

Validasi Metoda Pengujian Metil Merkuri (Me-Hg) dalam Matrik Biomarker Rambut Manusia menggunakan Kromatografi Gas Electron Capture Detector (GC-ECD)

Validation of Methyl Mercury (Me-Hg) Testing Method in Human Hair Biomarker Matrix using Gas Chromatography Electron Capture Detector (GC-ECD)

Yunesfi Syofyan, Siti Masitoh, Sri Endah Kartiningsih, dan Nurmalia Safitri

Pusat Standardisasi Instrumen Kualitas Lingkungan Hidup. Kawasan Sains Teknologi BJ Habibie BRIN
Gedung 210 Jalan Raya Serpong Tangerang Selatan.15314 Banten

E-mail: yunes_sy@yahoo.com

Diterima 13 Oktober 2023, direvisi 23 Oktober 2023, disetujui 23 Oktober 2023

ABSTRAK

Pengujian Metil Merkuri (Me-Hg) dalam Matrik Biomarker menggunakan Kromatografi Gas Electron Capture Detector (GC-ECD). Merkuri (Hg) merupakan salah satu logam berat yang sangat berbahaya bagi kesehatan dan lingkungan hidup karena bersifat toksik, persisten, bioakumulasi dan dapat berpindah dalam jarak jauh di atmosfer. Hg dapat berupa senyawa anorganik dan organik. Salah satu senyawa merkuri organik berbahaya adalah metilmerkuri (Me-Hg). Me-Hg terbentuk dari merkuri anorganik oleh aktivitas organisme anaerob dalam sistem perairan. Pengujian Me-Hg dalam matriks biomarker dilakukan pada sampel rambut manusia, sebagai bagian dari kajian pencemaran lingkungan. Manusia terkontaminasi Hg dari berbagai sumber, namun apabila melalui jalur makanan biasanya pengujian Me-Hg ditentukan melalui pengukuran sampel rambut. Laboratorium Pusat Standardisasi Instrumen dan Kualitas Lingkungan Hidup (PSIKLH) melakukan validasi pengujian Me-Hg dalam sampel biomarker berupa rambut dengan mengadopsi metode yang dilakukan oleh Laboratorium *IDEA Consultant Inc.* Jepang. Kegiatan dilakukan pada bulan Mei – Desember 2022. Terdapat penggantian pelarut dari toluena menjadi *dichloromethane* (DCM) dan juga terdapat perlakuan awal terhadap kolom dengan penambahan *Methanolic-hydrobromic acid* (MeOH-HBr) 0,3 mM. Validasi dilaksanakan dengan memperhatikan aspek penentuan kurva kalibrasi, linieritas, limit deteksi metode dan limit kuantifikasi, akurasi, presisi, dan ketahanan metode. Pengujian dilakukan dengan menggunakan CRM NIMD 01 yang memiliki kisaran konsentrasi $0,563 \pm 0,0705$ mg/kg. Hasil validasi laboratorium PSIKLH menunjukkan limit deteksi sebesar 0,08 mg/kg, limit kuantifikasi sebesar 0,3 mg/kg, dengan nilai akurasi dan presisi memenuhi keberterimaan yang dipersyaratkan.

Kata kunci: Metil merkuri, kromatografi gas, diklorometan, validasi, rambut manusia.

ABSTRACT

Testing of Methyl Mercury (Me-Hg) in Biomarker Matrix using Gas chromatography Electron Capture Detector (GC-ECD). Mercury (Hg) is one of heavy metals that is very dangerous for health and the environment due to its toxicity, persistency, bioaccumulation, and transportable in long distances in the atmosphere. Hg could be in the form of inorganic and organic compound. One of the the dangerous organic mercury compound is methyl mercury (Me-Hg). Me-Hg was formed from inorganic mercury by anaerobic organism's activity in aquatic system, Testing of Me-Hg in biomarker matrix was conducted using human hair samples, as a part of environmental pollution study. Human are contaminated with Hg from various sources, however, if it is through food route, testing of Me-Hg is usually determined by its content in hair samples. Laboratory of Center

