

Metales pesados en trucha (*Micropterus salmoides floridanus*) de la presa Hanabanilla, Cuba

María Aurora Pis Ramírez, Marta Marilis Lezcano León, Paulina Serrano Piñeiro

Centro de Investigaciones Pesqueras (Cuba)
5ta Ave y 246; Barlovento, Santa Fé, Ciudad de la Habana (Cuba)
e-mail : mapis@cip.telemar.cu

Resumen

Se realizó por primera vez en Cuba, el estudio de los metales pesados en la trucha (*Micropterus salmoides floridanus*) cultivada en la presa Hanabanilla, una de las atracciones turísticas de la provincia de Villa Clara. Este pescado es cultivado con destino a la pesca deportiva de los turistas que la visitan, siendo consumidos directamente por ellos. El objetivo del presente trabajo fue el estudio de la concentración de metales pesados Pb, Cd, Hg Fe, Cu, Zn y Mn, tanto en las truchas como en el agua y sedimento de la presa, teniendo en cuenta que a la misma son emitidos residuales urbano-industriales y agrícolas sin tratar portadores de estos elementos. Los metales se determinaron por Espectrofotometría de Absorción Atómica, utilizando un Equipo Pye Unicam SP-9. Los resultados mostraron que en el pescado los niveles de plomo promedio ($0,82 \pm 0,07$ mg/kg) se encontraron por encima de los límites máximos establecidos en las normas nacionales (0,3 mg/kg) y que las concentraciones más bajas de todos los metales se observaron en los ejemplares de menor talla y peso. El agua de esta presa no presentó concentraciones de metales por encima de lo establecido en las normas nacionales, y en el sedimento los metales aumentaron su concentración en la época de lluvia lo que indicó su arrastre a la presa, presentándose los niveles más elevados en la estación 1 debido a la abundancia de materia orgánica presente. La secuencia de concentración hallada de los metales fue: 1) Truchas: Fe > Zn > Pb > Mn > Cu > Hg > Cd; 2) Agua: Pb > Fe > Zn = Mn = Cu > Cd; 3) Sedimento: Fe > Mn > Zn > Cu > Pb > Cd > Hg. Se recomendó que este pescado fuera consumido de forma limitada para evitar riesgos a la salud humana.

Palabras claves: trucha, metales pesados, contaminación, presas, cultivo de truchas

Abstract

Heavy metals in trout (*Micropterus salmoides floridanus*) from Hanabanilla dam, Cuba

It was made for first time in Cuba the study of heavy metals in trout (*Micropterus salmoides floridanus*) harvest in Hanabanilla dam, one of tourist attraction of Villa Clara province. This fish is designated for deport fishing of tourists that visit it and it is consumed directly for these. The objective of present work was the study of heavy metals levels Pb, Cd, Hg Fe, Cu, Zn y Mn, in fish, water and sediment considering that to the dam are emitted urban-industrial and agriculturist's residuals, rich in these elements. The heavy metals were determined by atomic absorption spectroscopy, using Pye Unicam SP-9 equipment. The results showed that in trout the medium of lead levels ($0,82 \pm 0,07$ mg/kg) was over the maximum limits established in national requirement (0,3 mg/kg), and the fish with the minor size and weight had lower metal concentrations. In water of this dam did not present heavy metal concentrations over the established limited in the national regulations and in sediments the metals concentration increased at the rain time which indicated to carry away into the dam, in addition station 1 presented the highest metal contents due to the abundance of organic matter present. The concentration sequence found of metals was: 1) Trout: Fe > Zn > Pb > Mn > Cu > Hg > Cd ; 2) Water: Pb > Fe > Zn = Mn = Cu > Cd and ; 3) Sediment: Fe > Mn > Zn > Cu > Pb > Cd > Hg. It was recommended that this fish be consumed of limited form to avoid risks to the human health

Key words: trout, heavy metals, contamination, dams, trout harvest

Introducción

La presa Hanabanilla constituye una de las atracciones turísticas de Villa Clara. En ella se desarrolla la pesca deportiva de la trucha (*Micropterus salmoides floridanus*), la cual en muchas ocasiones es consumida directamente por los turistas, siendo de gran interés que el pescado que aquí se desarrolla no ofrezca peligro a la salud del que lo consume, además de velarse por la preservación de la ecología de este lugar.

