فصل اول
مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه

آنالیز عناصر سنگین در نمونه‌های مو برای ارزیابی میزان مواجهه حیات وحش و انسان با آلاینده‌ها در محیط زیست و یا محل کار استفاده زیادی داشته (Pereira و همکاران، ۲۰۰۴) و مو به عنوان یک نمونه با ارزش در ارزیابی وضعیت تغذیه، مواجهه شغلی یا محیطی با مواد شیمیایی سمی، مصرف مواد مخدر، وضعیت سلامتی و بسیاری دیگر از پارامترهای بیولوژیک و فیزیولوژیک افراد مورد توجه قرار گرفته است (Pasha و همکاران، ۲۰۰۸). از مزایایی که برای نمونه مو به عنوان یک پایشگر قابل اعتماد ذکر شده می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- مو یک ماده بیولوژیکی پایدار (Pereira و همکاران، ۲۰۰۴) و از نظر متابولیکی غیر فعال است (Gonzalez و همکاران، ۲۰۰۸) و همین دلیل می‌توان نمونه‌های مو را در کیسه‌های پلاستیکی جمع‌آوری و در دمای اتاق نگهداری کرد (Forte و همکاران، ۲۰۰۵).
- نمونه برداری از مو یک روش بدون درد محسوب می شود.
- معمولا در مقایسه با خون و ادرار غلظت بیشتری از فلزات در مو یافت می‌شود (Krejpdo و همکاران، ۱۹۹۹.، Pereira و همکاران، ۲۰۰۴)، برای مثال در افراد سالم غلظت سرب در مو ممکن است ۵-۲ برابر بیشتر از استخوان، ۵۰-۱۰ برابر بیشتر از خون و ۵۰۰-۱۰۰ برابر بیشتر از ادرار باشد (Lekoucha و همکاران، ۱۹۹۹).
- مو دارای قابلیت تجمع عناصر طی یک دوره طولانی است که به کمک آن می‌توان حداقل یک سال مواجهه را ردیابی کرد (Krejpdo و همکاران، ۱۹۹۹.، Pereira و همکاران، ۲۰۰۴).

در مقابل محدودیت‌هایی نیز برای استفاده از مو بیان شده است که از جمله آنها می‌توان به آلودگی‌های خارجی سطح مو اشاره کرد که موجب می‌شود غلظت نهایی زیادتر از مقدار واقعی برآورد شود. از مهمترین منابع آلودگی‌های خارجی می‌توان به شوره سر، عرق، هوای آلوده و باقیمانده مواد آرایشی، بهداشتی یا دارویی اشاره کرد. از دیگر دلایل محدودیت این روش می‌توان به اثر پذیری غلظت فلزات از سن، جنس و محل اقامت (Gonzalez و همکاران، ۲۰۰۸)، همبستگی کم بین غلظت عناصر در مو با سایر بافت‌ها و مایعات بدن و کمبود اطلاعات در مورد برهمکنش عناصر در مو اشاره کرد. همچنین کمبود اطلاعات در مورد حد طبیعی هر عنصر در مو نیز از دیگر محدودیت‌های استفاده از مو به شمار می‌رود. میل ترکیبی فلزات در مو به دلیل حضور نسبتا زیاد سیستئین در ساختار کراتینی مو است (Forte و همکاران، ۲۰۰۵) به همین دلیل مو توانایی تجمع این عناصر در ساختار کراتینی خود را دارد (D'Ilio و همکاران، ۲۰۰۰) و می‌تواند به‌عنوان یک شاخص بیولوژیک در تعیین غلظت غیر طبیعی این عناصر در بدن مورد توجه قرار گرفته و نشان دهنده وضعیت سلامتی فرد در یک دوره زمانی چند ماهه باشد (Pereira و همکاران، ۲۰۰۴) که به عنوان مثال می‌توان به رابطه بین غلظت غیر طبیعی عناصر کمیاب در مو و پیشرفت تومور در بدن انسان اشاره کرد (Pasha و همکاران، ۲۰۰۸). محققان گزارش داده‌اند به عنوان اولین قدم در ارزیابی مواجهه افراد و تخمین ریسک سلامتی (Pereira و همکاران، ۲۰۰۴) مو می‌تواند شاخص خوبی برای بررسی آلودگی محیط به فلزات سنگین باشد (Nowak، ۱۹۹۸).

۱-۲ کلیات

۱-۲-۱ فلزات سنگین

واژه فلزات سنگین[۱] به دسته‌ای از فلزات و شبه فلزات اطلاق می شود که چگالی آنها بیشتر از ۴ برابر چگالی آب (g/cm^3 ۱) باشد. این فلزات در مقادیر بسیار کم سمی بوده و از آنجا که از طریق غذا، هوا و آب وارد بدن شده و به مرور زمان در بدن تجمع می‌یابند (Duruibe و همکاران، ۲۰۰۷) و همچنین جزء

[۱] Heavy metals

آلاینده‌های بسیار پایداری هستند که طی فرآیندهای بیولوژیک تجزیه نمی‌شوند (سرتاج و همکاران، ۱۳۸۴) اثرات قابل توجهی بر سلامت انسان دارند (Duruibe و همکاران، ۲۰۰۷). حلالیت بسیار بالای فلزات سنگین در آب موجب می‌گردد تا امکان ورود و جذب آنها در بدن افزایش یافته و با اتصال به ماکرومولکولها ساختار و عملکرد طبیعی آنها را تغییر دهند که این مساله موجب متاثر شدن فرآیندهای بیوشیمیایی و در نتیجه بسیاری از عملکردهای غیر طبیعی بدن می‌شود (گلبابایی و همکاران، ۱۳۸۴).

اگرچه حضور برخی از این عناصر در بدن از نظر تغذیه‌ای و متابولیسم بسیار حایز اهمیت است اما مواجهه با تراکم‌های بیش از اندازه آنها از طریق منابع مختلف می‌تواند آثار مخربی بر سلامت انسان و سایر موجودات به همراه داشته باشد (گلبابایی و همکاران، ۱۳۸۴). با این حال بعضی دیگر از فلزات مانند ارسنیک، کادمیم، سرب و شکل‌های مختلف جیوه هیچ اثر زیستی مفیدی نداشته و در مقادیر بسیار کم هم برای انسان سمی هستند (Duruibe و همکاران، ۲۰۰۷). اثرات سمی فلزات سنگین زمانی مشخص می شود که این عناصر بیش از حد تحمل بدن مصرف شوند و اگر چه اثرات مسمومیت در افراد متفاوت است اما ناهنجاری دستگاه گوارش، اسهال، ورم مخاط دهانی و لثه‌ها، رعشه، وجود هموگلبین در ادرار، ناهماهنگی حرکتی، فلج، استفراغ و تشنج، افسردگی و التهاب ریه به عنوان اثرات عمومی مسمومیت با این فلزات (کادمیم، سرب، آرسنیک، جیوه، روی، مس و آلومینیوم) گزارش شده است و به طورکلی طبیعت سمی این ذرات موجب مشکلات عصبی، سرطان‌زایی[۱]، جهش ژنی[۲] و ناهنجاری‌های تراتوژنیک[۳] می شود.