for Standardization of Environment Quality Instruments validated testing of Me-Hg in biomarker matrix using human hair; by adopting the method carried out by IDEA Consultant Inc. Laboratory Japan. The activities were conducted in May – December 2022. There was a solvent change from toluene to dichloromethane (DCM) and there was also pretreatment applied to column with the addition of 0.3 mM Methanolic-hydrobromic acid (MeOH-HBr). Validation was accomplished by paying attention to aspects of determining of calibration curve, linearity, method detection limit and limit of quantification, accuracy, precision, and the ruggedness of the method. Testing was carried out using CRM NIMD 01 with concentration range of $0.563 \pm 0,0705$ mg/kg, The result of validation from laboratory of PSIKLH showed method detection limit of 0.08 mg/kg, limit of quantification of 0.3 mg/kg, with accuracy and precision values satisfied the required acceptance.

Keywords: Methyl mercury, gas chromatography, dichloromethane, validation, human hair

1. Pendahuluan

Merkuri (Hg) merupakan salah satu logam berat yang sangat berbahaya bagi kesehatan dan lingkungan hidup karena bersifat toksik, persisten, bioakumulasi dan dapat berpindah dalam jarak jauh di atmosfer (Koenigsmarck *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021). Merkuri berada dalam bentuk anorganik (unsur atau logam) dan organik, dimana salah satu senyawa organik yang berbahaya adalah metil merkuri (Me-Hg) dengan rumus kimia CH_3Hg^+ (Council, 2000). Kation ini bermuatan positif sehingga mudah bereaksi dengan anion seperti nitrat (NO_3^-) dan klorida (Cl^-) (Mendes *et al.*, 2021).

Me-Hg merupakan salah satu zat pencemar yang terbentuk dari merkuri anorganik oleh aktivitas organisme anaerob yang hidup di sistem perairan termasuk danau, sungai, tanah dan laut. Hg bersifat neutrotoksin dan masuk ke ekosistem akuatik melalui deposisi atmosferik maupun bersumber dari eksternalisasi limbah industri (Pino *et al.*, 2018). Proses metilasi mengubah merkuri anorganik menjadi organik merkuri dalam lingkungan alam sehingga memiliki toksisitas lebih besar dibandingkan dengan bentuk anorganiknya. Senyawa organomerkuri cepat terdekomposisi kembali menjadi merkuri anorganik dan juga mempunyai afinitas terhadap lipid dalam tubuh organisme sehingga

merkuri cenderung lebih terakumulasi dan terbiomagnifikasi dibandingkan bentuk logam berat lainnya (Jia *et al.*, 2018). Hg diakumulasi oleh organisme akuatik dalam bentuk metil merkuri atau ion Hg^{2+} pada seluruh tingkatan jejaring makanan (Haraguchi *et al.*, 2020).

Me-Hg bersifat *bioavailable* dan dapat masuk ke dalam rantai makanan, memiliki afinitas tinggi untuk anion yang mengandung sulfur. Me-Hg adalah bentuk kimia utama dari spesi Hg pada rambut (80%-90%) pada populasi umum (Akagi *et al.*, 1995; Haraguchi *et al.*, 2020). Me-Hg mulai menjadi perhatian sejak kecelakaan yang terjadi di Teluk Minamata, Jepang. Keracunan Me-Hg memiliki gambaran klinis yang diklasifikasi sebagai akut atau kronis, berdasarkan gejala yang diamati pada pasien yang tinggal di sekitar telur sumber polusi (industri) dan pada pasien yang tinggal di pantai Laut Shiranui. Kedua populasi tersebut telah mengkonsumsi ikan yang terkontaminasi selama hampir 20 tahun lebih (Santos Serrão de Castro & de Oliveira Lima, 2018).

Paparan Me-Hg dapat diperkirakan dengan mengukur kadar Hg dalam cairan dan jaringan tubuh seperti darah, rambut, tali pusat, dan kuku (Mergler *et al.*, 2007). Rambut adalah matriks biomonitoring yang paling banyak diteliti untuk Me-Hg karena pengujiannya bersifat non *invasif* (Manceau

et al., 2016). Rambut mempertahankan Hg dengan baik dimana kadar Me-Hg tetap konstan dalam sampel rambut selama bertahun-tahun di bawah kondisi kering dan gelap pada suhu kamar (Dórea *et al.*, 2011; Mikulewicz *et al.*, 2013).

