پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، علمی ـ پژوهشی، سال نهم، زمستان، شماره ۴، ۱۳۹۱، ۷۹۲-۷۸۵

ارزیابی سطح آلودگی به جیوه در کپسول‌های روغن ماهی امگا-۳ استحصالی از ماهی‌های راسته کوسه و تن عرضه شده در شهر تهران به روش ولتامتری چرخه‌ای

بهروز اکبری‌آدرگانی[1*]، لطیفه نویدپور[2]، مریم شکرچی[1]

چکیده

روغن ماهی سرشار از اسیدهای چرب مفید است. امروزه استفاده از روغن ماهی امگا-۳ به دلیل اثرات مفید آن بر سلامت انسان مصرف بیشتری پیدا کرده است. امروزه به دلیل فعالیت های صنعتی، انتشار جیوه و ترکیبات آن به محیط زیاد شده و به دلیل خطر برای سلامت انسان نگرانی هایی در مورد بروز آلودگی جیوه در روغن ماهی وجود دارد. هدف اصلی این تحقیق ارزیابی سطح آلودگی کپسول های روغن ماهی امگا-۳ به جیوه در سطح عرضه در شهر تهران به روش ولتامتری چرخه ای است. بدین منظور ۱٤ نمونه تجاری روغن ماهی از سطح شهر تهران جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. در این تحقیق از روش آماده سازی هضم میکروویو و آنالیز ولتامتری چرخه‌ای برای تعیین مقدار جیوه استفاده گردید. فرآیند هضم در فشار ثابت ۵۰ بار و شیب دمایی ۱٤۵ تا ۲۰۰ درجه سانتی گراد طی چهار مرحله انجام شد. نتایج این بررسی نشان داد که غلظت جیوه در ۱٤ نمونه روغن ماهی مورد بررسی در دامنه ۱۱/۰۳ تا ۱۰۷/۱۱ نانوگرم بر میلی لیتر بوده است($p<0/05$). همچنین دقت روش اندازه گیری براساس سه بار تکرار نمونه‌ها از یک انحراف استاندارد متوسط ۲/۳ درصد برخوردار بوده است. در کل نتایج این تحقیق نشان می دهد که استحصال روغن از ماهی هایی از راسته کوسه ماهی و ماهی تن که مستعد تجمع جیوه هستند می تواند سلامت مصرف کننده را دچار مخاطره جدی کند.

واژگان کلیدی: *روغن ماهی، امگا-۳، جیوه، هضم میکروویو، ولتامتری چرخه ای، عریانسازی*

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۱۲

مقدمه

امروزه تجویز و مصرف کپسول های محتوی روغن ماهی استحصال شده از آبزیان به عنوان یک منبع غذایی ارزشمند و غنی از اسیدهای چرب مفید برای بدن بسیار متداول است و به دلیل آثار مطلوب آن بر سلامت انسان استفاده از آن رو به افزایش است (۱۹و۱۱، ۳، ۲، ۱). متاسفانه به دلیل آلودگی دریاها و اقیانوس‌ها به جیوه که عمدتاً منشاء صنعتی نیز دارد امکان آلودگی بسیاری از ماهی‌ها و فراورده‌های استحصال شده از آنها به جیوه وجود دارد (۸-۷). جیوه یکی از عناصر سنگین و بسیار سمی در اکوسیستم ما محسوب می‌شود و می‌تواند به سیستم مغز و اعصاب بدن آسیب وارد کند (۱۵). از علائم مسمومیت با جیوه می‌توان به بی حس شدن دست ها و پاها، ضعف عضلانی و ضعف در بینایی، شنوایی و گفتار اشاره کرد(۱۸و ۵). حد مجاز جیوه در ماهی توسط سازمان بین المللی EPA یک میکرو گرم بر گرم اعلام شده است. بجز کار در محیط های صنعتی و شهرهای پرجمعیت با آلودگی هوای زیاد، معمولاً انسان کمتر در معرض جیوه ناشی از تماس با محیط است. به طور طبیعی در خون انسان مقدار جیوه ۳ تا ٦ میکرو گرم درلیتر است ولی مقدار آن در بافت ماهی‌ها بین ۰/۵ تا ۱ میکرو گرم در گرم گزارش شده است (۹). با مصرف ماهی و فرآورده‌های حاصل از آن (از جمله روغن ماهی) که ممکن است مقادیر متنابهی جیوه به صورت تجمع یافته درخود داشته باشد، مقدار جیوه در بدن انسان نیز افزایش می یابد که با توجه به اثرات سمیت شدید این عنصر سنگین، اثرات بسیار نامطلوب و جبران ناپذیری بر ارگان‌های مختلف بدن وارد می‌شود. به منظور اندازه‌گیری جیوه در نمونه‌های مختلف