۱-۲-۲ کادمیم و سرب

فعالیت‌های انسان منجر به افزایش سطح فلزات سنگین در محیط زیست می‌شود. فلزات سنگین موجود در اتمسفر و آلودگی‌های صنعتی در خاک تجمع یافته و بر اکوسیستم‌های مجاور نیز اثر می‌گذارد (Tuzen ، ۲۰۰۳). در این شرایط عناصر ریز مغذی ضروری مثل روی و مس و عناصر سمی مانند جیوه،

[۱] Carcinigen
[۲] Mutagenic
[۳] Teratogenic

کادمیم و سرب تا حد غلظت سمی و مضر در محیط تجمع یافته و موجب ایجاد آسیب‌های اکولوژیک می‌شوند (Zheng و همکاران، ۲۰۰۷). منابع انسان ساخت از قبیل معدنکاوی، صنایع ذوب فلزات و ریخته گری و وسایط نقلیه از اصلی‌ترین دلایل انتشار این فلزات در طبیعت محسوب می‌شوند. فعالیت‌های معدنکاوی و سایر فرآیندهای شیمیایی اغلب باعث تولید رواناب اسیدی می‌شود که موجب آلودگی آبهای سطحی و زیرزمینی به فلزات سنگین و در نهایت موجب آلودگی خاک به این فلزات می‌شود. این آلودگی زمانی افزایش می‌یابد که در حین معدنکاوی سنگ‌های استخراج شده را روی زمین انبار کنند، این عمل موجب می‌شود سنگها در معرض باد و باران قرار گرفته و رواناب اسیدی حاوی فلزات سنگین افزایش یابد. با آلوده شدن خاکهای کشاورزی این فلزات توسط گیاهان جذب و در بافتهای آنها جمع می‌شوند. حیواناتی که از آبهای آلوده و این گیاهان تغذیه می‌کنند آنها را در بافتها و شیرشان ذخیره کرده، انسانها نیز به وسیله مصرف گیاهان و فرآورده‌های حیوانی آلوده در معرض فلزات سنگین قرار می‌گیرند. مواد صنعتی که با فلزات سنگین تولید و در خانه ها استفاده می‌شوند نیز یکی دیگر از منابع مواجهه انسان با این فلزات هستند (Duruibe و همکاران، ۲۰۰۷). سرب و کادمیم در طبقه بندی مواد زائد خطرناک سمی توسط ATSDR[۱] به ترتیب درجه اول و ششم را دارند. معمولاً علائم مسمومیت با این فلزات علائم مشخصی نیستند و تشخیص مسمومیت آنها در یک معاینه سرپایی بسیار مشکل است زیرا مواجهه مزمن با این فلزات باعث ایجاد مسمومیت یکباره بدون هیچ علایم قبلی می شود (Hu، ۲۰۰۲).

کادمیم از جمله آلاینده‌های مهم محیط زیست است (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱). مواجهه با این عنصر به دلیل بعضی رنگها، صنایع فلزی، بعضی پلاستیک‌ها و باطری‌های نیکل کادمیم رخ می‌دهد که می‌تواند از طریق بلع مستقیم توسط مواد غذایی حاوی کادمیم به خصوص حبوبات، غلات و سبزی‌های برگ‌دار و یا از طریق تنفس به دلیل احتراق مواد حاوی کادمیم و سیگار کشیدن روی دهد. همچنین کادمیم به عنوان یک محصول فرعی در پالایش روی شناخته شده است و به دلیل اینکه تا مرحله‌ای از بدن دفع و دوباره توسط کلیه‌ها جذب می‌شود مواجهه با این فلز سمی تشدید می‌شود (Hu، ۲۰۰۲).

۱.Agancy for Toxic Substances and Disease Registry

کبد و کلیه‌ها هدف اصلی برای تمرکز کادمیم هستند (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱). مواجهه طولانی مدت با مقادیر کم کادمیم باعث مشکلات کلیوی می‌شود که به علت تخریب ساختار واحدهای کلیوی (نفرون‌ها) بوجود می‌آید و مشخصه آن تراوش مولکول‌های پروتئینی سبک و یونهایی مثل کلسیم در ادرار است (Hu، ۲۰۰۲). مواجهه حاد با مقادیر زیاد آن منجر به مشکلات ریوی می‌شود (Duruibe و همکاران، ۲۰۰۷). التهاب ریه به دلیل استنشاق دود و غبار آلوده به کادمیم در نهایت موجب سینه‌درد، سرفه، خلط کف‌آلود و خونین و از بین رفتن بافت ریه می شود. کادمیم همچنین موجب افزایش فشارخون، نامنظمی ضربان قلب و مشکلات استخوانی از قبیل نرمی استخوان و شکستگی خودبه خود، می‌شود (Duruibe و همکاران، ۲۰۰۷). کاهش شدید کلسیم ناشی از سو عملکرد کلیه به دلیل حضور کادمیم در بدن موجب ضعف استخوان‌ها می‌شود که با نام بیماری ایتای ایتای[۱] معروف است (Hu، ۲۰۰۲). همچنین مشخص شده که کادمیم مانع از فعالیت آنزیمهای حاوی گروه سولفیدریل شده و راههای متابولیسم اکسیداسیون را قطع می‌کند. مطالعات آزمایشگاهی نشان می‌دهد که کادمیم در بدن جایگزین روی و مس می‌شود (Aydin و همکاران، ۲۰۰۱) و بر کلسیم و آهن نیز اثر می‌گذارد (Kazi وهمکاران، ۲۰۰۶). WHO[۲] و FAO[۳] حداکثر میزان قابل تحمل جذب هفتگی این فلز را ۷ میلی گرم بر کیلوگرم اعلام کرده‌اند (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱).

