بهمن ماه ۱۳۹۴) استفاده و گیاهان در گلخانه دانشگاه بوعلی‌سینا تحت شرایط دمایی بیشینه ۲۵ و کمینه ۱۴ °C آغاز و محصول در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۵ برداشت شد. محلول غذایی هوگلند برای تغذیه توت‌فرنگی بر اساس روش هوگلند و همکاران (۱۹۵۰) تهیه گردید (جدول ۱ و ۲) (۲۶).

جدول ۱. غلظت عناصر غذایی ماکرو در محلول هوگلند

عناصر ماکرو	غلظت g/L	mL از استوک در ۱۰۰ L محلول
NH ₄ NO ₃	۹۱/۴	۱۲۵
H ₂ O.P ₂ O ₅ NaH ₂ P ₄ O ₇	۳۵/۴	۱۲۵
K ₂ SO ₄	۷۱/۶	۱۲۵
CaCl ₂ .۲H ₂ O	۱۱۷/۳۵	۱۲۵
MgSO ₄ .۷H ₂ O	۳۲۴	۱۲۵

جدول ۲. غلظت عناصر غذایی میکرو در محلول هوگلند

عناصر میکرو	غلظت g/L	mL از استوک در ۱۰۰ L محلول
MnCl ₂ .۴H ₂ O	۱/۵	۱۲۵
(۶MgO)۲۴.۴H ₂ O(NH ₄) ₂ SO ₄	۰/۰۷۴	۱۲۵
ZnSO ₄ .۷H ₂ O	۰/۰۳۵	۱۲۵
H ₃ BO ₃	۰/۹۳۴	۱۲۵
CuSO ₄ .۵H ₂ O	۰/۰۳۱	۱۲۵
FeCl ₃ .۶H ₂ O	۷/۷	۱۲۵
H ₂ O.C ₆ H ₈ O ₇	۱۱/۹	۱۲۵

در ترکیب نمونه‌ها آسیاب شدند. آزمایش محتوای عناصر سنگین در جیره غذایی روزانه در سه سطح کنترل منفی، کنترل مثبت و آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار صورت گرفت. اندازه‌گیری غلظت کل عناصر سنگین به روش هضم اسیدی انجام شد (۲۷). غلظت عناصر سنگین سرب، کادمیوم و مس با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی مدل Varian Spectra AA FS ۲۲۰ ساخت کشور آمریکا اندازه‌گیری شد.

به منظور بررسی تأثیر محتوای عناصر سنگین موجود در تیمارهای غذایی بر مقادیر عناصر انباشته شده در بخش‌های مختلف بدن از تعداد ۲۷ عدد موش‌های صحرایی سفید بالغ، نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۲۰-۲۰۰ g استفاده شد. حیوانات تا زمان بلوغ در قفس‌هایی با ابعاد ۱۵×۳۰×۴۵ cm با پوشش خاک چوب تحت شرایط معین دمایی (۲۲±۲ °C)، نوری (۱۲ h روشنایی) و رطوبت نسبی ۳۰-۴۰ درصد نگهداری شدند. سازمان جهانی بهداشت مصرف روزانه ۸ عدد توت‌فرنگی با وزن ۱۸ g (برای هر عدد) را برای یک انسان بالغ با وزن ۶۰ kg توصیه کرده است که با توجه به متوسط وزن موش‌ها برای هر کدام حدود ۰/۵ g توت‌فرنگی تازه در نظر گرفته شد. غلظت عناصر سنگین سرب، کادمیوم و مس در توت‌فرنگی توسط جذب اتمی به ترتیب برابر ۲۶، ۷/۷۶۵ و ۳/۲ mg/kg اندازه‌گیری شد. برای تهیه تیمارهای غذایی، مقادیر مذکور مبنای آماده‌سازی قرار گرفتند. تیمار غذایی کنترل مثبت شامل جیره روزانه موش‌ها به اضافه مقدار مشخصی از محلول حاوی عناصر سنگین بود. این مقدار عناصر سنگین دقیقاً برابر با مقدار موجود در توت‌فرنگی تولید شده بود و به روش زیر تهیه شدند:

برای تهیه محلول (کنترل مثبت) حاوی عناصر سنگین، از نمک‌های این عناصر در آزمایشگاه استفاده گردید. مقادیر مورد نیاز عناصر در تهیه محلول مطابق با جرم اتمی نمک‌ها و با در نظر گرفتن عدد اتمی هر عنصر به صورت ذیل تعیین شدند:

از فلز کادمیوم در قالب نمک ۱/۲ H₂O . CdCl₂ با جرم اتمی ۲۲۸/۳۴ g استفاده شد. با توجه به جرم اتمی کادمیوم

