



تعیین یونهای فلزی سرب، روی، جیوه، کادمیوم و باریم در موی سر انسان با تکنیک اسپکتروسکوپی جذب اتمی (مطالعه موردی: شهرستان چالوس)

محمدباقر پاشازانوسی

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد چالوس، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، چالوس، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۲/۱۲/۲۱، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۳/۱/۲۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۳/۲/۱۲

چکیده

روش مناسب جهت اندازه گیری عناصر نادر در نمونه های موی انسان با تکنیک اسپکترومتری بر پایه هضم توسط مخلوط اسید نیتربیک و آب اکسیژنه استوار می باشد. فاکتورهای دما، زمان هضم و نسبت ترکیب مخلوط اسید تاثیر مهمی در روش اندازه گیری دارند. در این تحقیق نمونه های مو از افراد ساکن با سن و جنسیت متفاوت از روستاهای نزدیک معادن سرب و باریم جمع آوری و پس از عملیات هضم، توسط تکنیک اسپکتروسکوپی جذب اتمی، یونهای فلزی سرب، روی، جیوه، کادمیوم و باریم مورد اندازه گیری قرار گرفتند. با توجه به نوع عناصر مورد مطالعه، از آتمسازهای شعله (Flame)، کوره گرافیتی (G.F.A)، تولید بخار هیدریدی (V.G.A) و پلاسما جفت شده القایی (I.C.P) به منظور تولید بخار اتمی استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان یونهای فلزی سرب، جیوه، کادمیوم و باریم در نمونه های آقایان بیشتر از خانم ها و عنصر روی در خانم ها بیشتر از آقایان بوده و با توجه به حد مجاز بالینی تمام عناصر در محدوده نرمال بالینی قرار دارند.

واژه های کلیدی: یونهای فلزی، اسپکتروسکوپی جذب اتمی، موی سر، آلودگی های زیست محیطی.

۱. مقدمه

مطالعه عناصر نادر در نمونه های بیولوژیکی از سالها پیش شروع و هدف آن شناسایی و اندازه گیری این عناصر و بر طرف نمودن آلودگی های مربوطه به آنها جهت تامین سلامتی انسان و پالایش محیط زیست می باشد [۱]. امروزه اطلاعات تجزیه ای جهت تعیین میزان کل عناصر در نمونه را می توان با تکنیک های گوناگون از جمله اسپکتروسکوپی جذب اتمی به دست آورد، که این امر مورد نیاز بسیاری از برنامه های کنترل و نظارت محیط زیست است [۶-۲]. همچنین میزان کل عناصر نادر جهت کمک به تشخیص بیماری های مختلف و محققین علوم زیستی در خصوص نقش عناصر نادر در سلامت و بیماری بسیار مهم به نظر می رسد [۷]. در این میان توجه به نوع آنالیز نمونه موی انسان به دلایل: سهولت در جمع آوری نمونه، خطر کمتر آن نسبت به سایر نمونه های بیولوژیکی، غلظت زیاد عناصر سمی در مو به نسبت سایر بافت ها، بی اثر بودن و همگن بودن شیمیایی مو بر خلاف نمونه های خون حائز اهمیت می باشد [۸]. برای اندازه گیری عناصر نادر لازم است در ابتدا نمونه های مو به

*عهده دار مکاتبات: محمدباقر پاشازانوسی

نشانی: چالوس - دانشگاه آزاد اسلامی - دانشکده علوم - گروه شیمی

تلفن: ۰۱۹۱۲۲۰۵۲۵ پست الکترونیک: mpashazanousi@yahoo.com E-mail:

طور کامل هضم شوند. برای این منظور روش های گوناگونی از جمله روش خاکستر کردن خشک و تر برای اندازه گیری عناصر روی، منگنز و مس وجود دارد [۹-۱۰]. همچنین روش های دیگری مانند هضم توسط اسید نیتریک و اسید پرکلریک و اسید کلریدریک نیز به کار می رود [۱۰]. افزایش میزان عناصر نادر در بدن انسان به طور حتم با خطرات جدی همراه خواهد بود. به طوریکه افزایش میزان کادمیوم در بدن با بیماری برونشیت و کم خونی و سنگ کلیه همراه است [۳]. در تحقیق دیگر نشان داده شد که عنصر کادمیوم قادر است به طرز جبران ناپذیری صدمات کلیوی به بزرگسالان وارد نماید. بر اساس مطالعات سازمان بهداشت جهانی (W.H.O) مقدار ۱۰ میکروگرم در لیتر کادمیوم در خون به عنوان عدد آزمایشی انتخاب شده که در این غلظت اثرات نامطلوبی برای انسان دیده نشد [۶]. در پژوهش دیگر در کشور مصر عناصر کادمیوم، جیوه و سرب در خون، ادرار، مو و ناخن افراد مورد اندازه گیری قرار گرفت، در این مطالعه عملیات هضم نمونه ها توسط پرمنگنات پتاسیم با حرارت دادن انجام شد، که نتایج نشان داد که مقدار این عناصر بیش از حد مجاز بوده است [۱۱]. در سال ۲۰۰۰ تحقیق دیگری در زمینه اندازه گیری آهن، کبالت، نیکل، روی، مس، کادمیوم و سرب در موی انسان انجام شد. در این مطالعه عمل هضم توسط مخلوط اسید نیتریک و آب اکسیژنه صورت گرفته و توسط اسپکتروسکوپی ICP.A.A آنالیز کمی انجام شد، نتایج نشان داد که با افزایش سن، مقدار این عناصر در افراد افزایش یافته است [۱۲]. در همین زمینه در پژوهش های مشابه یون های فلزی روی، مس، منیزیم و منگنز در موی سر انسان های سالم و بیمار توسط طیف سنج جذب اتمی مورد ارزیابی قرار گرفت، نتایج نشان داد که میزان روی، مس و منیزیم در نمونه های مو افراد بیمار کمتر از افراد سالم اما میزان منگنز موی افراد بیمار بیشتر از افراد سالم به دست آمد [۱۳]. همچنین مقایسه بین المللی نتایج تحقیقات مختلف در دنیا نشان می دهد که مقادیر کادمیوم در مو، سرب در خون، ادرار، مو و ناخن، جیوه در مو و خون متناسب با متغیرهای زیست محیطی و برخی از فاکتورها مانند جنسیت، استعمال دخانیات و محل سکونت می باشد.

لذا با توجه به اهمیت موضوع، هدف از این پژوهش، اندازه گیری یون های فلزی Pb ، Zn ، Hg ، Cd و Ba در موی سر افراد ساکن در نزدیکی معادن سرب، روی و باریم بوده که به کمک اتم سازهای مختلف انجام می شود. به طوری که عناصر سرب و روی با تکنیک جذب اتمی شعله F.A.A، کادمیوم با تکنیک جذب اتمی کوره گرافیتی Graphite Tube Atomizer (G.T.A)، عنصر جیوه با تکنیک Vapour Generation Accessory (V.G.A) و عنصر باریم با تکنیک پلاسمای جفت شده القایی Inductive Coupled Plasma (I.C.P) اندازه گیری می شود.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. نمونه برداری

جهت انجام این تحقیق موی سر افراد به تفکیک خانم و آقا با توجه به سن و مدت سکونت، از منطقه غرب مازندران (شهرستان چالوس) جدا گردید. موهای جدا شده به طور مجزا داخل کیسه های پلاستیکی تمیز جمع آوری و سپس با آب مقطر به طور کامل شسته و داخل یک سینی قرار داده تا در شرایط سایه خشک شد. سپس نمونه ها به منظور آماده سازی و آنالیز به آزمایشگاه منتقل گردید. جدول ۱ شرایط نمونه های برداشته شده را نشان می دهد.

۲-۲. دستگاه ها

برای اندازه گیری عناصر سرب، روی، جیوه و کادمیوم از اسپکتروسکوپی جذب اتمی ساخت کمپانی Varian مدل Spectra A.A 200 مجهز به اتمایزهای شعله، کوره گرافیتی و V.G.A استفاده شد و برای آنالیز باریم از طیف سنج پلاسمای جفت شده القایی استفاده شد. دستگاه های دیگر استفاده شده شامل: ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم از شرکت Sartorius و پمپ خلاء.

