

بررسی ارتباط تجمع آرسنیک با میزان پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت در عضله هشت گونه ماهی در ایران

ابوالفضل عسکری ساری^۱، محمد ولایت زاده^{۲*}

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهواز، استادیار گروه شیلات، اهواز، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهواز، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: mv.5908@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۱/۱۱/۱۵ پذیرش نهایی: ۹۲/۴/۲۷)

چکیده

در این تحقیق به بررسی ارتباط تجمع مقدار آرسنیک با میزان پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت عضله هشت گونه ماهی کپور معمولی، قزل آلی رنگین کمان، کپور سرگنده، کپور نقره‌ای، کپور علف‌خوار، شیر، قباد و شوریده پرداخته شد. تعداد ۷۲ نمونه ماهی کپور معمولی، کپور سرگنده، کپور نقره‌ای، کپور علف‌خوار از مجتمع پرورش ماهی آزادگان اهواز، ماهی قزل آلی رنگین کمان از مجتمع پرورش ماهی چشمه دیمه شهرکرد و نمونه‌های ماهی شیر، قباد و شوریده از بندر هندیجان توسط تور گوشگیر صید شدند. آماده‌سازی نمونه‌ها بر اساس روش هضم مرطوب صورت گرفت و اندازه‌گیری غلظت آرسنیک با روش جذب اتمی انجام شد. نتایج این تحقیق نشان داد میانگین میزان آرسنیک در عضله ماهیان $0/20 \pm 0/269$ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن مرطوب بود. بالاترین میزان عنصر آرسنیک در عضله ماهی قباد ($0/19 \pm 0/294$ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن‌تر) و پایین‌ترین میزان این عنصر در عضله ماهی شوریده ($0/24 \pm 0/175$ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن‌تر) به دست آمد. همچنین میزان پروتئین، چربی، خاکستر در عضله ماهیان به ترتیب $0/78 \pm 0/67$ ، $0/45 \pm 0/23$ ، $1/49 \pm 0/23$ گرم در ۱۰۰ گرم و میزان رطوبت $78 \pm 1/89$ درصد بود. نتایج نشان داد بین میزان تجمع آرسنیک در عضله ماهیان مورد مطالعه با میزان پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت همبستگی مثبت وجود دارد ($p < 0/05$).

واژه‌های کلیدی: آرسنیک، ترکیبات، عضله، ماهی، ایران.

مقدمه

فلزات سنگین به عنوان یکی از گروه‌های اصلی آلاینده‌های محیط‌های آبی در اثر فعالیت‌های طبیعی و نیز به طور عمده در اثر فعالیت‌های انسانی به محیط‌های آبی راه می‌یابند (Humtsoe et al., 2007). پساب واحدهای صنعتی، کشاورزی، حمل و نقل، مواد حاصل از سوختن سوخت‌های فسیلی، فرسایش زمین، فضولات انسانی و دامی و پساب ناشی از پرورش دام، منابع تشکیل‌دهنده فلزات سنگین در پیکره آبی هستند (Sekhar et al., 2003). پایش این فلزات سمی مسئله مهمی برای متخصصان علوم تغذیه، پزشکی و محیط زیست می‌باشد (Belitz et al., 2001; Ozden, 2010). آلودگی فلزات سنگین ممکن است اثرات مخربی بر روی تعادل اکولوژیکی و تنوع زیستی اکوسیستم‌های آبی داشته باشد (Vinodhini and Narayanan, 2008). همچنین فلزات سنگین به دلیل تاثیرات منفی مختلف بر آبزیان نظیر کاهش رشد، تغییرات رفتاری، تغییرات ژنتیکی و نیز مرگ و میر (Amini Ranjbar and Sotoudehnia, 2005) و همچنین به سبب سمیت و تمایل به تجمع در زنجیره غذایی موجب ایجاد نگرانی در مصرف ماهی گردیده است.

