

مقاله تحقیقی

تعیین میزان فلزات سنگین سرب، نیکل و کادمیوم در بافت نرم دو کفه‌ای *Callista multiradiata* در خور هاله

مهناز سادات صادقی*، نوشین سجادی، ندا جوادیان فرزانه

دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی

*مسئول مکاتبات: mahnaz_sadat_sadeghi@yahoo.com.au

محل انجام تحقیق: آزمایشگاه دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۱۲

چکیده

حوضه‌ی خلیج فارس دارای حدود دو -سوم از ذخایر نفتی دنیا است و بسیاری از محیط‌های دریایی آن به طور جدی در معرض خطر آلودگی نفتی قرار دارند. بنابراین، مطالعه بر روی وضعیت آلودگی نفتی خلیج فارس از اهمیت بالایی برخوردار است. نیکل، کادمیوم و سرب از فراوان‌ترین فلزات تشکیل دهنده نفت خام هستند که حضور آنها در رسوبات دریایی بیانگر ورود آلاینده‌های نفتی به محیط است. در این مطالعه غلظت این سه عنصر در بافت نرم دوکفه‌ای *Callista multiradiata* در منطقه هاله واقع در خلیج نای بند مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری و آنالیز در زمستان و تابستان ۱۳۹۲ انجام شد در هر فصل ۲۰ نمونه دوکفه‌ای جمع‌آوری و در کلمن‌های حاوی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد و تا زمان انجام آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردید. نمونه‌ها در اسید غلیظ هضم و میزان فلزات نیکل، کادمیوم و سرب بافت‌ها توسط دستگاه جذب اتمی کوره اندازه‌گیری گردید. میانگین غلظت فلزات نیکل، سرب و کادمیوم به ترتیب برای فصل زمستان $1/15 \pm 0/16$ ، $3/3 \pm 0/2$ و $0/3 \pm 0/20$ و برای تابستان $4/54 \pm 2/41$ ، $2/04 \pm 1/55$ ، $4/28 \pm 1/54$ و $2/5 \pm 0/41$ ppm به دست آمد. در آنالیز آماری نتایج بوسیله آزمون *t-test*، غلظت فلزات سرب، نیکل و کادمیوم در فصل تابستان و زمستان تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p < 0/05$). بر اساس این مطالعه الگوی پراکنش فلزات مورد بررسی به ترتیب در فصل تابستان و زمستان $Pb > Ni > Cd$ و $Ni > Pb > Cd$ می‌باشد که میزان فلزات در مطالعه حاضر بیشتر از استانداردهای جهانی ثبت شد.

واژگان کلیدی: فلزات سنگین، نیکل، سرب، کادمیوم، دو کفه‌ای *Callista multiradiata*، خلیج فارس، خور هاله

مقدمه

امروزه افزایش جمعیت و توسعه صنایع مختلف و گسترش مناطق کشاورزی باعث ورود حجم بالایی آلاینده‌های مختلف به محیط‌های آبی گردیده است. از میان مواد آلاینده وارد شده به اکوسیستم‌های آبی، فلزات سنگین به علت اثرات سمی و پتانسیل بالای تجمع زیستی در بسیاری از گونه‌های آبی قابل توجه هستند. آلودگی اکوسیستم‌های آبی به انواع آلاینده‌ها

می‌تواند از طریق بررسی آب، رسوبات و موجودات آبی مورد تأیید قرار گیرد. تجمع فلزات سنگین در هر یک از این اجزا می‌تواند منجر به تغییرات اکولوژی جدی شود (۱۰).

زیستگاه و رژیم‌غذایی موجودات دریا آنها را به عنوان شاخص‌هایی ایده‌آل برای پایش سلامتی اکوسیستم‌های آبی تبدیل کرده است. فلزات سنگین با توجه به مقدار سمیت، پایداری، تجزیه‌ناپذیر بودن و

به ترتیب بین ۴/۲۲ تا ۱۰/۵۱ و ۶/۲ تا ۲۶۱ میکروگرم بر وزن خشک ثبت شد (۲).

