

Renata Brodzka

Małgorzata Trzcinka-Ochocka

RTĘĆ WE WŁOSACH — WSKAŹNIK NARAŻENIA ŚRODOWISKOWEGO

MERCURY IN HAIR — AN INDICATOR OF ENVIRONMENTAL EXPOSURE

Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Łódź

Zakład Zagrożeń Chemicznych

STRESZCZENIE

Stężenie rtęci we włosach jest biomarkerem przewlekłego narażenia na rtęć. Ponad 90% rtęci we włosach występuje w formie metylortęci. Narażenie na nią występuje prawie wyłącznie w wyniku spożywania potraw pochodzenia morskiego, szczególnie ryb drapieżnych i owoców morza oraz mięsa dużych ssaków morskich. W pracy zawarto informacje na temat toksycznego działania rtęci, monitoringu biologicznego narażenia na rtęć organiczną, a także poziomów biologicznych rtęci we krwi i we włosach u osób o zróżnicowanej konsumpcji ryb. W artykule przedstawiono również przegląd najczęściej stosowanych metod wstępnego przygotowania próbek i metod używanych do oznaczeń stężeń rtęci we włosach. Zaprezentowano parametry walidacyjne metody oznaczenia rtęci we włosach opracowanej i stosowanej w Instytucie Medycyny Pracy im. prof. w Łodzi. Med. Pr. 2009;60(4):303–314

Słowa kluczowe: rtęć, włosy, narażenie, środowisko

ABSTRACT

Mercury concentration in human hair is used as an indicator of long-term environmental exposure to mercury. Over 90% of mercury in hair occur in the methylmercury form. Exposure to mercury almost entirely results from the consumption of seafood and meat of big sea mammals. This paper presents a review of toxic effects of mercury, biological monitoring of exposure to mercury and biological levels of mercury in hair and blood of people consuming a variety of fish diets. It also describes the methods most often used for preliminary sample preparation and applied to determining mercury hair levels. Validation parameters of the method for the determination of mercury in hair, developed and applied by the Nofer Institute of Occupational Medicine, is also presented. Med Pr 2009;60(4):303–314

Key words: mercury, hair, exposure, environment

Adres autorek: Zakład Zagrożeń Chemicznych, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera,
ul. św. Teresy 8, 91-348 Łódź, e-mail: brodzka@imp.lodz.pl

Nadesłano: 11 maja 2009

Zatwierdzono: 28 maja 2009

WSTĘP

Rtęć występuje w środowisku powszechnie. Wykorzystywana jest głównie w przemyśle drzewnym i papierniczym oraz w elektrolizie otrzymywania chloru. Metaliczna rtęć szczególnie często znajduje zastosowanie w urządzeniach pomiarowych, takich jak termometry czy barometry, natomiast pary rtęci ciągle stosowane są w różnego typu lampach.

Rtęć może ulegać pobraniu do organizmu drogą inhalacyjną, a także z żywnością i z wodą. Główne źródło narażenia na rtęć metaliczną (Hg^0) stanowi powietrze i wypełnienia amalgamatowe, na nieorganiczne związki rtęci — żywność (głównie, inna niż ryby) i woda pitna, a na metylortęć ($MeHg$) — ryby i owoce morza. Innymi źródłami pozazawodowego narażenia na rtęć mogą być kosmetyki i środki gospodarstwa domowego. Źródłem narażenia na rtęć w mieszkaniach i szpitalach były w przeszłości pęknięte termometry rtęciowe. Sto-

matolodzy są narażeni na rtęć w wyniku stosowania amalgamatu do wypełnień zębów (1–3).

W naturalnych warunkach Hg^0 utlenia się powoli do jonów rtęci (I), a potem do rtęci (II), a następnie tworzy związki metylortęci (I) (CH_3Hg^+) lotne w temperaturze pokojowej. Związki metylortęci (I) są lipofilowe i mogą być pochłaniane przez plankton, a później przez skorupiaki i ryby. Metylortęć gromadzi się w tkance tłuszczowej organizmów żywych. Zakumulowana w rybach dostaje się do obiegu pokarmowego człowieka. W 1953 roku spożycie ryb skażonych rtęcią, pochodzącą z wytwórni acetyleny, spowodowało w wielu wypadkach ostre, śmiertelne zatrucie rtęcią mieszkańców zatoki Minamata (2).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE RTĘCI

Ludzie są narażeni na różne formy rtęci charakteryzujące się odmiennym działaniem toksycznym. W przypadku narażenia na $MeHg$ narządem krytycznym jest



mózg, który jest szczególnie wrażliwy w czasie swego rozwoju. W przypadku narażenia na pary rtęci atomowej, narządami krytycznymi są mózg i nerka, natomiast w narażeniu na związki rtęci nieorganicznej narządem krytycznym jest nerka. Zarówno MeHg jak i pary rtęci atomowej łatwo przenikają bariery krew/mózg oraz krew/łożysko (4–6,2). Narażenie na metylortęć występuje prawie wyłącznie z powodu spożywania potraw pochodzenia morskiego, szczególnie ryb drapieżnych i dużych ssaków morskich, ponieważ generalnie żywność zawiera niewielkie ilości MeHg i rtęci nieorganicznej (7). Wypełnienia amalgamatowe w zębach uwalniające pary rtęci atomowej są głównie źródłem narażenia populacji generalnej na rtęć atomową (8).

W przewodzie pokarmowym metylortęć (MeHg) jest wchłaniana z wydajnością około 95%, rtęć nieorganiczna (Hg^{2+}) około 7% i rtęć atomowa (Hg^0) poniżej 0,01%. Wchłanianie par rtęci atomowej w płucach wynosi około 80%. W tkankach MeHg podlega wolnemu procesowi demetylacji do rtęci nieorganicznej (Hg^{2+}). We krwi pary rtęci atomowej (Hg^0) są szybko utleniane do rtęci nieorganicznej (Hg^{2+}) za pomocą enzymu katalazy (9). Stężenia całkowitej rtęci we krwi są często uważane za wskaźnik narażenia na MeHg osób spożywających ryby przy założeniu, że narażenie na rtęć nieorganiczną oraz na stężenia rtęci nieorganicznej we krwi są niskie (10,11).

W narażeniu na metylortęć we krwi ponad 90% MeHg jest związana z hemoglobina w czerwonych ciałkach krwi, natomiast w narażeniu na rtęć nieorganiczną rtęć jest bardziej równomiernie podzielona między czerwone krwinki a osocze (12,9). Z tego powodu pomiar stężeń całkowitej rtęci we krwi pełnej może prowadzić do przeszacowania narażenia na MeHg, a pomiar stężeń całkowitej rtęci w osoczu może prowadzić do przeszacowania narażenia na rtęć nieorganiczną (9).