بعد از رسیدن گیاهان به مرحله زایشی، میوه‌ها در طول دوره رسیده شدن چیده شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه به خوبی با آب معمولی و سپس با آب مقطر دو بار یونیزه به دفعات شسته و خشک شدند. تعدادی از توت‌فرنگی‌ها برای تعیین مقدار عناصر سنگین موجود در آن انتخاب شد. جهت انجام آزمایش‌های مربوط به تعیین محتوای عناصر سنگین، نمونه‌ها به مدت ۴۸ h در آون در دمای ۷۵ °C قرار داده شدند و در نهایت برای ایجاد یکنواختی

بعد از بیهوشی عمیق با کلروفورم تا حد مرگ اعمال شد و در اتاق جراحی دانشگاه علوم پزشکی همدان در شرایط کاملاً استریل تحت جراحی قرار گرفتند و در طی جراحی کبد، کلیه، پانکراس، طحال، بیضه و مغز هر کدام از موش‌ها جدا شد. وزن هر کدام از اندام‌ها جداگانه اندازه‌گیری و سپس در آون تحت شرایط دمایی 105°C به مدت ۳ روز خشک شدند. سپس نمونه‌های خشک شده آسیاب و به حالت پودری درآمدند. یک گرم از هر یک از نمونه‌ها با ۱۰ mL اسیدنیتریک غلیظ و ۵ mL پراکسید هیدروژن هضم شدند (۲۹). در انتها، غلظت عناصر سنگین موجود در هر یک از اندام‌ها با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد انجام گرفت و نمودارها نیز در نرم‌افزار Excel رسم شدند.

یافته‌ها

نتایج هضم شیمیایی میوه توت‌فرنگی کشت شده در گلخانه و مقادیر استاندارد تعیین شده توسط منابع در جدول ۳ نشان داده شده است (۳۰، ۳۱) همانطور که مشاهده می‌شود، میزان عناصر سنگین (مس، کادمیوم و سرب) موجود در توت‌فرنگی (به ترتیب ۳/۲، ۷/۷ و 26 mg/kg) کشت شده بالاتر از مقادیر استاندارد بود و برای عناصر سرب، کادمیوم و مس به ترتیب ۱۳۰، ۱۵۴ و ۸۰ برابر استاندارد بود که این مطلب نشان می‌دهد میزان عناصر سنگین در حد بیماری‌زایی قرار داشت.

جدول ۳. مقایسه غلظت عناصر سنگین در توت‌فرنگی (mg/kg) با مقادیر استاندارد

سرب	کادمیوم	مس	توت فرنگی
۲۶	۷/۷	۳/۲	توت فرنگی
۰/۲	۰/۰۵	۰/۰۴	استاندارد

میزان جذب عناصر سنگین در واحد زمان طی دوره آزمایش (طول دوره ۹۰ روزه) در هر یک از اندام‌های مختلف موش‌های

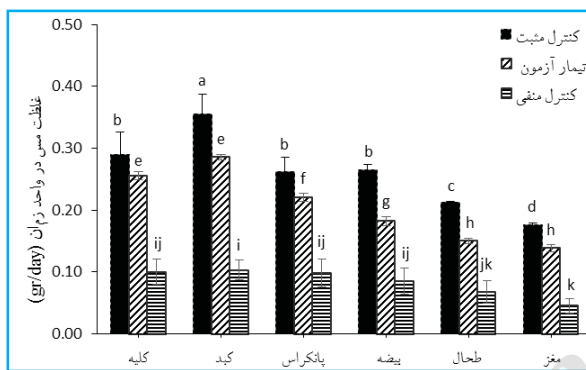
($112/41\text{ g}$) و مقدار تعیین شده این عنصر توسط جذب اتمی در توت فرنگی ($7/765\text{ mg/kg}$) مقدار $15/773\text{ mg}$ محلول کنترل مثبت استفاده شد. به همین ترتیب مقادیر عناصر نمکی سرب ($\text{PB}(\text{NO}_3)_2$) و مس ($\text{CU}(\text{NO}_3)_2$) به ترتیب برابر با $41/560$ و $9/445\text{ mg/L}$ محاسبه شدند. تیمار غذایی آلوده شامل جیره روزانه موش به اضافه عصاره آبی توت‌فرنگی حاوی عناصر سنگین بود. عصاره آبی توت‌فرنگی پس از تعیین چگالی توت‌فرنگی با استفاده از روش سازمان جهانی بهداشت و حداکثر میزان مجاز گاواژ در هر نوبت تعیین شد. تیمار غذایی کنترل منفی فقط شامل جیره روزانه موش‌ها بود و حاوی محتوای اضافی عناصر سنگین نبود.