سرب از نظر انتشار گسترده‌ترین عنصر سنگین سمی در محیط محسوب می‌شود (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱). این فلز در هنگام معدنکاوی، ذوب، احتراق بنزین سرب‌دار در موتور وسائط نقلیه و استفاده از رنگ‌های سرب‌دار قدیمی در محیط منتشر می‌شود. مسمومیت با سرب بارزترین مسمومیت در بین فلزات سنگین و اثرات تراتوژنیک از مهمترین پیامدهای مواجهه با این فلز است (Duruibe و همکاران، ۲۰۰۷). از دیگر منابع انتشار سرب می‌توان به صنایع متالوژی، باطری‌های سرب‌دار، پلاستیک‌های حاوی سرب، لحیم‌کاری، سرامیک، سوخت‌های فسیلی و ذوب فلزات اشاره کرد. به طور کلی جذب سرب از طریق

[۱] Itai - Itai
[۲] World health organization
[۳] Food and Agriculture Organization of the United Nations

تنفس، گوارش و پوست صورت می‌گیرد (مهرام، ۱۳۸۲) و بدون در نظر گرفتن مواجهه شغلی اصلی‌ترین راه جذب این فلز مصرف مواد غذایی (Stupar و همکاران، ۲۰۰۶) و دومین راه جذب آن تنفس هوای سرب‌دار است (Ayse و همکاران، ۲۰۰۷) که بر خلاف سایر عناصر سنگین مسیر عمده ورود آن به بدن محسوب می‌شود (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱). میزان جذب سرب در کودکان بیشتر از بزرگسالان است و کمبود کلسیم، روی، آهن، مس و منیزیم نیز موجب بیشتر شدن میزان جذب آن می‌شود (مهرام، ۱۳۸۲). تحقیقات جدید نشان داده است که سرب ذخیره شده در استخوان مادر با نسبت سریعی در دوران حاملگی و شیردهی به نوزاد منتقل می شود که البته این نسبت به وزن زمان تولد، نسبت رشد و نوع زندگی مادر بستگی دارد. این مسئله نشان می دهد که جنین و نوزاد حتی سالها پس از در معرض قرار گرفتن مادر هم در خطر آلودگی به سرب قرار دارند (Hu، ۲۰۰۲) علاوه بر آن مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که مواجهه کودکان زیر پنج سال با سرب باعث می‌شود بخش خاکستری مغز آنها به خوبی رشد نکرده و موجب کم‌هوشی شود (Duruibe و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین علاوه بر راه‌های گفته شده برای جذب سرب قابلیت عبور از جفت و تراوش در شیر مادر نیز باعث می‌شود این فلز برای کودکان یک خطر بالقوه محسوب شود (مهرام، ۱۳۸۲).

مسمومیت‌زایی سرب به دلیل تمایل اتصال آن به گروه سولفیدریل (SH-) پروتئین‌ها بصورت غیر قابل برگشت است که باعث مختل شدن عمل پروتئین‌ها می‌شود هم چنین سرب با مکانیسم مهار رقابتی مانع ورود کلسیم به سلول های عصبی می‌شود و از دیگر اثرات آن ممانعت از فعالیت‌های آنزیمی است (مهرام، ۱۳۸۲). مسمومیت با سرب موجب تخریب ساختار کلیه‌ها، مفصل‌ها، سیستم تولید مثل، سیستم قلبی عروقی و ممانعت از ساخت هموگلبین و اثرات حاد و مزمن بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی می‌شود. اثر بر دستگاه گوارش و مجاری ادرار و ایجاد آسیب‌های مغزی نیز موارد دیگر ناشی از حضور سرب در بدن است. اثر منفی این عنصر از نظر آسیب‌شناسی سلولی، توانایی آن در جانشینی به جای روی و کلسیم است (Kazi وهمکاران، ۲۰۰۶). لازم به ذکر است شکل معدنی سرب که جذب آن توسط غذا، آب و تنفس صورت می‌گیرد بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی، دستگاه گوارش و سایر سیستم‌های

زیستی و شکل آلی آن بر سیستم اعصاب مرکزی اثر می‌گذارد (Duruibe و همکاران، ۲۰۰۷). حداکثر مصرف سرب ۳ میلی گرم در هفته توسط FAO و WHO اعلام شده است (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱).

۱-۲-۳ عناصر ضروری

بعضی از فلزات و ترکیبات آنها مانند آهن، روی، مس و کلسیم برای سلامتی انسان ضروری هستند اما مصرف زیاد آنها نیز برای بدن مضر است (Gonzalez و همکاران، ۲۰۰۸). این فلزات در بدن موجودات زنده دو نقش اساسی به عهده دارند که یکی از آنها شرکت در ساختمان مولکول‌های حیاتی است مانند شرکت آهن و مس در مولکول‌های هموگلوبین و هموسیانین و دیگری نقش کوآنزیمی است که با اتصال به آنزیم‌های مختلف به عنوان فعال کننده آنزیم برای تسریع واکنش‌ها عمل می‌کنند از این رو وجود این فلزات در موجودات زنده به مقدار مشخص و مطلوب ضروری است و با تغییر میزان غلظت آنها واکنش‌های طبیعی بدن کند یا مختل شده و سبب ایجاد پاسخ‌های نامطلوبی مثل کاهش یا عدم رشد، کاهش تولید مثل و تضعیف سیستم دفاعی بدن موجود می شود (خراسانی و همکاران، ۱۳۸۴).

روی عنصری است که میزان مس را در بدن مردان متعادل می‌کند و برای تولید مثل آنها ضروری است. این عنصر یک عامل مشترک در آنزیم‌های دهیدروژناز و انیدرید کربنیک محسوب شده و کمبود آن در بدن موجب آنمی و عدم رشد فکری و جسمی می شود (Duruibe و همکاران، ۲۰۰۷) همچنین حضور روی برای سیستم ایمنی و سنتز RNA و DNA ضروری است (Perrone و همکاران، ۱۹۹۸). علاوه بر آن روی برای آنزیمی که وظیفه فعال کردن ویتامین A را به عهده دارد ضروری است و بدون این آنزیم ویتامین A که بر بینایی موثر است نمی‌تواند به شکل فعال در بیاید (Kazi وهمکاران، ۲۰۰۶). اگرچه روی یک عنصر ضروری برای بدن است اما غلظت زیاد آن نیز ممکن است منجر به مشکلاتی از قبیل آسیب به غدد پانکراس و آدرنال، بیش فعال شدن غده هیپوفیز، تحریک مجاری گوارشی، کاهش کلسترول HDL[۱] در سرم خون و آنمی شود (Pereira و همکاران، ۲۰۰۴). مهم‌ترین منبع تامین روی درانسان گوشت و ماهی بوده و ایران از جمله کشورهایی است که مردم آن با کمبود روی روبرو هستند.

[۱] High-density lipoprotein

بنابر اعلام سازمانWHO حداقل میزان روزانه روی مورد نیاز بدن ۱۵-۱۲ میلی گرم و در دوران شیردهی ۱۹ میلی گرم است (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱).

مس از دیگر فلزات ضروری است که بسیاری از ساختارهای فیزیولوژیک بدن به فعالیت آن در متالوآنزیم‌های حاوی این عنصر بستگی دارد. علاوه بر آن مس بطور غیرمستقیم بر وضعیت سایر آنزیم-های فاقد این عنصر هم موثر است (Perrone و همکاران، ۱۹۹۸). افزایش مس در بدن ممکن است موجب آسیب‌های عصبی و یا کبدی شود. علایم مسمومیت با مس شامل تهوع، استفراغ، اسهال، سرگیجه، سردرد و ضعف عمومی و در موارد شدیدتر تپش قلب، افزایش فشار خون و کما است که حتی می‌تواند منجر به مرگ شود (Venalainen و همکاران، ۲۰۰۷). از آنجا که مس به مقدار زیاد در غذاها وجود دارد بعید است کمبود مس در انسان دیده شود ولی در نوزادانی که منحصرا از رژیم غذایی شیر استفاده می-کنند ممکن است کمبود آن مشاهده شود. معمولا جذب روزانه برای مس ۱/۵ میلی گرم است (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱).

