

اندازه‌گیری و ارزیابی فلزات سنگین در کنسروهای ماهی تون تولید شده از منابع مختلف صید در سال ۱۳۹۰

میترا داودی^{a*}، اورنگ عیوض‌زاده^b، محمدرضا سویزی^c، کاظم کریمی^d

^a کارشناس ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، دانشکده مهندسی کشاورزی، گروه مهندسی کشاورزی - علوم و صنایع غذایی،

ورامین، ایران

^b استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، دانشکده مهندسی کشاورزی، گروه مهندسی کشاورزی - علوم و صنایع غذایی، ورامین، ایران

^c دانشیار دانشگاه صنعتی مالک اشتر، دانشکده شیمی و مهندسی شیمی، تهران

^d کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، شرکت فرآورده‌های گوشتی تهران (سولیکو)، تهران

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۲/۶/۱۹

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۶/۲۵

۳۱

چکیده

مقدمه: ارزیابی آلودگی مواد غذایی بویژه ماهی تون و فرآورده‌های آن به فلزات سنگین بدلیل پدیده تجمع‌پذیری و به عنوان شاخصی از میزان آلودگی آنها اهمیت فراوانی دارد. در پژوهش حاضر اندازه‌گیری و ارزیابی سه فلز سنگین جیوه، کادمیم و سرب در کنسرو ماهی تون تولید شده از چهار منبع اصلی تأمین ماهی تون کشور مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: برای این منظور از چهار نقطه جغرافیایی دریای عمان، سواحل کشورهای هند، سیشل و غنا، نمونه‌هایی از کنسرو ماهی تون تولیدی یکی از کارخانجات معتبر داخل کشور تهیه شد و پس از آماده‌سازی و هضم نمونه‌ها، مقدار جیوه با بهره‌گیری از تکنیک بخار سرد روش طیف‌سنجی جذب اتمی (AAS) و مقدار دو فلز کادمیم و سرب با روش پلاسمای جفت شده القایی - طیف‌سنجی نشر اتمی (ICP-AES) اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل، در مقایسه با سه استاندارد مینا [ایران (ISIRI)، جهانی (WHO/FAO) و اروپا (EC)] و با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) با بهره‌گیری از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج ارزیابی‌ها نشان داد در ۴ سری نمونه‌های مورد آزمایش، میانگین جیوه 0.082 ± 0.002 ppm (۱۰۰٪ نمونه‌ها در محدوده‌ی مجاز استاندارد)، میانگین کادمیم اندازه‌گیری شده 0.375 ± 0.0614 ppm (۷۵٪ نمونه‌ها بالاتر از محدوده‌ی مجاز استاندارد) و میانگین سرب 0.132 ± 0.050 ppm (۵۰٪ نمونه‌ها در محدوده‌ی مجاز استاندارد) می‌باشد.

نتیجه‌گیری: صیدهای منطقه‌ی چابهار از صیدگاه دریای عمان دارای بیشترین و صیدهای سواحل غنا دارای کمترین مقادیر آلودگی به فلزات سنگین تعیین شدند.

واژه‌های کلیدی: پلاسمای جفت شده القایی، طیف‌سنجی جذب اتمی، فلزات سنگین، کنسرو ماهی تون

مقدمه

روند تأمین غذا در جهان اقتضا می‌کند تا متناسب با رشد جمعیت، سطح تولید مواد غذایی افزایش داده شود. در این راستا نیاز رو به گسترش جمعیت جهان به مواد غذایی و تفکر کسب درآمد و ایجاد اشتغال و سایر عوامل دیگر سبب رشد و توسعه تکنولوژی عمل‌آوری و صنایع شیلات در جهان شده است. بطوریکه فرآورده‌های غذایی آبریان بخش قابل توجهی از نیاز روز افزون به تغذیه را مرتفع ساخته است و تکنولوژی فرآورده‌های دریایی به یکی از بهترین و بزرگترین منابع کسب درآمد بسیاری از کشورهای جهان تبدیل شده است.