۲-۳. مواد و وسایل

مواد شیمیایی استفاده شده شامل: استون، اسید نیتریک، آب اکسیژنه، نیترات سرب، نیترات باریم، نیترات جیوه، نیترات کادمیوم، نیترات روی، بوده که تمامی آنها از شرکت مرک آلمان با مرتبه تجزیه ای (Analytical grade) بوده است. همچنین در این آزمایش از کاغذ واتمن شماره یک، فیلتر غشایی همرا با ست فیلتراسیون میلوپار و انواع شیشه آلات، نظیر بالن، پیپت، ارلن، بشر، هیتر و ... استفاده گردید.

۲-۴. تهیه محلول های استاندارد

به منظور رسم منحنی های استاندارد برای هر یک از عناصر مورد اندازه گیری، بر اساس کتابخانه و راهنمای دستگاه، محلول های استاندارد از نمک های نیترا تهیه و به دستگاه تزریق گردیدند. جدول ۲ غلظت های مورد نظر جهت رسم منحنی کالیبراسیون را نشان می دهد.

جدول ۱. مشخصات و شرایط نمونه های برداشته شده از افراد داوطلب.

نمونه	جنسیت	سن	مدت حضور	موقعیت مکانی
۱	آقا	۴۰	۲ ماه	کارخانه تغلیظ سرب
۲	آقا	۳۰	۳ ماه	کارخانه تغلیظ سرب
۳	آقا	۳۸	۱۲ ماه	کارخانه تغلیظ سرب
۴	آقا	۵۰	۳۳ سال	کارخانه تغلیظ سرب
۵	آقا	۳۰	۳۰ سال	روستای نزدیک معدن سرب
۶	خانم	۳۶	۳۶ سال	روستای نزدیک معدن سرب
۷	خانم	۳۵	۳۵ سال	روستای نزدیک معدن سرب
۸	خانم	۳۰	۳۰ سال	روستای نزدیک معدن باریت
۹	خانم	۴۰	۴۰ سال	روستای نزدیک معدن باریت
۱۰	آقا	۴۵	۴۵ سال	روستای نزدیک معدن باریت
۱۱	آقا	۴۵	۴۵ سال	روستای نزدیک معدن باریت
۱۲	آقا	۳۸	۱۵ سال	کارخانه باریت الیت
۱۳	خانم	۳۷	۳۷ سال	روستای نزدیک معدن
۱۴	خانم	۳۵	۳۵ سال	روستای نزدیک معدن
۱۵	خانم	۴۲	۴۲ سال	روستای نزدیک معدن
۱۶	خانم	۴۵	۴۵ سال	چالوس
۱۷	خانم	۳۰	۳۰ سال	چالوس
۱۸	خانم	۳۰	۳۰ سال	چالوس
۱۹	آقا	۳۳	۳۳ سال	چالوس
۲۰	آقا	۳۶	۳۶ سال	چالوس
۲۱	خانم	۴۰	۴۰ سال	چالوس

جدول ۲. مشخصات کالیبراسیون دستگاه.

نوع عنصر	غلظت استاندارد های تهیه شده
Cd(ppb)	۰/۵ و ۱/۵
Ba(ppb)	۱۰۰ و ۲۰۰ و ۳۰۰
Hg(ppb)	۱۰ و ۲۰ و ۴۰ و ۶۰
Zn(ppm)	۰/۲۵ و ۰/۵ و ۱ و ۱/۵
Pb(ppm)	۵ و ۱۰ و ۱۵ و ۲۰

۲-۵. شرایط هضم و آماده سازی نمونه ها

به منظور اندازه گیری، ابتدا لازم است تا آماده سازی و هضم نمونه ها در شرایط مناسب صورت گیرد. برای این منظور پارامترهای ضروری نظیر اثر دما، اثر زمان هضم نمونه و اثر نسبت اسید- آب اکسیژنه بهینه سازی شدند. نتایج آزمایشات و مشاهدات نشان داد که، نسبت ۲ به ۱، اسیدنیتریک و آب اکسیژنه در زمان ۴۵ دقیقه و دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد بهترین شرایط برای هضم نمونه ها بوده است. پس از هضم کامل، نمونه ها به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و دوباره توسط فیلتر غشایی ۰/۴۵ میکرومتر تفلونی با کمک پمپ خلاء صاف شدند. در ادامه محلول صاف شده به داخل بالن ۱۰۰ میلی لیتری منتقل و با آب دیونیز به حجم رسانده شد. در نهایت محلول نمونه های آماده شده جهت اندازه گیری یون های فلزی به دستگاه طیف سنج جذب اتمی تزریق گردیدند. نتایج به دست آمده در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳. نتایج حاصل از اندازه گیری یون های فلزی در نمونه های مو با تکنیک اسپکتروسکوپی جذب اتمی.

