

## Kayseri Civarında Satılan Bazı Kuruyemişlerin Ağır Metal Miktarlarının Karşılaştırılması

Zeliha LEBLEBİCİ\*

Ahmet AKSOY

Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 38039, Kayseri, TÜRKİYE

\*Sorumlu Yazar

e-posta: zleblebici@erciyes.edu.tr

Geliş Tarihi: 28 Şubat 2008

Kabul Tarihi: 11 Nisan 2008

### Özet

Bu çalışmada Kayseri yöresinde paketlenmiş ve paketlenmemiş olarak satılan kuruyemiş örneklerinin (üzüm, fındık, leblebi, fıstık ve çekirdek), kadmiyum, kurşun, çinko, nikel ve demir (Cd, Pb, Zn, Ni ve Fe ) içerikleri Varian ICP-OES cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

Kayseri yöresinde satılan kuruyemişlerin iyi kalitede olduğu ancak tamamen ağır metalden yoksun olmadığı gözlenmiştir. İncelenen kuruyemiş örnekleri içerisinde en yüksek metal konsantrasyonunun açıkta satılan örneklerde gözlemlendiği, özelliklede trafiğin yoğun olduğu alanlarda olması dikkati çekmektedir.

Kuruyemiş örneklerindeki Cd konsantrasyonunun 0,09-0,45 µg/g, Zn konsantrasyonunun 2,91- 25,3 µg/g, Pb konsantrasyonunun 0,32-7,11 µg/g, Ni konsantrasyonunun 0,26-8,33 µg/g, Fe konsantrasyonunun 5,03-68,15 µg/g arasında olduğu gözlenmiştir.

Bu sonuçlara göre şehir merkezinde açıkta satılan bazı örnekler dışında kuruyemiş örneklerindeki ağır metal konsantrasyonunun kabul edilebilir sınırlar dâhilinde olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** ICP-OES, kuruyemiş, kirlilik, Kayseri.

## The Comparison of Heavy Metals in Some Dried Fruit Sold in The Vicinity of Kayseri Province

### Abstract

In this study, Varian ICP-OES is used to determine the cadmium (Cd), zinc (Zn), nickel (Ni), lead (Pb) and iron (Fe) concentrations in packed and unpacked dried fruit samples (grape, hazelnut, chickpeas, nut and pip) sold in the vicinity of Kayseri province.

It is observed that the dried fruit sold in Kayseri province are in high quality, but not totally free of heavy metals. It is noted that the highest heavy metal concentrations in the studied dried fruit samples are found in the samples sold unpacked, especially in the ones which are sold where the traffic is dense.

It has been observed that the heavy metal concentrations in dried fruit samples ranged between 0,09 and 0,45 µg/g for Cd, 2,91 and 25,3 µg/g for Zn, 0,32 and 7,11 µg/g for Pb, 0,26 and 8,33 µg/g for Ni and 5,03 and 68,15 µg/g for Fe.

Taking these results into consideration, it is concluded that, except for some samples sold unpacked in the city centre, the heavy metal concentrations of the studied samples are within the permissible limits.

**Key words:** ICP-OES, dried fruit, pollution, Kayseri.

### GİRİŞ

Günümüzde kimyasal kirlilik olarak kabul edilen ağır metal kirliliği, çeşitli kaynaklardan ortaya çıkabilmeleri, çevre koşullarına dayanıklı olmaları ve kolaylıkla besin zincirine girerek canlılarda artan yoğunluklarda birikebilmeleri nedeni ile diğer kimyasal kirleticiler arasında ilk sırada yer almaktadır [1]. Pb, Sb, Br, As, Cd ve Co gibi ağır metallerin çok düşük seviyelerde alınımında dahi insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğu bilinmektedir [2-6].

Kirlenmiş gıdaların tüketimi; Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önemli olarak düşünülen eser düzeydeki ağır metal kirliliğinden dolayı [7-10] hastalıklara ve ölümlere neden olur [11-14].