همگام با رشد تقاضا، افزایش روند آلودگی اکوسیستم‌های دریایی به شکلی جدی، احتمال بروز مشکلات کیفی در این منبع ارزشمند غذایی را تشدید کرده است. خوردن غذا به عنوان راه اصلی جذب و در معرض قرار گرفتن فلزات سنگین شناخته شده است. در میان منابع غذایی، ماهیان بطور مداوم در معرض فلزات سنگین موجود در آب‌های آلوده قرار دارند. این فلزات می‌توانند در بافت‌های ماهی به میزان متفاوت تجمع یابند که به اندازه و سن ماهی بستگی دارد. بنابراین ماهی شاخص زیستی مناسبی برای تعیین غلظت فلزات سنگین در اکوسیستم‌های آبی است (ولایت‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹). نظر به فرایندهای مدرن تولید کنسرو ماهی تون طی سال‌های اخیر، نقش فرآوری و بسته‌بندی در ایجاد آلودگی به فلزات سنگین ناچیز بوده و سهم عمده را ماهی مصرفی دارا است و می‌تواند شاخص از میزان آلودگی آنها باشد (طاهری، ۱۳۸۹). با توجه به در معرض بودن ماهیان با فلزات سنگین و افزایش روز افزون مصرف فرآورده‌های آبریان به صورت آماده و کنسرو شده، مطالعه آلودگی‌های مختلف در کنسرو ماهیان تون ضروری به نظر می‌رسد. از این رهگذر مطالعاتی در مورد ارزیابی فلزات سنگین در فرآورده‌های کنسرو ماهی تون در کشورهای مختلف و ایران (امامی خوانساری و همکاران، ۱۳۸۱؛ تقوی، ۱۳۸۵؛ گنجوی، ۱۳۸۷؛ لشکری مقدم، ۱۳۸۸؛ طاهری، ۱۳۸۹) به انجام رسیده است. در ایران با وجود افزایش روزافزون آلودگی‌های خلیج فارس و دریای عمان و

تفاوت‌های موجود در روشهای فرآوری و شرایط محیطی از جمله انجماد، استریزه و پخت محصولات در مناطق مختلف، اندازه‌های متفاوت و گونه‌های مختلف و فصول، مطالعات مقایسه‌ای مطلوبی در مورد آلودگی ماهیان تون بخصوص کنسرو آنها به انجام نرسیده است.

بر این اساس، این پژوهش به منظور ارزیابی سه فلز سنگین جیوه، کادمیم و سرب در کنسروهای ماهی تون تولید شده از چهار منابع اصلی تأمین ماهی تون کشور انجام پذیرفت. از آزمون ANOVA جهت مشخص نمودن تفاوت معنی‌دار بین مناطق مختلف استفاده شد و در نهایت آزمون توکی برای مقایسه آماری مورد استفاده قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

محصولات کنسروی حاصل از صید مناطقی که بیشترین ماهیان تون کشور از آنها تأمین می‌شوند، جهت نمونه‌برداری انتخاب شد که این مناطق شامل دریای عمان (کد A)، سواحل کشور هند (کد B)، سیشل (کد C) و غنا (کد D) می‌باشد. با همکاری یک کارخانه معتبر تولید کننده کنسرو ماهی تون (در منطقه‌ی استان البرز)، تهیه‌ی نمونه‌های هر یک از مناطق چهارگانه مذکور که دارای مشخصات تولید تقریباً یکسان نظیر نوع ماهی (هوور خطی^۱)، روش صید، نگهداری و فرایندهای تولید بودند و فقط محل صید متفاوتی داشتند، انجام شد. هدف از انتخاب محصولات تولیدی یک شرکت و با یک زمان تولید، ثابت نمودن تاثیر فرایند تولید بر مقادیر مورد اندازه‌گیری می‌باشد تا مطابق ادعای مرجع Ganjavi, 2010، روش فرآوری در واحدهای تولیدی مختلف، منجر به تغییر مقادیر فلزات سنگین و هیستامین نگردد. در نقشه جغرافیایی شکل ۱، مناطق صید مواد اولیه‌ی کدهای مذکور نشان داده شده است.

به دلیل دقت‌های بالاتر، روش پلاسما جفت شده القایی - طیف‌سنجی نشر اتمی (ICP-AES)، برای اندازه‌گیری مقدار هر سه فلز جیوه، کادمیم و سرب انتخاب شد. با توجه به اینکه هیچ پژوهشی در زمینه اندازه‌گیری جیوه (بدلیل فشار بخار بالای جیوه نسبت به فلزات دیگر و فرار بودن آن) با روش ICP-AES در ایران وجود نداشت،