عنصر	Zn		Pb		Cd		Hg		Ba	
	(ppm)	RSD(%)	(ppm)	RSD(%)	(ppb)	RSD(%)	(ppb)	RSD(%)	(ppb)	RSD(%)
نمونه ۱	۰/۵۱	۵/۸	۰/۹۸	۶/۵	۰/۵۱	۰/۹	۱/۷۵	۰/۹	۲۰/۸۸	۱/۲۶
۲	۰/۴۴	۱/۱	۰/۹۹	۱/۹	۰/۵۷	۰/۹	۱/۰۶	۰/۸	۱۵/۱۵	۲۲/۸۱
۳	۰/۲۷	۱/۰	۰/۲۴	۰/۹	۰/۴۹	۱/۱	۰/۸	۱/۱	۲۸/۰۱	۰/۲۸
۴	۰/۲۱	۱/۰	۰/۲۴	۵/۴	۱/۵۲	۰/۳	۱/۸۴	۰/۳	۳۳/۸۹	۰/۷۳
۵	۰/۳۰	۱/۲	۰/۳۰	۱۲/۴	۱/۰۹	۰/۳	۲/۰۹	۰/۸	۴۶/۳۵	۴/۳۷
۶	۰/۲۷	۱/۸	۰/۲۱	۱۲/۹	۱/۳۴	۰/۳	۱/۵۳	۰/۷	۳۰/۴۱	۰/۸۴
۷	۰/۲۶	۰/۱	۰/۲۳	۰/۱	۰/۷۲	۰/۸	۱/۳۵	۰/۳	۴۱/۷۴	۱/۴۴
۸	۰/۵۱	۰/۷	۰/۲۷	۸/۱۳	۰/۸۹	۰/۶	۲/۴۴	۰/۵	۴۳/۱۲	۰/۹۴
۹	۰/۲۲	۰/۰	۰/۲۸	۶/۹	۰/۸۴	۰/۶	۱/۴۳	۰/۶	۸۰/۶۵	۲/۰۰
۱۰	۰/۲۲	۱/۳	۰/۲۸	۲۶/۰	۲/۹۷	۰/۳	۱/۴۰	۰/۷	۴۶/۹۵	۰/۹۹
۱۱	۰/۳۴	۰/۱	۰/۲۳	۲/۸	۰/۶۲	۰/۸	۱/۱۶	۰/۳	۴۴/۶۸	۰/۳۷
۱۲	۰/۳۷	۰/۲	۰/۳۲	۸/۷	۰/۶۵	۰/۸	۰/۸۱	۰/۲	۶۴/۵۲	۰/۵۹
۱۳	۰/۴۴	۱/۰	۰/۲۷	۱۹/۲	۱/۲۲	۰/۴	۰/۴۸	۰/۴	۱۳/۱۵	۱/۶۲

ادامه جدول ۳. نتایج حاصل از اندازه گیری یون های فلزی در نمونه های مو با تکنیک اسپکتروسکوپی جذب اتمی.