Stężenie rtęci we włosach jest biomarkerem przewlekłej ekspozycji na metylortęć, zakładając, że > 90% rtęci we włosach występuje w formie MeHg. Według Berglund tylko około 9% rtęci we włosach występuje w postaci rtęci nieorganicznej, co jest raczej rezultatem ekspozycji na MeHg i demetylacji MeHg we krwi niż narażenia na rtęć nieorganiczną (13,9). Rtcę wbudowywana jest do włosów w czasie tworzenia się mieszków włosowych i jej stężenie we włosach jest związane ze stężeniami we krwi.

Stężenia całkowitej rtęci (T-Hg) w moczu są wskaźnikiem ekspozycji na rtęć nieorganiczną, ponieważ metylortęć jest wydalana głównie z żółcią (jako kompleks z glutationem) i z kałem (około 90% jako rtęć nieorga-

niczna), i tylko w niewielkim procencie (około 10%) z moczem (jako rtęć nieorganiczna, I-Hg) (14,2).

Związki alkilortęciowe u człowieka powodują patologiczne zmiany ośrodkowego układu nerwowego, głównie w ziarnistej warstwie mózdzku. Efekty wywołane działaniem MeHg u osób dorosłych różnią się zarówno w sensie jakościowym, jak i ilościowym od efektów obserwowanych u noworodków po narażeniu w okresie ciąży lub poporodowym. Układem krytycznym jest układ nerwowy, natomiast efektami krytycznymi mogą być u osób dorosłych parestezja (samoistne wrażenia czuciowe), a u noworodków zaburzenia w rozwoju neurologicznym. Płód jest wyjątkowo wrażliwy. Ekspozycja w czasie ciąży na MeHg skutkuje opóźnieniem noworodka w rozwoju psychomotorycznym. Zaburzenia w rozwoju neurologicznym są uznawane jako krytyczne efekty w populacji noworodków (15,2).

RYBY JAKO GŁÓWNE ŹRÓDŁO NARAŻENIA NA METYLORTĘĆ

Ryby i produkty pochodzenia morskiego stanowią główne źródło MeHg w diecie; przeprowadzone badania wykazały, że stężenia MeHg w rybach i skorupiakach są około 1000 do 10 000 razy wyższe niż w pozostałych produktach żywnościowych, włączając w to produkty mączne, ziemniaki, warzywa, mięso, drób, jajka i mleko.

Zawartość rtęci w wybranych gatunkach ryb przedstawiono w tabeli 1., w której przedstawiono dane z terenu Polski Instytutu Żywności i Żywienia (16), oraz w tabeli 2. — dane ze Stanów Zjednoczonych Ameryki (17).

Tabela 1. Stężenia rtęci w wybranych gatunkach ryb — dane z terenu Polski

Table 1. Mercury concentrations in fish species — data from Poland

Rodzaj ryby	Zawartość rtęci w produkcie rybnym [µg/100 g]
Dorsz świeży (filety bez skóry)	4,5
Dorsz wędzony	5,0
Karp świeży	2,5
Makrela wędzona	2,5
Pstrąg świeży	7,0
Śledź świeży	5,0
Śledź solony	4,0
Śledź w oleju (konserwa)	5,0
Śledź w pomidorach	4,0



Tabela 2. Stężenia rtęci w wybranych gatunkach ryb — dane z USA
Table 2. Mercury concentrations in fish species — data from the USA

Rodzaj ryby	Zawartość rtęci [μg/g mokrej wagi]
Szczupak	0,310
Szczupak północny	0,127
Okoń biały i żółty	0,110
Okoń oceaniczny	0,116
Węgorz amerykański	0,213
Halibut	0,250
Rekin	1,327
Dorsz	0,145

MONITORING BIOLOGICZNY NARAŻENIA NA RTĘĆ ORGANICZNĄ

Ocenę narażenia na metylortęć można prowadzić na podstawie pomiarów rtęci w żywności (ryby) bądź w oparciu o wyniki biologicznego monitoringu stężenia rtęci we krwi lub włosach (18). Przyjmuje się, że 1 litr krwi zawiera ok. 1% zatrzymanej w ustroju metylortęci. Dla dopuszczalnego dziennego pobrania, wynoszącego 30 μg/dobę, można oczekiwać stężenia we krwi 30 μg/l oraz 7,5 mg/g we włosach. W Stanach Zjednoczonych Ameryki, konsumpcja żywności zawierającej rtęć jest uznawana jako zagrożenie dla zdrowia. The U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA) i National Academy of Sciences jako bezpieczne dla zdrowia stężenie rtęci we włosach zaleca-

ją 1,0 μg/g i we krwi 4–5 μg/l. Odpowiada to konsumpcji rtęci w dawce referencyjnej (RfD) równej 0,1 μg/kg wagi ciała w ciągu dnia (19,5,17). Wartość dawki wyznaczającej („benchmark dose” — BMD), określonej na podstawie występowania efektów neurotoksycznych u irackich dzieci narażonych *in utero* na metylortęć, wynosi dla rtęci we krwi 44 μg/l i we włosach 11,1 μg/g (17). W Szwecji Swedish National Food Administration zabrania kobietom w ciąży spożywania takich ryb drapieżnych, jak szczupaki, okonie, miętusy, węgorze i halibuty (20).

POZIOMY BIOLOGICZNE RTĘCI WE KRWI I WE WŁOSACH U OSÓB NIEJEDZĄCYCH RYB

Poziomy biologiczne rtęci we krwi i we włosach u osób niejedzących ryb zamieszczono w tabeli 3. Stężenia rtęci we włosach u osób o niewielkim spożyciu ryb mieszczą się w zakresie stężeń od 0,25 μg/g do 0,80 μg/g (21). Według najnowszych danych z terenu Szwecji (n = 27) mediana stężeń całkowitej rtęci we włosach wynosi 0,06 μg/g w zakresie stężeń 0,04–0,32 μg/g przy wartościach stężeń metylortęci we krwi: mediana = 0,10 μg/l w zakresie stężeń 0,0–1,0 μg/l (7). Referencyjne wartości stężeń rtęci we krwi ustalone dla populacji osób dorosłych (18–69 lat) w Niemczech wyniosły we krwi 2,0 μg/l (konsumpcja ryb poniżej 3 razy w miesiącu) (22). Średnie wartości stężeń rtęci we krwi wynoszą około 5 μg/l (6). We Włoszech średnia wartość w grupie osób nienarażonych zawodowo wyniosła 5,3 μg/l (od 1,7 do 9,9 μg/l) (23). W Szwecji 95% wartości mieściło się w zakresie poniżej 7 μg/l, a 100% poniżej 20 μg/l (24).