Hasta la fecha, para la trucha producida por acuicultura, se han identificado dos tipos de peligros químicos relacionados con la especie provenientes de la contaminación por algunos productos químicos (plaguicidas y metales pesados) y del uso de fármacos (US-FDA, 2001).

En el consumo de productos de la acuicultura, los aspectos de salud pública se enfocan fundamentalmente a evitar la presencia de peligros biológicos (parásitos, bacterias, virus) y químicos (metales pesados, plaguicidas y biotoxinas) (García y Calvario, 2003), los que pueden ser eliminados en parte mediante el estudio de las condiciones de cada lugar así como el establecimiento de buenas prácticas de producción y control.

Los metales pesados al llegar al medio acuático se fijan en los sedimentos los cuales actúan como integradores y concentradores de metales y luego dependiendo de la forma física y química de los mismos pueden movilizarse y ser transportados a través de las membranas biológicas de las diferentes especies marinas (García y cols., 2004), o pueden ser liberados a la columna de agua debido a cambios en las condiciones ambientales tales como el pH, potencial redox, oxígeno disuelto o la presencia de quelatos orgánicos (Rodríguez y cols., 2006).

El incremento de la preocupación por la inocuidad de los alimentos que puedan ser consumidos por el ser humano y teniéndose en cuenta que anteriormente no se había realizado ningún estudio en la presa Hanabanilla relacionado con estos aspectos, el objetivo del presente trabajo se centró en la determinación de los niveles de metales pesados de la trucha (*M. salmoides floridanus*) que se desarrolla en la mencionada presa; así como en el agua y el sedimento de la misma que pueden influir en la contaminación del pescado, con vistas a determinar si el consumo de este no ofrecía riesgo para la salud humana.