Kajian ini bertujuan untuk memastikan bahwa laboratorium PSIKLH mampu melakukan pengujian Me-Hg menggunakan GC ECD sekaligus mendapatkan nilai MDL dan LoQ parameter Me-Hg dalam sampel biomarker. Dengan adanya peningkatan kapasitas laboratorium pengujian untuk melakukan analisis Hg ini terutama untuk parameter Me-Hg, diharapkan dapat menunjang rencana aksi nasional pengurangan dan penghapusan merkuri (RAN PPM) di Indonesia ("P.81/MENLHK/SETJEN/KUM.1/10/2019", 2019).

Meski banyak pilihan metode analisis untuk pengujian Me-Hg, kajian ini dilakukan menggunakan kromatografi gas ECD (Haraguchi *et al.*, 2022; Haraguchi *et al.*, 2020; Puk & Weber, 1994). ECD beroperasi sesuai dengan prinsip penyerapan fase gas elektron bebas dengan molekul penangkap elektron. Dalam melakukan pengujian, laboratorium harus menggunakan metode yang tepat, sesuai dengan maksud pengujian. Setelah melakukan pemilihan metode, laboratorium melakukan pengujian kesesuaian metode. Kesesuaian metode yang akan diterapkan untuk pengujian rutin dinilai melalui studi validasi metode (BSN,

2017). Parameter yang digunakan dalam validasi metode yaitu ketepatan (akurasi), presisi, rpitabilitas, linieritas, MDL (*Method Detection Limit*), LoQ (*Limit of Quantitation*) serta *ruggedness* (ketahanan) (Magnusson, 2014). Hasil validasi metode yang telah memenuhi syarat keberterimaan menunjukkan bahwa metode tersebut valid dan dapat digunakan di laboratorium (AOAC, 2016).

2. Metodologi

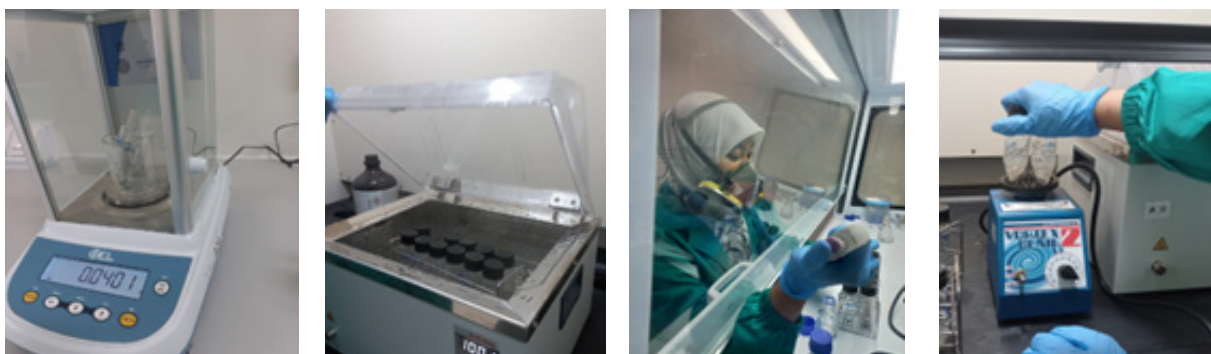
Pengujian mengacu pada metode *in house* yang dikembangkan oleh laboratorium *IDEA Consultant Inc.* Kegiatan pengujian dilakukan di laboratorium Merkuri dan Metrologi PSIKLH Serpong bulan Mei – Desember 2022.

2.1. Peralatan dan Bahan

Alat yang akan digunakan antara lain gunting, kertas, plastik, gelas piala, gelas ukur, kaca arloji, neraca analitik, pipet, centrifuge, rak tabung, *syringe*, *vial* 2 ml, GC ECD Thermo Scientific 1310. Bahan yang digunakan adalah standar Me-HgCl₂, CRM *National Institute for Minamata Disease* (NIMD-01), *Dichloromethane* (DCM), etanol, HCl 37%, HBr, CH₃COOH, gas Helium (He) UHP dan gas Nitrogen (N₂).