Tabela 3. Stężenia rtęci we włosach a liczba spożywanych posiłków zawierających ryby w państwach, w których prowadzono badania stężeń rtęci we włosach

Table 3. Mercury concentration in hair, the number of fish-containing meals in countries, where the concentration of mercury in hair is analyzed

Kraj	Rok	Informacje o uczestnikach eksperymentu	Wartości		Piśmiennictwo
			średnia	zakres	
Polska	1982	populacja generalna	0,696±0,301 μg/g	0,0–1,80 μg/g	Muszyńska-Zimna, 1982 (28)
Polska	1983	osoby dorosłe, populacja generalna; przedział wieku: 17–65 lat (n = 66)	0,19 μg/g	0,0–0,98 μg/g	Wiatrowska, Syrowatka, 1983 (29)
		osoby dorosłe, narażeni zawodowo; przedział wieku: 18–58 lat (n = 59)	5,41 μg/g	0,0–54,10 μg/g	
Dania	1992	stężenie rtęci we włosach ciężarnych kobiet (n = 1023)	4,50 μg/g (n = 250) 10,00 μg/g (n = 150)		Grandjean, Weihe, Jorgensen, Clarkson, Cernichiari, Videro, 1992 (31)
Niemcy	1996	studenci po kursie dentystycznym: przed rozpoczęciem kursu	0,448 μg/g		Wilhelm, Müller, Idel, 1996 (32)
		po zakończeniu kursu (6 tygodni)	0,194 μg/g		
		3 miesiące po pierwszej ekspozycji zawodowej	0,253 μg/g		



Tabela 3. Stężenia rtęci we włosach a liczba spożywanych posiłków zawierających ryby w państwach, w których prowadzono badania stężeń rtęci we włosach — cd.**Table 3.** Mercury concentration in hair, the number of fish-containing meals in countries, where the concentration of mercury in hair is analyzed — cont.

Kraj	Rok	Informacje o uczestnikach eksperymentu	Wartości		Piśmiennictwo
			średnia	zakres	
Belgia	1996		0,44±0,19 µg/g	0,02–0,95 µg/g	Holsbeek, Das, Joiris, 1996 (33)
Niemcy	1997			0,25–0,80 µg/g	Drasch i wsp., 1997 (21) Renzowi i wsp., 1998 (25)
Włochy (badania: Madera)	1998	T-Hg — próbki pobrane od ludności mieszkającej wzdłuż wybrzeża Morza Tyrreńskiego			
		częstość jedzenia ryb:			
		1 lub rzadziej na miesiąc (n = 40)	1,03±0,21 µg/g		
		od 2 do 4 na tydzień (n = 88)	8,89±5,74 µg/g		
		od 4 i częściej na tydzień (n = 39)	36,38±21,62 µg/g		
		kobiety (n = 22)	10,39±6,85 µg/g (maks. 42,61)		
Polska	1999	T-Hg — próbki pobrane od ciężarnych kobiet zamieszkujących wyspę Madera (Portugalia) (n = 181)	8,62 µg/g	1,93–42,61 µg/g	
		rybacy i ich rodziny	38,9 µg/g (maks. 114,3)		
		mężczyźni (n = 66)	16,2 µg/g (maks. 56,1)		
		poziom całkowitej rtęci we włosach (n = 46) wiek [w latach]:	0,379±0,315 µg/g		Hać i wsp., 2000 (30)
Włochy	2003	17–40 (n = 11)	0,370±0,311 µg Hg/g		
		41–60 (n = 29)	0,410±0,345 µg Hg/g		
USA	2003	61–90 (n = 6)	0,244±0,085 µg Hg/g		
		poziom rtęci we włosach przed eksperymentem — 7-letni chłopiec na diecie rybnej od 4 lat (miejsce zamieszkania San Francisco, nad zatoką)	14,81 µg/g	1,55–14,81 µg/g n = 123	Hightower, Moore, 2003 (35)
Szwecja	2003	8 miesięcy bez ryb	0,89 µg/g		
		częstość konsumpcji ryb przez kobiety ciężarne 6–7 sztuk/miesiąc w ciągu roku, kiedy były w ciąży	0,35 µg T-Hg/g	0,07–1,5 µg/g	Björnberg i wsp., 2003 (27)
Szwecja	2004	brak konsumpcji ryb (n = 26)	0,06 µg T-Hg/g	0,04–0,32 µg/g	Lindberg i wsp., 2004 (7)
Szwecja	2005	duża konsumpcja ryb — kilka posiłków z ryb w miesiącu (n = 127)	0,70 µg T-Hg/g	0,08–6,6 µg/g	Björnberg i wsp., 2005 (26)
		częstość jedzenia gatunków DR:			
		więcej niż raz na tydzień (n = 13)	0,89 µg T-Hg/g	0,21–6,6 µg/g	
		mniej niż raz na tydzień (n = 87)	0,69 µg T-Hg/g	0,08–2,2 µg/g	
		wcale (n = 26)	0,57 µg T-Hg/g	0,26–1,5 µg/g	
		częstość jedzenia gatunków NDR:	brak znaczących zmian w stężeniu całkowitej rtęci we włosach		
		0,06/tydzień			



Tabela 3. Stężenia rtęci we włosach a liczba spożywanych posiłków zawierających ryby w państwach, w których prowadzono badania stężeń rtęci we włosach — cd.

Table 3. Mercury concentration in hair, the number of fish-containing meals in countries, where the concentration of mercury in hair is analyzed — cont.

Kraj	Rok	Informacje o uczestnikach eksperymentu	Wartości		Piśmiennictwo
			średnia	zakres	
Wyspy Owcze	2005	częstość konsumpcji mięsa wieloryba na miesiąc: ≥ 3 (n = 23) 1,5–2 (n = 567) 1,0 (n = 94) 0,5 (n = 163) 0,1–0,4 (n = 40) 0 (n = 119)	3,69 µg/g 3,99 µg/g 3,09 µg/g 2,43 µg/g 2,15 µg/g 1,30 µg/g		Weihe i wsp., 2005 (36)
Szwecja	2005	konsumpcja ryb (n = 28)	T-Hg 0,76±0,40 µg/g 0,71 µg/g I-Hg 0,062±0,030 µg/g 0,060 µg/g MeHg 0,69±0,37 µg/g 0,66 µg/g	0,08–2,0 µg/g 0,010–0,12 µg/g 0,072–1,9 µg/g	Berglund i wsp., 2005 (9)
Japonia (badania: Kambodża)	2005			0,54–190 µg/g	Agusa i wsp., 2005 (37)
Dania (badania: Wyspy Owcze)	2006	konsumpcja ryb i mięsa wieloryba stężenie rtęci we włosach matki — ekspozycja prenatalna (n = 858) w 2 grupach wiekowych: 7 lat (n = 803) 14 lat (n = 842)	4,21 µg/g 2,99 µg/g 0,92 µg/g	0,17–39,1 µg/g 0,04–37,6 µg/g 0,02–9,65 µg/g	Debes i wsp., 2006 (38)

T-Hg — zawartość rtęci całkowitej we włosach, I-Hg — zawartość rtęci nieorganicznej we włosach, MeHg — zawartość rtęci organicznej we włosach, DR-species — gatunki ryb włączone w dietę Szwedzką: szczupak, okoń, sandacz, węgorz, miętus, NDR-species — gatunki ryb morskich: tuńczyk, halibut, miedźnik (o wysokim stężeniu MeHg), ale niewłączone w dietę Szwedzką.