عنصر	Zn		Pb		Cd		Hg		Ba	
	(ppm)	RSD(%)	(ppm)	RSD(%)	(ppb)	RSD(%)	(ppb)	RSD(%)	(ppb)	RSD(%)
نمونه ۱۴	۰/۲۹	۰/۰	۰/۳۰	۱۹/۳	۰/۶۱	۰/۸	۰/۵۶	۱/۶	۸/۱۰	۰/۱۹
۱۵	۰/۴۰	۰/۱	۰/۲۶	۱۸/۸	۰/۶۱	۰/۹	۰/۳۵	۰/۹	۴۱/۶۳	۰/۸۱
۱۶	۰/۴۴	۰/۷	۰/۲۲	۳/۵	۰/۴۴	۱/۵	۱/۵۳	۰/۴	۱۱/۶۵	۰/۵۰
۱۷	۰/۲۹	۰/۷	۰/۳۲	۱۷/۶	۰/۵۳	۰/۹	۰/۰۷	۰/۹	۹/۸۸	۰/۸۰
۱۸	۰/۳۸	۰/۱	۰/۳۴	۱۷/۷	۰/۴۲	۰/۹	۰/۱۷	۰/۶	۱۱/۸۵	۰/۳۴
۱۹	۰/۲۷	۰/۸	۰/۳۱	۷/۷	۰/۲۹	۱/۳	۰/۷۷	۱/۲	۸/۷۶	۰/۲۹
۲۰	۰/۵۹	۰/۵	۰/۳۴	۱۴/۵	۰/۴۷	۱/۰	۰/۰۶	۱/۰	۱۰/۰۴	۰/۲۳
۲۱	۰/۵۴	۰/۰	۰/۲۳	۳/۷	۰/۵۴	۱/۳	۰/۰۸	۰/۸	۹/۴۹	۰/۱۹

۳. نتایج و بحث

روی: حد مجاز روی در موی سر افرادی که با این عنصر تماس شغلی ندارند و مدام در معرض آن نمی باشند به میزان ۰/۰۳۵-۰/۰۱۳ میلی گرم بر گرم بوده و تا ۰/۱ میلی گرم بر گرم هم عوارض جانبی به همراه نخواهد داشت. با توجه به نتایج به دست آمده در جدول ۳ میزان عنصر روی در تمام نمونه ها در محدوده ی بالینی بوده، به طوری که نمونه ۲۰ مربوط به آقا که ۳۶ سال در چالوس زندگی نموده، به مقدار ۰/۵۹ ppm گزارش شده و کمترین مقدار مربوط به نمونه شماره ۴ مربوط به آقای ۵۰ ساله و به مقدار ۰/۲۱ ppm می باشد. با توجه به میانگین نتایج می توان گفت که میانگین روی در خانم ها بیشتر از آقایان می باشد.

سرب: گزارشات و استانداردهای موجود، حد مجاز سرب در موی سر افرادی که با این عنصر تماس شغلی ندارند و مدام در معرض آن نمی باشند را میلی گرم بر گرم گزارش می نماید. به استناد آن اگر مقدار سرب در محدوده ۲۵ میلی گرم بر گرم باشد، عوارض جانبی ندارد. با توجه به نتایج به دست آمده در جدول ۳ میزان سرب در تمام نمونه ها در محدوده ی بالینی بوده، به طوری که نمونه ۲ مربوط به آقای ۳۰ ساله که به مدت سه ماه به عنوان نگهبان کارخانه تغلیظ سرب بوده، دارای بیشترین مقدار و به میزان ۰/۹۹ ppm گزارش شده که علت آن به خاطر تماس با هوای آلوده به سرب می باشد و کمترین مقدار مربوط به نمونه شماره ۱۶ مربوط به خانم ۳۶ ساله و به مقدار ۰/۲۲ ppm می باشد.

کادمیوم: حد مجاز کادمیوم در موی سر افرادی که با این عنصر تماس شغلی ندارند و مدام در معرض آن نمی باشند به میزان ۴-۰/۲۲ میکروگرم بر گرم گزارش نموده است و اگر مقدار کادمیوم در محدوده ۱۰-۵ میکروگرم بر گرم باشد، عوارض جانبی به همراه نخواهد داشت. ولی مقدار ۲۰ میکروگرم بر گرم از این عنصر با عوارض بالینی همراه خواهد بود. با توجه به نتایج به دست آمده در جدول ۳ میزان عنصر کادمیوم در تمام نمونه ها در محدوده ی بالینی بوده، به طوری که نمونه ۱۰ مربوط به آقا که ۴۵ سال در روستای الیت زندگی نموده، به مقدار ۲/۹۷ ppb گزارش شده و کمترین مقدار مربوط به نمونه شماره ۱۹ مربوط به آقای ۳۳ ساله و به مقدار ۰/۲۹ ppb می باشد. با توجه به میانگین نتایج می توان گفت که میانگین کادمیوم در آقایان بیشتر از خانم ها می باشد.