2.2. Prosedur

Sebanyak 40 mg sampel rambut ditambahkan etanol dan HCl, lalu



Sumber: PSIKLH (2022)

Gambar 1. Pengujian Me-Hg

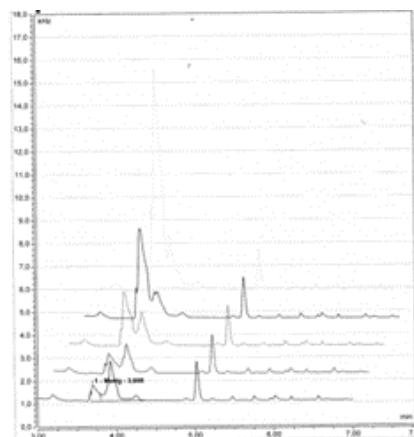
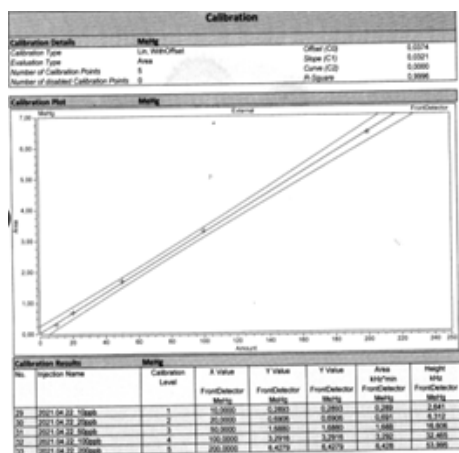
dipanaskan dalam penangas air selama 5 menit, kemudian diekstraksi dengan toluena sehingga terbentuk lapisan organik dan dianalisis menggunakan GC ECD Thermo Scientific 1310 dengan kondisi operasional kolom kapiler TC-17MS, carrier gas: He UHP, gas N₂, suhu injector dan detector 250°C, kecepatan alir gas 1,8 L/menit, suhu kolom 80°C selama 1 menit, suhu level 1 180°C dengan kecepatan 10°C/menit dan suhu level 2 220°C dengan kecepatan 5°C/menit.

3. Hasil dan Pembahasan

Pengujian metil merkuri mengadopsi metode yang sudah dilakukan oleh laboratorium *IDEA Consultant Inc.* (2017) sehingga laboratorium PSIKLH perlu memvalidasi metode yang digunakan. Metode yang digunakan *IDEA Consultants Inc.* ini menggunakan toluena sebagai pelarut. Dalam pembuatan kurva kalibrasi, peak yang dihasilkan tidak tajam dan masih muncul *tailing* pada ujung peak seperti terlihat pada Gambar 2. Melalui *trial and error* dilakukan pengujian standar MeHgCl₂ dengan menggunakan berbagai pelarut dan beberapa metode untuk preparasi standar, selanjutnya injeksi kurva kalibrasi dilakukan setelah pretreatment kolom dengan injeksi 1 µL larutan 0,3 mM MeOH-HBr sesuai kajian sebelumnya (Mizuishi *et al.*, 1997). *Peak* kurva kalibrasi yang didapat agak

tajam dan masih muncul *tailing* pada ujung *peak*, seperti terlihat pada Gambar 3. Pembuatan kurva kalibrasi selanjutnya dilarutkan dengan DCM sesuai dengan *Certificate of Analysis (CoA) Methylmercury (II) chloride*. *Peak* yang dihasilkan tajam dan tanpa *tailing*. Pengukuran deret standar tersebut juga dilakukan setelah pretreatment kolom dengan 0,3 mM MeOH-HBr. Hasil kromatogram pada pengujian tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.