POZIOMY BIOLOGICZNE RTĘCI WE KRWI I WŁOSACH U OSÓB SPOŻYWAJĄCYCH RYBY I ICH PRODUKTY

Spożycie ryb i morskich ssaków oraz owoców morza, znacznie podwyższa stężenia rtęci we krwi i włosach (tab. 3 i 4). Wartości stężeń rtęci we krwi i włosach ludzi w zależności od częstotliwości spożywania posiłków składających się z ryb zamieszczono w tabeli 4. (dane z terenu Stanów Zjednoczonych Ameryki).

U rybaków i ich rodzin na wyspie Madera stężenia rtęci we włosach osiągały wartości do 38,9 µg/g u mężczyzn i 10,4 µg/g u kobiet (25). W populacji Szwecji (127 kobiet) o dużej konsumpcji ryb (kilka posiłków z ryb w miesiącu) stwierdzono stężenia całkowitej rtęci we włosach w stężeniach od 0,08 do 6,60 µg/g (mediana = 0,7 µg/g) i stężenia te były skorelowane ze stężeniami metylortęci we krwi (mediana = 1,7 µg/l w zakresie 0,30–14,0 µg/l; $r_s = 0,78$; $p < 0,001$) (26). Björnberg i wsp. (27) u kobiet

w ciąży stwierdzili wprost proporcjonalną zależność stężeń metylortęci we krwi pępowinowej i rtęci całkowitej we włosach ($R^2 = 0,53$; $n = 126$), którą potęgowało spożycie ryb i owoców morza (dla stężeń całkowitej rtęci we włosach $r = 0,41$; $p < 0,0001$ i metylortęci we krwi pępowinowej $r = 0,46$; $p < 0,0001$). Wartości stężeń całkowitej rtęci we włosach ($n = 127$) i metylortęci oraz rtęci nieorganicznej we krwi pępowinowej ($n = 130$) stwierdzone u kobiet ciężarnych wynosiły odpowiednio (mediana): 0,35 mg/kg w zakresie 0,07–1,50 mg/kg; 1,3 µg/l w zakresie 0,10–5,70 µg/l oraz 0,15 µg/l w zakresie 0,03–0,53 µg/l (27). Muszyńska-Zimna (28) prowadziła badania w Polsce nad populacją mieszkańców Łodzi, u której zakres stężeń rtęci całkowitej wynosił do 1,8 µg/g, a średnia stężeń 0,696±0,301 µg/g. Z kolei Wiatrowska (29) w roku 1983 stwierdziła, że u populacji generalnej w Polsce (w przedziale wiekowym 17–65 lat) zakres stężeń wahał się poniżej 0,98 µg/g (średnia: 0,19 µg/g) (tab. 3).



Tabela 4. Wpływ diety składającej się z ryb na poziom rtęci we krwi i włosach (Mercury Study Report, 1997)

Table 4. The influence of fish diet on mercury levels in blood and hair (Mercury Study Report, 1997)

Konsumpcja ryb	Stężenie rtęci [µg/l]
	we krwi
Bez ryb w diecie	2,0
2 posiłki/tydzień	4,8
2–4 posiłki/tydzień	8,4
	we włosach
1 posiłek/miesiąc	1,4
1 posiłek/2 tygodnie	1,9
1 posiłek /tydzień	2,5
1 posiłek/dzień	11,6

U osób dorosłych (w przedziale wiekowym 18–58 lat) narażonych zawodowo, badanych przez Wiatrowską w 1983 roku, średnia stężenie rtęci całkowitej wynosiła 5,4 µg/g. Według wyników badań otrzymanych przez Hacia (30) stężenie rtęci całkowitej we włosach mieszkańców naszego kraju wynosiło 0,379 µg/g±0,315 µg/g. Dzienny pobór rtęci organicznej (metylortęci) zależy głównie od konsumpcji ryb i koncentracji metylortęci (MeHg) w rybach. Konsumpcja ryb w zależności od regionu i grup etnicznych może skutkować dziennym pobraniem rtęci nawet do 500 g lub więcej (2). Zawartość rtęci całkowitej (lub MeHg) we włosach pozostaje w ścisłej zależności od ilości zjedzonych ryb i stopnia ich zanieczyszczenia rtęcią. W tabeli 3. zebrano wartości stężenia rtęci we włosach w zależności od miejsca zamieszkania, płci, częstotliwości i ilości zjadanych ryb.

METODY WSTĘPNEGO PRZYGOTOWANIA PRÓBEK WŁOSÓW DO OZNACZANIA STĘŻENIA RTĘCI

Ocenę narażenia na rtęć prowadzi się w oparciu o oznaczanie stężenia rtęci we krwi, moczu i we włosach. Oznaczanie rtęci w moczu pozwala określić narażenie na rtęć nieorganiczną Hg^{2+} (39) — między innymi służy do oznaczania rtęci w moczu lekarzy stomatologów i pomocy dentystycznych narażonych na rtęć podczas zakładania i usuwania plomb amalgamatowych (40). Poziom rtęci we krwi odzwierciedla bieżące narażenie na rtęć organiczną, a stężenie rtęci we włosach obrazuje narażenie na rtęć organiczną bieżące i w przeszłości. Każdy centymetr włosów odpowiada 1 miesiącowi narażenia na rtęć organiczną (14). Określanie stężenia rtęci we włosach jest nieinwazyjną, a jednocześnie bar-

dzo skuteczną i dokładną metodą oszacowania wielkości narażenia środowiskowego na rtęć.

Do mineralizacji próbek włosów i oznaczania rtęci wykorzystuje się szerokie spektrum metod mineralizacji i różnych technik generowania par rtęci.