Kuruyemiş örneklerindeki ağır metal içerikleri dünyadaki değişik araştırmacılar tarafından çalışılmıştır [15-19]. Yapılan literatür çalışmasında ülkemizde bu yönde tek çalışma olarak Coskuner ve Karababa[15]'nin çalışmasına rastlanmıştır. Çalışmada kullanılan kuruyemişler Asya ve Orta Doğu'daki diğer ülkeler gibi Türkiye'de de yaygın bir şekilde tüketilmektedir. Bu

nedenle kuruyemişlerde ağır metal düzeylerinin belirlenmesi ile ilgili çalışmaların yapılması halkın bu konuda bilgilendirilmesi açısından kaçınılmazdır.

### MATERYAL VE YÖNTEM

Kuruyemiş örnekleri 2007 yazında Kayseri şehir pazarından, Şehir merkezin deki birkaç kuruyemişçiden ve paketlenmiş olarak da marketlerden alındı. Erciyes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü ekoloji laboratuvarına getirildi. Açıkta satılan kuruyemişlerin yarısı iki defa saflaştırılmış su ile yıkandı. Yıkamış olan kuruyemişler temiz petri kaplarına konularak etüvde 24 saat 80 °C de kurutuldu. Yıkamış-açık, yıkamamış-açık ve paketlenmiş olarak ayrılan örneklerimizin ağır metal dağılımını tek düzeleştirmek amacıyla porselen havanda ezilerek karıştırıldı. Örneklerden 0,5 g tartılarak üzerine 10 ml %65'lik HNO<sub>3</sub> ilave edildi. Çözme işlemleri CEM- Marsh 5 (CEM Corporation Mathews, NC, USA) marka mikro dalga fırında yapıldı (Çözme şartları; maximum güç:1200W, güç (%):100, ramp time. (min):20:00, basınç (psi):180, sıcaklık (°C): 210 ve hold

time (min): 10:00). Örnekler mikrodalgadan çıkarıldıktan sonra çözelti 50 ml'lik tüplere aktarıldı ve üzerleri iki defa saflaştırılmış su ile 30 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltiler ICP'de okuma işlemine kadar 4 °C'de buzdolabında bekletildi [20].

### Kullanılan Çözücüler ve Standartlar

Standartların ve örneklerin hazırlanması için % 65 w/w'lik (Merck reagent) Nitrik asit kullanıldı. Seyreltme ve örneklerin hazırlanması sırasında kullanılan suyun kesinlikle iki defa saflaştırılmış su olmasına özen gösterildi.

ICP-OES Endüktif eşleşmiş plazma spektroskopisi (Inductively Coupled Plasma) ile örneklerin analiz edilmesi

ICP emisyon spektroskopisinde, elde edilen yüksek sıcaklık nedeniyle, çok kararlı bileşikler bile, plazma sıcaklığında atomlarına ayrışır. Ayrıca alevin kullanıldığı absorpsiyon ve emisyon spektroskopisi yöntemlerinde, oksijenin yüksek kısmi basıncı nedeniyle, toprak alkali elementleri, nadir toprak elementleri ve bor, silisyum gibi bozunmayan oksit ve hidroksit radikaller oluşturan elementlerin analizinde duyarlılık düşüktür. Fakat argon gazı ile oluşturulan plazmada böyle bir sorun yoktur. ICP emisyon spektroskopisinin diğer bir üstünlüğü de, iyonlaşmayı büyük ölçüde engelliyor olmasıdır. ICP cihazının bir diğer üstünlüğü, aynı anda birden çok elementin analizinin yapılabilmesidir. ICP cihazı, örnek giriş sistemi (buharlaştırıcı), ICP torcu, yüksek frekans jeneratörü, transfer optikleri, spektrometre ve bilgisayar ara birimi olmak üzere 6 temel kısımdan oluşur.