آهن یکی از فلزاتی است که برای ساختارهای حیاتی بدن ضروری (WHO و FAO، ۱۹۹۸) و از اجزای اساسی هموگلوبین، میوگلوبین و بعضی از آنزیم‌های مهم بدن بوده (آلبو کردی و همکاران، ۱۳۸۷) و به شدت توسط مکانیسم‌های خاص در بدن نگهداری و بازجذب می‌شود (Bannon و همکاران، ۲۰۰۲). کمبوداین عنصر باعث عوارض مختلفی مانند اختلال یادگیری، ضعف، کم خونی و حتی مرگ زودرس می‌شود (آلبو کردی و همکاران، ۱۳۸۷). با این وجود به دلیل توانایی آن در تسریع واکنش‌های احیا افزایش میزان آن در بدن مضر است و سطح درون سلولی آن باید به شدت کنترل شود (Wang و همکاران، ۲۰۰۷). حداقل نیاز روزانه آهن ۱۴-۱۰ میلی گرم بسته به جنس و سن است و ممکن است زنان باردار وشیرده به بیش از ۱۵ میلی گرم نیاز داشته باشند (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱).

کلسیم در متابولیسم انسان یک عنصر حیاتی بوده و عنصر اصلی در تولید استخوان و دندان پستانداران محسوب می‌شود. محدوده تعادل این عنصر بسیار وابسته به سایر فلزات مفید در بدن است و می‌تواند در مقادیر بالا هم خود را در بدن تطبیق دهد زیرا غلظت آن توسط هورمون‌های تیروکلسیتونین و پاراتورمون

در خون متناسب می‌شود (Duruibe و همکاران، ۲۰۰۷). حداقل کلسیم مورد نیاز بدن در روز ۱/۳- ۰/۴ گرم است (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱). منیزیم نیز از دیگر عناصر ضروری است که در ساختار بسیاری از آنزیم‌هایی که در سنتز پروتئین‌ها، RNA، DNA و غشا سلول نقش دارند، به عنوان یک کوفاکتور عمل می‌کند. اثر مهم این عنصر نقشی است که در جابجایی پتاسیم و متابولیسم کلسیم در بدن بازی می‌کند (WHO و FAO، ۱۹۹۸). میزان جذب روزانه منیزیم در روز ۰/۴۹- ۰/۱۸ گرم است (اسماعیلی ساری، ۱۳۸۱).

۱-۳ معرفی منطقه

شهرستان لنجان در جنوب غرب استان اصفهان و در مسیر جاده اصفهان- مبارکه، ما بین صنایع ذوب آهن و فولاد مبارکه قرار گرفته است (نجفی،۱۳۸۰). کارخانه ذوب آهن از بزرگ‌ترین صنایع این شهرستان است و کارخانه صنایع دفاع، مجتمع فولاد مبارکه، کارخانه نوید منگنز، کارخانه سیمان سپاهان و زرین خودرو از دیگر صنایع این منطقه‌اند (پرتال شهرستان لنجان، ۱۳۸۷). طبق مطالعات انجام گرفته فاضلاب و پساب این صنایع تا حد زیادی آلوده به فلزات سنگین از جمله کادمیم، سرب و جیوه هستند که به محیط زیست وارد شده و موجب آلودگی خاک، آب‌های زیرزمینی منطقه و آب‌های سطحی زاینده رود می‌شوند و آب این رودخانه نیز برای آبیاری محصولات کشاورزی این منطقه استفاده می‌شود (نجفی،۱۳۸۰).

۱-۴ ضرورت انجام تحقیق

افزایش صنایع شیمیایی و صنعتی شدن فعالیت‌های انسان تخریب وسیعی در محیط طبیعی بوجود آورده که بر سلامتی انسان اثر می‌گذارد. در میان هزاران ترکیب شیمیایی انسان ساخت که در محیط وجود دارد آب و خاک افزایش قابل توجهی از تجمع فلزات سنگین را نشان می‌دهد که برای موجودات زنده مضر است (Krejpdo و همکاران، ۱۹۹۹).

فلزاتی مثل آهن، مس و روی تا زمانی که در سیستم بیولوژیک نقش مهمی ایفا کنند جزء فلزات ضروری محسوب می‌شوند و هنگامی که جذب آنها به شدت افزایش یابد می‌توانند نقش سمی داشته باشند اما کادمیم و سرب از عناصر ضروری نبوده و حتی در مقادیر کم هم سمی هستند. این فلزات که سطح آنها در محیط زیست به عنوان شاخص آلودگی استفاده شده (Tuzen، ۲۰۰۳) مشکلات اساسی در بدن انسان ایجاد می‌کنند زیرا جانشین عناصر ضروری مثل کلسیم، منگنز و روی که برای ترکیبات اولیه استخوان، خون و ساختار طبیعی سلول‌ها ضروری‌اند، شده و آنزیم‌ها را غیر فعال می‌کنند برای مثال این فلزات بر آنزیم آنتی‌اکسیدان SOD[۱] که در ساختارش به روی، مس و منگنز نیاز دارد اثر می‌گذارند و کاهش فعالیت این آنزیم، منجر به بیماری‌های آلزایمر، آرتروز روماتیسمی، مشکلات بینایی و صدمات ریوی می‌شود.

از مشکلات اندازه‌گیری اثر فلزات سنگین سمی که فرد درگذشته و برای طولانی مدت با آن مواجه شده، پیدا کردن یک شاخص بیولوژیک قابل اعتماد برای اندازه‌گیری آنهاست. خون برای ارزیابی مواجهه با سرب و کادمیم بطور گسترده‌ای استفاده می‌شود ولی سرب و کادمیم فقط برای زمان کوتاه و در مقادیر کم در خون باقی می‌مانند. تعداد قابل توجهی از مطالعات (Matsubara و Machida، ۱۹۸۵.، Manson و Zlotkin، ۱۹۸۵.، Zlotkin، ۱۹۸۵.، Wibowo و همکاران،۱۹۸۶.، Cikrt و Benckov، ۱۹۹۰.، Sturaro و همکاران، ۱۹۹۴.، Bisse و همکاران، ۱۹۹۶.، D’Ilio و همکاران، ۲۰۰۰.، Samanta و همکاران، ۲۰۰۴.، Stupar و همکاران، ۲۰۰۷.، Pasha و همکاران، ۲۰۰۸.، Roadrigues و همکاران، ۲۰۰۸) بیان کرده‌اند که تجمع عناصر کمیاب در موی سر بهترین میزان متوسط مواجهه محیطی با این مواد را نشان می‌دهد. از آنجایی که جمع‌آوری، ذخیره و آنالیز مو آسان بوده و تجمع فلزات مختلف در آن بیشتر از خون است به نظر می‌رسد که مو برای ارزیابی مواجهه در گذشته تاکنون بهتر باشد. البته بعضی محققان به علت اینکه مقدار تجمع یافته در مو نشانگر مقادیر آن در عضو هدف مورد مطالعه نیست آن را وسیله ارزیابی خوبی نمی‌دانند اما با این وجود آنالیز مو می‌تواند اولین تست غربالگری قابل اعتماد در مورد تجمع عناصر

[۱] Superoxide dismutase

سنگین به خصوص سرب کادمیم ارسنیک و جیوه باشد (Krejpdo و همکاران، ۱۹۹۹). لازم به ذکر است که وجود یک ماده در مو مواجهه با آن را نشان می‌دهد اما منبع آن را مشخص

نمی‌کند اما استفاده از اطلاعات پرسشنامه فرضیه‌هایی در مورد منبع مواجهه به ما می‌دهد (Pereira و همکاران، ۲۰۰۴).