مواد و روش ها

برای دست یابی به اهداف پروژه پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه در ابتدا نمونه‌ها مورد بیومتری قرار گرفتند و طول و وزن آنها اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در سردخانه و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در مورد نمونه‌های مورد بررسی عدم تماس با اشیاء فلزی رعایت گردید. این مطلب از زمان نمونه برداری، حمل و نقل، آماده سازی و اندازه‌گیری رعایت گردید. برای اندازه‌گیری فلزات سنگین تمامی وسایل مورد استفاده قبل از استفاده به مدت ۲۴ ساعت در اسید نیتریک ۵ درصد قرار داده شد و در آخر با آب دو بار تقطیر شسته شدند. به منظور هضم و سنجش فلزات سنگین، نمونه‌های دوکفه‌ای از فریزر خارج، تا در دمای محیط یخ آن باز شود. پس از آن بافت نرم نمونه دوکفه‌ای از پوسته جدا شده و نمونه تحت فرایند خشکاندن انجمادی در دمای ۴۰- به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفت. پس از انقضای زمان فوق و اطمینان از خشک شدن کامل بافت نرم، با استفاده از تراوزی با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن خشک بافت نرم نیز محاسبه شد. سپس با یک‌هاون چینی آزمایشگاهی نمونه‌ها پودر گردیدند. به منظور هضم بافت نرم جهت اندازه‌گیری فلزات سنگین از روش معرفی شده توسط MOOPAM (1999) استفاده گردید (۱۳). مقدار ۰/۳ گرم از نمونه خشک شده انجمادی را برداشته و داخل ظرف تفلونی ماکروویو قرار داده شد. مقدار ۴ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ به آن اضافه نموده و حدود یک ساعت در دمای اتاق زیر هود قرار گرفت. درب ظرف تفلونی را بسته و داخل ماکروویو قرار داده شد. اندازه‌گیری فلزات مورد بررسی به کمک سیستم جذب اتمی کوره صورت گرفت.

آنالیز آماری

داده‌ها به صورت میانگین غلظت فلزات نشان داده شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون t-test و از نرم افزارهای SPSS 19 و Excel 2013 استفاده شد. پیروی داده‌ها از توزیع طبیعی توسط آزمون

توانایی تجمع زیستی‌شان در بسیاری از گونه‌های دریایی از اهمیت بالایی برخوردارند. فلزات سنگین به چند طریق وارد محیط‌های آبی شده و در رسوبات و جانوران آبی تجمع می‌یابند. آنالیز سطوح فلزات در بافت‌های موجودات زنده بهتر بوده و دارای فواید بیشتری نسبت به نمونه‌های آب یا رسوبات می‌باشد. اساساً به دلیل اینکه بعضی جانوران فلزات سنگین کمیاب را در غلظت‌های بالا در خود نگه می‌دارند، بنابراین در زمان‌های متفاوت اطلاعات خوبی در زمینه آلودگی محیط زیست در اختیار ما قرار می‌دهند (۱۱،۱۲). روند رو به رشد فعالیت‌های مختلف در سواحل عسلویه باعث شده که سواحل خلیج نای بند در معرض آلودگی‌های مختلف قرار بگیرد که از مهمترین این منابع آلودگی می‌توان به فاضلاب ناشی از صنایع مستقر در منطقه و آلودگی توسط لنج و قایق‌های صیادان محلی اشاره کرد. بنابراین به دلیل ورود آلاینده‌ها از منابع مختلف به این سواحل لازم است بررسی‌های کافی جهت مشخص کردن انواع آلودگی‌ها بخصوص فلزات سنگین در منطقه صورت بگیرد. از اینرو در این تحقیق به بررسی برخی عناصر فلزات سنگین مانند نیکل، کادمیوم و سرب در بافت نرم دوکفه‌ای *Callista multiradiata* در خور هاله و مقایسه آن با استانداردها جهانی پرداخته خواهد شد.