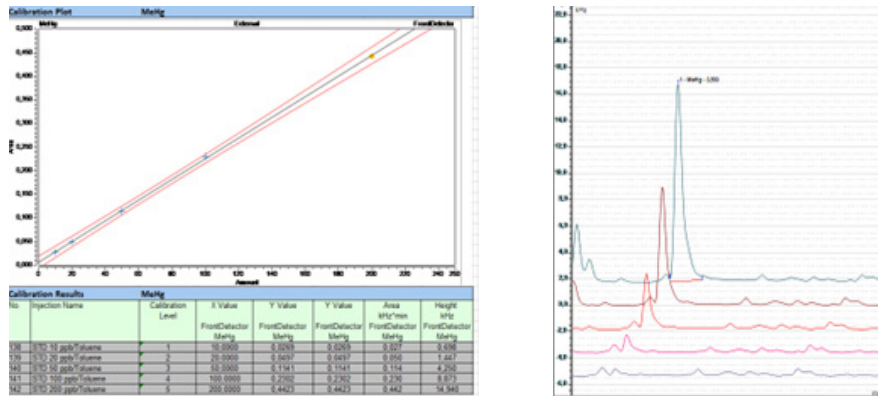
Manusia dapat terkontaminasi Hg dalam berbagai bentuk dari sumber yang bervariasi. Bila sumbernya berasal dari konsumsi makanan seperti ikan, atau tumbuhan yang terkontaminasi Hg, maka biasanya dilakukan pengukuran kontaminan melalui sampel rambut (Manceau *et al.*, 2016). *National Institute for Minamata Disease* memproduksi CRM rambut dan urin yang digunakan untuk keperluan jaminan mutu mengacu pada ISO Guide 35 (NIMD, 2014). NIMD-01 human hair yang berbentuk bubuk abu-abu dan disterilisasi menggunakan γ -ray irradiation memiliki *certified values* yang tertelusur ke *International System of Units (SI)*, terdiri dari elemen Me-Hg, T-Hg, Cu, Se, dan As. Nilai Me-Hg dalam CRM tersebut adalah 0,563-0,705 mg/kg menggunakan metode analisis GC ECD, HPLC *chemiluminescence*, dan *ethylation GC cold vapor atomic fluorescence* (NIMD, 2014).



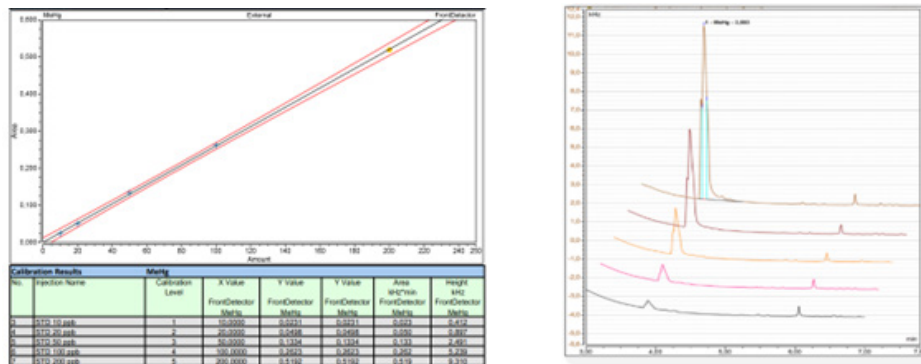
Gambar 2. Kromatogram kurva kalibrasi Me-Hg dengan pelarut toluena

Validasi yang dilakukan tahap pertama dengan membuat deret standar untuk kurva kalibrasi penentuan linearitas. Linieritas pada validasi dilakukan dengan cara mengukur konsentrasi Me-Hg dalam larutan deret standar yang diukur pada masing-masing konsentrasi. Hasil validasi pengujian

berupa kurva kalibrasi, pengecekan linearitas menggunakan Anova, perhitungan limit deteksi, akurasi dan presisi, serta *ruggedness* disajikan dalam Tabel 1, Tabel 2, Tabel 3, Tabel 4, Tabel 5, dan Tabel 6.