با توجه به اینکه افراد از طریق غذا، آب، هوا و خاک در معرض مواجهه محیطی با عناصر سمی قرار می-گیرند و تعیین اثرات سمی فلزات بر روی افرادی که در مناطق آلوده زندگی می‌کنند می‌تواند بر اساس تعیین غلظت این عناصر در نمونه‌های بیولوژیک صورت گیرد (Nowak و همکاران، ۲۰۰۰) این مطالعه به تعیین غلظت عناصر سرب و کادمیم و فلزات ضروری مس، روی، آهن، منیزیم و کلسیم در نمونه‌های مو در منطقه صنعتی لنجان می‌پردازد. همچنین برای ارزیابی مواجهه افراد با این عناصر، گروهی نیز به عنوان گروه کنترل از منطقه غیر صنعتی چادگان انتخاب و غلظت عناصر در موی آنها نیز تعیین و با گروه اصلی مقایسه شد. همانطور که ذکر شد مواجهه نوزادان علاوه بر راه‌های ذکر شده از طریق شیردهی نیز صورت می‌گیرد به همین دلیل گروه هدف در این مطالعه مادرانی با نوزاد ۶-۱ ماهه‌ای انتخاب شدند که نوزادان آنها از شیر مادر تغذیه می‌کردند.

فصل دوم
مروری بر منابع تحقیق

۲-۱ سابقه تحقیق در خارج از کشور

در سال ۱۹۹۹ Krejpdo و همکاران در هلند رابطه بین سرب، کادمیم، روی و مس را در موی کودکان و میزان مواجهه با این فلزات را با توجه به محل اقامت آنها بررسی کردند. این گروه شامل ۹۳ کودک (۶۲ پسر و ۳۱ دختر)، پنج تا شانزده ساله ساکن در منطقه آلوده Copper Basin Legnica و گروه کنترل شامل ۶۶ کودک (۳۵ پسر و ۳۱ دختر) شش تا شانزده ساله ساکن یک منطقه روستایی غیر آلوده به نام Wielkopolska بود. میزان سرب و کادمیم در موی کودکان گروه اصلی مشخصاً بالاتر از گروه کنترل بود و تفاوت معنی داری در غلظت روی و مس بین دو گروه مشاهده و نیز همبستگی‌های مثبت و منفی میان جفت عناصر مشخص شد. همچنین در فرانسه Lekouch و همکاران (۱۹۹۹) غلظت سرب و کادمیم را در موی ۳۲۷ کودک ساکن در مزرعه‌ای که با فاضلاب آبیاری می‌شد، اندازه گرفتند. در این بررسی اثر سن، جنس، عادات غذایی و شغل خانواده در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که میزان فلزات در موی دخترها بیشتر از پسرها بود که این مسئله در مورد کادمیم صدق نمی‌کرد و از نظر آماری نیز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، همچنین میزان فلزات با افزایش سن کاهش می‌یافت. شغل خانواده، تماس مستقیم با فاضلاب و عادات غذایی عوامل شاخص اثرگذار بر غلظت فلزات بودند. نتایج نشان داد که در این منطقه همه افراد به خصوص بچه‌ها در خطر مواجه با این فلزات سمی هستند.

Nowok و Chmielnicka در هلند (۲۰۰۰) میزان مواجهه با سرب و کادمیم را در افراد ساکن Katowice District ارزیابی کردند. این افراد در معرض مواجهه محیطی با میزان بالایی از کادمیم، سرب، آهن، روی، مس، منگنز، نیکل، کروم، کلسیم، سدیم و پتاسیم قرار دارند. افراد ساکن در منطقه Beskid به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. در این تحقیق از ۶۲۴ نمونه مو، ۷۸۵ نمونه دندان و ۳۳۸ نمونه

ناخن استفاده شد. برای هر نمونه جنس و سن فرد (کوچکتر از ۱۵، ۳۰-۱۶ و بزرگتر از ۳۰ سال) و نوع دندان مشخص شد. در نتایج بدست آمده میزان غلظت مشاهده شده در مو نشان‌دهنده مواجهه محیطی با این عنصر بوده و میزان آن به جنس و سن افراد بستگی دارد، همچنین مشاهده شد که افزایش سرب باعث کاهش غلظت آهن و کلسیم و تغییر در نسبت عناصر ضروری Fe/Cu، Fe/Zn و Ca/Zn می‌شود. در رم نیز D'Ilio و همکاران در سال ۲۰۰۰ برای ارزیابی مواجهه شغلی کارگران کارگاه‌های طلاسازی با فلزات سمی از نمونه مو استفاده کردند. در این مطالعه نتایج به دست آمده پراکنشی غیرنرمال داشته و تنها برای طلا بین گروه کنترل و گروه هدف اختلاف معنی دار دیده شد.

مطالعه دیگری در ژاپن و در سال ۲۰۰۲ توسط Sera و همکاران انجام شد که در آن از طریق آنالیز کمی نمونه‌های موی شسته نشده به بررسی میزان مواجهه افراد با فلزات سنگین محیط پرداخته شد. این بررسی در تکه‌های مختلف یک دسته موی ۱۴ سانتیمتری یک کارگر معدن فلیپینی صورت گرفت و مشخص شد که تغییر غلظت فلزات سنگین موجود در نقاط مختلف مو (از نوک تا ریشه) نشان‌دهنده دوره‌های کاری فرد در معدن بوده و همچنین مقایسه نتایج با غلظت‌های بدست آمده از آنالیز موهای سایر نقاط بدن تفاوت زیادی را نشان نداد. نتایج بدست آمده توسط این روش بر این امر دلالت می‌کند که نمونه مو شاخص خوبی برای ارزیابی میزان مواجهه افراد با فلزات سنگین است.