آرسنیک جزء عناصر سمی شناخته شده است اما میزان سمیت این عنصر به فرم شیمیایی آن بستگی دارد و دارای سمیت ملایم می‌باشد (Klonts, 1979; Cornelis et al., 2005)، فلزی است که در طبیعت وجود دارد و یکی از خطرناک‌ترین آلاینده‌های زیست محیطی محسوب می‌گردد (Jolliffe, 1996). این عنصر بر روی سیستم قلب و عروق و پوست، سیستم عصبی مرکزی و محیطی، کلیه‌ها و سیستم خونساز بدن

تاثیرگذار می‌باشد و سبب سرطانزایی می‌گردد (US EPA, 2000, WHO, 2004). ترکیبات آرسنیک به خوبی جذب شده و بطور عمده در کبد، عضلات، کلیه‌ها، طحال، پوست و در مقادیر کمتر در مغز، قلب، رحم، تیروئید، پانکراس، ناخن و مو ذخیره می‌شوند. آرسنیک می‌تواند از طریق جفت منتقل شود (Esmaili Sari, 2002; Askary Sary and Velayatzadeh, 2010).

در ایران مطالعات متعددی در زمینه تجمع عنصر سنگین و سمی در عضله ماهیان و ارتباط با پارامترهای زیستی نظیر طول، وزن و سن انجام شده است (Amini Ranjbar and Sotoudehnia, 2005; Askary Sary and Velayatzadeh, 2010)، اما مطالعات در زمینه ارتباط تجمع عناصری مانند آرسنیک با ترکیبات پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت انجام نشده است.

در این تحقیق هدف تعیین ارتباط تجمع آرسنیک با میزان ترکیبات پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت در عضله هشت گونه ماهی تجاری ایران شامل ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، کپور سرگرگنده (*Aristichthys nobilis*)، کپور نق‌ره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*)، کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*)، شش‌بیر (*Scomberomorus commerson*)، قباد (*Scomberomorus guttatus*) و شوریده (*Otolithes ruber*) بود.

مواد و روش ها

در این تحقیق در سال ۱۳۹۰ از هرگونه ماهی ۹ نمونه و بطور کلی ۷۲ نمونه ماهی تهیه شد. ماهیان کپور معمولی، کپور سرگنده، کپور نقره‌ای، کپور علف‌خوار از مجتمع پرورش ماهی آزادگان اهواز، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از مجتمع پرورش ماهی چشمه دیمه شهرکرد و نمونه‌های ماهی شیر، قباد و شوریده از بندر هندیجان توسط تور گوشگیر صید شد. سپس هر ۳ نمونه عضله ماهی را با یکدیگر مخلوط نموده و ۳ نمونه مرکب به دست آمد (ROPME, 1999). پس از انتقال نمونه‌های ماهی به آزمایشگاه کلیه نمونه‌ها با آب کاملاً شستشو شد. پس از گذشت زمان کافی جهت خروج آب اضافه کلیه نمونه‌ها کدگذاری شدند و سپس مورد بیومتری قرار گرفتند. طول کل و وزن کل ماهی توسط تخته بیومتری با دقت ۱ میلی‌متری و ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد پیش از استفاده از تخته بیومتری و ترازوی دیجیتال تمام سطوح فلزی آنها که در تماس با ماهی بودند توسط ورقه‌های پلاستیکی پوشانیده شد. مقدار ۱۰۰ گرم از عضله پستی هر ماهی بوسیله تیغه استیل سترون جدا گردید. هضم شیمیایی عضله ماهیان به روش مرطوب (Okoye, 1991; Kalay and Bevis., 2003; Eboh et al., 2006) و سنجش آرسنیک به روش جذب اتمی و سیستم کوره گرافیتی با کمک دستگاه Perkin Elmer 4100 انجام شد. حد تشخیص آرسنیک توسط این دستگاه جذب اتمی به روش کوره در حد ppb بود که دارای دقت حدود ۱۰۰۰ برابر سیستم شعله می‌باشد. صحت داده‌های به دست آمده با استفاده از روش Standard Addition بررسی گردید. در این روش ابتدا ماده