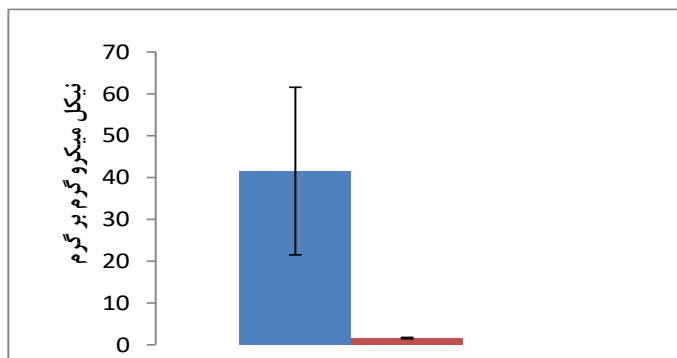
تاکنون چند مطالعه در زمینه اندازه‌گیری فلزات سنگین در دوکفه‌ای‌ها انجام شده است که از آن جمله می‌توان به مطالعه بهبهانی در سال ۱۳۷۴ اشاره کرد که با تحقیق بر روی دو گونه دوکفه‌ای خوراکی *Saccostrea cucullata* و دوکفه‌ای مروارید ساز *Pinctada radiata*، خلیج فارس، میزان هفت فلز سنگین را در آنها اندازه‌گیری کرد و مشاهده نمود که میزان فلزات سنگین بررسی شده در فصول گرم در مقایسه با فصول سرد پایین‌تر است و نتیجه گرفت که با گرم شدن فصول تجمع فلزات در دوکفه‌ای‌ها کاهش می‌یابد (۱). میرزا و همکاران (۱۳۹۲) به مطالعه بررسی نسبت نیکل و وانادیوم ناشی از آلودگی‌های نفتی در رسوبات و صدف صخره‌ای (*Saccostrea cucullata*) در سواحل استان بوشهر، خلیج فارس پرداختند. در این تحقیق میانگین غلظت این دو فلز در نمونه‌های صدف

بیشترین مقدار میانگین غلظت فلزات نیکل، سرب و کادمیوم در فصل تابستان به دست آمد. از مقایسه میانگین غلظت فلزات سنگین با استانداردهای جهانی (WHO، UK(MAF)، NHMRC)، بالاتر بودن غلظت این فلزات در هر دو بافت در مقایسه با استانداردهای ذکر شده در جدول ۳ ثبت شد.

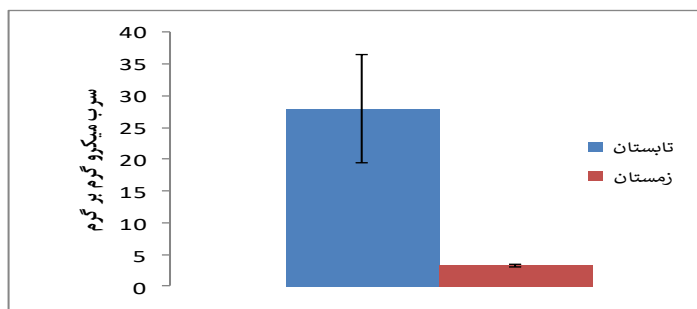
کولموگروف اسمیرونوف مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

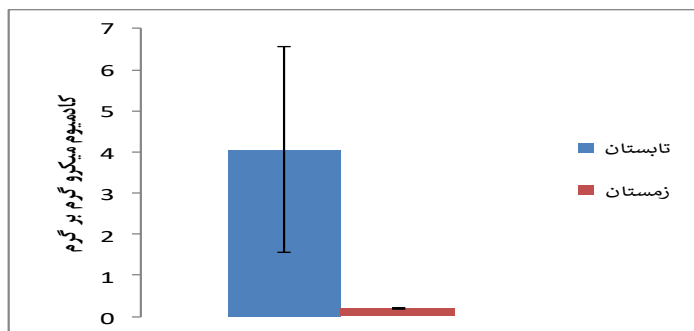
میانگین و انحراف معیار غلظت فلزات در دو فصل زمستان و تابستان در منطقه مورد مطالعه در جداول ۱ و ۲ و نمودارهای ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است.