Metody roztwarzania próbek włosów można podzielić na mineralizację:

- wyłącznie przy użyciu odczynników chemicznych:
 - z użyciem mocnych zasad, czynnik roztwarzający: 45% roztwór wodorotlenku sodu (NaOH) z L-cysteiną, lub wodorotlenek potasu (KOH),
 - z użyciem mocnych kwasów, czynnik roztwarzający: kwas azotowy (HNO_3), kwas siarkowy (H_2SO_4), kwas solny (HCl) lub mieszaninę tych kwasów,
 - z użyciem silnych utleniaczy: nadtlenek wodoru (H_2O_2), nadmanganian potasu ($KMnO_4$), nadsiarczany potasu ($K_2S_2O_8$),
- przy użyciu odczynników chemicznych, łącznie z mineralizacją mikrofalową:
 - kwas azotowy (HNO_3),
 - kwas siarkowy (H_2SO_4),
 - kwas solny (HCl),
 - kwas nadchlorowy ($HClO_4$),
 - nadtlenek wodoru (H_2O_2).

Powyższe metody stosowali w swoich badaniach m.in. Giovanoli-Jakubczak (41), Farant (42), Campe (43) i Harada (44).

Gill i wsp. (45) — na podstawie rezultatów wieloletniego, międzynarodowego, międzylaboratoryjnego programu biegłości dla oznaczania rtęci całkowitej (T-Hg) i organicznej (MeHg) we włosach (Multiyear International Interlaboratory Comparison Program for Mercury in Human Hair) — dokonali podsumowania metod stosowanych w wielu różnych laboratoriach, mających na celu przygotowanie próbek włosów do analizy. Podsumowanie programu wykazało, że około 90% uczestników międzylaboratoryjnego programu biegłości dla oznaczania rtęci całkowitej (T-Hg) i organicznej (MeHg) we włosach używa do mineralizacji próbek 45% roztwór NaOH lub mieszanin: $HNO_3/H_2SO_4/KMnO_4$ (metoda zalecana przez US EPA 245.6) lub HNO_3/HCl , HNO_3 , albo HNO_3/H_2O_2 . Do ogrzewania mieszaniny mineralizującej większość uczestników programu używa płyt grzejnych.

Wiele różnych metod i technik instrumentalnych wykorzystuje się do oznaczania zawartości rtęci w mineralizatach próbek badanych (FIAS — flow injection cold vapor mercury analysis system, FIMS — flow injection mercury system, CV-AAS — cold vapor atomic absorption spectrometry, CV-AFS — cold



vapour atomic fluorescence spectrometry, ICP/MS — inductively coupled plasma mass spectrometry). Ponad 55% uczestników międzylaboratoryjnego programu biegłości dla oznaczania rtęci całkowitej (T-Hg) i organicznej (MeHg) w mineralizatach włosów wykorzystuje technikę CV-AAS, a 12% — AFS.

Obecnie powszechnie wykorzystywaną techniką stosowaną do oznaczenia stężenia rtęci, w tym także rtęci całkowitej we włosach, jest technika absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS), z zastosowaniem techniki „zimnych par” (CV-AAS) oraz ICP-MS (spektrometria mas z plazmą wzbudzoną indukcyjnie).

W technice CV-AAS wykorzystuje się specyficzną własność rtęci — występowanie w stanie ciekłym w temperaturze pokojowej. Prężność par rtęci w temperaturze 20°C wynosi 0,0016 mbar, co odpowiada stężeniu około 14 mg/m³ w powietrzu. Dzięki tym właściwościom, po redukcji rtęci (Hg²⁺) z jej związków do stanu pierwiastkowego (Hg⁰), możliwy jest transport jej par za pomocą gazu nośnego do komory pomiarowej spektrometru. Dzięki temu, że rtęć jest wprowadzana w postaci pierwiastkowej, komora nie musi być ogrzewana — stąd nazwa metody: „metoda zimnych par”. W celu zwiększenia czułości metody na drodze par rtęci umieszcza się siateczkę ze złota i platyny. Na siateczce rtęć ulega zateżnieniu, a następnie jest uwalniana z amalgamatu pod wpływem ogrzewania i przemieszczana strumieniem powietrza do kuwety kwarcowej.

Zarówno jednak metoda oznaczania rtęci techniką CV-AAS, jak i ICP-MS, wymaga wstępnego przygotowania próbek włosów. Najczęściej do tego celu stosuje się mineralizację włosów tzw. mokrą. Jest nią np. metoda mineralizacji przy użyciu TMAH (46) lub metoda firmy Nippon Co. Japan. W pierwszej z tych metod rtęć całkowita oznaczona jest w naważce 50–100 mg włosów, po dodaniu 1 ml m/v TMAH i po inkubowaniu próbki włosów przez całą noc i uzupełnieniu do 10 ml roztworem 1% v/v HNO₃. Druga została zaproponowana użytkownikom analizatora rtęci RA-3. Mineralizacja próbki włosów (ok. 2 g) odbywa się w niej przy pomocy mieszaniny kwasów: 1 ml HNO₃ i 1 ml HClO₄, w stosunku 1:1 (2 ml), oraz 1 ml H₂SO₄, po wstępnym umyciu włosów w acetonie i wysuszeniu. Częściej przy użyciu odczynników chemicznych, łącznie z mineralizacją mikrofalową, np. mineralizacja próbki włosów poprzez dodanie 5 ml 65% HNO₃ i 0,5 ml 30% nadtlenku wodoru (H₂O₂) (30) lub mineralizacja włosów w mineralizatorze mikrofalowym w środowisku stężonego kwasu azotowego i dichromianu (VI) potasu (procedura firmy Plazmatronika UniClever II).

OZNACZANIE FORM CHEMICZNYCH RTĘCI TECHNIKA SPRZĘŻONĄ HPLC-ICP-MS

Zainteresowanie metodami rozdziału i oznaczaniem poszczególnych form chemicznych rtęci związane jest z powszechnością występowania rtęci jako czynnika zanieczyszczającego środowisko. Rtęć występuje w nim w postaci rtęci elementarnej (Hg⁰), nieorganicznej (Hg²⁺) oraz organicznej (MeHg). Połączenie rtęci nieorganicznej oraz monometylortęci (CH₃Hg⁺) jest najczęściej występującą formą w próbkach biologicznych. Różnice w toksyczności poszczególnych form wpłynęły na konieczność opracowania metod rozdziału z dobrą czułością i dokładnością. Spośród wielu metod bazujących na technikach sprzężonych w ostatnim czasie największą popularnością cieszy się technika HPLC-ICP-MS ze względu na łatwość przygotowania próbki do analizy, proste połączenie HPLC z detektorem, dostępność informacji na temat form izotopowych i stosunku izotopowego poszczególnych form, a także specyficzności sygnału. Bez względu na postęp w technikach oznaczania specjacji rtęci nadal aktualny jest problem przygotowania próbki do analizy. Najczęściej próbki biologiczne mineralizuje się w zamkniętym lub otwartym systemie mikrofalowym, np. z dodatkiem TMAH (wodorotlenek trójmetyloamonowy) (47), kwasu solnego (48) lub kwasu azotowego z dodatkiem nadtlenku wodoru lub dichromianu potasu.