مجهول، آنالیز می‌شود، سپس به چند ظرف که حاوی مقدار یکسانی از نمونه است، حجم‌های مشخصی از استاندارد اضافه می‌شود و کروماتوگرام مربوط به هر مرحله را آنالیز و در نهایت ارتفاع یا سطح زیر پیک نمونه‌ها را بر اساس حجم استاندارد اضافه شده رسم می‌کنند. در نهایت با استفاده از روابط موجود می‌توان غلظت نمونه را محاسبه کرد. استفاده از این روش سبب حفظ بافت و ماتریس نمونه‌ها می‌شود در نتیجه با این روش احتمال مزاحمت بافت (Matrix Interference) نمونه از بین برده می‌شود (Rouessac and Rouessac, 2007).

جهت اندازه‌گیری آرسنیک مورد نظر ابتدا به ۱۰ میلی‌لیتر محلول هضم شده نمونه‌ها، ۵ میلی‌لیتر محلول آمونیم پیرولیدین کاربامات ۵٪ اضافه شده و به مدت ۲۰ دقیقه نمونه‌ها بهم زده شدند تا عناصر به صورت فرم آلی فلزی در محلول کمپلکس شوند و سپس به نمونه‌ها ۲ میلی‌لیتر متیل ایزوبوتیل کتون اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه نمونه‌ها بهم زده شدند و پس از ۱۰ دقیقه نمونه‌ها در دور ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و عناصر مورد نظر به فاز آلی منتقل شدند. پس از تنظیم کوره و سیستم EDL (منبع تولید اشعه کاتدی) دستگاه و اپتیمم کردن دستگاه جذب اتمی منحنی کالیبراسیون این عناصر به کمک استاندارد های این عناصر و ماتریکس مدیفایر پالادیم توسط نرم افزار WinLab 32 رسم گردید و مقدار این عناصر در محلول‌های آماده شده اندازه‌گیری گردید (Ahmad and Shuhaimi-Othman, 2010; Olowu et al., 2010).

برای اندازه‌گیری چربی از روش سوکسله با استفاده از حلال صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری پروتئین

تیتراسیون انجام شد و میزان پروتئین با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (AOAC, 1995):

موجود در نمونه‌های ماهی از روش کلدال استفاده شد و تعیین مقدار پروتئین در سه مرحله هضم، تقطیر و

$$\text{نرمالیتة اسید} \times \text{میزان اسید مصرفی} \times 0.14 / 100 = \text{درصد ازت (نیتروژن)}$$

وزن نمونه (گرم)

با یکدیگر مقایسه شدند که وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ (P=0.05) تعیین گردید. جهت تعیین ارتباط بین غلظت آرسنیک بدست آمده در عضله ماهیان و میزان ترکیبات شیمیایی از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. علت استفاده از این روش این است که این ضریب به منظور تعیین میزان رابطه، نوع و جهت رابطه بین دو متغیر فاصله‌ای یا نسبی و یا یک متغیر فاصله‌ای و یک متغیر نسبی به کار برده می‌شود. در رسم نمودارها و جداول از نرم افزار Excel 2007 استفاده گردید.

جهت تعیین میزان خاکستر، روش کار بر مبنای، از بین بردن مواد آلی موجود در نمونه است که در اثر حرارت و توزین مواد معدنی باقی‌مانده که خاکستر نامیده می‌شود صورت می‌گیرد. بدین منظور ابتدا کپسول چینی (کروزه) مخصوص خاکستر، به مدت نیم ساعت در کوره با حرارت ۵۵۰-۵۰۰ درجه سلسیوس قرار می‌گیرد (AOAC, 1995). تعیین درصد رطوبت، بر اساس خشک نمودن ماده غذایی در اثر حرارت ۱۳۰ درجه سلسیوس آن و به روش غیرمستقیم می‌باشد. با استفاده از وزن نمونه خشک باقی‌مانده، مقدار رطوبت نمونه، مطابق فرمول زیر محاسبه گردید (AOAC, 1995):