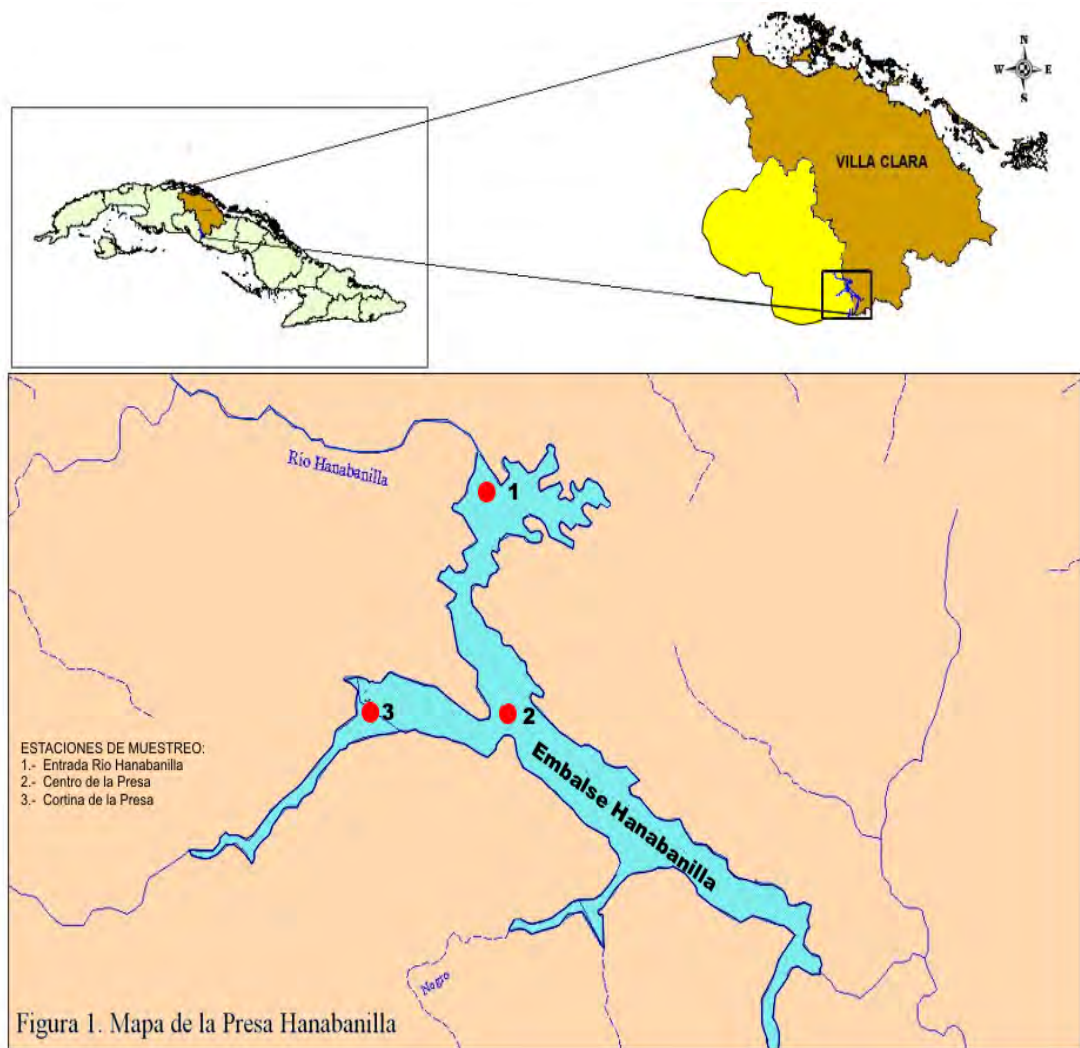
Material y Métodos

Área de estudio

La presa Hanabanilla (Figura 1), construida en el año 1960, situada en la provincia de Villa Clara; es el principal suministrador de agua de las provincias de Cienfuegos y Villa Clara. Presenta un área de cuenca de 191,6 km², con un largo de cortina de 0,420 km y un nivel de agua normal de 286 hm³. Es considerada una presa de tipo mixta, porque además de abasto de agua se dedica al riego y al cultivo de peces.

A esta presa llegan residuales urbano-industriales provenientes de poblados situados en los nichos de los ríos Negro, Jibacoa y Hanabanilla; de un hospital y una fábrica de botes plásticos que se encuentra en la cortina de la presa. La emisión de estos residuales a la presa supone la posibilidad de que los mismos sean portadores de metales pesados que puedan contaminar el ecosistema y por hecho a los peces que en la presa se desarrollan.

Figura 1. Mapa de la presa Hanabanilla y estaciones de muestreo



Toma de muestras

Se realizaron dos muestreos uno en época de lluvia (Junio) y otro en época de seca (Diciembre), tomándose en cada uno muestras de pescado así como de agua y sedimento en estaciones fijadas a tal efecto en la presa.

Se capturaron a vara y carnada artificial 20 truchas en cada muestreo con pesos comprendidos entre 200 y 1 200 g y tallas entre 24 y 40 cm de largo. Los pescados recién capturados fueron pesados, medidos y fileteados, conformándose en cada muestreo diez muestras constituidas cada una por los filetes sin piel de dos ejemplares, congelándose posteriormente en sobres de polietileno hasta su análisis.

Para la toma de agua y sedimento se establecieron tres estaciones de muestreo, en coordinación con Recursos Hidráulicos de la Provincia de Villa Clara, teniendo en cuenta los lugares de entrada de agua al ecosistema (Figura 1), y lo dispuesto en la Directiva 86/280/CEE, dictada a tal efecto.

Las muestras de agua se tomaron con una botella Van Dörn de un litro de capacidad, pasándose a frascos plásticos de 500 ml de capacidad previamente tratados con ácido nítrico concentrado, mientras que los sedimentos superficiales fueron obtenidos con una draga metálica y trasvasados a sobres de polietileno, congelándose hasta su análisis.

Se determinaron las concentraciones de los metales: plomo (Pb), cadmio (Cd), zinc (Zn), hierro (Fe), cobre (Cu) y manganeso (Mn), mediante espectrofotometría de absorción atómica, utilizando un equipo Pye Unicam SP-9 con llama aire-acetileno y la determinación del mercurio (Hg) por generación de hidruros.

Los análisis de agua se realizaron según la técnica descrita por Pinta (1980), la digestión de los sedimentos por McKown y cols. (1978) y la de los pescados por FAO/SIDA (1983). El Hg en los sedimentos se determinó según la técnica de Randosome y Aston (1979) y en los pescados según Munns y Holland (1977). Todos los análisis se realizaron por duplicado.

Análisis estadístico

Se calculó la media, desviación estándar y el rango de los resultados obtenidos de la concentración de metales en las tres matrices analizadas; y se realizó una prueba t de Student de comparación de medias. Se aplicó además un análisis multivariado con los resultados obtenidos, calculándose la matriz de correlación entre los metales; así como un análisis de factor según el programa de computación Statgraphics Centurion.