نمودار ۱ - میانگین غلظت فلز نیکل در دو فصل (زمستان و تابستان) در خور هاله بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک نمونه \pm انحراف معیار.



نمودار ۲ - میانگین غلظت فلز سرب در دو فصل (زمستان و تابستان) در خور هاله بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک نمونه \pm انحراف معیار.



نمودار ۳ - میانگین غلظت فلز کادمیوم در دو فصل (زمستان و تابستان) در خور هاله بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک نمونه \pm انحراف معیار.

جدول ۱ - میانگین و انحراف معیار غلظت فلزات نیکل، سرب و کادمیوم در بافت نرم دوکفه ای *Callista multiradiata* در فصل تابستان در خور هاله بر حسب $\mu\text{g/g}$ وزن خشک نمونه.

فلز	تعداد نمونه	میانگین	انحراف معیار
نیکل	۲۰	۴۱/۵۵	۲۰/۰۴
سرب	۲۰	۲۸	۸/۵۴
کادمیوم	۲۰۰	۴/۰۵	۲/۵

جدول ۲ - میانگین و انحراف معیار غلظت فلزات در بافت نرم دوکفه ای *Callista multiradiata* در دو فصل زمستان در خور هاله بر حسب $\mu\text{g/g}$ وزن خشک نمونه.

فلز	تعداد	میانگین	انحراف معیار
نیکل	۲۰	۱/۶	۰/۱۵
سرب	۲۰	۳/۳	۰/۲
کادمیوم	۲۰	۰/۲	۰/۰۳

جدول ۳ - میزان تجمع فلزات در بافت نرم دو کفه ای با استانداردهای مختلف بر حسب ppm.

استاندارد	Pb	Cd	Ni	منبع
WHO	----	۰/۲	۰/۲	(۱۴)
NMHRC	----	۰/۰۵	----	(۱۵)
UK(MAFF)	----	۰/۲	----	(۱۶)
FAO	۰/۵	----	۰/۵	(۱۷)
USFDA	۱۱/۵	----	۰/۸	(۱۸)
MPHT	۱/۷	----	----	(۱۹)
ایران	----	----	۱	(۳)

بحث و نتیجه گیری

پس از بررسی تجمع فلزات سنگین مشخص گردید که الگوی تجمع فلزات در بافت نرم دو کفه‌ای *C. multiradiata* به صورت $\text{Cd} > \text{Pb} > \text{Ni}$ است. در مطالعه علی محمدی (۱۳۸۷) بر روی تجمع Cu ، Ni و Cd در بافت نرم دوکفه‌ای‌های *Pinctada radiata* و *Barbatia decussata* در خلیج نایبند، بوشهر الگوی تجمع فلزات در آنها به ترتیب شامل $\text{Cd} > \text{Ni} > \text{Cu}$ و $\text{Ni} > \text{Cd} > \text{Cu}$ بدست آمد (۴). این تفاوت‌ها در الگوی تجمع فلزات در گونه‌های مختلف احتمالاً ناشی از تفاوت‌های فردی گونه ای، تفاوت‌های فیزیولوژیک و متابولیکی، مکان زندگی و همینطور شیوه زندگی این گونه‌ها می‌باشد (۲۰). تجمع عناصر در رسوبات اغلب برای ارزیابی و بررسی وضعیت تجمع فلزات محیط‌های دریایی مناسب هستند. اما رسوبات همیشه بیانگر کل آلودگی منطقه نیستند (۲۱). از آنجایی که بی مهرگان بخصوص نرم‌تنان و سخت پوستان قابلیت تجمع