یافته‌ها

میانگین طول استاندارد، طول کل و وزن ماهیان کپور معمولی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، کپور سرگنده، کپور نقره‌ای، کپور علف‌خوار، شیر، قباد و شوریده در جدول ۱ آمده است. میانگین کل میزان آرسنیک در عضله ماهیان ۰/۲۰±۰/۲۶۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر بود. همچنین میزان پروتئین، چربی، خاکستر در عضله ماهیان به ترتیب ۱۹/۶۷±۰/۷۸، ۲/۴۵±۰/۴۵، ۱/۴۹±۰/۲۳ گرم در ۱۰۰ گرم و میزان رطوبت ۷۸±۱/۸۹ درصد بود.

$$\text{درصد ماده خشک} = \frac{(B-A) \times 100}{W}$$

درصد ماده خشک - ۱۰۰ = درصد رطوبت

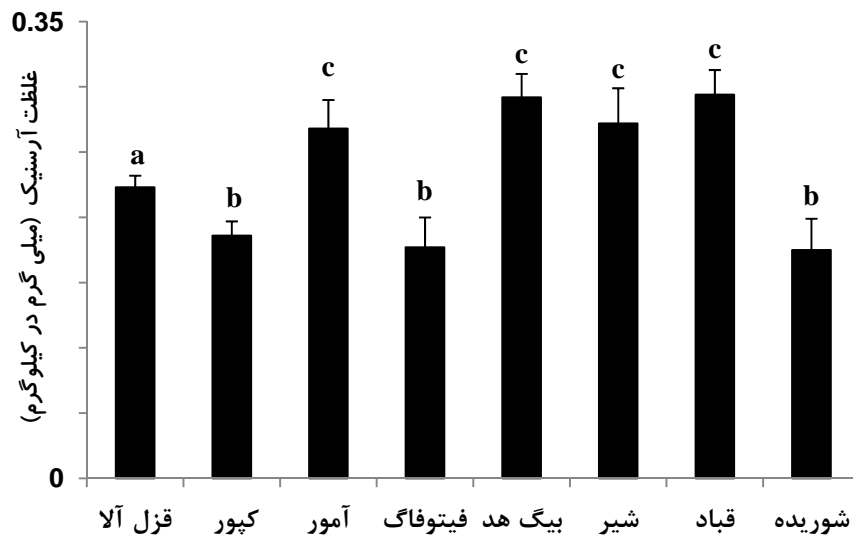
W = وزن نمونه برداشتی، B = وزن نمونه خشک + پتری،

A = وزن پتری خالی

در این تحقیق تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم افزار PSS17 انجام شد. نرمالیتی داده‌ها به کمک آزمون کولموگراف - اسمیرنوف بررسی گردید. میانگین داده‌ها به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA oneway)

آرسنیک در عضله ماهی قباد و پایین‌ترین میزان این عنصر در عضله ماهی شوریده بود (نمودار ۱).

۰/۲۹۲±۰/۰۱۸ ، ۰/۱۷۷±۰/۰۲۳ ، ۰/۲۶۸±۰/۰۲۲ ، ۰/۲۷۲±۰/۰۲۷ ، ۰/۲۹۴±۰/۰۱۹ و ۰/۱۷۵±۰/۰۲۴ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر بود. بالاترین میزان عنصر



نمودار ۱- مقایسه میانگین و انحراف معیار غلظت آرسنیک در عضله ماهیان مورد مطالعه (میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)

a, b, c در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p < 0.05$).

رطوبت همبستگی مثبت وجود داشت ($p < 0.05$) (جدول ۳).