۱*- دانشیار مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران. analystchemist@yahoo.com

۲- استادیار گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

Archive of SID

www.SID.ir

غذایی، آشامیدنی و برخی از مکمل ها روش های تجزیه ای متعددی ارائه شده است که هم به دلیل ماهیت سمی و فرار بودن جیوه و هم به دلیل پیچیدگی و پایین بودن راندمان استخراج یا پرهزینه بودن و نیاز به تجهیزات گران قیمت همگی از محدودیت های خاصی برخوردار می باشند. روش هایی همچون پلاسمای جفت شده القایی- نشر اتمی (ICP-OES)، پلاسمای جفت شده القایی- طیف سنجی جرمی(ICP-Mass)، جذب اتمی شعله ای، جذب اتمی کورهٔ گرافیتی و برخی روش های الکتروشیمیایی مثل ولتامتری چرخه ای و سنسورهای پتانسیومتری از آن جمله اند (۲٤و ۱۷، ۱٦). بیشتر روش‌های اندازه گیری جیوه در بافت روغن، متوجه روش‌هایی مثل ICP-OES و جذب اتمی هستند که به دلیل ماهیت فرار بودن جیوه و همینطور پیچیدگی ماتریس روغن و اتلاف مقدار زیادی از جیوه طی روش های متداول استخراج، غالباً روش های ذکر شده کمتر به سمت نمونه‌های روغن گرایش دارند یا اینکه به طور مستقیم نمونه را به دستگاه وارد کرده اند. در این روشها نیز به جز روش ICP-mass که مستلزم هزینهٔ سرمایه گذاری زیاد و در اختیار داشتن نیروی متخصص است با اثرات ماتریس نمونه مواجه هستیم (۲۳و۱٤، ۱۲، ٤). بررسی‌های متون علمی و مقالات منتشر شده نشان می دهد که به دلیل پیچیدگی بافت روغن و لزوم استخراج اولیه جیوه از این بافت و از طرف دیگر به دلیل ماهیت فیزیکی و شیمیایی خود جیوه و فرار بودن آن، تحقیقات اندکی در بررسی جیوه در بافت روغن وجود دارد و در اکثر مقالات سعی شده بدون درگیر شدن در مراحل پیچیدهٔ استخراج و اتلاف مقدار زیادی از جیوه، آنرا به طور مستقیم به سیستم هایی مثل جذب اتمی بخار سرد (CV-AAS) وارد کرده و آنالیز کنند(٤). همچنین بررسی متون علمی نشان می دهد که استفاده از روش‌های گذشته برای استفاده از آنها برای کنترل آلودگی احتمالی کپسول های محتوی روغن ماهی به جیوه با محدودیت‌های فراوانی مواجه است. از جمله این محدودیت‌ها می‌توان به پیچیدگی‌های روش های استخراج و راندمان پایین آنها، فقدان حساسیت لازم برای اندازه گیری مقادیر اندک جیوه، پیچیدگی دستگاهی و نیاز به نیروی متخصص و ماهر، نیاز به دستگاههای گران قیمت و مشکلات تداخل طیفی اشاره کرد (۲۲و ۲۰). در پژوهش حاضر از روش استخراج میکروویو در محیط بسته با دما و فشار معین استفاده می شود و ماده استخراج شده به روش الکتروشیمیایی ولتامتری چرخه ای عریانسازی (Stripping Cyclic Voltammetry) اندازه‌گیری می‌شود که برای نمونه‌های کپسول روغن ماهی امگا-۳ به عنوان روشی نوین برای اولین بار ارائه می شود. هدف از این تحقیق ارزیابی سطح آلودگی به جیوه در کپسول‌های روغن ماهی امگا-۳ استحصالی از ماهی های از راسته کوسه و تن عرضه شده در شهر تهران به روش SCV می باشد.

مواد و روش کار

مواد اولیه

مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از خلوص تجزیه ای برخوردار بوده و از شرکت Merck تهیه شده اند. نمونه‌های روغن ماهی استحصالی از ماهی های از راسته کوسه و تن متشکل از بسته های محتوی کپسول روغن ماهی امگا-۳ و همگی از نوع وارداتی بوده اند.