زیستی را در بدن خود دارند، می‌توان از آنها به‌عنوان شاخص‌های زیستی در مطالعه آلودگی‌های محیط استفاده‌های بسیار نمود (۲۱). در مطالعات Bilos و همکاران (۱۹۹۸)، روی دوکفه‌ای *Corbicula fluminea* و *Demora* و همکاران (۲۰۰۴) روی دوکفه‌ای‌های *Saccostrea cucullata* و *Pinctada radiata* تجمع فلزات مس و روی در آنها بیشتر از محیط (آب و رسوب) بود (۲۰، ۲۲). این امر به این خاطر است که این دو عنصر از عناصر لازم در ساختارهای متالوآنزیم‌ها و متالوپروتئین‌ها مانند هموسیترین هستند (۲۳). در دوکفه‌ای *Callista multiradiata* نیز فلزات نیکل، سرب و کادمیوم تجمع یافته بودند که این تجمع می‌تواند به علت نیازهای فیزیولوژیک، فعالیت‌های متابولیک، عناصر مورد نیاز در ساختار بدن و افزایش این فلزات در محیط در اثر فعالیت‌های انسانی باشد. بطور مثال بر اساس مطالعه Riba و همکاران (۲۰۰۵)، دوکفه‌ای‌ها میزان‌های

است. طبق این جدول این تفاوت‌ها در تجمع فلزات به عوامل مختلفی اعم از تفاوت‌های جغرافیایی در طول و عرض جغرافیایی، تفاوت‌های گونه‌ای و اثرات فعالیت‌های انسانی در تجمع فلزات در این مناطق بستگی دارد.

متفاوتی از Cu را در بدن خود تجمع داده بودند که بیشترین میزان جذب آنها از فلز مس موجود در آفت کش‌های زمین‌های زراعی برنج در نزدیکی خلیج کادیز در اسپانیا بود (۲۴). جدول ۴ مربوط به تجمع عناصر مختلف در دوکفه‌ای‌ها در کشورها و مناطق مختلف

جدول ۴ - غلظت فلزات مختلف بر مبنای وزن خشک (ppm) در دوکفه‌ای‌ها در کشورها و مناطق مختلف.

گونه	محل	کادمیوم	سرب	نیکل
<i>Corbicula fluminea</i>	آرژانتین	۰/۲-۵	-----	-----
<i>Circentia callipyga</i>	قطر	۱/۱	۱/۴	-----
<i>Saccostrea cucullata</i>	عمان	۲۲-۹	۰/۰-۶/۳	-----
<i>Pinctada radiata</i>	امارات	۴-۳	۰/۲-۱	-----
<i>Saccostrea cucullata</i>	ایران (استان هرمزگان)	۳.۸	۵.۲	-----
<i>Saccostrea cucullata</i>	ایران (جزایر قشم و هرمز)	۹۱/۴	۷۹/۱	۱۲/۲
<i>Saccostrea cucullata</i>	ایران (بندر دیر)	۵۳/۰ ± ۲/۴۵	-----	۰ ± ۷۶/۶۴
<i>Saccostrea cucullata</i>	ایران (هرمزگان)	-----	-----	۰/۰۰۵ - ۵/۲۳
<i>Solen dactylus</i>	ایران	۳-۱	۷-۴	-----
		تابستان	تابستان	-----
		≤ ۰/۰۵	۵	-----
<i>Amiantis umbonella</i>	ایران (بندر عباس)	زمستان	زمستان	-----
		≤ ۰/۰۵	۲ ± ۶	-----
مطالعه حاضر	ایران (هاله واقع در خلیج ناپبند)	تابستان:	تابستان:	تابستان:
<i>Callista multiradiata</i>		۴/۲ ± ۰/۵/۵	۸ ± ۲۸/۵۴	۴۱/۲۰ ± ۵۵/۰۴