نتایج نشان داد بین میزان تجمع آرسنیک در عضله ماهیان مورد مطالعه با میزان پروتئین، چربی، خاکستر و

جدول ۳: ضریب همبستگی آرسنیک با میزان ترکیبات شیمیایی عضله هشت گونه ماهیان

رطوبت	خاکستر	چربی	پروتئین	ضریب همبستگی (R)	آرسنیک
۰/۸۷۷	۰/۸۶۱	۰/۹۵۹	۰/۹۶۶	ضریب تعیین (R^2)	
۰/۷۶۹	۰/۷۴۱	۰/۹۱۹	۰/۹۳۳	سطح اطمینان ۹۵ درصد	
$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.01$	$p < 0.01$		

(Munoz et al., 2000; Ikem and Egiebor, 2005).

استاندارد نیوزلند و استرالیا (Australia New Zealand Food Authority, 1998; Tuzen, 2009) و انجمن ملی بهداشت و سلامت استرالیا (NHMRC) ۲ ppm پایین‌تر می‌باشد (Reyment, 1990)، اما غلظت

بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق میزان آرسنیک در عضله ماهیان مورد مطالعه در مقایسه با استانداردهای سازمان خواروبار و کشاورزی (FAO) (۷/۸۸ میلی‌گرم در کیلوگرم) (FAO, 1983)، حد مجاز کشور سنگاپور و مالزی، ۱ ppm

بودن تجمع فلزات سنگین در عضله، ممکن است به دلیل پایین بودن میزان پروتئین‌های باند شونده با فلزات سنگین باشد (Allen-Gill and Martynov, 1995). به نظر می‌رسد، عضله به عنوان محل اصلی تجمع فلزات سنگین قلمداد نمی‌شود (Romeo et al., 1999). به طور کلی آبشش‌ها، کلیه و کبد عمده‌ترین راه‌های جذب این فلزات به بدن ماهیان می‌باشند (Newman and Unger, 2003).

میزان پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت در عضله ماهی کپور معمولی پرورشی در ایران به ترتیب ۶۷/۵، ۲۰/۲۴، ۵/۲ و ۷۴/۰۱ گرم در ۱۰۰ گرم گزارش شده است (Askary Sary et al., 2011). در مطالعه‌ای بر روی پنج گونه ماهی آب شیرین رودخانه نیل *Oreochromis niloticus*, *Lates niloticus*, *Bagrus bayad*, *Tetraodon lineatus*, *Synodontis schall* مقایسه با تحقیق حاضر مشخص شد که میزان پروتئین، چربی و رطوبت در عضله ماهیان مورد مطالعه در این تحقیق پایین‌تر بود (Mohamed et al., 2010). همچنین میزان پروتئین، چربی، خاکستر، فیبر و کربوهیدرات در باس دریایی پرورشی (*Dicentrarchus labrax*) به ترتیب ۵۰، ۲۱، ۱۱/۵، ۱/۵ و ۱۲ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود که در مقایسه با نتایج این تحقیق بالاتر است (Bhourri et al., 2010). بنابراین میزان پروتئین، چربی، کربوهیدرات در عضله ماهیان در گونه‌های مختلف متفاوت است. مقادیر ترکیب شیمیایی در بدن آبزیان به نوع تغذیه، محیط زندگی، سن و جنس موجود زنده بستگی دارد، بدون شک مهمترین دلیل تفاوت ترکیب شیمیایی میزان و نوع غذای دریافتی توسط موجود زنده است (Razavi-Shirazi, 2007).

آرسنیک در مقایسه با استاندارد سازمان بهداشت جهانی (WHO) (۰/۰۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) (WHO, 1989) بالاتر بود.