پس از تهیه تیمارهای غذایی در کنار جیره روزانه موش‌ها مقادیر ۲ mL از محلول‌های تهیه شده برای تیمارهای کنترل مثبت و آلوده از طریق سرنگ مخصوص به موش‌ها گاواژ شد. به منظور برقراری شرایط تغذیه‌ای یکسان مقدار ۲ mL آب مقطر نیز برای نمونه موش‌های تیمار کنترل منفی به صورت روزانه گاواژ گردید، لذا موش‌های تحت آزمایش در سه گروه (هر گروه دارای نه موش است) زیر طبقه‌بندی شدند:

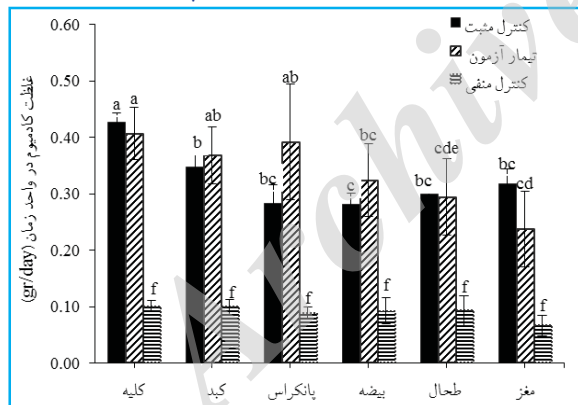
- گروه اول: گروه کنترل منفی یا شاهد که روزانه با ۲ CC آب مقطر گاواژ شدند.
- گروه دوم یا گروه آزمون (آلوده): روزانه با ۲ CC عصاره آبی توت‌فرنگی گاواژ شدند.
- گروه سوم یا گروه کنترل مثبت: روزانه با ۲ CC از محلولی که عناصر سنگین مورد نظر به صورت نمک به آن اضافه شده بود، گاواژ شدند.

به منظور جلوگیری از وقوع پدیده پنومنی یا عفونت ریه در اثر برگشت مقادیر اضافی محلول از معده به طرف مری حیوان، لازم بود که میزان محلول گاواژ شده محاسبه و تنظیم گردد. بر اساس مطالعات انجام شده توسط Mohji Naebi و همکاران (۲۰۱۱)، مقدار بهینه محلول گاواژ شده برابر با ۲ mL در نظر گرفته شد (۲۸).

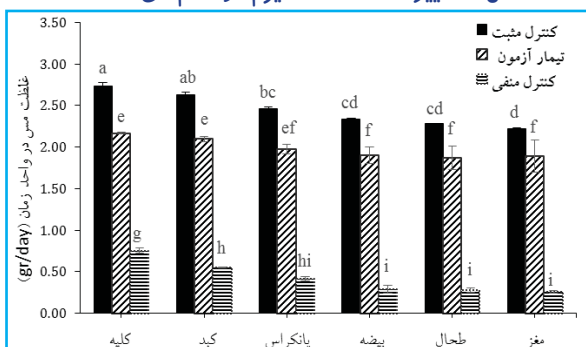
واحد زمان طی دوره آزمایش در هر یک از اندام‌های مورد بررسی در شکل ۳ نشان داده شد. این مقدار در تیمارهای کنترل مثبت، آلوده و کنترل منفی در کلیه به ترتیب برابر ۲/۷۳، ۲/۱۶ و ۰/۷۵ g/day، کبد به ترتیب برابر ۲/۶۲، ۲/۱۰ و ۰/۵۵ g/day پانکراس به ترتیب برابر ۲/۴۶، ۱/۹۷ و ۰/۴۱ g/day، بیضه به ترتیب برابر ۲/۳۳، ۱/۹ و ۰/۲۹ g/day و طحال به ترتیب برابر ۲/۲۸، ۱/۸۷ و ۰/۲۷ g/day و مغز به ترتیب برابر ۲/۲۲، ۱/۸۹ و ۰/۲۵ g/day بود.