جیوه: گزارشات و استانداردهای موجود، حد مجاز جیوه در موی سر افرادی که با این عنصر تماس شغلی ندارند و مدام در معرض آن نمی باشند را ۲۰ میکروگرم بر گرم گزارش می نماید. به استناد آن اگر مقدار جیوه در محدوده ۵۰-۳۵ میکروگرم بر گرم باشد، عوارض جانبی ندارد. ولی مقدار ۲۰ میکروگرم بر گرم از این عنصر حتما با عوارض بالینی همراه خواهد بود. با توجه به نتایج به دست آمده در جدول ۳ میزان جیوه در تمام نمونه ها در محدوده ی بالینی بوده، به طوری که نمونه ۸ مربوط به خانم ۳۰ ساله که در روستای الیت زندگی نموده دارای بیشترین مقدار و به میزان ۲/۴۴ ppb گزارش شده و کمترین مقدار مربوط به نمونه شماره ۲۰ مربوط به خانم ۳۶ ساله و به مقدار ۰/۰۶ ppb اندازه گیری شد.

باریم: حد مجاز باریم در موی سر افرادی که با این عنصر تماس شغلی ندارند و مدام در معرض آن نمی باشند را کمتر از میلی گرم بر گرم گزارش نموده است. به استناد این گزارش مقدار میلی گرم هم هیچ عوارض جانبی به همراه نخواهد داشت. با توجه به نتایج به دست آمده در جدول ۳ میزان عنصر باریم در تمام نمونه ها در محدوده ی بالینی بوده، به طوری که نمونه ۹ مربوط به خانم که ۴۰ سال در روستای الیت زندگی نموده، به مقدار ۸۰/۶۵ ppb گزارش شده و کمترین مقدار مربوط به نمونه شماره ۱۴ مربوط به خانم ۳۵ ساله و به مقدار ۸/۱۰ ppb می باشد.

۴. نتیجه گیری

موی انسان بافت پیچیده ای بوده که شامل عناصر معدنی شامل: روی، آهن، مس، کروم، کلسیم، آلومینیم، منیزیم، منگنز، گوگرد، نیکل، کادمیوم، سرب و مواد آلی است. همچنین به دلیل این که مو دارای بافت نرم بوده، قادر به جذب بیش از حد مجاز عناصر بوده که باعث مشکلاتی برای انسان می گردد. لذا با توجه به موارد ذکر شده و نتایج حاصل از این پژوهش می توان نتیجه گیری کرد که غلظت تمامی عناصر محاسبه شده در حد مجاز بالینی بوده و مشکلی را از این حیث برای انسان ایجاد نمی کند. همچنین این نتایج حاکی از آن است که میانگین عناصر باریم، جیوه، کادمیوم، سرب در آقایان بیشتر از خانم ها و مقدار روی در خانم ها بیشتر از آقایان به دست آمد.

۵. مراجع

- [۱] ع. اسماعیلی ساری، آلاینده و بهداشت و استانداردهای محیط زیست، (۱۳۸۱).
- [۲] ف. شریعت فیض آبادی، اسانداردهای کیفی آب، (۱۳۸۱).
- [۳] ع. اسماعیلی ساری، مجله منابع طبیعی ایران، ۵۴ (۱۳۸۲) ۴۷.
- [۴] س. واردی، بررسی و تعیین عناصر سنگین در رودخانه چالوس. انتشارات موسسه تحقیقات و شیلات ایران، ۱۳ (۱۳۷۵) ۵.
- [5] E. Marin, *Metal and their compounds in the environment*. VCH. (2008).
- [6] A. Emili, *Air quality guide lines Europe*. Copenhage, WHO Regional office for Europe, (1987).
- [7] G. Bernimah, *Environmental research*, 20 (1979) 318.
- [8] W. Merts, *Trace elements in human and animal nutriation*, Academic press, Sandiago, California, (1987).
- [9] J.K. Friel, C.D. Ngyllen, *Clin. Chem.*, 32 (1986) 739.
- [10] M. Weal Mortada, M.E. Defrawy and E.F. Samie, *Environmental research*, 54 (2002)104.
- [11] K. Sreenivasa Rao, T. Prasada Rao and G.R.K. Naidu, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 57 (2002)1333.
- [12] W.X. Zhao and K.Y. Li, *Europe PubMed Central*. 22 (3) (2002) 493.