در مطالعه‌ای میزان آرسنیک در عضله پنج گونه ماهی شوریده (*Otolithes ruber*)، سنگسر (*Pomadasys sp.*)، زمین‌کن (*Platycephalus sp.*)، هامور (*Epinephelus tauvina*) و حلوا سفید (*Pampus argenteus*) خلیج فارس به ترتیب ۰/۴، ۰/۶، ۰/۳، ۰/۹ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش شده است (Agah et al., 2009). همچنین میزان این عنصر در عضله ماهیان *Tilapia Labeo gonitus*، *Labeo rohita*، *Cirrhinus mrigala* و *Cirrhinus mrigala mossambicus* به ترتیب ۲/۳، ۲، ۲/۳، ۲، ۲/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم (Shah et al., 2009) و در عضله ماهیان *Stizostedion vitreum*، *Coregonus clupeaformis*، *Catostomus catostomus*، *Catostomus commersoni*، ۰/۷۷، ۰/۵۷، ۰/۹۱، ۱/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش گردید (De Rosemond et al., 2008)، که نتایج این تحقیق در مقایسه با تحقیقات ارائه شده پایین‌تر می‌باشد. تفاوت در تجمع عناصر گونه‌های مختلف به رفتارهای غذایی (Mormedo and Davies, 2001; Watanabe et al., 2003) و سن، اندازه و طول ماهی (Linde et al., 1998; Al-Yousuf et al., 2000) و محل زندگی و شرایط زیست محیطی (Canli and Atli, 2003) و همچنین خواص فیزیکی و شیمیایی محیط از قبیل سختی آب، pH، درجه حرارت، مواد مغذی و زمان رشد ماهی بستگی دارد (Dixon et al., 1996; Fuhrer et al., 1996). از طرف دیگر پایین

نیز می‌توانند به فلزات سنگین متصل شوند (Askary Sary and Velayatzadeh, 2010). بطور کلی در این تحقیق میزان آرسنیک در عضله ماهیان در مقایسه با استانداردهای متعدد پایین‌تر بود، اما در مقایسه با استاندارد سازمان بهداشت جهانی که مبنای استاندارد بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران می‌باشد، بالاتر بود. همچنین در این تحقیق مشاهده گردید که با افزایش میزان چربی و پروتئین در عضله ماهیان مورد مطالعه میزان آرسنیک نیز افزایش و تجمع داشته است. بنابراین توصیه می‌گردد که جهت مطالعات تکمیلی پایش زیستی عنصر آرسنیک در اندام‌های عضله، کبد، پوست و آبشش ماهیان ایران انجام گردد.

بین تجمع آرسنیک با میزان ترکیبات شیمیایی در عضله ماهیان مورد مطالعه همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). هنگامی که فلزات وارد بدن ماهی می‌شوند ترکیبات آلی و مواد آنزیمی واکنش نشان داده و پس از اتصال به پروتئین‌ها به کمک گردش خون جابجا می‌شوند. عمده‌ترین پروتئینی که در سلول به فلزات سنگین اتصال می‌یابد متالوتیونین است. فلزات سنگین توانایی وادار کردن سلول‌ها به رونویسی ژن‌های متالوتیونین را دارند. به نظر می‌رسد که مسئولیت اصلی سمیت‌زدایی ماهیان از فلزات سنگین به عهده این پروتئین باشد، گرچه پروتئین‌های با وزن مولکولی کم

منابع

- Agah, H., Leermakers, M., Elskens, M., Fatemi, S.M.R. and Baeyens, W. (2009). Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five species from the Persian Gulf. *Journal of Environmental Monitoring and Assessment*, 157: 499-514.
- Ahmad, A.K. and Shuhaimi-Othman, M. (2010). Heavy metal concentration in sediments and fishes from Lake Chini, Pahang, Malaysia. *Journal of Biological Sciences*, 10 (2): 93-100.
- Allen-Gill, S.M. and Martynov, V.G. (1995). Heavy metals burdens in nine species of freshwater and anadromous fish from the Pechora River. Northern Russia. *Sciences Total Environment*, 160-161: 653-659.
- Al-Yousuf, M.H., El-Shahawi, M.S. and Al-Ghais, S.M. (2000). Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *Journal of Science Total Environment*, 256: 87-94.
- Amini Ranjbar, G. and Sotoudehnia, F. (2005). Investigation of heavy metals accumulation in muscle tissue of *Mugil auratus* relation to standard length, weight, age and sex. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 14(3): 1-18.
- AOAC (1995). Official methods of analysis, Association of official analytical chemists, INC., Arlington, Virginia, USA.
- Askary Sary, A. and Velayatzadeh, M. (2010). *Experimental hydrochemistry in aquatic animals*. Islamic Azad University Ahvaz Publication, 1st Edition, pp. 224.
- Askary Sary, A., Velayatzadeh, M., Azarpour, M. and Bozorgpour, A. (2011). Comparative survey of chemical composition in muscle of farmed common carp (*Cyprinus carpio*) and Indian white shrimp (*Fenneropenaeus indicus*). *Journal Wetland*, 7: 57-63.
- Australia New Zealand Food Authority (1998). Food Standards Code, Vol 37, Standard A 12, 389.