شکل ۱. تغییرات غلظت مس در اندام‌های مختلف



شکل ۲. تغییرات غلظت کادمیوم در اندام‌های مختلف



شکل ۳. تغییرات غلظت سرب در اندام‌های مختلف

مورد بررسی در اشکال ۱ تا ۴ نمایش داده شده است. جذب مس در واحد زمان طی دوره آزمایش در هر یک از اندام‌های مورد بررسی در شکل ۱ نشان داده شد. بیشترین میزان تجمع غلظت مس برای سه تیمار غذایی کنترل مثبت، آلوده و کنترل منفی در کبد (به ترتیب ۰/۳۶، ۰/۲۹ و ۰/۱۰ g/day) و کلیه (به ترتیب ۰/۲۹، ۰/۲۶ و ۰/۱۰ g/day) و کمترین سرعت جذب در واحد زمان در مغز (به ترتیب ۰/۱۸، ۰/۱۴ و ۰/۰۵ g/day) بود. برای سایر اندام‌های مورد بررسی میزان جذب مس به ترتیب در پانکراس (کنترل مثبت، آلوده و کنترل منفی به ترتیب ۰/۲۶، ۰/۲۲ و ۰/۱۰ g/day)، بیضه (کنترل مثبت، آلوده و کنترل منفی به ترتیب ۰/۲۷، ۰/۲۲ و ۰/۰۹ g/day) و طحال (کنترل مثبت، آلوده و کنترل منفی به ترتیب ۰/۲۱، ۰/۱۵ و ۰/۰۲ g/day) بود. جذب کادمیوم در واحد زمان طی دوره آزمایش در هر یک از اندام‌های مورد بررسی در شکل ۲ نشان داده شد. این مقدار در تیمارهای کنترل مثبت، آلوده و کنترل منفی در کلیه به ترتیب برابر ۰/۴۳، ۰/۴۱ و ۰/۱۰ g/day (انحراف معیار این مقادیر به ترتیب ۰/۰۱۶، ۰/۰۴۶ و ۰/۰۱۰ می‌باشد)، کبد به ترتیب برابر ۰/۳۵، ۰/۳۷ و ۰/۱۰ g/day (انحراف معیار این مقادیر به ترتیب ۰/۰۲۲، ۰/۰۵۰ و ۰/۰۱۲ می‌باشد)، پانکراس به ترتیب برابر ۰/۲۸، ۰/۳۹ و ۰/۰۹ g/day (انحراف معیار این مقادیر به ترتیب ۰/۰۳۲، ۰/۱۰۲ و ۰/۰۱۰ می‌باشد)، بیضه به ترتیب برابر ۰/۲۸، ۰/۳۲ و ۰/۰۹ g/day (انحراف معیار این مقادیر به ترتیب ۰/۰۱۹، ۰/۰۶۴ و ۰/۰۲۳ می‌باشد)، طحال به ترتیب برابر ۰/۳۰، ۰/۲۹ و ۰/۰۹ g/day (انحراف معیار این مقادیر به ترتیب ۰/۰۰۳، ۰/۰۶۷ و ۰/۰۲۶ می‌باشد) و مغز به ترتیب برابر ۰/۳۲، ۰/۲۴ و ۰/۰۷ g/day (انحراف معیار این مقادیر به ترتیب ۰/۰۲۴، ۰/۰۶۶ و ۰/۰۱۸ می‌باشد) بود. همانطور که مشاهده می‌شود روند یکسانی بین تیمارهای کنترل مثبت و آلوده مشاهده نشد؛ برای اندام‌های کلیه، طحال و مغز بالاترین سرعت جذب در تیمار غذایی کنترل مثبت و کمترین در تیمار کنترل منفی و بالاترین سرعت جذب در اندام‌های کبد، جذب سرب در

بحث

Bednarek و همکاران (۲۰۰۶)، محتوی عناصر سنگین موجود در میوه توت‌فرنگی را کمتر از مقادیر استاندارد تعیین شده یافتند که مغایر با نتایج مطالعه حاضر بود و دلیل آن را به خواص فیزیکوشیمیایی خاک نسبت دادند (۳۲). در مطالعه‌ای که در لهستان بر روی توت‌فرنگی انجام گرفت، در ۶۴ درصد نمونه‌ها میزان سرب و ۵۸ درصد نمونه‌ها میزان کادمیوم بالاتر از حد مجاز بود که شاید یکی از دلایل آن ذرات گردوغبار خاک و آفت‌کش‌های مورد استفاده در حفاظت گیاه باشد. با توجه به اینکه در سال ۲۰۰۰ در متوسط رژیم غذایی 134 kg / میوه در روز وجود داشت، روزانه مقادیر قابل توجهی از این عناصر وارد بدن افراد شده است (۳۰). در مطالعه حاضر شاید بتوان یکی دیگر از دلیل آلودگی توت‌فرنگی تولید شده در گلخانه به عناصر سنگین را علاوه بر موارد ذکر شده، اینگونه توجیه کرد که خاک به علت دارا بودن خاصیت تامپونی، تا حدودی باعث ایجاد تعادل در غلظت عناصر می‌شود و در نتیجه بالا بودن غلظت عناصر سنگین را تا حدودی کاهش می‌دهد، اما در کشت گلخانه‌ای با بستر پرلیت و کوکوپیت و در نتیجه عدم وجود خاک و خاصیت تامپونی، غلظت عناصر سنگین افزایش می‌یابد (۳۳). تفاوت در درصد جذب عناصر مورد بررسی در اندام‌های مختلف موش‌های مورد مطالعه در تیمار کنترل مثبت به نسبت تیمارهای تغذیه شده با توت‌فرنگی آلوده را احتمالاً می‌توان به وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی موجود در توت‌فرنگی نسبت داد (۳۴). اسید آسکورویک موجود در میوه‌ها مانند توت‌فرنگی، به عنوان یکی از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود، تنش‌های ایجاد شده علیه رادیکال‌های آزاد مانند عناصر سنگین را تا حدودی تعدیل می‌بخشد (۳۵). زیست‌فراهمی و تجمع عناصر سنگین در بدن نه تنها به خصوصیات بیولوژیکی بدن، بلکه خواص فیزیکوشیمیایی خود عناصر سنگین و راه‌های برخورد بدن با این عناصر نیز بستگی دارد (۳۴، ۳۶). پژوهشگران برای بررسی میزان جذب و دفع روزانه عناصر سنگین با اندازه‌گیری روزانه این مقادیر