Pereira و همکاران در سال ۲۰۰۴ از نمونه‌های مو برای ارزیابی اولیه مواجهه محیطی افراد ساکن در نزدیکی یک معدن سولفید مس در پرتغال با فلزات سنگین (As، Cd، Cr، Cu، Mn و Zn) استفاده کردند. همزمان با نمونه‌برداری پرسش‌نامه‌ای هم در مورد عادات تغذیه‌ای، منبع آب آشامیدنی، استعمال سیگار، مصرف الکل و وضعیت سلامتی تهیه شد. در مقایسه با افراد ساکن در دهکده‌های دورتر از معدن، بالاترین غلظت کادمیم، مس و ارسنیک در افرادی مشاهده شد که در نزدیکی معدن ساکن بودند و این نتایج با غلظت‌های بدست آمده از نمونه‌های خاک آن منطقه نیز مطابقت داده شد. افرادی که از شیر و پنیر بدست آمده از دامهای محلی منطقه استفاده می‌کردند، غلظت بیشتری از فلزات را نشان می‌دادند و به نظر می‌رسد مهمترین راه مواجهه با این فلزات در این منطقه، مصرف مواد غذایی باشد. در سال ۲۰۰۴

نیز Samanta و همکاران فلزات سنگین As، Se، Hg، Zn، Pb، Ni، Cd، Mn،Cu و Fe را در بافتهای بیولوژیک (مو، ناخن و پوست) افراد مسموم شده با ارسنیک در غرب بنگال هند اندازه گرفتند. داده‌های اندازه‌گیری شده برای۴۴ نمونه مو و ۳۳ نمونه ناخن توزیع لگاریتمی نرمالی نشان دادند ولی تعداد ۱۱ نمونه پوست برای تشخیص نرمال بودن داده‌ها کافی نبود. ارسنیک، منگنز، سرب و نیکل بالاترین غلظت را در نمونه ها داشتند که ممکن است ناشی از مصرف غذا و آب حاوی این عناصر باشد. منگنز و نیکل همبستگی بالایی با سایر عناصر داشتند و این مساله نشان می‌دهد که ممکن است این عناصر در مو، ناخن و پوست جایگزین سایر عناصر شوند. در مطالعه دیگری Ozden و همکاران در سال ۲۰۰۷ سطح کادمیم و سرب را در موی دانش‌آموزان مدارس استانبول اندازه گرفتند. این نمونه ها از ۷۶۰ دانش‌آموز در ۱۳ مدرسه جمع‌آوری و در کنار آن پرسش‌نامه‌ای نیز در مورد وضعیت اقتصادی- اجتماعی خانواده بچه‌ها پر شد. نتایج نشان داد که مهمترین عامل بالا بودن کادمیم و سرب در نمونه‌ها مواجهه خانگی به دلیل استعمال سیگار و نزدیک بودن مدرسه به بزرگراه‌های اصلی است.

Rodrigues و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸ برای پایش میزان فلزات ضروری و ارزیابی مواجهه افراد با فلزات سنگین در برزیل از نمونه مو استفاده کردند. آنها در این تحقیق به بررسی رابطه بین سطح عناصر کمیاب در مو و خون در برزیل پرداختند. این نمونه ها از ۲۸۰ داوطلب گرفته شد. بین میزان سرب مشاهده شده در خون و مو همبستگی ضعیف و بین مس، منگنز و استرانسیم موجود در خون و مو هیچ همبستگی دیده نشد.

۲-۲ سابقه تحقیق در ایران

Reinhold و همکاران (۱۹۶۶) به بررسی میزان روی و مس در موی افراد کوتاه قد در ۳ روستای اطراف شیراز پرداختند و گروهی از افراد با قد طبیعی را نیز به عنوان گروه کنترل در نظر گرفتند. آنها مشاهده کردند که میزان روی در افراد کوتاه قد دو سوم افراد در گروه کنترل است و همچنین در مناطق مورد مطالعه بین دو گروه مرد و زن بیشترین تفاوت بین گروه‌های مورد مطالعه و کنترل در گروه زن‌ها

مشاهده شد و این تفاوت معنی‌دار بود در حالی که در گروه مردان تفاوت معنی‌داری دیده نشد. در بررسی عنصر مس نیز مقدار این عنصر در هر دو گروه مورد مطالعه و کنترل نزدیک به هم بوده و تفاوت معنی-داری نیز یافت نشد. Raie در سال ۱۹۹۶ با استفاده از نمونه مو به بررسی تفاوت منطقه‌ای فلزات As, Cu, Hg و Se و برهمکنش آنها با یکدیگر پرداخت. وی غلظت این عناصر را در موی افراد در سه منطقه ایران، گلاسگو و ایسلند مقایسه کرد و به این نتیجه رسید که میزان As، Se و Hg در نمونه موهای ایران بطور معنی‌داری کمتر از نمونه‌های گلاسگو بود اما مقدار Cu تفاوت زیادی در دو منطقه نداشت. در بررسی برهمکنش عناصر در بافت‌های انسان نیز بین Hg و Cu در نمونه‌های کبد گلاسگو همچنین نمونه‌های موی ایران همبستگی مثبتی مشاهده کرد.

Eminians و همکاران در سال ۱۹۶۷ در استان فارس به مقایسه میزان روی در سرم خون و موی کودکان روستایی و شهری با نشانه‌های کمبود روی (آنمی و بزرگ شدن کبد) پرداختند. همچنین گروهی از کودکان سالم در هر منطقه به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. نتایج به دست آمده نشان داد که مقدار روی در سرم خون کودکان روستایی بطور معنی‌داری بسیار پایین‌تر از کودکان شهری است همچنین آنها مشاهده کردند که مقدار روی در موی کودکانی که کمبود روی داشتند کمتر از گروه کنترل است اما تفاوت معنی‌داری برای آن وجود ندارد. Azin و همکاران در سال ۱۹۹۸ میزان فلزات Ni, Fe, Cu, Pb, Zn, Se, Mn و Mg را در موی بیماران مبتلا به سرطان مری و گروهی از افراد سالم به عنوان گروه کنترل اندازه گرفتند. نتایج نشان داد که در موی بیماران مس و نیکل بطور معنی‌داری بیشتر و منیزیم و منگنز بطور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ولی مقدار سرب، روی، سلنیم و آهن تفاوت معنی‌داری بین دو گروه نداشت.

Faghihian و Rahbarnia در سال ۲۰۰۲ میزان عناصر Al، Br، Ca، Cu، Hg، I، K، Mg، Mn، Na، S، V و Zn را در موی ۱۰۰ نفر از افراد ساکن استان اصفهان بررسی کردند. آنها داده‌های به دست آمده را با تعدادی از مطالعات انجام شده مقایسه کردند و مشاهده کردند میزان عناصر در کشورهای مختلف بسیار متفاوت و مقدار ید در بین سایر کشورها بطور معنی‌داری متفاوت و وابسته به فاکتورهای محیطی

است. همچنین همبستگی قوی بین Al-V، Mn-Al، Ca-Mg و V-Mg مشاهده کردند.