نمونه برداری از سطح عرضه

نمونه‌برداری روغن‌های ماهی از سطح شهر تهران از متداول‌ترین تولیدات روغن ماهی امگا-۳ موجود در سطح عرضه (Post-market Surveillance) در آبانماه ۱۳۹۰ صورت گرفت و میزان نمونه لازم برای انجام هر آزمایش و تکرار آن به منظور انجام مراحل معتبرسازی روش، مورد توجه قرار گرفت. متعاقب آن نمونه‌های مختلف لازم خریداری و از نظر پارامترهای مختلف مثل کارخانه تولید کننده، تاریخ تولید، تاریخ انقضا و اطلاعات اولیه راجع به محتوای فلزات سنگین بویژه جیوه مورد بررسی قرار گرفت و داده‌های آن دسته بندی گردید.

www.SID.ir

آماده سازی نمونه‌های روغن ماهی به روش میکروویو

آماده سازی نمونه‌های روغن ماهی در بخش آنالیز مواد غذایی آزمایشگاه مرجع وزارت بهداشت انجام شد. برای اندازه گیری جیوه کل در نمونه‌های روغن ماهی، لازم است نمونه‌ها به گونه ای آماده شوند که طی مراحل آماده سازی جیوه از دست نرود. سامانه هضم میکروویو قادر است در ظروف تفلون کاملا ایزوله نمونه‌ها را با بازیابی بالا هضم نموده و برای اندازه گیری جیوه با سامانه ولتامتری آماده نماید. در این پژوهش از دستگاه هضم میکروویو (Berghof مدل speed wave 4) استفاده شد. در نگاره ۱ دستگاه مورد استفاده جهت استخراج جیوه از نمونه‌های روغن ماهی نشان داده شده است.

نگاره ۱- نمایش دستگاه هضم میکرو ویو Speed wave 4 مورد استفاده جهت آماده سازی نمونه‌های روغن ماهی

کلیه ظروف تفلونی میکروویو، پیپت‌ها و ظروف شیشه‌ای قبل از استفاده با سولفوکرومیک اسید، اسیدواش شده و سپس با مقدار کافی آب دیونیزه آبکشی شدند. برای هضم نمونه‌ها، ابتدا ۰/۲ گرم از هریک از نمونه‌ها در لوله‌های فالکون ۱۵ میلی لیتری توزین شد. سپس به هر یک از نمونه‌ها، ۸ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ (٪۶۵) اضافه گردید. این کار در ۲ مرحله با یک پیپت ۵ میلی‌لیتری صورت گرفت و در هر مرحله فالکون حاوی نمونه و اسید روی ورتکس قرار گرفت تا روغن در اسید حل شود و سپس محلول به ظرف مخصوص دستگاه از جنس تفلون انتقال یافت. پس از این مرحله، با یک پیپت حباب دار ۲ میلی لیتری آب اکسیژنه به لوله ها اضافه شد و پس از قرار دادن روی ورتکس محلول‌ها به ظروف تفلونی انتقال یافتند. این محلول‌ها نیم ساعت به صورت راکد در زیر هود نگهداری شد تا حباب‌های تولید شده توسط آب اکسیژنه کاملا خارج شوند. سپس درب ظروف تفلونی محکم بسته شد. بدین ترتیب ظروف آماده قرار گرفتن در دستگاه هضم میکروویو شد. با شروع به کار دستگاه برنامه روش هضم روغن که از قبل به صورت پیش فرض در نرم افزار دستگاه وارد شده بود انتخاب شد. شرایط اولیه کار با دستگاه در سطر اول جدول ۱ ارائه شده است. همانطور که در این جدول ملاحظه می شود اجرای کامل برنامه هضم مستلزم اجرای چهار مرحله و اعمال شرایط دما و فشار به ظرف تفلونی محتوی نمونه است. پس از اتمام مراحل هضم که حدود یک ساعت به طول انجامید لازم بود تا ظرف نمونه خنک شود که اجرای مرحله چهارم را در پی داشت. ظروف تفلونی پس از خارج شدن از دستگاه، به مدت ۱۵ دقیقه در آب سرد قرار گرفتند تا کمی خنک شوند. با ثابت نگه داشتن بدنه ظروف تفلونی و چرخاندن سر آنها به آرامی درب ظروف باز شد و محلول داخل آنها به بالن ژوژه ۱۰ میلی لیتری منتقل شد و با ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر، ظروف شستشو داده شدند و باقیمانده مواد داخل آنها به این بالن ها انتقال یافت و درنهایت به حجم رسانده شد.