در مواد خوراکی ادرار و مدفوع موش‌ها با این نتیجه رسیدند که عناصر سنگین از راه ادرار و مدفوع دفع می‌شوند و این دفع در هفته هشتم به شدت افزایش می‌یابد، در هفته دوازدهم به اوج می‌رسد و در هفته شانزدهم کاهش پیدا می‌کند. در موش‌های مورد مطالعه این پژوهشگران، مقدار جذب روزانه عنصر سنگین آرسنیک $450-250 \text{ mg/day}$ و مقدار دفع عناصر از راه ادرار و مدفوع به ترتیب $5/59-12$ و $33-15 \text{ mg/day}$ بود. طبق گزارش‌ها حدود ۲۰-۱۱ درصد عناصر سنگین از طریق ادرار یا مدفوع دفع می‌شود و باقی‌مانده آن توسط اندام‌ها و بافت‌های بدن جذب می‌شود و در آنجا تجمع می‌یابد. همچنین دفع عناصر سنگین از طریق ادرار و مدفوع، مهم‌ترین مسیر حذف این عناصر از بدن است (۳۷). مس در مقادیر جزئی برای متابولیسم بدن مفید بوده و فقدان جزئی آن باعث کم‌خونی در اطفال می‌شود، زیرا بر اساس مطالعات انجام شده، مس به‌عنوان کاتالیزور در تشکیل هموگلوبین دخالت دارد (۳۸). جذب زیاد مس در انسان باعث خوردگی شدید مخاطی، آسیب گسترده مویرگی، تغییرات نکروتیک کبدی و کلیوی، دستگاه گوارشی و سیستم عصبی مرکزی شده و منجر به افسردگی می‌شود (۳۹).

پانکراس و بیضه در موش‌های تغذیه شده با توت‌فرنگی آلوده و کمترین سرعت جذب در تیمار غذایی کنترل منفی مشاهده شد. بر اساس گزارش‌های سایر پژوهشگران، تجمع عناصر سنگین لزوماً از یک الگوی مشخص پیروی نمی‌کنند (۴۰). عناصر به‌طور مداوم در یک غلظت مشخص روند افزایشی در بدن ندارند، بلکه بخشی از آنها توسط سیستم ایمنی از بدن دفع می‌شوند (۴۰). چنین روندهای غیرقابل منتظره‌ای توسط برخی پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است (۳۵). جذب کادمیوم از طریق گوارش تحت تأثیر عواملی از قبیل سن، کمبود کلسیم، آهن، روی و کمبود پروتئین و نیز گونه شیمیایی کادمیم می‌باشد. جذب ریوی کادمیوم به اندازه ذرات معلق بستگی دارد. کادمیوم پس از جذب در بدن در فعالیت‌های متابولیسمی و آنزیمی شرکت نموده و سبب اختلال در آنها می‌گردد (۳۹). به‌طور میانگین روزانه حدود

سمیت سرب می‌شود. اشکال سرب به‌شدت به گروه‌های سولفیدریل آزاد می‌پیوندند و از عملکرد آنها ممانعت می‌کنند. سرب برای سیستم‌های خون و عصب، ادراری، شکمی و اندام‌های تناسلی سمی است. همچنین این عنصر در آزمایش‌هایی که بر روی حیوانات انجام شده است، به‌عنوان عامل سرطان‌زایی و جهش‌زایی به‌کار می‌رود (۴۶). سرب می‌تواند در اغلب اعضای بدن انباشته شود، ولی قسمت اعظم آن در استخوان‌ها تجمع می‌یابد در این صورت می‌تواند با کلسیم مبادله شود و سبب ایجاد ناراحتی استخوانی شود. سرب موجود در استخوان در مواقع تب می‌تواند به سایر اعضای بدن انتقال یافته و ایجاد مسمومیت نماید. اندام بحرانی در مسمومیت ناشی از سرب سیستم عصبی، کلیه و مغز استخوان می‌باشد (۸). بیماری ناشی از سرب به‌نام بورسیت معروف است. سرب از طریق آب، هوا و غذا وارد بدن انسان می‌گردد. از آنجایی که میزان سرب در هوا، آب و غذا رو به افزایش است، در آینده‌ای نه چندان دور عوارض مسمومیت توسط سرب، امری کاملاً محتمل و قابل پیش‌بینی است (۳۸). همچنین Gulser و Erdogan (۲۰۰۸) و Emmerson (۱۹۶۲) بیان کردند که سرب هیچ‌گونه عملکرد مثبتی در بدن نداشته؛ به گونه‌ای که در غلظت‌های پایین سبب کاهش فعالیت آنزیم پروفوبیلینوژن سنتتاز و در غلظت‌های بالا سبب عقب‌ماندگی ذهنی در کودکان، کم‌خونی، اختلال شنوایی، کلیوی- کبدی و سیستم ایمنی بدن، کاهش وزن هنگام تولد، سقط جنین و زایمان پیش از موعد می‌گردد (۴۷، ۴۸).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد غلظت عناصر مورد بررسی در میوه توت‌فرنگی (مس، سرب و کادمیوم) بالاتر از حد استاندارد ایران بودند. مصرف محصولات کشاورزی آلوده به عناصر سنگین خطرات جدی برای سلامت انسان به‌وجود می‌آورد، زیرا مصرف هر روزه توت‌فرنگی آلوده به عناصر سنگین، آهنگ افزایش وزن موش‌ها را کاهش داد. از طرفی بالاترین جذب عناصر سرب و کادمیوم توسط کلیه بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد

۳۰ mg کادمیوم از طریق بلع وارد بدن انسان می‌شود. غلظت بیش از ۲۰۰ mg/kg وزن تازه می‌تواند اعمال کلیه‌ها را به کلی مختل کند (۴۱). کادمیوم ناراحتی‌های بسیار شدیدی را در سیستم‌های کلیوی، عصبی و تعریق بدن ایجاد می‌نماید. کلیه، استخوان و ریه اولین اندام‌هایی هستند که در اثر مواجه شدن با کادمیوم آسیب می‌بینند. این عنصر، متابولیسم جذب کلسیم را تغییر می‌دهد و باعث بروز نرمی استخوان می‌شود (۷). مواجهه کوتاه مدت با کادمیوم (۱۰ mg/L در آب آشامیدنی)، باعث ممانعت جزئی در جذب گوارشی آهن می‌شود. مواجهه طولانی مدت کادمیوم خطر بروز سرطان پروستات را افزایش می‌دهد (۴۲). میزان جذب کادمیوم در انسان با سن افزایش می‌یابد. سازمان جهانی بهداشت، سازمان غذا و کشاورزی (WHO/FAO) حداکثر میزان قابل تحمل جذب هفتگی کادمیم را ۷ mg/kg تعیین کرده‌اند. Wang و Du (۲۰۱۳) بیان کردند که قرار گرفتن در معرض کادمیوم به صورت طولانی مدت باعث آسیب به کلیه، کبد و سیستم عصبی می‌شود (۴۳). Cho و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که ارتباط مستقیم و قوی بین ابتلاء به سرطان و جذب کادمیوم در بدن انسان وجود دارد (۴۴). همچنین Lalor (۲۰۰۸) بیان کرد که کادمیوم نقش اساسی در سرطان دارد (۴۵).

نتایج حاصل از بررسی Nwokocho و همکاران (۲۰۱۲) که بر روی اثر درمانی گیاه سیر در کاهش تجمع عناصر سنگین در کبد موش انجام شد، نشان داد که حضور عناصر سنگین در رژیم غذایی، آهنگ افزایش وزن را کندتر می‌کند و حتی سرب باعث کاهش وزن در موش‌های مورد مطالعه‌شان شده بود (۴۰) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت. مطالعه Wijnhoven و همکاران (۲۰۰۷) که بر روی تجمع عناصر سنگین در بدن موش‌های موجود در یک منطقه آلوده انجام شد، نشان داد که تجمع عناصر سنگین در بدن موش علاوه بر زمان قرار گرفتن حیوانات در منطقه آلوده (سن حیوانات) و الگوی تغذیه، به تحرک و فعالیت حیوانات نیز بستگی دارد (۱۲).

سرب در فعالیت معمولی آنزیم‌ها مداخله می‌کند و باعث

ورود یک ماده غذایی آلوده در زنجیره غذایی انسان تهدیدی جدی برای سلامت انسان و حیوانات محسوب می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از مسولین آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه بو علی سینا کمال تشکر و قدردانی را خواهند داشت.

که کلیه دارای بیشترین و پانکراس دارای کمترین مقدار جذب عنصر کادمیوم است. همچنین در مورد دو عنصر سرب و مس نیز همانند کادمیوم بیشترین مقدار جذب در کلیه صورت گرفت، اما در مورد عناصر سرب و مس، کمترین مقدار جذب در مغز رخ داده بود. به‌طور کلی مشاهده شده است که اندام کلیه نسبت به سایر اندام‌ها بیشتر در معرض خطر آلودگی قرار دارد، بنابراین

References:

1. Thawornchaisit U, Polprasert C. Evaluation of Phosphate Fertilizers for the stabilization of cadmium in highly contaminated soils. *Hazardous Materials* 2009; 165, 1109-1113.
2. Yan X, Liu M, Zhong J ID, Guo J, Wu W. How Human Activities Affect Heavy Metal Contamination of Soil and Sediment in a Long-Term Reclaimed Area of the Liaohe River Delta, North China. *Sustainability*. 2018; 10, 338; doi:10.3390/su10020338
3. Jia Zh, Li S, Wang L. Assessment of soil heavy metals for eco-environment and human health in a rapidly urbanization area of the upper Yangtze Basin. *SCIEnTIFIC Reports*. 2018. 8:3256.
4. Biling W, Zhengmiao X, Jianjun C, Jiang J, Qiufeng S. Effects of field application of phosphate fertilizers on the availability and uptake of Lead, Zinc and Cadmium by cabbage (*Brassica Chinensis* L.) in a mining tailing contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences* 2008; 20, 1109-1117
5. Alizadehoskoey P, Aliasgarzadeh N, Shariatmadari H, Asgarzadeh A, Baghbansiros Sh. The effect of two types of Arbuscobar Mycorrhizal fungi on reducing toxicity of cadmium in tomato plants with different levels of phosphorus. *Journal of Soil Research, Water and Soil Science* 2009; 23 (2): 217-228 [In Persian]
6. Zorrig W, Rouached A, Shahzad Z, Abdelly C, Davidian J, Berthomieu P. Identification of three relationships linking cadmium accumulation to cadmium tolerance and Zinc and Citrate accumulation in lettuce. *Plant Physiology* 2010; 167, 1239-1247.
7. Kido T, Nogawa K, Hochi Y, Hayano M, Honda R, Tsuritani I, Ishizaki M. The renal handling of Calcium and phosphorus in environmental cadmium-exposed subjects with renal dysfunction. *Journal of Applied Toxicology* 1993; 13, 43-47.
8. Friberg L, Nordberg GF, Vouk VB. *Handbook On The Toxicology Of Metals* (2nd Ed.). Amsterdam; Elsevier. 1986.
9. Przyslawski J, Boleslawska I, Duda G, Maruszewska M, Gertig H. Use of sanitary index of diet to estimate potential risk of heavy metals occurring in daylong food rations of different groups of population. *Bromatologia I Chemia Toksykologiczna* 1998; 31, 135.
10. Bíres J, Bartko P, Húska M, Břešová M. Distribution of risk elements in the organism of sheep after industrial intoxication with Zinc. *Spectroscopy Letters* 1997; 30, 1263-1277.
11. Ieradi L, Moreno S, Bolivar J, Cappai A, Di Benedetto A, Cristaldi M. Free-Living rodents as bioindicators of genetic risk in natural protected areas. *Environmental Pollution* 1998; 102, 265-268.
12. Wijnhoven G, Leuven S, Vanrdervelde G, Jungheim KE, De Vries FT, Eijsackers H, Smits A. Heavy-metal concentrations in small mammals from a diffusely polluted floodplain: importance of species-and location-specific characteristics. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 2007; 52, 603-613.
13. O'brien DJ, Kaneene JB, Poppenga RH. The use of mammals as sentinels for human exposure to toxic contaminants in the environment. *Environmental Health Perspectives* 1993; 99, 351.
14. Damek-Poprawa M, Sawicka-Kapusta K. Damage to the Liver, Kidney, and testis with reference to burden of heavy metals in yellow-necked mice from areas around steelworks and zinc smelters in poland. *Toxicology* 2003; 186, 1-10.
15. Martiniakova M, Omelka R, JančOvá A, Stawarz R, Formicki G. Heavy metal content in the femora of yellow-necked mouse (*Apodemus Flavicollis*) and wood mouse (*Apodemus Sylvaticus*) from different types of polluted environment in slovakia. *Environmental Monitoring and Assessment* 2010; 171, 651-660.
16. Shimada H, Nagano M, Akira Y, Imamura Y. *Jornal of Health Science* 2002; 48(2), 201-203.
17. Monika DP, Katarzyna S. *Toxicology*. 2003; 186(1-2), 1-10.
18. Obianime A, Roberts I. Antioxidants, cadmium-induced toxicity, serum biochemical and the histological abnormalities of the kidney and testes of the male wistar rats. *Nigerian Journal of Physiological Sciences* 2009; 24.
19. Suradkar S, Ghodasara D, Vihol P, Patel J, Jaiswal V, Prajapati K. Haemato-Biochemical Alterations Induced By Lead Acetate Toxicity In Wistar Rats. *Veterinary World* 2009; 2, 429-431.