Resultados y Discusión

Los niveles de metales traza en las truchas de la presa estudiada se encuentran reflejados en la Tabla 1 donde se observaron concentraciones inferiores en el segundo muestreo (época seca) en relación al primero, lo cual se debió a que en este caso los ejemplares eran de menor talla y peso que el primero (Tabla 2). Se conoce por la literatura que tanto el peso como el tamaño de un ejemplar constituyen factores determinantes en la bioacumulación de metales en el músculo de los peces (Barack y Mason, 1990) y que además estos metales son acumulados por los organismos acuáticos en concentraciones más altas que las del ambiente en que ellos se desarrollan (Boada y cols., 2007); hecho este que constituye un peligro si se destinan a la alimentación humana.

Tabla 1. Metales pesados en el músculo de la trucha (*M. salmoides floridanus*) de la presa Hanabanilla.

Metal	Promedio por muestreo (mg/kg)		Media General ± DS (mg/kg)	Rango (mg/kg)	Límite Admisible NC 493:2006
	I	II			
Pb	1,51	0,27	0,82 ± 0,7	0,16-2,3	0,3
Cd	0,1	0,07	0,08 ± 0,03	0,04 -0,13	0,1
Hg	0,23	0,11	0,17 ± 0,08	0,02-0,37	1,0
Cu	0,33	0,14	0,22 ± 0,12	0,08-0,46	Ne
Fe	7,78	7,78	7,8 ± 2,09	3,3-11,8	Ne
Zn	6,95	3,07	5,01 ± 2,3	1,3-9,9	Ne
Mn	0,38	0,13	0,24 ± 0,17	0,07-0,74	Ne

I: primer muestreo; II: segundo muestreo; Ne: no establecido;

Los niveles de Pb sobrepasaron los límites establecidos en la Norma Cubana emitida a tal efecto (NC 493; 2006) en el 30% de los ejemplares analizados, especialmente en los capturados en el primer muestreo donde la talla y el peso de los pescados fue mayor. Al ser la trucha un pez depredador y encontrarse el metal presente en el agua y el sedimento de la presa (Tablas 3, 4, 5 y 6), la bioacumulación del mismo en el músculo de esta especie se vio favorecida. Los niveles de Cd se encontraron dentro

del límite establecido en la referida norma; así como los de Hg que resultaron bajos debido a que este metal se acumula en el pez a través de las agallas procedentes fundamentalmente del agua donde no fue detectado (Spry y Wiener, 1991).

Tabla 2. Talla y peso de los ejemplares de trucha (*M. salmoides floridanus*) de la presa Hanabanilla.

	Rango de largo (cm)	Rango de peso (g)
Muestreo I	24-40	200-1 200
Muestreo II	28-36	304-706.5

Tabla 3. Metales pesados en el agua de la presa Hanabanilla por estaciones y épocas de muestreo.

	Época	Estación 1	Estación 2 (centro)	Estación 3 (cortina)
Pb (mg/l)	I	0,04	0,17	0,02
	II	0,05	0,05	0,07
Cd (mg/l)	I	<0,01	<0,01	<0,01
	II	Nd	Nd	Nd
Hg (mg/l)	I	Nd	Nd	Nd
	II	<0,1	Nd	<0,1
Cu (mg/l)	I	Nd	0,002	Nd
	II	0,01	0,03	0,04
Fe (mg/l)	I	0,005	0,13	Nd
	II	0,03	0.13 0,004	Nd
Zn (mg/l)	I	0,005	0,01	0,003
	II	0,06	0,05	0,04
Mn (mg/l)	I	0,002	0,05	0,001
	II	0,06	0.05 0,004	0,03

I: Primer muestreo (época lluvia) ; II: Segundo muestreo (época seca); Nd: No detectado

Tabla 4. Valores promedios de los metales pesados en el agua de la presa Hanabanilla.