جدول ۱: برنامه دما- فشار مربوط به سامانه هضم میکرو ویو جهت آماده سازی نمونه‌های روغن ماهی

شماره مرحله هضم	دما (ºC)	فشار (bar)	Ramp (ºC/min)	زمان (min)	توان (Watt)
۱	۱۴۵	۵۰	۵	۵	۴۰
۲	۱۷۵	۵۰	۵	۵	۴۰
۳	۲۰۰	۵۰	۵	۱۵	۵۰
٤	۵۰	۵۰	۱	۱	۰

Archive of SID

www.SID.ir

آنالیز نمونه‌ها به روش ولتامتری چرخه‌ای عریانسازی

آماده‌سازی اولیه الکترود کار

به دلیل احتمال آلودگی سطح الکترود طلا و کاهش میزان پاسخ دهی آن در اثر تماس با نمونه‌های هضم شده روغن ماهی، لازم است پیش از انجام آنالیز آماده سازی اولیه این الکترود انجام شود. غیر فعال شدن سطح الکترود معمولاً ناشی از تماس آن با ماتریس نمونه و آلوده شدن با عناصری همچون Ag, Hg, Se یا سایر مواد آلی موجود در نمونه است. بنابراین هر بار پیش از آنالیز سطح الکترود به روش زیر تمیز گردید و فعالسازی مجدد انجام شد. برای انجام این کار سرعت چرخش الکترود کار در مقدار ۵ دور بر دقیقه تنظیم شد و سطح آن به مدت یک دقیقه توسط کیت تمیز کننده با اکسید آلومینیم مرطوب تمیز شد. این کار برای مدت یک دقیقه دیگر با پارچه مخصوص ادامه یافت و در نهایت سطح الکترود با آب مقطر آبکشی شد. در این مرحله، ۱۰ml محلول پرایمر و ۱۰ ml آب خالص به سل الکتروشیمیایی اضافه شد و برای حذف اکسیژن از محیط، دمیدن گاز نیتروژن به مدت ۵ دقیقه انجام شد. سپس در حالی که دور الکترود روی ۲۰۰۰ دور بر دقیقه تنظیم شده بود عملیات تمیز شدن سطح الکترود به مدت ۹۰ ثانیه دنبال شد. در نهایت هم محلول موجود در سل به داخل سیفون تخلیه شد.

آماده سازی اجزای سیستم آنالیز

نمونه‌های آماده سازی شده باید با یک روش تجزیه ای مناسب و سازگار با محیط آماده سازی شده نمونه مورد تعیین مقدار قرار گیرند. از اینرو با انجام مطالعات زمینه ای اجزای لازم برای اجرای یک آنالیز الکتروشیمیایی با الکترود طلا مورد بررسی قرار گرفت و پارامترهای مختلف از نظر دامنه پتانسیل، سرعت روبش (Stripping rate)، زمان عریانسازی (Stripping time) و پتانسیل روبش (Stripping potential) در سامانه ولتامتری چرخه ای مورد بررسی قرار گرفت نمونه‌ها با این سیستم مورد آنالیز قرار گرفته و پس از دستیابی به مقادیر بهینه برای هرکدام از پارامترهای فوق، منحنی کالیبراسیون طراحی شد و مراحل معتبرسازی آزمایش از نظر دقت و صحت انجام شد

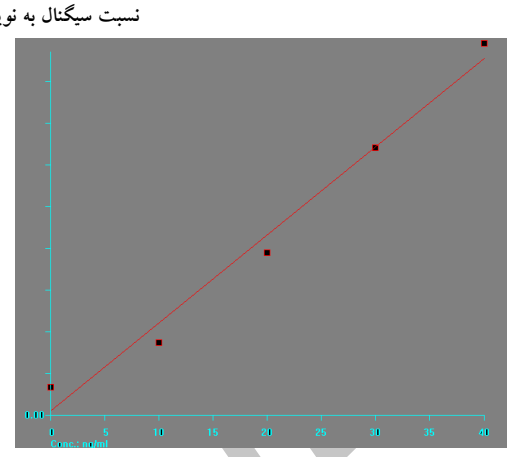
آنالیز الکتروشیمیایی به روش ولتامتری عریانسازی