¹ Skipjack

داخل بشرهای ۲۵ میلی لیتری منتقل شد. به بشرهای حاوی نمونه، ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ اضافه شد. سپس بشرها بر روی هیتر داغ با دمای 120°C به مدت ۲ ساعت تا حصول محلول شفاف حرارت داده شدند. نمونه شفاف بعد از عبور از کاغذ صافی به داخل بالن منتقل گردید و با استفاده از آب مقطر ۲ بار تقطیر به حجم رسانده شد و برای تزریق درون دستگاه ICP-AES آماده شد. قابل ذکر است که جهت صحت و تکرارپذیری آزمایش‌ها در اندازه‌گیری هر فلز، سه نمونه از هر منطقه انتخاب شد و هر آزمون نیز سه بار تکرار گردید.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که میانگین فلز جیوه در کل نمونه‌ها 0.082 ± 0.002 ppm است، با مقدار بیشینه 0.18 ± 0.002 ppm مربوط به کد A (دریای عمان) و مقدار کمینه آن 0.029 ± 0.011 ppm که مربوط به کد D (سواحل غنا) بوده است. میانگین کادمیوم در کل نمونه‌ها 0.375 ± 0.0614 ppm با مقدار بیشینه 0.3 ± 0.0958 ppm مربوط به کد A (دریای عمان) و مقدار کمینه 0.27 ± 0.025 ppm مربوط به کد B است که محل صید آن سواحل هند بوده است. میانگین سرب در کل نمونه‌ها 0.132 ± 0.05 ppm و مقدار بیشینه در کد B (سواحل هند) با مقداری برابر با 0.45 ± 0.0625 ppm و مقدار کمینه در کد D (سواحل غنا) با مقداری برابر با 0.42 ± 0.0333 ppm بوده است. جدول ۱ مقادیر میانگین و انحراف معیار را برای فلزات کادمیوم، سرب و جیوه در کل نمونه‌ها ارائه می‌کند.

بحث

می‌توان نتیجه‌گیری نمود که صیدهای منطقه‌ی چابهار از صیدگاه دریای عمان دارای بیشترین مقادیر آلودگی به فلزات جیوه و کادمیوم و صیدهای سواحل هند دارای بیشترین آلودگی به فلز سرب می‌باشند. در شناسایی صیدگاه‌هایی با کمترین میزان آلودگی، می‌توان گفت که صیدهای منطقه‌ی سواحل غنا دارای کمترین مقادیر

مرجع (Mol, 2011) که از ICP برای آنالیز جیوه استفاده کرده بود، مورد استناد قرار گرفت.

پس از تزریق نمونه‌ها به دستگاه ICP-AES با افزودنی‌های کمکی مختلفی نظیر محلول 1000 ppm طلا و تکرارهای چند باره، فلز جیوه پیکی جهت شناسایی نشان نداد. این امر نشان دهنده آن است که یا جیوه بدلیل فشار بخار بالایی که دارد حین عملیات هضم از بین رفته است و یا جیوه در نمونه‌ها وجود نداشته است که به دلیل رد حالت دوم، از نتایج مشخص شد که اندازه‌گیری جیوه از روش ICP-AES میسر نیست و این دستگاه بدون تکنیک بخار سرد^۱ قادر به شناسایی جیوه نمی‌باشد فلذا برای اندازه‌گیری جیوه از روش طیف‌سنجی جذب اتمی (AAS) و برای اندازه‌گیری کادمیم و سرب از روش پلاسما جفت شده القایی - طیف‌سنجی نشر اتمی (ICP-AES) استفاده گردید.

جهت اندازه‌گیری میزان فلزات از روش هضم شیمیایی [متد ۲۴۵/۶ برای تهیه محلول نمونه جیوه] (AOAC, 1991) و [متدهای ۹۸۶/۱۵ و ۹۹۹/۱۱۱ برای تهیه محلول نمونه کادمیوم و سرب] AOAC Method (1986, 986.15, 999.11) و (1999) استفاده شد. برای آماده‌سازی محلول مورد نیاز برای آنالیز جیوه، مقدار وزن شده‌ی از نمونه بدون روغن و همگن شده توسط چرخ گوشت، طی انحلال در اسید سولفوریک و اسید نیتریک همراه با پتاسیم پرمنگنات و پتاسیم پرسولفات (جهت ایجاد شرایط اکسیداسیون)، در دمای اتاق به مدت یک شب نگه‌داری شد. جیوه در نمونه هضم شده توسط کلرید قلع به جیوه عنصری احیا و توسط دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی (AAS) با تکنیک بخار سرد اندازه‌گیری شد. برای آماده‌سازی محلول مورد نیاز جهت آنالیز کادمیم و سرب، پس از باز کردن درب کنسروها و روغن‌گیری آن‌ها، عملیات همگن کردن توسط چرخ گوشت انجام گردید. در مرحله بعد، از نمونه‌های همگن شده، ۱۰ گرم به وسیله ترازوی دیجیتالی توزین و جهت خشک کردن روی هات پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای 120°C قرار داده شد. نمونه‌های خشک شده توسط هاون به صورت پودر درآمده و از نمونه پودر شده 0.6 گرم به