Cihazın analize hazır hale getirilmesi, analiz işlemleri ve hesaplamalar

Ağır metal analiz işlemleri Erciyes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Ekoloji laboratuvarında bulunan Varian marka Liberty ICP-OES Sequential cihazında yapıldı. Cihazın analize hazır hale getirilmesi için önce 5 ppm'lik Mn çözeltisiyle Torch ayarlaması yapıldı. Daha sonra dalga boyu kalibrasyonuna geçildi. Yapacağımız analizlere uygun olarak cihazın durumu ayarlandı (Çizelge 1).

Çizelge 1. Sistem işletme parametreleri

Güç	1.2 kW
Plazma gaz akışı	Argon 12.0 L/dak.
Yardımcı gaz akışı	Argon 0.75 L/dak.
Torch tipi	Standart tek parça quartz torch
Buharlaştırıcının tipi	Glass concentric
Buharlaştırıcı basıncı	160 kPa
Pompanın hızı	15 rpm
Örnek gecikme hızı	1.4 mL/dak.
Bütünleşme zamanı	3 saniye
PMT gerilimi	650 V
Tekrar okuma	3 kez
Zemin düzeltilmesi	Otomatik

Çalışılacak her element için farklı konsantrasyonlardaki standart çözeltiler, yüksek saflıkta 10.000 ppm'lik stok standartlarından hazırlandı ve kalibrasyon yapıldı. Her bir element için kalibrasyon eğrileri çizdirildi. Her 50 örneğin analizinden sonra standartlar cihaza yeniden okutuldu. Her bir örnek 3'er kez okutuldu. Kalibrasyon aralığımızı aşan konsantrasyonlarda seyreltme yapıldıktan sonra tekrar okutma yapıldı. Ortalama ve standart sapma değerlerinin belirlenmesinde SPSS 11.5 paket programı kullanıldı.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Kayseri yöresinden alınan kuruyemiş örneklerindeki Cd, Zn, Pb, Ni ve Fe konsantrasyonları Şekil 1'de verilmiştir. Cd ve Fe açısından en yüksek konsantrasyonlara kayısı örneğinde rastlanmıştır. Pb en yüksek konsantrasyonda fındıkta, Zn en yüksek konsantrasyonda antep fıstığında, Ni ise sarı leblebi de belirlenmiştir (Şekil 1). Kuruyemişlerde ağır metal düzeylerinin yüksekten düşüğe doğru Fe>Pb>Zn>Ni>Cd şeklinde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2).

Pb, yerkabuğunda ve biyosferin hemen her yerinde doğal olarak bulunan bir elementtir. Ağır metallere bir olan Pb çoğunlukla Ag, Cu, Zn ve Fe metalleriyle birleşmiş halde bulunur. Kurşun, hava, su ve topraktan bitki ve hayvanlara, gıda zincirinin bir gereği olarak da bunları tüketen insanlara geçmektedir. Havadaki kurşun, genellikle bitkilerin yenebilen kısımları ve yapraklarında toplanmakta veya çiçeklerin içinde hapsedilmektedir [21]. Kurşunla ilgili endüstriyel zehirlenmelerde solunum yolu önem arzeder [22]. Bu nedenle gıdalarla bulunmasına izin verilen kurşun miktarı 210 µg gün<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir [23]. Kurşun, zamanımızda en fazla akümülatör yapımında kullanılmaktadır. İkinci olarak ise benzine, motor vuruntusunu önlemek için farklı tetra alkil kurşun bileşiklerinin ilave edilmesidir. Açık olarak satılan kuruyemişlerde kapalı olarak satılanlara oranla daha yüksek konsantrasyonda Pb bulunduğu belirlenmiştir (p<0.05) (Çizelge 2). Açıkta satılan kuruyemişlerden yıkanmamış ve yıkanmış olanlar karşılaştırıldığında yıkanmamış olanların daha fazla Pb içerdiği belirlenmiştir (p<0,01) (Çizelge 3). Cabrera ve arkadaşları [16] tarafından yapılan çalışmada Pb değerleri 0.39-0.14µg/g arasında bulunmuştur. Çalışmamızda Pb değerleri daha yüksek bulunmuştur.