برای اندازه‌گیری جیوه در نمونه‌های هضم شده روغن ماهی از یک دستگاه ولتامتر(مدل ۶۹۳ متروم) مشتمل بر یک الکترود کاری چرخان طلا، یک الکترود مرجع Ag/AgCl و یک الکترود کمکی گلاسی کربن استفاده گردید. همچنین در تمامی مراحل برای شستشوی سل الکتروشیمیایی و تهیه محلول‌ها از آب مقطر با خلوص بالا (Milli Q) استفاده شد. از محلول استوک ۱۰۰۰mg/l جیوه (II) در محیط اسید نیتریک ۲ مولار برای تهیه محلول استاندارد حد واسط و استانداردهای کاری استفاده شد. محلول‌های استاندارد در غلظت‌های ۱ ، ۲، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ng/ml از رقیق سازی حجم مناسبی از محلول استاندارد حد واسط تهیه شد.

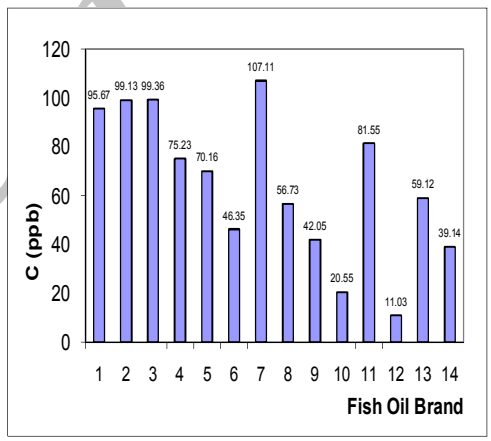
نتایج

منحنی کالیبراسیون مربوط به اندازه گیری جیوه در سطح الکترود طلا به روش ولتامتری عریانسازی در نمودار ۱ نشان داده شده است. این منحنی از ضریب رگرسیون r^2= ۰/۹۹ برخوردار است و معادله آن از رابطه ۰/۰۰۵۷ + C ۰/۰۱۰۵ = Y تبعیت می‌کند. همانطور که در این شکل ملاحظه می شود سامانه اندازه گیری در دامنه ۰/۱ تا ۴۰ نانوگرم بر میلی لیتر از پاسخ خطی برخوردار است و این سامانه از حد تشخیص ۰/۰۳ و حد اندازه گیری ۰/۱ نانوگرم بر میلی لیتر برخوردار است. نتایج حاصل از آنالیز نمونه‌های روغن ماهی آماده سازی شده به روش هضم میکرو ویو در نمودار ۲ ارائه شده است. همانطور که در این نمودار ملاحظه می شود غلظت جیوه در ۱۴ نوع روغن ماهی مورد بررسی در دامنه ۱۱/۰۳ تا ۱۰۷/۱۱ نانوگرم بر میلی لیتر بوده است. همچنین دقت روش اندازه گیری براساس سه بارتکرار نمونه‌ها از یک انحراف استاندارد متوسط ۲/۳ درصد برخوردار بوده است.

www.SID.ir



نمودار ۱: منحنی کالیبراسیون مربوط به اندازه‌گیری جیوه در نمونه‌های روغن ماهی جمع‌آوری شده از سطح عرضه



نمودار ۲: تغییرات میانگین غلظت جیوه کل در چهارده نوع مختلف روغن ماهی جمع‌آوری شده از سطح عرضه

بحث

امروزه وجود فلزات سنگین از جمله جیوه در بافت بدن ماهی کاملاً شناخته شده است. علت این آلودگی، آلودگی صنعتی آب دریاها می‌باشد و متاسفانه این عناصر در مکمل‌های بدست آمده از ماهی‌ها نیز یافت می‌شوند و دارای اثرات سمی در بدن می‌باشند(۱۰و ٦). در سال‌های اخیر استفاده از مکمل غذایی امگا-۳ بسیار افزایش یافته است و به ویژه در بیماران قلبی عروقی مصرف بالایی دارد اما عنصر جیوه خود ریسک ابتلا به بیماری های قلبی عروقی و عروق کرونری را بالا می برد و همچنین دارای عوارض نورولوژیک در بچه ها می‌باشد.