- Bhourri, A.M., Bouhleb, I., Chouba, L., Hammami, M., Cafsi, M.EL. and Chaouch, A. (2010). Total lipid content, fatty acid and mineral compositions of muscles and liver in wild and farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *African Journal of Food Science*, 4 (8): 522-530.
- Belitz, H.D., Grosch, W. and Schieberle, P. (2001). *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Berlin: Springer, ISBN 3-540-41096 15.
- Canli, M. and Atli, G. (2003). The relationship between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Journal of Environmental Pollution*, 121: 129-136.
- Cornelis, R., Crews, H., Caruso, J. and Heumann, K.G. (2005). Toxic effects of arsenic. In: *Handbook of Elemental Speciation II: Species in the Environment, Food, Medicine and Occupational Health*. John Wiley and Sons, Chichester, pp. 78-79.
- De Rosemond, S., Xie, Q. and Liber, K. (2008). Arsenic concentration and speciation in five freshwater fish species from Back Bay near Yellowknife, NT, Canada. *Environmental Monitoring and Assessment*, 147: 199-210.
- Dixon, H., Gil, A., Gubala, C., Lasorsa, B., Crecelius, E. and Curtis, L.R. (1996). Heavy metal accumulation in sediment and freshwater fish in U.S. Arctic Lakes. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(4): 733.
- Eboh, L., Mepba, H.D. and Ekpo, M.B. (2006). Heavy metal contaminants and processing effects on the composition, storage stability and fatty acid profiles of five common commercially available fish species in Oron Local Government, Nigeria. *Journal of Food Chemistry*, 97 (3): 490-497.
- Esmaili Sari, A. (2002). *Pollution, Health and Environmental Standards*. Naghshmehr Publisher. Tehran, pp. 767.
- Food and Agriculture Organization (1983). *Compilation of legal limits for hazardous substances in fish and fishery products*, FAO Fishery Circular, 464: 5-10.
- Fuhrer, G.J., Stuart, D.J., Mckenzie, W., Rinella, J.F., Cranford, J.k., Skach, K.A. and Hornlorgner, M.I. (1996). *Spatial and temporal distribution of trace elements in water, sediment and aquatic biota*. U.S. Geological Survey, Portland. 190.
- Humtsoe, N., Davoodi, R., Kulkarni, B.G. and Chavan, B. (2007). Effect of arsenic on the enzymes of the rohu carp, *Labeo rohita*, *Raffles Bulletin of Zoology*, 14: 17-19.
- Ikem, A. and Egiebor, N.O. (2005). Assessment of trace elements in canned fishes (mackerel, tuna, salmon, sardines and herrings) marketed in Georgia and Alabama (United States of America). *Journal of Food Composition Analytic*, 18: 771-787.
- Jolliffe, D.M. (1996). A history of the use of arsenicals. *Journal Royal Society of Medicine*, 86: 287-289.
- Kalay, G. and Bevis, M.J. (2003). Structure and physical property relationships in processed polybutene. *Journal of Applied Polymer Science*, 88: 814-824.
- Klonts, Z.G. (1979). *Fish health management*, Vol 2, University of Idaho, Moscow. Idaho, USA. 142.
- Linde, A.R., Sanchez-Galan, S., Izquierdo, J.I., Arribas, P., Maranon, E., Garcy, A. and Vazquez, E. (1998). Brown Trout as biomonitor of heavy metal pollution: effect of age on the reliability of the assessment. *Ecotoxicol Environment*, 40: 120-125.
- Mohamed, H.A.E., Al-Maqbaly, R. and Mohamed Mansour, H. (2010). Proximate composition, amino acid and mineral contents of five commercial Nile fishes in Sudan. *African Journal of Food Science*, 4 (10): 650-654.
- Mormedoe, S. and Davies, I.M. (2001). Heavy metal concentration in commercial deep-sea fish from the Rockall Trough. *Continental Shelf Research*, 21: 899-916 .
- Munoz, O., Devesa, V., Suner, M.A., Velez, D., Montoro, R., Urieta, I., Macho, M.L. and Jalon, M. (2000). Total and inorganic arsenic in fresh and processed fish products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4369-4376.
- Newman, M.C. and Unger, M.A. (2003). *Fundamentals of ecotoxicology*. CRC Press, pp. 458.