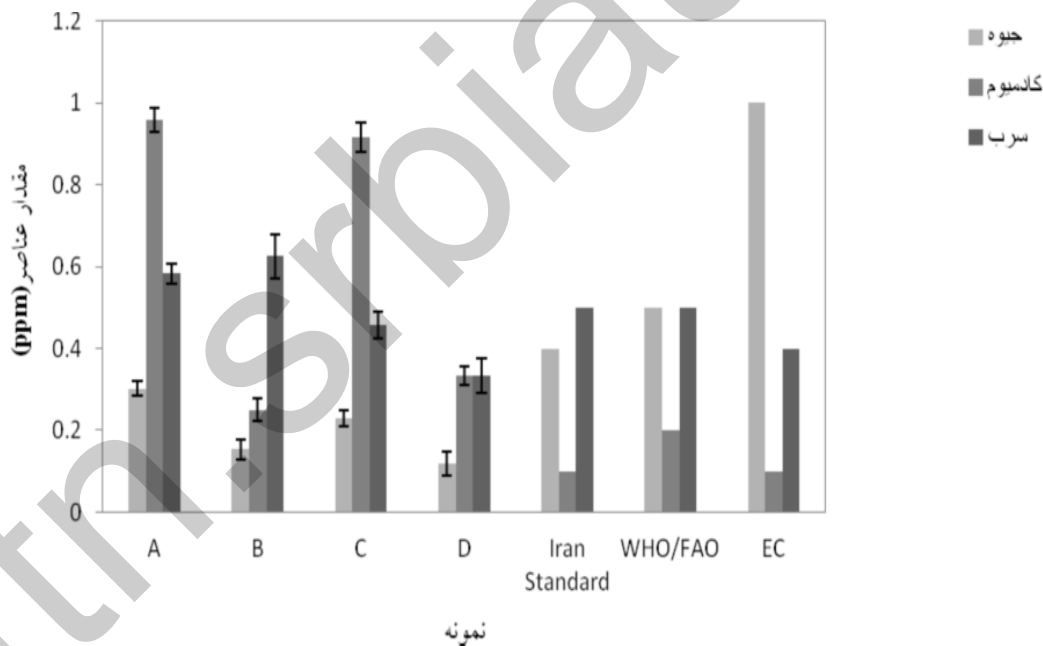
¹ Cold Vapor



شکل ۱- نمایش جغرافیایی محل صید ماهیان تون مورد نمونه‌برداری از چهار صیدگاه تأمین مواد اولیه کنسرو تون

جدول ۱- مقادیر میانگین و انحراف معیار برای فلزات جیوه، کادمیوم و سرب در کل نمونه‌ها بر حسب ppm

	کد A	کد B	کد C	کد D	میانگین	STDEV
جیوه	۰/۳۰۲	۰/۱۵۳	۰/۲۳۰	۰/۱۱۸	۰/۲۰۰	۰/۰۸۲
کادمیوم	۰/۹۵۸	۰/۲۵۰	۰/۹۱۷	۰/۳۳۳	۰/۶۱۴	۰/۳۷۵
سرب	۰/۵۸۳	۰/۶۲۵	۰/۴۵۸	۰/۳۳۳	۰/۵۰۰	۰/۱۳۲



نمودار ۱- نمودار فلزات سنگین (کادمیوم، سرب و جیوه) برای ۴ محل صید در مقایسه با مقادیر مجاز

آن و نیز بیشترین آلودگی به جیوه و کادمیوم، آلوده‌ترین نمونه‌های مورد ارزیابی تعیین می‌شوند. منشا اصلی و عمده‌ی این آلودگی را می‌توان در تردد نفت‌کش‌ها و ناوهای جنگی متعدد از دریای عمان برای ورود به خلیج

آلودگی به فلزات جیوه و سرب و صیدهای سواحل هند دارای کمترین آلودگی به فلز کادمیوم می‌باشند. بعبارت کلی‌تر با آنکه میزان سرب در صیدهای منطقه‌ی چابهار بیشترین مقدار در ۴ منطقه نیست لیکن به دلیل مقام دوم