یکی از مکمل‌های غذایی پر مصرف کپسول‌های روغن ماهی امگا-۳ است. طبق تحقیقات انجام شده چربی غیر اشباع امگا-۳ اثرات بسیار مفیدی در پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی دارد. امگا-۳ در بافت بدن ماهی به میزان زیادی وجود دارد اما به دلیل آلودگی صنعتی آب دریاها مقدار قابل توجهی جیوه در بافت بدن ماهی یافت می‌شود که به طور متوسط در ۱ گرم از بافت بدن ماهی ۱/۰- ۰/۵ میکرو گرم جیوه وجود دارد. از آنجایی که مقدار جیوه در کپسول‌های روغن ماهی کمتر از این مقدار است و جیوه ریسک ابتلا به تصلب شرایین و بیماری‌های عروق کرونری را افزایش می‌دهد (۱۳) مکمل ها با مقادیر بسیار پایین جیوه جایگزین مصرف ماهی شده است. این عنصر مکانیسم عمل آنتی اکسیدان ها را مهار کرده در نتیجه باعث افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود. رادیکال‌های آزاد تولید شده باعث رسوب کلسترول در جدارعروق می‌شود و باعث التهاب عروق می‌گردند. با توجه به موارد ذکر شده جهت تامین سلامت افراد مصرف کننده روغن‌های ماهی به عنوان مکمل طراحی و معتبرسازی یک روش مناسب، حساس، دقیق و ساده برای تعیین مقدار این عنصر سمی بسیار ضروری است.

به عنوان جمع‌بندی می‌توان گفت با مصرف ماهی‌ها و فراورده‌های حاصل از آنها (از جمله روغن ماهی) که مقادیر متنابهی از جیوه را به صورت تجمع یافته درخود دارند، غلظت جیوه در بدن انسان نیز افزایش می‌یابد که باتوجه به اثرات سمیت شدید این عنصر سنگین، اثرات بسیار نامطلوب و جبران ناپذیری بر ارگان های مختلف بدن وارد می‌شود. در مورد اندازه‌گیری جیوه در آب و سایر نمونه‌های زیست محیطی گزارشاتی شده است (۲۱). اندازه گیری جیوه در محیطهای پیچیده‌ای مثل روغن ماهی به دلیل حضور عوامل مزاحم و

Archive of SID
www.SID.ir

فراریت جیوه وامکان از دست رفتن آن در طی مراحل آماده سازی همواره با اشکالاتی همراه بوده است. در این پژوهش، استخراج جیوه از روغن ماهی در یک ظرف کاملاً ایزوله و مسدود در حضور امواج میکرو ویو انجام شد. آنالیز نمونه‌های آماده سازی شده نیز به روش ولتامتری چرخه ای در حضور الکترود طلا انجام شد. باتوجه به حساسیت و دقت بالای روش تجزیه ای توسعه یافته در این تحقیق می توان از آن جهت کنترل کیفیت نمونه‌های تولیدی و وارداتی روغن ماهی وتعیین میزان جیوه استفاده کرد و بدین ترتیب از سلامت آن اطمینان کافی حاصل نمود. همچنین باتوجه به دامنه نسبتاً وسیع نتایج بدست آمده برای غلظت جیوه در نمونه‌های روغن ماهی و حضور آن در دامنه ۱۱/۰ تا ۱۰۷/۰ نانوگرم بر میلی لیتر به نظر می رسد بایستی کنترل فراورده های استحصالی از آبزیان با دقت بیشتر و با روش های معتبر صورت گیرد.