Autorzy wielu prac jako wstępny etap przygotowania próbki stosują tradycyjne metody ekstrakcji, w przeszłości etap ten był poprzedzony kwaśną lub zasadową mineralizacją. Obecnie wydajność ekstrakcji skutecznie może zostać zwiększona poprzez stosowanie mikrofal lub ultradźwięków. Metody te zawsze jednak pozostawiały marginesy niebezpieczeństwa związane z używaniem stężonych zasad, kwasów, wysokich temperatur lub ciśnień, co w przypadku dużej lotności par rtęci może doprowadzać do strat rtęci. Dodatkowo próbki po ekstrakcji wymagały dostosowania pH do rozdziału na kolumnach GC lub HPLC. Wszystkie te operacje zwiększały niebezpieczeństwo transformacji między poszczególnymi formami rtęci.

Ostatnie prace informują o sposobach eliminowania problemu transformacji poszczególnych form rtęci w trakcie wstępnego przygotowania próbki poprzez bezpośrednią „łagodną” ekstrakcję rtęci w różnych połączeniach bezpośrednio z próbki materiału biologicznego, np. mięsa ryb lub włosów. Wstępne przygotowanie próbki poprzez „łagodną” ekstrakcję zapobiega transformacji form rtęci w trakcie przygotowanie



próbki, nie wymaga dostosowania pH próbki do rozdziału na kolumnach HPLC i zabezpiecza ICP-MS przed efektem „pamięci” kontaminującym system i obniżającym jego czułość (49,50).

Pierwsza praca opiera się na ekstrakcji związków rtęci przez dodanie do liofilizowanej próbki (0,5 g liofilizatu mięsa ryb lub 0,2 g liofilizatu materiału referencyjnego) 50 ml wodnego roztworu 1% w/v L-cysteiny/HCl/H₂O oraz wytrząsania próbki przez 2 godz. w temp 60°C. Do rozdziału na kolumnach z fazą odwróconą C-18 (Waters Corp.) jako fazy ruchomej użyto wodnego roztworu 0,1% w/v L-cysteiny/HCl/H₂O + 0,1% w/v L-cysteiny. Oznaczenia rtęci nieorganicznej Hg i metylortęci, po rozdziale na HPLC (Waters Corp.), prowadzono na ICP-MS (Model 7500c Agilent Technologies). Zawartość rtęci całkowitej liczono matematycznie jako sumę metylortęci i Hg nieorganicznej oznaczonej w ekstrakcie.

W pracy Wanga (50) do ekstrakcji nieorganicznych i metylowych pochodnych rtęci ze zliofilizowanej próbki (około 100 mg) użyto 2-merkaptetanolu. Badania udowodniły, że ilościowa ekstrakcja jest możliwa przy użyciu roztworu 0,1% v/v HCl, 0,1% v/v 2-merkaptetanolu i 0,15% m/v KCl. Prowadzenie ekstrakcji w ciągu 12 godzin (noc) na shakerze w temperaturze pokojowej zapewnia ilościowe przejście połączeń rtęci do ekstraktu. Następnie formy rtęci nieorganiczne i metylortęć rozdzielano na HPLC, stosując kolumny z fazą odwróconą (Water Corp.) i jako fazę ruchomą roztwór 5% v/v metanolu, 0,1% v/v 2-merkaptetanolu i 0,06 mol/l octanu amonu. Detekcję prowadzono na Thermo X7 ICP-MS. Rtęć całkowitą w próbce oznaczono bezpośrednio techniką ICP-MS.

METODA OZNACZANIA RTĘCI W PRÓBKACH WŁOSÓW STOSOWANA W IMP W ŁODZI

W Pracowni Monitoringu Biologicznego Instytutu Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi oznaczanie rtęci całkowitej we włosach techniką CV-AAS prowadzono po wcześniejszej mineralizacji włosów w mineralizatorze mikrofalowym (f-ma Plazmatronika UniClever II). Nie stwierdzono wpływu używania ko-

smetyków fryzjerskich (takich jak pianki, lakiery, żele, odżywki) na przebieg procesu mineralizacji i oznaczeń zawartości rtęci w próbkach włosów.

Próbki włosów do oznaczeń pobierano z części potylicznej głowy. Włosy obcinano tuż przy skórze głowy. Długość obciętych włosów powinna wynosić od około 1 cm do 3 cm (licząc od nasady włosów). Próbki włosów można przechowywać w torebkach foliowych ze szczelnym zamknięciem.

W naczyniu teflonowym mineralizatora mikrofalowego umieszczano 0,1 g próbki włosów, następnie dodawano 4 cm³ 65% kwasu azotowego, 1 cm³ wody dejonizowanej i 0,1 cm³ 5% roztworu dichromianu (VI) potasu. Proces mineralizacji prowadzono według programu przedstawionego w tabeli 5. Następnie do mineralizatu dodawano 3 cm³ 4% wodnego roztworu mocznika i uzupełniano wodą dejonizowaną do objętości 20 cm³. Dodanie do mineralizatów 4% roztworu mocznika powoduje zwiększenie efektywności redukcji rtęci poprzez chlorek cynawy. Redukcja ta bez dodatku mocznika do próby byłaby w dużym stopniu blokowana przez związki azotu tworzące się podczas procesu mineralizacji (modyfikacja własna). Roztwór mocznika zmniejszał efekt tłumienia jonów rtęci przez związki azotu.

Oznaczanie stężenia rtęci prowadzono przy użyciu analizatora par rtęci MERCURY/RA-3 (model 3110PL) japońskiej firmy Nippon Instruments Corporation, po redukcji jonów rtęciowych do rtęci metalicznej 10% chlorkiem cynawym (SnCl₂) w środowisku roztworu (1+1) kwasu siarkowego. Na podstawie wyników pomiarów absorbancji przy długości fali równej 253,7 nm określano zawartość rtęci w badanej próbce. Oznaczenia prowadzono w dwóch równoległych powtórzeniach dla jednej próbki mineralizatu włosów. Na podstawie dwóch pomiarów obliczano średnią arytmetyczną. Stężenia rtęci w materiale odniesienia i próbkach badanych odczytywano z krzywej wzorcowania wykonywanej w każdym dniu analiz.