Metal	Media ± DS (mg/l)	Rango (mg/l)	Límite admisible NC 25:1999 (mg/l)
Pb	0,07 ± 0,05	0,04 – 0,17	0,1
Cd	< 0,01	-	0,01
Hg	< 0,1	-	0,005
Cu	0,02 ± 0,002	0 – 004	0,05
Fe	0,03 ± 0,005	0-0,13	Ne
Zn	0,02 ± 0,002	0,003-0,06	Ne
Mn	0,02 ± 0,003	0,001-0,06	Ne

Nd: no detectado; Ne: no establecido

Tabla 5. Metales pesados en el sedimento de la presa Hanabanilla por estaciones y épocas de muestreo

	Época	Estación 1	Estación 2 (centro)	Estación 3 (cortina)
Pb (mg/l)	I	20	17	18,5
	II	28,4	27,7	24,7
Cd (mg/l)	I	2,1	1,5	1,8
	II	1,07	0,91	0,68
Hg (mg/l)	I	1,25	0,6	1,04
	II	0,43	0,62	0,82
Cu (mg/l)	I	14	11	12,5
	II	28,5	70,2	69
Fe (g/100 g)	I	6,57	4,97	5,77
	II	2,22	5,9	3,87
Zn (mg/l)	I	126,5	90,6	108,6
	II	48	92	58
Mn (mg/l)	I	0,2	0,43	0,32
	II	0,10	0,49	0,26

I: Primer muestreo (época lluvia); II: Segundo muestreo (época seca)

Tabla 6. Valores promedios de los metales pesados en el sedimento de la presa Hanabanilla.

Metal	Media ± DS (mg/kg)	Rango (mg/kg)	Límite admisible NC 25: 1999
Pb	22,71 ± 4,87	17-28,4	Ne
Cd	1,35 ± 0,54	0,91-2,1	Ne
Hg	0,79 ± 0,31	0,43-1,25	Ne
Cu	34,2 ± 28,1	11-70,2	Ne
Fe*	4,88 ± 1,6	2,22-6,57	Ne
Zn	87,44 ± 44	48-128,5	Ne
Mn*	0,3 ± 0,1	0,1-0,49	Ne

Ne: no establecido; * datos en g/100 g

Los metales Fe, Zn y Cu resultaron más bajos que los reportados para esta especie como típicos de la composición nutricional (Sidwell, 1981), y similares a los hallados en el músculo de la trucha arco iris en lagos de Argentina (COIRCO, 2000). Los valores de Mn en las truchas estudiadas resultaron más bajos que los reportados en la literatura para peces marinos (0,9-4,0 mg/kg), a pesar de que los niveles de este metal en el sedimento de la presa fueron elevados (0,3%) (Tablas 5 y 6) y superiores a los encontrados en sedimentos de otras presas cubanas (Pis, 1999), por lo que se infiere que esta especie no acumula fácilmente este metal.

La secuencia de concentración obtenida de los metales traza en el músculo de las truchas fue: Fe > Zn > Pb > Mn > Cu > Hg > Cd

Los niveles de metales pesados en agua (Tablas 3 y 4) en general fueron bajos y similares en las diferentes estaciones y muestreos realizados. Se reportó un aumento

de los niveles de Cu, Zn y Mn en la época seca, mientras que se mantuvieron prácticamente constantes y cercanos al límite admisible los niveles de Pb. No se detectaron concentraciones de Hg en el agua de esta presa. Se observó una disminución de los niveles de Cd y Fe en el segundo muestreo (época seca) lo cual provocó que la media general presentara valores inferiores a 0,01 mg/l. La disminución de las concentraciones en época seca de estos dos metales en el agua indicó que los mismos pueden ser arrastrados a la presa por las precipitaciones.

Todos los metales estudiados en el agua de esta presa se encontraron en concentraciones inferiores a los límites admisibles en las reglamentaciones nacionales editadas a tal efecto en Cuba (NC 25, 1999). En países de la Unión Europea donde esta especie se consume con regularidad, el límite admisible de Pb en el agua de cultivo es de 0,03 mg/l (SENASICA, 2003), pero en Cuba en general el consumo de pescados de agua dulce es limitado y en especial esta especie sólo se cultiva en esta presa y para fines recreativos del turismo, por lo que el límite aceptado para este metal es mayor.

La secuencia de concentración hallada para los metales en el agua de esta presa fue: Pb > Fe > Zn = Mn = Cu > Cd, en la cual se observa el Pb como metal mayoritario, siendo conocida su alta toxicidad tanto para los animales como para los humanos.