REFERENCES

1. Aduna de Paz, L., Alegrı´a, A., Barbera´, R., Farre´, R., & Lagarda, M. J. (1997): Determination of mercury in dry-fish samples by microwave digestion and flow injection analysis system cold vapor atomic absorption spectrometry. Food Chemistry. 58:169–172.
2. Artemis, P.S.(1991): Omega 3 fatty acid in health and disease and in growth and development. American journal of clinical nutrition. 54:438-463.
3. Artemis, P.S.(2006): Evolutionary aspects of diet the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation.Biomedicine and pharmacotherapy. 60:502-507.
4. Augelli, M.A., Munoz, R.A.A., Ritchter, E.M., Cantagallo, M.I., Angnes L. (2007): Analytical procedure for total mercury determination in fishes. Food chemistry., 101:576-584.
5. Bonner, F.W., & Bridges, J.W. (1983): Toxicological properties of trace elements. In J. Rose, Trace elements in health, London: Butterworth.
6. Buzina, R., Suboticanec, K., Vukusi'c, T., Sapunar, J., Anton'ic, K., & Zorica, M. (1989): Effect of industrial pollution on seafood content and dietary intake of total and methylmercury. Science of the Total Environment. 78: 45-57.
7. CIFA (Committee for Inland Fisheries of Africa) (1992): Report of the Third Session of the Working Party on Pollution and Fisheries, FAO Fisheries Report No 471, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome.
8. Coby, S.C., Wong, Nurdan, S., Adnan, A., Ming, H.W. (2006): Sources and trends of environmental mercury emission in Asia. Science of the total environment. 368:649-662.
9. El-Hraiki, A., Kessabi, M., Sabhi, Y., Benard, P., & Buhler, D. R. (1992): Contamination of seafood products by cadmium, chro-mium, mercury and lead in Morocco. Rev. Med. Vet., 143:49-56.
10. Farhnaz, Z., Shami, J.R., Soghra, K.H., Rizwan, H.K. (2005): Low dose mercury toxicity and human health. Environmental toxicology and pharmacology. 20:351-360.
11. Frank, B.H., Leslie, B., Walter, C., Wiilet, M.J., Stampfer Kathrin, M., Rexrode, C.M., Albert, D.H. (2002): Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. JAMA.,287:1815-1821.
12. Hinojosa, R.L., Mizanur Rahman, G.M., Skip Kingstone, H.M. (2009): Robust microwave assiteol extraction protocol for determination of total mercury and methyl mercury in fish tissues. Analytical chimic Atca . 631:121-128.
13. Kazuko, Y., Eric, B.R., Steven, M., Vickie, L.S., Chung-cheng, H., Donna, S., Meir, J.S., Walter, C.W. (2002): Mercury and the risk of cronory heart disease in men. The new England Journal of medicine. 374:1755-1760.
14. Kimberlie, A.G., Charles, V.P. (1998): Heavy metal toxicity,part1:Arsenic and mercury. The journal of emergency medicine. 16:45-56.
15. Leonardo Transande, Philip J. Landrigan, Clyde Schechtr. (2005). Public health and economic consequences of Methyl Mercury toxicity to the developing brain. Environmental health perspectives 113:590-596.
16. Maria Maldoando, S., Julia Alberto, L.F., Kazimierz W., Katarzyna W. (2009): Analytical speciation of mercury in fish tissues by reversed phase liquid chromatograohy-ICP Mass spectrometry. Talanta.79:706-711.

Archive of SID
www.SID.ir

17. Mustafa, S., Mostafa, T., Ibrahim, N., Hayati, S. (2004): Comparison of microwave, dry and wet digestion Procedure. Journal of food & drug Analysis. 12:254-258.
18. Paul, E.D., Aaron, P.R., Ryan, R.O., Chad, R.H., Rebecca K., James, T.O. (2007): Mercury toxity in livers of northern pike. Comparative biochemistry and physiology. 147:331-338.
19. Penny, M.k., Wiliam, S.H., Lawrence, J.A. (2003): Fish consumption ,fish oil, omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. American Heart Association. 23:255-267.
20. Rai, R., Maher, W., Kirkowa, F. (2002): Measurment of inorganic and methyl mercury in fish tissues. J. Anal. At. Specrtrum. 12:560-1563.
21. Seunghwan, L., Mijin, C., Changkeun Kang, Eun-Tea, S., Hyunkyoung, L., Al Munawir, Jong-Shu, K., Euikyung, K. (2007): Mutual synergistic toxicity between environmental toxicants. Environmental toxicology and pharmacology. 27: 90-95.
22. Stacy, E., Foran, Kent B.L. (2003): Measurment of mercury level in concentrated over – the – counter fish oil preparations. Arch Pathol lab Meal. 127: 1603-1605.
23. Storelli, MM., Giacominelli Stuffler, R., Storelli, A., Marcotrigiano, GO. (2003): Total mercury and methylmercury content in edible fish from the Mediterranean Sea. J Food Prot., 66:300–303.
24. Wang, M., Zhang, Y., Feng, W.Y., Guan, M., Wang, B., Shi, J.W., Zhu, M.T., Li, B., Zhao, Y.L., Chai, Z.F. (2007): Determination of mercury in fish by isotope dilution Inductively Couple Plasma-Mass Spectrometry. Chin J Anal chem. 35:945 – 948.

Archive of SID

www.SID.ir