محتویات بالای فلزات سنگین ممکن است به علت آلودگی مواد خام و محیط آنها ناشی شود. همچنین شاید به وسیله آلودگی ثانویه ایجاد شده به واسطه حمل و نقل نامناسب مواد خام، ظروف و مراحل فرآوری در زمین و یا دریا بوجود آمده باشد. شاید میزان این فلزات از طریق دقت بیشتر در روشهای حمل و نقل و فرآوری مواد خام کاهش یابد. همچنین یک آنالیز عناصر ضروری و فلزات سنگین قبل از فرآوری بطور تعیین کننده‌ای می‌تواند وضعیت موجود را بهبود بخشد (Celik & Oehlschlager, 2007).

در مجموع می‌توان گفت که صیدهای منطقه‌ی چابهار از صیدگاه دریای عمان دارای بیشترین و صیدهای سواحل غنا دارای کمترین مقادیر آلودگی به فلزات سنگین هستند. بنابراین منطقه دریای عمان از لحاظ آلودگی به فلزات سنگین یک منطقه آلوده محسوب شده و صید ماهی و تهیه کنسرو ماهی تون از این منطقه توصیه نمی‌شود.

نتیجه گیری

صیدهای منطقه‌ی چابهار از صیدگاه دریای عمان دارای بیشترین مقادیر آلودگی به فلزات جیوه و کادمیم و صیدهای سواحل هند دارای بیشترین آلودگی به فلز سرب و شناسایی شدند. بعبارت کلی با آنکه میزان سرب در صیدهای منطقه‌ی چابهار بیشترین مقدار در ۴ منطقه نیست لیکن بدلیل مقام دوم آن و نیز بیشترین آلودگی به جیوه و کادمیم، آلوده‌ترین نمونه‌های مورد ارزیابی تعیین شدند. همچنین در شناسایی صیدگاه‌هایی با کمترین میزان آلودگی، می‌توان گفت که صیدهای منطقه‌ی سواحل غنا دارای کمترین مقادیر آلودگی به فلزات جیوه و سرب و صیدهای سواحل هند دارای کمترین آلودگی به فلز کادمیم می‌باشند. بعبارت کلی، سواحل غنا با داشتن کمترین مقدار از جیوه و سرب و مقام دوم در کمترین مقدار کادمیم، پاک‌ترین و کم‌فلزترین نمونه‌های مورد ارزیابی در این تحقیق تعیین شدند.

منابع

بی نام. (۱۳۷۳). ویژگیها و روش‌های آزمون کنسرو ماهی تون در روغن، سازمان استاندارد و تحقیقاتی صنعتی ایران (ISIRI)، استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۷۰.

فارس و نشت‌های مواد نفتی در این جابجایی‌ها دانست. نمونه‌های کد D (سواحل غنا) نیز با داشتن کمترین مقدار از جیوه و سرب و مقام دوم در کمترین مقدار کادمیم، پاک‌ترین و کم‌فلزترین نمونه‌های مورد ارزیابی در این تحقیق تعیین می‌شوند. دلیل آن را می‌توان در عدم وقوع جنگ‌ها و نیز عدم وجود منابع نفت و گاز در سواحل شرقی اقیانوس اطلس جنوبی و جنوب غرب آفریقا (سواحل غنا) توجیه کرد. شکل ۲ مقادیر بدست آمده برای سه فلز سنگین مورد بررسی در پژوهش حاضر (جیوه، کادمیم و سرب) را برای هر ۴ کد نمونه‌ها (با تفاوت در محل صید) در یک نمودار و در مقایسه با سه استاندارد مبنا [ایران (ISIRI)، جهانی (WHO/FAO) و اروپا (EC)] نشان می‌دهد (بی نام، ۱۳۷۳؛ EC, 2005; WHO/FAO, 1996).

با توجه به نمودار ۱ مشاهده می‌شود که مقدار کادمیم در همه نمونه‌ها بیشتر از مقادیر سایر فلزات سنگین می‌باشد. فلز جیوه نیز کمترین مقادیر را به خود اختصاص داده است. کد D (سواحل غنا) دارای کمترین مقادیر فلزات و کد A (دریای عمان) دارای بیشترین مقادیر فلزات سنگین در کل نمونه‌ها است.