Çinko, yeryüzü kabuğunun % 0,004 ünü oluşturur. Gerek doğal ve gerekse bulaşmış ortamlarda olsun çinkonun daima kadmiyumla birlikte bulunması ilginç bir durum oluşturur. Çinko gerek insan ve gerekse hayvanlar için gerekli esansiyel elementlerdendir. Çinkonun vücutta çok çeşitli fonksiyonları vardır. Ancak yüksek konsantrasyonlarda toksik etkiye sahiptir [24]. Yiyeceklerle

alınacak günlük Zn miktarının 15-12 mg gün<sup>-1</sup>, olduğu belirtilmektedir [23, 25]. Açık olarak satılan kuruyemişlerde kapalı olarak satılanlara oranla daha yüksek konsantrasyonda Zn bulunduğu belirlenmiştir ( $p<0.01$ ) (Çizelge 2). Açıkta satılan kuruyemişlerden yıkanmamış ve yıkanmış olanlar karşılaştırıldığında yıkanmamış olanların daha fazla Zn içerdiği belirlenmiştir ( $p<0,01$ ) (Çizelge 3). Cabrera ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Zn değerleri 25.6-69.14µg/g arasında bulunmuştur[16]. Çalışmamızdaki Zn değerleri daha düşük bulunmuştur.

Nikele maruz kalan kişilerde, sağlıklı insanlara göre burun kanseri riski 150 kez, akciğer kanseri riski ise 5 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir. Nikel karbonille zehirlenmede, baş ağrısı, baş dönmesi, kusma, göğüste sıkışma, öksürük, soğuk ter, bilinç kaybı, görülen semptomlardır [18]. Açık olarak satılan kuruyemişlerde kapalı olarak satılanlara oranla daha yüksek konsantrasyonda Ni bulunduğu belirlenmiştir ( $p<0,01$ ) (Çizelge 2). Açıkta satılan kuruyemişlerden yıkanmamış ve yıkanmış olanlar arasındaki Ni miktarı karşılaştırıldığında ortalamalar arasındaki farkın önemli olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 3). Cabrera ve arkadaşları[16] tarafından İspanya'dan bazı çerez örneklerinde ki Nikel düzeyi badem için 0.31 µg/g, yer fıstığı için 0.25 µg/g ve antep fıstığı için 0.36 µg/g olarak verilmiştir. Çalışmamızdaki Ni değerleri daha yüksek bulunmuştur.

Cd, bilinen zehirli elementlerden biridir. Mesleki açıdan uzun süreli olarak kadmiyum kirliliğine maruz kalındığında akciğer ve böbrekler üzerine şiddetli etkilerinin olduğu bildirilmiştir [21]. WHO (1982 a)'a göre, gıdalarla bulunmasına izin verilen günlük Cd miktarı, 60 µggün<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir[21]. Açık olarak satılan kuruyemişlerde kapalı olarak satılanlara oranla daha yüksek konsantrasyonda Cd bulunduğu belirlenmiştir ( $p<0.01$ ) (Çizelge 2). Açıkta satılan kuruyemişlerden yıkanmamış ve yıkanmış olanlar arasındaki Cd miktarı karşılaştırıldığında ortalamalar arasındaki farkın önemli olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 3). Cabrera ve arkadaşları[16] tarafından yapılan çalışmada Cd değerleri 0.001-0.018µg/g arasında bulunmuştur. Çalışmamızdaki Cd değerleri ile uyum içerisinde. Bu elementler için istasyonlardan elde edilen değerlerin verilen sınırlar dahilinde olduğu görülmektedir.

Demir, canlıların vücudunda tüm yaşam süreci içerisinde temel bir gereksinim olarak, yaşa cinsiyete, beslenmeye ve sağlık durumuna göre değişik miktarlarda bulunmaktadır. Normal ağırlıkta (70 kg) bir insanın vücudunda toplam olarak 4-5 g (60-70 µg/g) kadar demir bulunmaktadır.