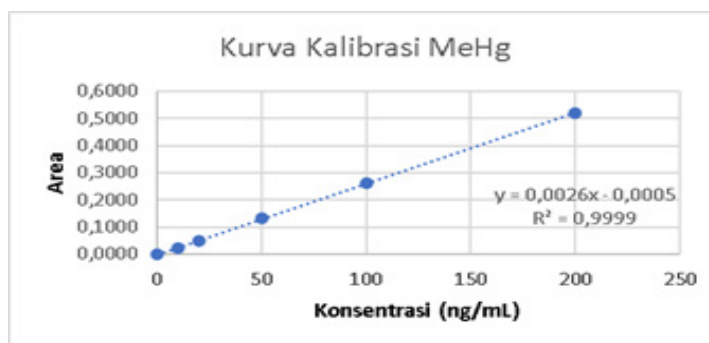
Gambar 3. Kromatogram kurva kalibrasi Me-Hg dengan pelarut toluena setelah *pretreatment* kolom



Gambar 4. Kromatogram kurva kalibrasi Me-Hg menggunakan pelarut DCM

Tabel 1. Kurva kalibrasi

Konsentrasi (ng/L)	Area
0	0,0000
10	0,0230
20	0,0500
50	0,1330
100	0,2620
200	0,5190
Method slope	0,0026
Intercept	-0,0005
Correlation determination (R)	0,9999
Correlation coefficient (r)	0,9999
Batas keberterimaan	$r \geq 0,995$



Sumber: Data Primer (2022)

Gambar 5. Kurva Kalibrasi Me-Hg

Tabel 2. Analysis of variance (Anova)

<i>Regression Statistics</i>					
Multiple R	0,999933479				
R Square	0,999866963				
Adjusted R Square	0,999833704				
Standard Error	0,002555547				
Observations	6				
<i>ANOVA</i>					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	0.19633538	0.19633538	30062.91	6.63732E-09
Residual	4	2.6123E-05	6.5308E-06		
Total	5	0.1963615			

Tabel 3. Hasil Penentuan *Method Detection Limit* (MDL) dan *Limit of Quantitation* (LOQ)

Pengulangan SRM	Bobot kering (g)	Kons Alat (ng/mL)	Kons hasil Uji (mg/kg)	Trueness (%)	Bias
1	0,0400	11,9870	0,5994	94,53	5,47
2	0,0400	13,3260	0,6376	100,57	0,57
3	0,0400	11,7380	0,5869	92,57	7,43
4	0,0400	13,0270	0,6233	98,31	1,69
5	0,0400	12,1070	0,5929	93,52	6,48
6	0,0400	12,5540	0,6007	94,74	5,26
7	0,0400	13,2100	0,6605	104,18	4,18
Rerata			0,6145	96,92	4,44
Standar Deviasi (SD)			0,0270		
MDL = 3,14 x SD			0,0762		
LOQ = 10 x SD			0,2701		
%RSD			4,3954		
Batas Keberterimaan					
1) %Rec =80-110%	%		96,92 %		Diterima
2) %RSD ≤ nilai	Horwitz		4,395 < 17,217		Diterima
Kesimpulan MDL					0,076 mg/kg
Kesimpulan LOQ					0,270 mg g/kg

Tabel 4. Hasil Penentuan Presisi dan Akurasi

Ulangan	Hasil Analisis 1 (mg/kg)	Hasil Analisis 2 (mg/kg)
1	0,599	0,596
2	0,638	0,565
3	0,587	0,602
4	0,623	0,556
5	0,601	0,593
6	0,579	0,601
7	0,590	0,661
Rata-rata	0,602	0,596
Standar deviasi (SD)	0,021	0,034
%RSD	3,471	5,659
Nilai Horwitz	17,268	17,296
Repitabilitas analisis 1		
%RSD \leq 0,67 nilai Horwitz	1,4706 < 11,5697	
Repitabilitas analisis 2		
%RSD \leq 0,67 nilai Horwitz	5,6588 < 8,6480	
Repitabilitas	DITERIMA	
Grand Mean	0,599	
Standar Deviasi (SD)	0,0397	
%RSD	6,6223	
Nilai Horwitz	17,2821	
Reprodusibilitas	DITERIMA	
% RSD \leq nilai Horwitz	6,6223 < 17,2821	
Reprodusibilitas	DITERIMA	
Akurasi	94,5 %	
Batasan Akurasi	80 – 110 %	
Akurasi	DITERIMA	
Bias	5,48	