بررسی‌های آماری در مورد مقادیر جیوه نشان داد که کد A و C با سایر کدها دارای $p < 0.05$ بوده و نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین مقدار جیوه در این دو کد محل در مقایسه با دیگر کدهاست. اما در مورد کدهای B و D مشاهده می‌شود که $p > 0.05$ بوده و نیز در فاصله اطمینان شامل صفر می‌باشد بنابراین میانگین کد B با کد D دارای تفاوت معنی‌داری نیست. بررسی‌های آماری مقادیر کادمیم نشان داد که کد A با کد C دارای $p > 0.05$ و نیز در فاصله اطمینان شامل صفر می‌باشد بنابراین میانگین کد A با کد C دارای تفاوت معنی‌داری نیست. اما میان میانگین کد A با میانگین سایر کدها (B و D) تفاوت معنی‌داری وجود دارد، به بیان دیگر بین میانگین مقدار کادمیم دو کد از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.05$). همچنین در مورد مقدار سرب مشخص شد که کد A با کد B دارای $p > 0.05$ ، بنابراین میانگین کد A با کد B دارای تفاوت معنی‌داری نیست. اما میان میانگین کد A با میانگین کدهای C و D تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.05$). این عقیده وجود دارد که

AOAC. Method 986.15. (1986). Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method, Codex-Adopted-AOAC Method, Revised: 1996, CAS-7440-43-9 (cadmium), CAS-7439-92-1 (lead).

AOAC. Method 999.11. (1999). Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in Foods, NMKL-AOAC Method, J. AOAC Int. 83, 1204(2000).

Celik, U. & Oehlenschlager, J. (2007). High contents of cadmium, lead, zinc and copper in popular fishery products sold in Turkish supermarkets, Food Control 18, 258-261.

EC. (2005). Commission Regulation as Regards Heavy Metals, Commission Regulation (EC) No. 78/2005, amending Regulation (EC) No 466/2001 as regards heavy metals.

Ganjavi, M., Ezzatpanah, H., Givianrad, M. H. & Shams, A. (2010). Effect of canned tuna fish processing steps on lead and cadmium contents of Iranian tuna fish, Food Chemistry, 118, 525-528.

Mol, S. (2011). Levels of selected trace metals in canned tuna fish produced in Turkey, Journal of Food Composition and Analysis, 24, 66-69.

WHO/ FAO. (1972). Evaluation of certain food additives and contaminants mercury, cadmium and lead, WHO (World Health Organization) & FAO (Food and Agriculture Organization) technical report serreis, No. 505, Geneva.

امامی خوانساری، ف.، قاضی خوانساری، م. و عبدالهی، م. (۱۳۸۱). بررسی میزان فلزات سنگین در کنسرو ماهی تون، سال اول، شماره سوم، ۸-۱.

طاهری شاه‌یوردی، م. (۱۳۸۹). سنجش فلزات سنگین (مس، نیکل، کادمیم، روی، سرب، کروم و قلع) و هیستامین در کنسرو تون ماهیان، پایان نامه کارشناسی ارشد، مهندسی منابع طبیعی - شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات.

گنجوی، م. (۱۳۸۷). ارزیابی اثرات فرآیند بر میزان سرب و کادمیم ماهی تون تولید شده از ماهیان صید شده داخلی، پایان نامه کارشناسی ارشد، مهندسی کشاورزی - علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات.

لشکری مقدم، ن. (۱۳۸۸). بررسی و اندازه‌گیری فلزات سنگین و سمی کادیوم، نیکل، کبالت و روی در روغن و گوشت ماهی تون کنسرو شده، پایان نامه کارشناسی ارشد، علوم و فنون دریایی، شیمی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال.

نقوی، ز. (۱۳۸۵). بررسی میزان فلزات سرب، مس، قلع و کادمیم در کنسروهای ماهی تولید شده در ایران، پایان نامه دکتری، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد.

ولایت‌زاده، م.، عسکری ساری، ا.، بهشتی، م.، حسینی، م. و محجوب، ث. (۱۳۸۹). بررسی و مقایسه تجمع فلزات سنگین در کنسرو ماهی تون شهرهای شوشتر، اصفهان و همدان، مجله علمی پژوهشی بیولوژی دریا - دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال دوم، شماره اول، ۷۴-۷۱.

AOAC. Method 245.6. (1991). Determination of mercury in tissues by cold vapor Atomic Absorption Spectrometry, Inorganic Chemistry Branch, Revision 2.3, 906R91102.