Demir canlı organizmalar için gerekli bir element olduğu gibi eksikliği veya fazlalığı vücutta çeşitli olumsuz etkilere neden olmaktadır. Gıda yolu ile fazla demir alınması sonucu meydana gelen bozukluklar metabolik ve

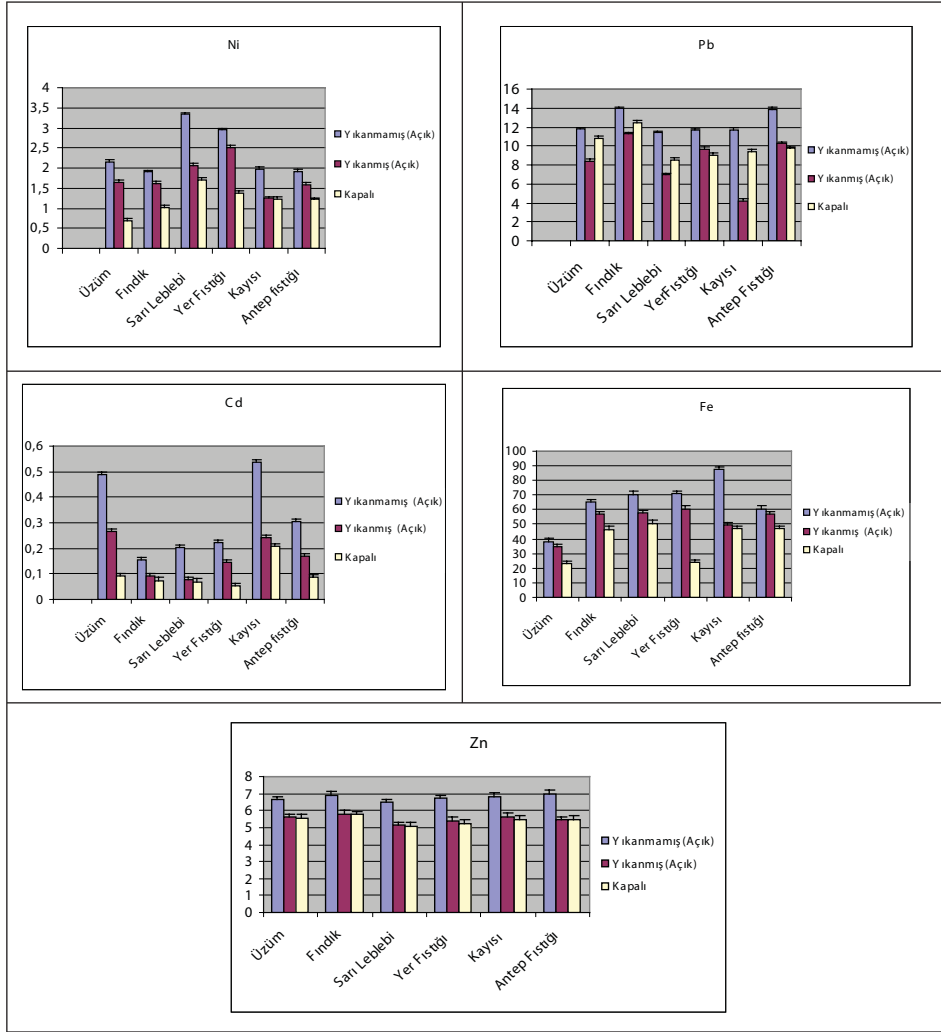
genetik faktörlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Açık olarak satılan kuruyemişlerde kapalı olarak satılanlara oranla daha yüksek konsantrasyonda Fe bulunduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 2). Açıkta satılan kuruyemişlerden Yıkanmamış ve Yıkanmış olanlar arasındaki Fe miktarı karşılaştırıldığında ortalamalar arasındaki farkın önemli olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 3).