آلاینده صورت گیرد تا ذخایر آبزیان که به عنوان یکی از منابع مهم پروتئینی است، دچار صدمات کمتری ناشی از عوامل آلاینده شوند. با توجه به یافت شدن آلاینده در بافت نرم دوکفه ای پیشنهاد می‌گردد رابطه بین فاکتورهای بیومتریکی و میزان تجمع فلزات سنگین در گونه‌های مختلف دو کفه ای ها صورت گیرد. همچنین، نمونه برداری زمانی و مکانی بیشتری در سرتاسر آب‌های ایران و بر پایه نتایج حاصله میزان مجاز مصرف دو کفه ای تعیین گردد. مطالعات ویژگی‌های زیستی و ارزیابی ذخایر دوکفه ای در سایر مناطق صورت و مطالعات دوره‌ای بر میزان تجمع فلزات سنگین در دو کفه ای جهت اطمینان از وضعیت کیفی و سلامت شان انجام گردد.

در آنالیز آماری نتایج، بوسیله آزمون t-test غلظت فلزات سرب، نیکل و کادمیوم در فصل تابستان و زمستان تفاوت معناداری را نشان می‌دهد ($p < 0/05$). بر اساس این مطالعه الگوی پراکنش فلزات مورد بررسی در فصل تابستان و زمستان به شرح زیر است:

تابستان: $Pb > Ni > Cd$ زمستان: $Ni > Pb > Cd$

همانگونه که در جدول ۳ مشاهده می‌گردد، میزان فلزات در مطالعه حاضر بیشتر از استانداردها به دست آمده است. میزان تجمع فلزات در فصل سرد کمتر از فصل گرم بدست آمده که به دلیل افزایش فعالیت متابولیک در فصل تابستان در نتیجه افزایش دما در این فصل می‌باشد و در نتیجه سبب افزایش جذب فلزات سنگین می‌شود (۲۵). با توجه به نقش بافت نرم دوکفه ای در تغذیه انسانی پیشنهاد می‌گردد که مدیریت بهتر و بیشتری در جهت کنترل منابع

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال تشکر و قدر دانی می گردد.

منابع مورد استفاده

- ۱ بهبهانی، ا. ح. ۱۳۷۴، بررسی فلزات سنگین در دوکفه‌ای مرواریدساز *Pinctada radiata* خلیج فارس به روش طیفسنجی جذب اتمی. مجله علمی شیلات، شماره ۳، ص ۴۰-۲۷.
- ۲ میرزا، ر.، فخری، ع.، فقیری، ا.، عظیمی، ع. ۱۳۹۲. بررسی نسبت نیکل و وانادیوم ناشی از آلودگی‌های نفتی در رسوبات و صدف صخره ای *Saccostrea cucullata* در سواحل استان بوشهر، خلیج فارس. اقیانوس شناسی، سال چهارم، شماره ۱۴، ص ۹.
- ۳ درویش صفت، ع. ا.، احمدی، ه.، مخدوم، ف.، مجید ابوالقاسمی، ش.، ۱۳۸۶. مسیریابی بر اساس اصول زیست محیطی با استفاده از GIS (مطالعه موردی: جاده پارچین در شرق تهران). منابع طبیعی ایران، شماره ۱، ص: ۲۱۱-۲۰۳.
- ۴ محمدی، ع.، ۱۳۸۷. مطالعه تجمع Cd و Cu ، Ni در بافت نرم دوکفه‌ای‌های *Pinctada radiata* و *Barbatia Decussata* در خلیج ناپیند، بوشهر. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید بهشتی.
- ۵ مرتضوی، ث.، اسماعیلی ساری، ع.، ریاحی بختیاری، ع. ر.، ۱۳۸۱. سنجش میزان روی، سرب، کادمیوم و کروم در صدف خوراکی صخره‌ای (*Saccostrea cucullata*) در سواحل استان هرمزگان. مجله علوم و فنون دریایی ایران، شماره ۱، ص ۷۶-۶۷.
- 10 Altindag, A., Yigiti, S., 2005. Assessment of heavy metals concentrations in the food web of lake Beysehır, Turkey. *Chemosphere* 60: 522-556.
- 11 Ghrefat, H., Yusuf, N., 2006. Assessing Mn, Fe, Cu, Zn, and Cd pollution in bottom sediments of Wadi Al-Arab Dam, Jordan. *Chemosphere* 65: 2114-2121.
- 12 Khaled, A., ElNemr, A., El-Sikaily, A., 2006. An assessment of heavy-metal contamination in surface sediments of the Suez Gulf using geo-accumulation indexes and statistical analysis. *Chemistry and Ecology* 22(3): 239-252.
- 13 Moopam, H., 1999. Manual of oceanographic observations and pollutant analyses methods Third Edition. Regional Organization for the Protection of the Marine Environment. (Ropme), pp.450.
- 14 Biney, C. A., Ameyibor, E., 1992. Trace metal concentrations in the pink shrimp *Penaeus notialis* from the coast of Ghana. *Journal of Water Air Soil Pollution* 63: 273-279.
- 15 Maher, J. J., Scott, M. K., Saito, J. M., Burton, M. C., 1997. Adenovirus-mediated expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant in rat liver induces a neutrophilic hepatitis. *Journal of Hepatology* 25: 624-630.
- 16 Collings, S. E., Johnson, M. S., Leah, R. T., 1996. Metal contamination of angler caught fish from Mersey Estuary. *Marine Environmental Research* 41: 281-297.