20. Soudani N, Sefi M, Amara IB, Boudawara T, Zeghal N. Protective effects of selenium (Se) on chromium (Vi) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2010; 73, 671-678.
21. Waldron HA. *Metals In The Environment*, Academic Press Inc (London) Ltd, 24/28 Oval Road, London Nw1 7dx. 1980
22. Waldron HA, Ediing C. *Occupational Health Practice*, FourthEd, Butterworth Heinemann, Oxford. 1997.
23. Batra N, Nehru B, Bansal M. Influence of lead and zinc on rat male reproduction at biochemical and histopathological levels. *Journal of Applied Toxicology* 2001; 21, 507-512.
24. Chowdhury AR. Male reproductive toxicity-new perspective in life science. *Life Science In Modern Perspective*, University Of Calcutta 2004; 97-105.
25. Al-Attar AM. Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi Journal of Biological Sciences* 2011; 18, 63-72.
26. Hoagland DR, Arnon DI. The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California Agricultural Experiment Station* 1950; 347.
27. Abdel-Shafy HI, Hegemann W, Teiner A. Accumulation of metals by vascular plants. *Environmental Management and Health* 1994; 5, 21-24.
28. Mohjl Naebi A, Mahmoudi J, Reyhani Rad S. Techniques for working with experimental animals (Volume 1 of rats). Alvin Publication by the order of Drug Applied Research Center and Tabriz University of Medical Sciences 2011. [In Persian].
29. Cobbina SJ, Chen Y, Zhou Z, Wu X, Feng W, Wang W, Li Q, Zhao T, Mao G, Wu X.. Interaction of four low dose toxic metals with essential metals in brain, liver and kidneys of mice on sub-chronic exposure. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2015; 39, 280-291.
30. Krejpcio Z, Sionkowski S, Bartela J. Safety of fresh fruits and juices available on the polish market as determined by heavy metal residues. *Polish Journal of Environmental Studies* 2005; 14, 877.
31. Kozlov MV, Haukioja E, Yarmishko VTE. Nickel and copper accumulation by edible forest berries in surroundings of "Severonikel" smelters complex. *Aerial Pollution In Kola Peninsula: Proceedings Of The International Workshop*, April 14-16, 1992, St.-Petersburg. Apatity, 189-196.
32. Bednarek W, Tkaczyk P, Dresler S. Content of heavy metals as a criterium of the quality of strawberry fruit and soil properties. *Polish Journal of Soil Science* 2006, 2.
33. Villen Guzman M., Paz-Garcia JM, Amaya SG., Rodriguez MJM, Vereda AC. Gomez LC. Effects of the buffering capacity of the soil on the mobilization of heavy metals. Equilibrium and kinetics. *Chemosphere* 2015; 131, 78-84.
34. Nwokocha CR, Owu DU, Nwokocha MI, Ufearo CS, Iwuala MO. Comparative study on the efficacy of allium sativum (Garlic) in reducing some heavy metal accumulation in liver of wistar rats. *Food and Chemical Toxicology* 2012; 50, 222-226.
35. Odriozola SI, Soliva FR, Martín BO. Phenolic acids, flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity of strawberry juices processed by high-intensity pulsed electric fields or heat treatments. *European Food Research and Technology* 2008; 228, 239-248.
36. Neuhauser EF, Cukic ZV, Malecki MR, Loehr RC, Durkin PR. Bioconcentration and biokinetics of heavy metals in the earthworm. *Environmental Pollution* 1995; 89, 293-301.
37. Cui X, Okayasu R. Arsenic accumulation, elimination, and interaction with copper, zinc and manganese in liver and kidney of rats. *Food and Chemical Toxicology* 2008; 46, 3646-3650.
38. Taghizadeh MM. Resources and impacts of environmental pollution. 2005. [In Persian].
39. IsmailiSari A. Polluter health and environmental standards. Naser Mehr Publications 2002, First Edition. [In Persian].
40. Nwokocha CR, Nwokocha MI, Aneto I, Obi J, Udekweleze DC, Olatunde B, Owu DU, Iwuala MO. Comparative analysis on the effect of *Lycopersicon esculentum* (tomato) in reducing cadmium, mercury and lead accumulation in liver. *Food and chemical toxicology* 2012; 50, 2070-2073.
41. Alloway B. Heavy metals in soil. Blackie academic and professional. Glasgow, UK. 1995.
42. Epa W, Semmelhack M, Cheung AW, Gu Y, Kim C, Zhang N, Lew W. Palladium-promoted synthesis of ionophore antibiotics. Strategy and assembly of the homochiral tetrahydrofuran and tetrahydropyran portions of tetronomycin. *Journal of the American Chemical Society* 1994; 116, 7455-7456.
43. Wang B, Du Y. Cadmium and its neurotoxic effects. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 898034.
44. Cho YA, Kim J, Woo HD, Kang M. Dietary cadmium intake and the risk of cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 8 2013; e75087.
45. Lalor GC, Review of cadmium transfers from soil to humans and its health effects in the Jamaican environment. *Science of the Total Environment* 2008; 400, 162 – 172.
46. Pitot C, Dragan P. *Chemical Carcinogenesis*: In: Casarett. D. (Ed.), *Toxicology Inter. Edi.*, Mcgraw Hill, New York. 1996.
47. Gulser F, Erdogan E. The effects of heavy metal pollution on enzyme activities and basal soil respiration of roadside soils. *Environ Monit Assess.* 2008 Oct; 145(1-3): 127-33. 8.
48. Emmerson BT. Chronic Lead Nephropathy: The diagnostic use of calcium EDTA and the association with gout. *Australas Ann Med.* 1963; 12: 310-24.