İspanya'dan badem, fındık, yer fıstığı, antep fıstığı, kavrulmuş mısır, ceviz ve ayçiçeği çekirdeği örneklerinde ki demir içeriği sırasıyla 45.0 µg/g, 17.3 µg/g, 22.8 µg/g, 73.5 µg/g, 50.3 µg/g, 22.5 µg/g ve 40.9 µg/g olarak verilmiştir[16]. Çalışmamızdaki Fe değerleri bu çalışma ile uyum içerisinde.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan araştırma sonucunda açıkta satılan kuruyemişlerde ağır metal konsantrasyonlarının (Cd, Ni, Fe, Pb ve Zn) kapalı olanlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Açıkta satılan kuruyemişlerden yıkanmış ve yıkanmamış olanlar arasında Cd, Ni ve Fe konsantrasyonları açısından bir fark görülmezken, Pb ve Zn konsantrasyonlarının yıkanmamış örneklerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak Kayseri ve çevresinde satılmakta olan kuruyemiş örneklerinin ağır metalden tamamen yoksun olmadığı ancak bazı elementler için oranların kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle Özellikle yol kenarlarında bulunan kuruyemişçilerin sattıkları kuruyemişlerin, direk kirlenme tehdidi altında bulunduğundan açıkta satılmamasına, mümkün olduğu kadar kapalı ambalajlarda tutulmasına özen gösterilmelidir.



Şekil 1. Açık (Yıkanmış, Yıkanmamış) ve Kapalı olarak satılan kuruyemişlerde ağır metal düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri ( $\mu\text{g g}^{-1}$  kuru ağırlık)

Çizelge 2. Açık ve Kapalı olarak satılan kuruyemişlerde ağır metal düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri ( $\mu\text{g g}^{-1}$  kuru ağırlık)

	Cd	Pb	Ni	Zn	Fe
<b>Açık</b>	0,31±0,15	12,38±1,17	2,36±0,61	6,75±0,17	65,44±1,60
<b>Kapalı</b>	0,09±0,05	10,00±1,42	1,20±0,34	5,44±0,23	39,69±1,26
<b>T-Test</b>	**	*	**	**	*

- T test sonuçları, ortalamalar arasındaki farkın önemli olup olmadığını göstermektedir. (Anahtar:\*\* $p<0.01$  ve \*  $p<0.05$  düzeyinde önemli).

Çizelge 3. Açıkta satılan kuruyemişlerden Yıkanmış ve Yıkanmamış olanlarda ağır metal düzeylerinin ortalama ve standart sapma değerleri ( $\mu\text{g g}^{-1}$  kuru ağırlık)

	Cd	Pb	Ni	Zn	Fe
<b>Yıkanmamış</b>	0,31±0,15	12,38±1,17	2,36±0,61	6,75±0,17	65,44±1,60
<b>Yıkanmış</b>	0,16±0,07	8,47±2,5	1,77±0,44	5,50±0,22	52,61±0,96
<b>T-Test</b>	-	**	-	**	-

- T test sonuçları, ortalamalar arasındaki farkın önemli olup olmadığını göstermektedir. (Anahtar:\*\* $p<0.01$  ve \*  $p<0.05$  düzeyinde önemli).