Krzywą kalibracyjną przygotowywano na mineralizację z odczynników w zakresie stężeń 1–8 µg/l ($y = 12,87x + 1,917$; $r = 0,998$). Granica wykrywal-

Tabela 5. Etapy mineralizacji w mineralizatorze mikrofalowym
Table 5. Stages of mineralization in the microwave digestion system

Parametry mineralizacji	1. etap	2. etap	3. etap	4. etap
Moc [%]	60	80	100	chłodzenie mineralizatów do temperatury pokojowej przez 13 min
Czas [min]	4	4	7	
Ciśnienie [atm.]	17–20	27–30	42–45	



ności metody ($3 \times s_1$ — standardowe odchylenie dla oznaczeń rtęci w najniższym wzorcu kalibracyjnym) wynosi $0,052 \mu\text{g/g}$, granica oznaczania ilościowego ($6 \times s_1$) $0,104 \mu\text{g/g}$. Poprawność — wyrażona jako względne obciążenie

$$\left(\frac{x - \bar{x}}{\bar{x}} \times 100\% \right),$$

obliczona na podstawie oznaczeń rtęci w referencyjnym materiale odniesienia BCR/CRM 397, wynosi $0,8\%$; powtarzalność

$$\left(\frac{s_r}{\bar{x}} \times 100\% \right),$$

obliczona na podstawie oznaczeń rtęci w referencyjnym materiale odniesienia BCR/CRM 397, wynosi $6,16\%$.

Weryfikację poprawności użytej metody sprawdzano poprzez oznaczanie rtęci w certyfikowanych materiałach odniesienia (próbki włosów) BCR CRM 397 — Certified Reference Material, Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM), Belgium i NCS DC 74337 — Certified Reference Material, China National Analysis Center for Iron and Steel, China.

STĘŻENIA RTĘCI WE WŁOSACH OSÓB Z TERENU ŁODZI

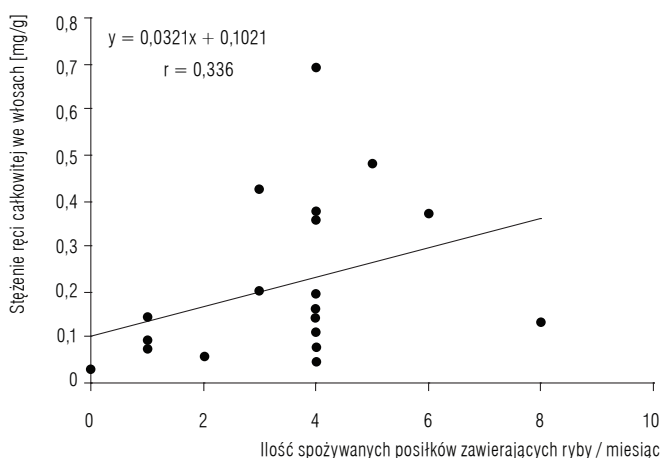
Badanie stężenia rtęci we włosach przeprowadzono w roku 2007. Próbkę włosów zebrano od 20 osób z terenu Łodzi. Osoby, od których zostały pobrane próbki włosów, nie spożywały w nadmiarze ryb ani dań zawierających owoce morza, np. małże, ostrygi, kraby, kalmary itp. Liczba spożywanych posiłków zawierających ryby wahała się od 0 do 8 na miesiąc. Próbkę włosów zostały pobrane z części potylicznej głowy i obcinane były tuż przy skórze głowy. Długość obciętych włosów wynosiła od około 1 cm do 3 cm.

Wartości średniego stężenia rtęci we włosach oraz odchylenie standardowe i zakres oznaczonych stężeń w grupie osób badanych zamieszczono w tabeli 6.

Tabela 6. Średnia i zakres stężeń rtęci we włosach osób badanych
Table 6. The mean and the range of mercury concentrations in hair of the volunteers participating in the study

Parametry walidacyjne	Stężenie rtęci [$\mu\text{g/g}$]
Średnia $\bar{x} \pm s$,	$0,214 \pm 0,177$
Zakres	$0,032 \pm 0,692$

W grupie badanych osób stwierdzono dodatnią korelację między stężeniem rtęci we włosach a częstotliwością spożywania dań rybnych w okresie miesiąca ($y = 0,0321x + 0,1021$; $r = 0,336$) (ryc. 1.)



Ryc. 1. Zależność między stężeniem rtęci we włosach a liczbą posiłków zawierających ryby

Fig. 1. The relation between mercury concentration in hair and the number of fish-containing meals.

Średnie stężenie rtęci całkowitej w grupie osób wybranych z terenu Łodzi ($n = 20$) w wieku 26–56 lat, niespożywających w nadmiarze dań zawierających ryby i owoców morza, wynosi $0,214 \pm 0,177 \mu\text{g/g}$, w zakresie $0,032 \pm 0,692 \mu\text{g/g}$. Porównując otrzymane wyniki z wynikami Muszyńskiej-Zimnej (28), można stwierdzić, że stężenia rtęci całkowitej u populacji mieszkańców Łodzi na przestrzeni lat 1982–2006 zmalały prawie 3-krotnie. W Polsce, według Muszyńskiej-Zimnej, która prowadziła badania nad populacją mieszkańców Łodzi w 1982 roku, średnia stężenie wynosiła $0,696 \pm 0,301 \mu\text{g/g}$. Także w porównaniu do wyników badań Hacia (30) odnotowujemy obecnie prawie 2-krotnie niższe wartości stężeń rtęci całkowitej we włosach. Według wyników badań otrzymanych przez Hacia (30) stężenie rtęci całkowitej we włosach mieszkańców naszego kraju w 1999 roku wynosiło $0,379 \pm 0,315 \mu\text{g/g}$.

Średnie stężenie rtęci we włosach mieszkańców Łodzi w wyniku obecnie prowadzonych badań pozostają na podobnym poziomie w porównaniu do badań Wiąrowskiej (29) — która stwierdziła u populacji generalnej w Polsce u osób dorosłych (17–65 lat) zakres stężeń rtęci we włosach od $0,0$ – $0,98 \mu\text{g/g}$ przy średniej $0,19 \mu\text{g/g}$ — oraz w porównaniu do innych danych cytowanych w aktualnym międzynarodowym piśmiennictwie. Najnowsze doniesienia oparte na wynikach



badan z terenu Szwecji mówią, że mediana stężeń ($n = 28$) całkowitej rtęci we włosach u osób niejedzących ryb (w okresie 2 lat przed rozpoczęciem badań) wynosi $0,06 \mu\text{g/g}$, w zakresie stężeń $0,04\text{--}0,32 \mu\text{g/g}$ (7), natomiast średnie stężenie rtęci całkowitej (T-Hg) oznaczone przez Berglund (9) u osób spożywających ryby wynosi $0,76 \pm 0,40 \mu\text{g/g}$, w zakresie $0,08\text{--}2,0 \mu\text{g/g}$.