Tabel 5. Penentuan *ruggedness*

Pengulangan Pengujian Sampel	Hasil Pengujian (mg/L)	
	Suhu 90°C	Suhu 100°C
Spl-01	41,209	37,685
Spl-02	41,901	43,148
Spl-03	41,775	39,982
Spl-04	41,922	45,182
Spl-05	43,354	43,973
Spl-06	41,596	39,608
Spl-07	40,603	38,738
Rerata	41,766	41,188
Standar Deviasi (SD)	0,8422	2,8802
RSDr	2,02	6,99
Grand mean	41,48	
SD_R	2,06	
RSD_R	4,97	
Horwitz Value (PRSD_R)	9,133	
Batas Keberterimaan	RSDr < 0.5PRSD_R	
	1.84 < 9.21	

Tabel 5. Lanjutan

Evaluasi:

$$sd_g = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)sd_1^2 + (n_2 - 1)sd_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} = 2,8990$$

$$t_{hitung} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{sd_g \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} = 0,373$$

$$t_{tabel} = t_{(0,05/2; n_1+n_2 - 2)} = t_{(0,025; 13)} = 2,56003296$$

t hitung < t tabel: maka **data tidak berbeda nyata**

Tabel 6. Kesimpulan validasi metode pengujian Me-Hg pada sampel biomarker

Parameter	Batas Keberterimaan	Hasil validasi	Keterangan
Linearitas	$r \geq 0,995$	0,9999	Diterima
Limit Deteksi	LoQ	0,3 mg/kg	
	MDL	0,08 mg/kg	
Presisi	Repitibilitas	%RSD ≤ 0,67 nilai Horwitz	3,4706 < 11,5697 Diterima
	Reprodusibilitas	%RSD ≤ nilai Horwitz	6,6223 < 17,2821 Diterima
Akurasi	80-110%	94,5%	Diterima
<i>Ruggedness</i>	$t_{hitung} < t_{tabel}$	0,373 < 2,56	Diterima

Hasil validasi di atas telah membuktikan kompetensi dan kemampuan laboratorium PSIKLH dalam hal pengujian Me-Hg dalam sampel biomarker. Hasil analisis CRM berupa rambut manusia memperkuat hasil validasi. Validasi pengujian Me-Hg menjadi penting karena sebagai data pendukung dalam perumusan RSNI Me-Hg dalam sampel biomarker khususnya sampel rambut.

Simpulan

Berdasarkan analisis data dapat disimpulkan bahwa laboratorium PSIKLH telah melakukan validasi metode pengujian Me-Hg dalam matriks biomarker menggunakan sampel rambut manusia. Hasil validasi menunjukkan nilai MDL sebesar 0,08 mg/kg . LoQ sebesar 0,30 mg/kg.

4. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dalam kegiatan ini, yaitu PSIKLH-KLHK yang menyediakan fasilitas, sumber daya, dan dana pemantauan, serta seluruh tim yang melakukan sampling dan analisis di masing-masing laboratorium.

5. Kepengarangan

Seluruh penulis merupakan suatu kesatuan tim tak terpisahkan yang memberikan kontribusi dalam tiap bagiannya. Penulis pertama dan kedua melakukan observasi metode, verifikasi metode, pengolahan data, dan penyusunan tulisan. Penulis ketiga dan keempat melakukan kegiatan pengujian.