Los niveles de Cd, Hg, Mn, Zn y Fe en el sedimento de esta presa (Tablas 5 y 6) se presentaron más altos en la época de lluvia, sin embargo el tratamiento estadístico no mostró diferencias significativas entre las épocas estudiadas para un 95% de confiabilidad. A diferencia, las concentraciones de Pb y el Cu mostraron niveles significativamente más altos para un 95% de confiabilidad en la época seca, indicando que su presencia en el sedimento de la presa no es debida al arrastre de los mismos por las lluvias. Se observó una concentración relativamente más elevada de la mayoría de los metales en la estación 1 (Figura 1), esto puede deberse a que en este punto se presentó la mayor abundancia de materia orgánica, lo cual facilita la retención de los metales (Shazili, 1988). Aunque no existen normas para el sedimento, se observó que los valores obtenidos en el sedimento de esta presa son superiores a los detectados en otras presas cubanas (Pis, 1999), a pesar de lo cual y con excepción del Cu y el Hg que se detectaron ligeramente por encima de ese rango; los valores encontrados de los restantes metales están comprendidos dentro de los rangos reportados por otros autores, (Horowitz, 1991) en sedimentos de ríos y lagos de zonas sin contaminación antropogénica en EE.U.U. La secuencia de concentración hallada para el sedimento fue: Fe > Mn > Zn > Cu > Pb > Cd > Hg.

El análisis estadístico de todos los resultados mostró correlación significativa en el agua entre el Pb-Fe ($r=0,9960$), entre Pb-Mn ($r=0,9780$) y entre Fe-Mn ($r=0,9555$); asociándose el Pb y el Fe al factor F1 y el Zn al factor F2. En el sedimento, las correlaciones significativas se encontraron entre Pb-Cu ($r=1,0000$), el Cd-Cu ($r=1,0000$), Hg-Cu ($r=0,9798$) el Cu-Fe ($r=1,0000$) y Cd-Hg ($r=0,9798$); asociándose al factor F1 los tres metales contaminantes Pb, Cd y Hg además del Cu y Fe y al factor F2 se asoció solamente el Zn. Los resultados obtenidos indicaron que el factor F1, tanto en el agua como en el sedimento representó al factor de contaminación. En el pescado los metales contaminantes se asociaron a un solo factor que resultó el factor F2, resultando este el factor de contaminación.

Por los resultados obtenidos puede plantearse que en general las concentraciones de Pb en el músculo de las truchas capturadas en la presa Hanabanilla, provienen tanto de los niveles encontrados en el sedimento como en el agua; mientras que los de Hg y Cd provienen fundamentalmente del sedimento.

Conclusiones

1. La trucha (*M. salmoides floridanus*) que se cultiva en la presa Hanabanilla presentó niveles de Pb por encima de los límites establecidos en Cuba para pescado, sin embargo por el consumo limitado y ocasional de la misma en la población, estos niveles no ofrecen peligro para la salud.
2. La secuencia de concentración hallada para los metales pesados en la presa Hanabanilla fue: en las truchas: Fe > Zn > Pb > Mn > Cu > Hg > Cd; en el agua: Pb > Fe > Zn = Mn = Cu > Cd, y en el sedimento: Fe > Mn > Zn > Pb > Cd > Hg, estando los metales en agua y sedimento dentro de los niveles propios de ecosistemas no contaminados.

Agradecimientos

Al compañero Lic. Nelson Fernández, especialista de Cuba Control SA por la colaboración en la realización de los análisis y a los compañeros de la acuicultura en la provincia de Villa Clara por la ayuda brindada en la toma de muestras, y muy especialmente al MSc. Domingo Fonticiella por contribuir con su experiencia al éxito de esta investigación.