**KAYNAKLAR**

- [1] Aksoy, A. ve M. Öztürk, 1996. *Phoenix dactylifera* L. as a Biomonitor of Heavy Metal Pollution in Turkey, *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, 14: 605-614.
- [2] Comar, D., 1969. Modern trends in activation analysis. NBS Spec. Pub. 312, 99.
- [3] Awadallah, R.M., Sherif, M.K., Amrallah, A.H. and Grass, F. 1986. Determination of trace elements of some Egyptian crops by instrumental neutron activation, inductively coupled plasma-atomic emission spectrometric and flameless atomic absorption spectrometric analysis. *J. Radioanal. Nuc. Chem.* 98: 235-246.
- [4] Tontisirin, K. and Clarke, R. 2001. Science as the basis for public health decisions in nutrition and food safety in Asia. *Biomed. Environ. Sci.* 14: 1-13
- [5] Bonvehi, J.S. and Coll, F.V. 1997. A chemical study of the mineral fraction of Tarragona hazelnuts (*Corylus avellana* L.). *Acta Alimentaria* 26: 243-253.
- [6] Sarkozi, A., Then, A. and Szentmihalyi, K. 2005. Mineral element content of greater celandine (*Chelidonium majus* L.). *Acta Alimentaria* 34: 113-120.
- [7] Codex Alimentarius Commission Contaminants, 1984. Joint FAO/WHO Food Standards Program, Codex Alimentarius, Vol XVII.
- [8] Sarkozi, A., Then, A. and Szentmihalyi, K., 2005. Mineral element content of greater celandine (*Chelidonium majus* L.). *Acta Alimentaria* 34: 113-120.
- [9] Naqvi, I.I., Saeed, Q. and Farrukh, M.A. 2004. Determination of trace metals (Co, Cu, Cd, Pb, Fe, Ni and Mn) in selected sweets of different shops of Karachi City by atomic absorption spectroscopy. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7: 1355-1359.
- [10] Ge, K.Y. and Chang, S.Y., 2001. Dietary intake of some essential micronutrients in China. *Biomed. Environ. Sci.*, 14: 318-324.
- [11] Tontisirin, K. and Clarke, R. 2001. Science as the basis for public health decisions in nutrition and food safety in Asia. *Biomed. Environ. Sci.*, 14: 1-13.
- [12] Azar, M., Ezzatzadeh, Z., Anbari, M.A. (2004) Mineral content of seeds traditionally consumed in Fars and Kerman provinces. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 35: 83-84.
- [13] Reeves, P.G., Vanderpool, R.A. (1997) Cadmium burden of men and women who report regular consumption of confectionery sunflower kernels containing a natural abundance of cadmium. *Environ. Health Perspectives* 105, 1098-1104.
- [14] Chen, J.S. 2001. The role of science in Codex standards. *Biomed. Environ. Sci.* 14, 145-148.
- [15] Coskuner, Y. ve Karababa, E., 2004. Leblebi: a roasted chickpea product as a traditional Turkish snack food. *Food Reviews International*, 20: 257-274.
- [16] Cabrera, C., Lloris, F., Gimenez, R., Olalla, M. and Lopez, M.C., 2003. Mineral content in legumes and nuts: contribution to the Spanish, dietary intake. *Science Total Environment*, 308: 1-14.
- [17] Reeves, P.G. and Vanderpool, R.A. 1997. Cadmium burden of men and women who report regular consumption of confectionery sunflower kernels containing a natural abundance of cadmium. *Environ. Health Perspectives*, 105: 1098-1104,
- [18] Bonvehi, J.S. and Coll, F.V., 1997. A chemical study of the mineral fraction of Tarragona hazelnuts (*Corylus avellana* L.). *Acta Alimentaria* 26: 243-253.
- [19] Kargosha, K. and Noroozifar, M. 2003. Flow injection speciation analysis of manganese in real samples by diphenylcarbazide-spectrophotometric determination. *Turk J. Chem.*, 27: 227-233.
- [20] Aksoy, A., 1996. Autecology of *Capsella bursa-pastoris* (L.), Medic. Ph. Thesis, University of Bradford, U.K.
- [21] Şerifoğlu, G.A., 1993. Ege bölgesi ballarının bazı ağır metal birikimlerinin saptanması, Doktora Tezi, E.Ü. Fen. Bil. Ens., İzmir.
- [22] Kramer, H. L., 1983. Trace element concentrations in the liver, kidney and muscle of queensland cattle. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 30: 588-594.
- [23] World Health Organization, WHO, 1982. Toxicological evaluation of certain food additives, joint FAO/WHO expert committee of food additives. WHO Food Additives, series number 17 (Geneva: World Health Organization).
- [24] Grace, N. D. and Lee, J., 1990. Effect of Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Sc and Zn Supplementation on The Elemental Content of Soft Tissues and Bone in Sheep Grazing Ryegrass/White Clover Pasture. *New Zeland J. Agr. Res.* 33: 635-647.
- [25] National Research Council, 2000. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenik, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc Washington..