- Olowu, R.A., Ayejuyo, O.O., Adewuyi, G.U., Adejoro, I.A., Denloye, A.A.B., Babatunde, A.O. and Ogundajo, A.L. (2010). Determination of heavy metals in fish tissues, water and sediment from Epe and Badagry Lagoons, Lagos, Nigeria. *Journal of Chemistry*, 7(1): 215-221.
- Okoye, B.C.O. (1991). Heavy metals and organisms in the Lagos Lagoon. *International Journal of Environmental Studies*, 37: 285-292.
- Ozden, O. (2010). Seasonal differences in the trace metal and macro minerals in shrimp (*Parapenaeus longirostris*) from Marmara Sea. *Journal of Environmental Monitoring and Assessment*, 162: 191-199.
- Razavi-Shirazi, H. (2007). *Seafood Technology* (1). Parse Negar Publication, 2nd Edition, pp. 325.
- Reymont, G.E. (1990). Australian and some international food standards for heavy metals. Torry Strait baseline study conference, pp. 155-164.
- Regional Organization for the Protection of the Marine Environment (ROPME). (1999). *Manual of oceanographic observations and pollutant analysis methods*. ROPME. Kuwait, Vol 20.
- Rouessac, F. and Rouessac, A. (2007). *Chemical Analysis Modern Instrumentation Methods and Techniques*. 2nd Edition, England, John Wiley & Sons Ltd.
- Sekhar, K.C., Chag, N.S., Kamala, C.T., Suman raj, D.S. and Rao, S. (2003). Fractionation studies and bioaccumulation of sediment bound heavy metal in Koueru Lake by edible fish. *Environment International*, 22: 1001-1008.
- Shah, A.Q., Kazi, T.G., Muhammad Balal Arain, M.B., Jamali, M.K., Afridi, H.I., Jalbani, N., Baig, J.A. and Kandhro, Gh.A. (2009). Accumulation of arsenic in different fresh water fish species-potential contribution to high arsenic intakes. *Food Chemistry*, 112: 520-524.
- Tuzen, M. (2009). Toxic and essential trace elemental contents in fish species from the Black Sea, Turkey. *Journal of Food and chemical Toxicology*, 47(9): 2302-2307.
- US EPA (2000). *Arsenic occurrence in public drinking water supplies*, EPA-815-R-00-023, Washington DC.
- Vinodhini, R. and Narayanan, M. (2008). Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio*. *Journal of Environment Science Technology*, 5: 179-182.
- Watanabe, K.H., Desimone, F.W., Thiyagarajah, A., Hartley, W.R. and Hindrichs, A.E. (2003). Fish tissue quality in the lower Mississippi River and health risks from fish consumption. *Science Total Environment*, 302(1-3): 109 126.
- World Health Organization (1989). *Heavy metals-environmental aspects*, Environment Health Criteria, No. 85, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- World Health Organization (2004). *Guidelines for drinking water quality*. Geneva, pp. 1-22.