Bibliografía

1. Barack, N.A.E. y C. F. Mason. (1990). Mercury, Cadmium and Lead concentration in five species of fresh water fish from Eastern England. *The Science of Total Environment*, 92: 257-263
2. Boada, M, M.A. Moreno, H. Gil, J. Marcano, J. Maza. (2007). Metales Pesados (Cu+2, Cd+2, Pb+2, Zn+2) en Músculo y Cefalotórax de Camarones Silvestres *Litopenaeus schmitti*, *Farfantepenaeus subtilis*, *F. notialis* y *F. brasiliensis* de la Región Oriental de Venezuela. *Revista Científica Maracaibo*, 17(2). Disponible en URL: http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.php?pid=S0798-2592007004000013&script=sci_arttext
3. *Directiva 86/280/CEE*. (1986). Consejo de 12 de junio de 1986 relativa a los valores límite y los objetivos de calidad para los residuos de determinadas sustancias peligrosas comprendidas en la lista I del Anexo de la Directiva 76/464/CEE. Diario Oficial n° L 181 de 04/07/1986 p. 0016-0027
4. FAO/SIDA. (1983). *Manual de Métodos del Investigación del Medio Ambiente Acuático*. Parte 9 Análisis de presencia de metales y organoclorados en los peces. FAO Documentos Técnicos de Pesca., 35 pp.
5. García A. y O. Calvario. (2003). *Manual de buenas prácticas de producción de truchas para la inocuidad alimentaria*. SENASICA, México
6. García, L, M.S. Soto, M.E. Jara y A. Gómez (2004). Fracciones geoquímicas superficiales de zonas ostrícolas del estado de Sonora, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 20(4):159-167
7. Horowitz A.J. (1991). The use of sediment-trace geochemical models for identification of local fluvial base line concentrations. Sediment and stream water quality in a changing environment: Trends and Explanation. *Proceeding of the Viena Symposium*, August 1991
8. Programa Integral de Calidad de Aguas del Río Colorado (COIRCO). (2000). Investigación de sustancias tóxicas en músculo de peces. Análisis de metales y metaloides. Disponible en URL: http://www.coirco.com.ar/programas/2000/5_1.html
9. *Manual de Trucha*. Disponible en URL: http://ww.senasica.sagarpa.gob.mx/web/propuestas_web/221204/inocuidad_agroalimentaria/Manual%truchas.pdf
10. McKwon, M.N. (1978). *Investigation of matrix interference for AAA trace metal analysis of sediment*. Report No. EPA-600/7-78-085
11. Munns, R.K. y D.C. Holland. (1977). Rapid digestion and flameless atomic absorption spectroscopy of mercury in fish. Collaborative Study Food and Drug Administration and California. *Journal of the AOAC*, 60(4):833
12. Norma Cubana NC 25. (1999). *Objetos hídricos de uso pesquero*. Especificaciones de calidad. CEN, Cuba.
13. Norma Cubana NC 493. (2006). *Contaminantes metálicos en alimentos. Regulaciones Sanitarias*. ICS: 67.020. 1ª edición.

14. Pinta, M. (1980). *Spectrometric D. Absorption Atomique. Tomo II. Aplicacion a L Analyse Chemique*. 2da edittion entièrment refordue. Cap 6. p 365.
15. Pis, M.A. (1999). *Impacto de los metales contaminantes en la calidad de la tilapia (Oreocromis aureus) cultivada en Cuba*. Tesis para optar por el grado de Master en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana Cuba. Disponible en URL: <http://hdl.handle.net/1834/2869>
16. Randosome J.E. y G.R., Aston. (1979). *A rapid method for the determination of mercury in sediment, suspended solids and soils*. Department of Environmental Sciences. University of Lancaster. Lancaster CAI 4 y Q, England.
17. Rodríguez L., W. Señor y G. Martínez. (2006). Comportamiento de los metales trazas Cu, Pb, Mn y Zn en fracciones geoquímicas de núcleos de sedimentos de la Laguna Unare, Venezuela. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 24(1): 37-41
18. Shazili, M. (1988). *Trace metals in sediment cores from the South China Sea of Sarawak*. Fish Mar. Sci Cent Uni. Petorian Malaysia. Mangaborg Teliport, 21030 Kuala terengganu, Malaysia. Fac. Of Fisheries and Marine Service, Universidad Petorian Malaysia, Serdong Malaysia, 69-75
19. Sidwell V. (1981). *Chemical and Nutritional composition of finfishes, whales, crustaceans, mollusks and their products*. NOAA Technical Memorandum, NMFS F/SEC-11, 432 pp.
20. Spry D.J. and J.G. Wiener. (1991). Metal bioavailability and toxicity to fish in low alkalinity lakes: A critical Review. *Environmental Pollution*, 71:243-304
21. US-FDA. 2001. *Fish and Fisheries Products Hazards and Controls Guidance. Third Edition*. US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition. 326 pp.
22. WHO. (1995). *Control of foodborne trematode infections*.