- 17 Shulkin, V. M., Presley, B. J., Kavun, V. I., 2003. Metal concentrations in mussel. *Crenomytilus grayanus* and oyster. *Crassostrea gigas* in relation to contamination of ambient sediments. *Environment International Elsevier* 29: 493-502.
- 18 Liu, J. H., Kueh, C. S. W., 2005. Biomonitoring of heavy metals and trace organics using the intertidal mussel *Perna viridis* in Hong Kong coastal waters. *Mar Poll Bull Pertanika Journal Agric Sci* 28(1): 1-10.
- 19 Bilos, C., Colombo, J. C., Presa, M. J. R., 1998. Trace metals in suspend particles, sediments and Asiatic clams (*Corbicula fluminea*) of the Rio de La Plata Estuary, Argentina. *Environmental Pollution* 99: 1-11.
- 20 Yang, Z., Peterson, R. T., 2004. Customer satisfaction, perceived value, and loyalty: The role of switching costs. *Psychology & Marketing* 21(10): 799-822.
- 21 Hédouin, L., Metian, M., Teyssie, J. L., Fowler, S. W., Fichez, R., Warnau, M., 2009. Allometric relationships in the bio-concentration of heavy metals by the edible clam (*Gafrarium tumidum*). *Science of the Total Environment. Journal Elsevier* 366: 154-163.
- 22 DeMora, S., Fowler, S. W., Wyse, E., Azemard, S., 2004. Distribution of heavy metals in marine bivalves, fish and coastal sediments in the Persian Gulf and Gulf of the Oman. *Marine Pollution Bulletin* 49: 410-424.
- 23 Lippard, S. J., Berg, J. M., 1994. Principles of bioinorganic chemistry, University Science. Books, Mill Valley, CA, U. S. A. pp.411.
- 24 Riba, I., Blasco, J., Tenorio, J. N., Gonzalez de Canales, M. L., Delvalls, T. A., 2005. Heavy metal bioavailability and effects: II Histopathology bio-accumulation relationships caused by mining activities in the Gulf of Cadiz (SW, Spain). *Chemosphere* 58: 671-682.
- 25 Ollson, O., Guthrie, J., Humphrey, C., 1998. Global Warning: International Financial Management Changes, Cappelan Akademisk Bergen, Norway, Forlag, pp.376-399.