علاوه بر مطالعاتی که به آنها اشاره شد در زمینه اندازه‌گیری فلزات سنگین در ایران تحقیقات بسیاری انجام شده که از جمله آنها می‌توان به اندازه گیری عناصر سنگین در لجن (خراسانی و چراغی، ۱۳۸۱.، کرمی و همکاران، ۱۳۸۶) و پساب فاضلاب (نظری و همکاران، ۱۳۸۵)، تالاب انزلی (سرتاج و همکاران، ۱۳۸۴.، بابایی و همکاران، ۱۳۸۶)، سواحل بندر عباس(ربانی و همکاران، ۱۳۸۶.، خراسانی و همکاران، ۱۳۸۴)، ارزیابی میزان مواجهه شاغلین صنایع ذوب روی شهر زنجان (گلبابایی و همکاران، ۱۳۸۴)، کودکان ۱۱-۶ ساله سمنانی (فرانوش و همکاران، ۱۳۸۲) و آلودگی سرب در اطراف صنایع نفت و پتروشیمی واقع در اطراف شیراز با تجزیه موی گاو (پورجعفر و بدیعی، ۱۳۸۴) اشاره کرد. همچنین در این زمینه در شهرستان لنجان اندازه‌گیری سرب، روی و نیکل در اراضی کشاورزی بین ذوب آهن و فولاد مبارکه (اسدی، ۱۳۸۲.، بقایی، ۱۳۸۲)، اندازه‌گیری فلزات سنگین در فاضلاب ذوب آهن اصفهان (حسین زاده، ۱۳۸۱)، پراکنش آهن، روی و سرب در خاک و محصولات کشاورزی در منطقه استقرار مجتمع فولاد مبارکه (هودجی و جلالیان، ۱۳۸۳) و میزان جذب فلزات سنگین توسط محصولات کشاورزی در اطراف معادن سرب و روی ایرانکوه در دشت لنجان (قاضی فرد و شریفی، ۱۳۸۲) اشاره کرد اما تحقیقی که در این منطقه خطر مواجهه با این عناصر را با استفاده از نمونه‌های بیولوژیک ارزیابی کند، یافت نشد. در رابطه با اندازه‌گیری این عناصر در نمونه مو در این منطقه می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

وجود صنایع مختلف در شهرستان لنجان این منطقه را به یک قطب صنعتی تبدیل کرده به همین دلیل امکان مواجهه افراد ساکن این منطقه با آلاینده‌هایی مانند فلزات سنگین وجود دارد.. با توجه به مطالعات انجام شده که در بالا به آنها اشاره شده و از آنجا که مو شاخص خوبی برای ارزیابی آلودگی محیط است، در این تحقیق بر آن شدیم تا میزان مواجهه افراد با فلزات سنگین را با اندازه‌گیری این عناصر در موی آنها ارزیابی کرده و با منطقه غیر صنعتی چادگان به عنوان گروه کنترل مقایسه کنیم. برای انتخاب گروه هدف از آنجا که کودکان و نوزادان بیشتر در معرض خطرات ناشی از این آلاینده‌ها هستند و نوزادان در ۶ ماه اول زندگی خود فقط از شیر مادر تغذیه می‌کند و همچنین از آنجا که یکی از

راه‌های دفع فلزات از بدن مادر شیردهی است گروه هدف را از مادرانی انتخاب کردیم که نوزاد ۶-۱ ماهه داشتند. لذا با در نظر گرفتن همه این موارد فرضیات زیر را برای این پژوهش مطرح کردیم:

۱- میزان فلزات سنگین سرب و کادمیم در موی مادران ساکن در شهرستان لنجان نسبت به شهرستان چادگان بیشتر بوده و این تفاوت معنی‌دار است.

۲- با افزایش غلظت عناصر کادمیم و سرب، میزان عناصر ضروری(Fe, Cu, Ca و Zn) به شکل معنی‌داری کاهش می‌یابد.

۳- میزان عناصر سمی مورد مطالعه در موی مادران با دوران شیردهی مادران رابطه معنی داری دارد.

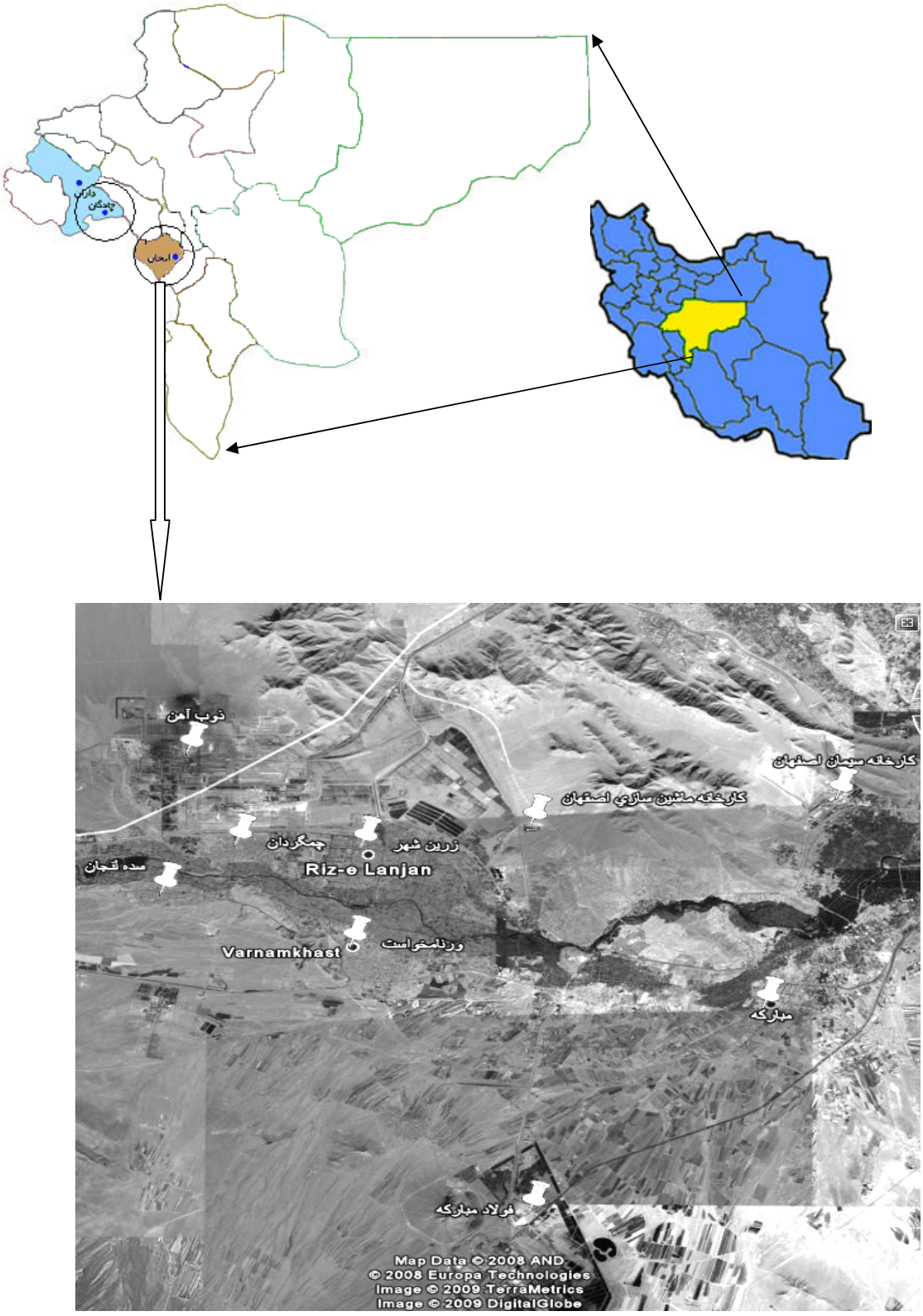
همانگونه که اشاره شد اندازه‌گیری فلزات مورد مطالعه در این تحقیق در نمونه مو در ایران انجام شده اما استفاده از نمونه مو برای ارزیابی آلودگی محیط در یک منطقه صنعتی است تاکنون صورت نگرفته است. همچنین انتخاب مادران شیرده به عنوان گروه هدف نیز یکی دیگر از نوآوری‌های این تحقیق محسوب می‌شود که این مورد برای اولین بار در ایران انجام می‌شود.