Daftar Pustaka

- Akagi, H., Malm, O., Kinjo, Y., Harada, M., Branches, F. J., Pfeiffer, W. C., & Kato, H. (1995). Methylmercury pollution in the Amazon, Brazil. *Science of the Total Environment*, 175(2), 85-95.
- AOAC. (2016). Guidelines for standard method performance requirements *Appendix F*. Rockville, MD: AOAC International.
- BSN. (2017). SNI ISO/IEC 17025:2017 *Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Laboratorium Kalibrasi*. Jakarta: BSN.
- Council, N. R. (2000). Toxicological effects of methylmercury.
- Dórea, J. G., Bezerra, V. L. V., Fajon, V., & Horvat, M. (2011). Speciation of methyl- and ethyl-mercury in hair of breastfed infants acutely exposed to thimerosal-containing vaccines. *Clinica Chimica Acta*, 412(17-18), 1563-1566.
- Haraguchi, K., Akagi, H., & Matsuyama, A. (2022). Simple and sensitive method for the determination of methylmercury in hair using thin-layer chromatography with thermal decomposition gold amalgamation atomic absorption spectrophotometry. *Analytical Sciences*, 38(1), 215-221.
- Haraguchi, K., Sakamoto, M., Matsuyama, A., Yamamoto, M., Hung, D. T., Nagasaka, H., . . . Horvat, M. (2020). Development of human hair reference material supporting the biomonitoring of methylmercury. *Analytical Sciences*, 36(5), 561-567.
- IDEA Consultant Inc. (2017). Analysis of Methyl Mercury in Human Hair. Capacity Strengthening for Multimedia Mercury Monitoring. Tokyo: Japan
- Jia, Q., Zhu, X., Hao, Y., Yang, Z., Wang, Q., Fu, H., & Yu, H. (2018). Mercury in soil, vegetable and human hair in a typical mining area in China: Implication for human exposure. *Journal of Environmental Sciences*, 68, 73-82.
- Koenigsmark, F., Weinhouse, C., Berky, A. J., Morales, A. M., Ortiz, E. J., Pierce, E. M., . . . Hsu-Kim, H. (2021). Efficacy of hair total mercury content as a biomarker of methylmercury exposure to communities in the area of artisanal and small-scale gold mining in madre de dios, Peru. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(24), 13350.
- Magnusson, B. (2014). The fitness for purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation and related topics (2014): Eurachem.
- Manceau, A., Enescu, M., Simionovici, A., Lanson, M., Gonzalez-Rey, M., Rovezzi, M., . . . Bourdineaud, J.-P. (2016). Chemical forms of mercury in human hair reveal sources of exposure. *Environmental Science & Technology*, 50(19), 10721-10729.
- Mendes, V. A., de Carvalho, D. P., de Almeida, R., Recktenvald, M. C. N. d. N., Pedrosa, O. P., de Sousa-Filho, I. F., . . . Bastos, W. R. (2021). Mercury in blood, hair, and feces from subsistence fish-eating riverines of the Madeira River Basin (Western Amazon). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 67, 126773.
- Mergler, D., Anderson, H. A., Chan, L. H. M., Mahaffey, K. R., Murray, M., Sakamoto, M., & Stern, A. H. (2007). Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 36(1), 3-11.
- Mikulewicz, M., Chojnacka, K., Gedrange, T., & Górecki, H. (2013). Reference values of elements in human hair: a systematic review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 36(3), 1077-1086.
- Mizuishi, K., Takeuchi, M., & Hobo, T. (1997). Direct GC determination of methylmercury chloride on HBr-methanol-treated capillary columns. *Chromatographia*, 44, 386-392.
- NIMD. (2014). CRM / Certified Reference Materials. Retrieved from <http://nimd.env.go.jp/english/crm/>
- P.81/MENLHK/SETJEN/KUM.1/10/2019 (2019).
- Pino, A., Bocca, B., Forte, G., Majorani, C., Petrucci, F., Senofonte, O., & Alimonti, A. (2018). Determination of mercury in hair of children. *Toxicology Letters*, 298, 25-32.
- Puk, R., & Weber, J. H. (1994). Critical review of analytical methods for determination of inorganic mercury and methyl mercury

compounds. *Applied Organometallic Chemistry*, 8(4), 293-302.

Santos Serrão de Castro, N., & de Oliveira Lima, M. (2018). Hair as a biomarker of long term mercury exposure in Brazilian Amazon: a systematic review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(3), 500.

Wang, Y., Li, L., Yao, C., Tian, X., Wu, Y., Xie, Q., & Wang, D. (2021). Mercury in human hair and its implications for health investigation. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 22, 100271.