فصل سوم
مواد و روش‌ها

۳-۱ معرفی منطقه

شهرستان لنجان در جنوب غرب استان اصفهان و ۳۵ کیلومتری شهرستان اصفهان با مساحت ۱۰۹۶/۳۷۵کیلومتر مربع بین۵۰ درجه و ۵۶ دقیقه تا ۵۱ درجه و ۲۸ دقیقه طول شرقی و ۳۲ درجه و ۳۲ دقیقه عرض شمالی در مسیر جاده اصفهان- مبارکه و ما بین صنایع ذوب آهن و فولاد مبارکه قرار گرفته و بنابر سرشماری سال ۱۳۸۵ جمعیت آن برابر با ۲۲۶۷۵۶ نفر است. این شهرستان از شمال به شهرستان‌های نجف‌آباد، از جنوب و غرب به استان چهار محال بختیاری و از شرق به شهرستان‌های مبارکه و فلاورجان محدود می‌شود و شامل ۸ شهر با نام‌های زرین‌شهر، سده لنجان، چمگردان، ورنامخواست، فولادشهر، زاینده‌رود، چرمهین و باغبهادران می‌باشد. بخش عمده خاک لنجان را کوهپایه‌ها اشغال کرده‌اند. در شمال منطقه کوههای زردمطبا و گاوپیشه قرار دارند که با جهت شمال غربی به جنوب شرقی این شهرستان را از شهرستان نجف آباد جد ا می‌کند. در شمال شرقی رشته کوه کوه‌سیاه و در شرق نمتک شهرستان را از شهرستان‌های فلاورجان و مبارکه جدا می‌کنند.

زرین شهر مرکز شهرستان لنجان بوده و در بخش مرکزی این شهرستان و در۴۱ کیلومتری شهر اصفهان واقع است. این شهر که در مسیر راه ارتباطی اصفهان به شهرکرد قرار دارد از شمال به گاو پیسه و فولادشهر، از جنوب به رودخانه زاینده‌رود و ورنامخواست، از شرق به دیزیچه و بداغ آباد و از غرب به چمگردان محدود شده است. چمگردان از دیگر شهرهای شهرستان لنجان است که در حدود ۶۰۰ متری مرکز شهرستان و ۴۵ کیلومتری اصفهان، در جنوب کارخانه ذوب آهن قرار دارد و از شرق به زرین شهر، از جنوب به رودخانه زاینده‌رود و ازغرب به محوطه متعلق به کارخانه ذوب‌آهن محدود می‌شود. شهر سده لنجان در فاصله ۵۰ کیلومتری جنوب غرب اصفهان قرار گرفته است و شمال به رودخانه زاینده‌رود، از



شکل ۳-۱ موقعیت جغرافیایی منطقه مورد مطالعه

جنوب به مجتمع صنایع نظامی، از شرق به ورنامخواست و از غرب به محلات بهجت آباد و کله مسلمان محدود است و با اتکا به رودخانه زاینده‌رود به عنوان تنها منبع آب سطحی منطقه از نواحی پر رونق کشاورزی در شهرستان محسوب می‌گردد.

صنایع این شهرستان شامل ذوب‌آهن اصفهان، کارخانه زرین خودرو، صنایع دفاع، مجتمع فولاد مبارکه، قطران زغال‌سنگ، کارخانه سیمان سپاهان و کارخانه نوید منگنز است. طبق مطالعات انجام گرفته فاضلاب و پساب این صنایع تا حد زیادی آلوده به فلزات سنگین از جمله کادمیم، سرب و جیوه هستند که به محیط زیست وارد شده و موجب آلودگی خاک، آب‌های زیرزمینی منطقه و آب‌های سطحی زاینده رود می‌شود.

۳-۲ جمع آوری نمونه‌ها

جمع‌آوری نمونه از آبان ۸۶ تا اردیبهشت ۸۷ به طول انجامید. برای جمع آوری نمونه‌های مو پس از انجام هماهنگی‌های لازم، با مراجعه به مراکز بهداشت مستقر در شهرستان لنجان و صحبت با مادران مراجعه کننده که نوزادان ۱ تا ۶ ماهه داشتند، یک دسته مو از ناحیه پشت گردن و نزدیک پوست آنها چیده و هر نمونه در پاکت پلی‌اتیلنی جداگانه قرار داده شد. همراه با جمع‌آوری نمونه داوطلب‌ها پرسشنامه‌ای را که به آنها تحویل داده شده بود پر می‌کردند که هر پرسشنامه دارای یک کد منحصر به فرد، شماره پرونده مرکز بهداشت و تاریخ نمونه برداری و دارای سه بخش اطلاعات مربوط به مادر، کودک و شرایط عمومی زندگی بود. مشخصات مادر شامل نام و نام خانوادگی، سن، شغل، تحصیلات، وضعیت سلامتی، مصرف دارو، مدت زمان زندگی در منطقه، مصرف مواد دخانی، نوع و زمان شستشوی مو بود. اطلاعات مربوط به کودک شامل سن، جنس، فرزند چندم، وضعیت سلامتی و استفاده از مواد غذایی کمکی می‌شد. سایر اطلاعات مربوط به مصرف مواد دخانی در خانه توسط دیگران، منبع گرمایشی خانه، منبع آب آشامیدنی و نوع تغذیه بود و در انتهای هر پرسشنامه نیز آدرس محل سکونت و شماره تماس داوطلب یادداشت شد. پس از کامل شدن هر پرسشنامه و نمونه برداری، پاکت حاوی نمونه و پرسشنامه