Obserwowany spadek stężenia rtęci we włosach spowodowany jest najprawdopodobniej zmniejszeniem konsumpcji ryb na rzecz dań mięsnych, których spożywanie nie powoduje wzrostu stężenia rtęci całkowitej we włosach, a także rozwojem nowych technik oznaczania rtęci dających możliwość oznaczania znacznie niższych stężeń z lepszą precyzją i dokładnością.

WNIOSKI

Włosy są biomarkerem długoterminowego narażenia środowiskowego na metylortęć. Poziom rtęci we włosach zależy od konsumpcji ryb. U osób z ich niskim spożywaniem poziom ten waha się od $0,25 \mu\text{g/g}$ do $0,8 \mu\text{g/g}$ (15) oraz w zakresie $0,032 \mu\text{g/g} \pm 0,692 \mu\text{g/g}$ (dane Instytutu Medycyny Pracy w Łodzi dla populacji polskiej). Dużo wyższe poziomy rtęci we włosach występują u osób często jedzących posiłki zawierające ryby morskie lub owoce morza ($0,32\text{--}0,69 \mu\text{g/g}$) (26).

Najpowszechniej stosowaną techniką oznaczania rtęci całkowitej we włosach jest absorpcyjna spektrometria atomowa (AAS), najczęściej z zastosowaniem techniki „zimnych par” (CV-AAS).

PIŚMIENNICTWO

1. Jakubowski M., Trzcinka-Ochocka M., Raźniewska G.: Monitoring biologiczny narażenia zawodowego i środowiskowego na metale-metody oznaczania, interpretacja wyników. Instytut Medycyny Pracy, Łódź 2000, ss. 104–116
2. Nordberg G.F., Flower B.A., Noerdborg M., Friberg L.T.: Handbook on the toxicology of metals. Wyd. 3. Academic Press, San Diego (USA) 2007, ss. 675–729
3. Gazewski A., Trzcinka-Ochocka M., Brodzka R.: Determination of total mercury in urine by CVAAS. *Acta Toxicol.* 2007;15(1):55–61
4. World Health Organization: Kryteria Zdrowotne Środowiska. Tom 1: Rtg. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1983
5. National Academy of Sciences. Toxicological Effects of Methylmercury. NAS, Washington, DC (USA) 2003. Adres: <http://nap.edu/books/0309071402/html>
6. World Health Organization. Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace. Tom 1. WHO, Geneva 1996
7. Lindberg A., Björnberg K.A., Vahter M., Berglund M.: Exposure to methylmercury in non-fish-eating people in Sweden. *Environ. Res.* 2004;96:28–33
8. World Health Organization. Air Quality of Guidelines. Wyd. 2. WHO, Kopenhaga 2000
9. Berglund M., Lind B., Björnberg K.A., Palm B., Einarsson Ö., Vahter M.: Inter-individual variations of human mercury exposure biomarkers: a cross-sectional assessment. *Environ. Health Global Access Sci. Sour.* 2005;4:20:1–11
10. Wiel M., Bressler J., Parsons P., Bolla K., Glass T., Schwartz B.: Blood mercury levels and neurobehavioral function. *JAMA* 2005;294(6):679–680
11. Grandjean P., Weihe P., Jorgensen P.J., Clarkson T., Cernichiari E., Videro T.: Impact of maternal seafood diet on fetal exposure to mercury, selenium, and lead. *Arch. Environ. Health* 1992;47(3):185–195
12. Kershaw T.G., Dhahir P.H., Clarkson T.W.: The relationship between blood levels and dose of methylmercury in man. *Arch. Environ. Health* 1980;35:28–36
13. International Programme on Chemical Safety: Environmental health Criteria 118: Inorganic mercury. WHO, Geneva 1991
14. Clarkson T.W.: Human toxicology of mercury. *J. Trace Elem. Exp. Med.* 1998;11(2–3):303–317
15. Jakubowski M., Trzcinka-Ochocka M.: Biological Monitoring of Exposure: Trends and Key Developments. *J. Occup. Health.* 2005;47:22–48
16. Danuta Pelikant: Toksyczność rtęci. Adres: http://www.kajet.pl/publikacje/toksycznosc_rteci.htm
17. Mercury Study Report to Congress, US EPA-45/R-97-006. Grudzień 1997. Adres: <http://www.epa.gov/oar/mercury.html>
18. Piotrowski J.: Podstawy toksykologii. Rtg. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2006, ss. 187–195
19. Mahaffey K.R., Rice G.E.: Environmental Protection Agency Office of Air Quality Planning and Standards. Mercury Study Report to Congress. Govt Reports Announcements and index (GRA and I) 2003;9. Adres: <http://www.epa.gov/oar/mercury.html>
20. LIVSFS. Raport 12-2007. Risks and Benefits of Fish Consumption Livsmedelsverket. Uppsala (Szwecja) 2007
21. Drasch G., Wanghofer E., Roeder G.: Are blood, urine, hair, and muscle valid biomonitors for the internal burden of men with the heavy metals mercury, lead and cadmium? *Trace Elem. Electrolytes* 1997;14:116–123
22. Wilhelm M., Ewers U., Schulz C.: Revised and new reference values for some trace elements in blood and urine



- for human biomonitoring in environmental medicine. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2004;207(1):69–73
23. Minoia C., Sabbioni E., Apostoli P., Pietra R., Pozzoli L., Gallorini M. i wsp.: Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European community I. A study of 46 elements in urine, blood and serum of Italian subjects. *Sci. Total Environ.* 1990;95:89–105
24. Langworth S.: Biological monitoring of environmental and occupational mercury exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 1991;63(3):161–167
25. Renzoni A., Zino F., Franchi E.: Mercury levels along the food chain and risk for exposed populations. *Environ. Res.* 1998;A77:68–72
26. Björnberg K.A., Vahter M., Grawé K.P., Berglund M.: Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption. *Sci. Total Environ.* 2005;341:45–52
27. Björnberg K.A., Vahter M., Petersson-Grawé K., Glynn A., Cnattingius S., Darnerud P.O. i wsp.: Methyl mercury and inorganic mercury in Swedish pregnant women and in cord blood: influence of fish consumption. *Environ. Health Perspect.* 2003;111(4):637–641
28. Muszyńska-Zimna E.: Zawartość rtęci całkowitej we włosach i moczu osób nienarażonych zawodowo z terenu Łodzi. *Bromatol. Chem. Toksykol.* 1982;XV:1–2
29. Wiatrowska B., Syrowatka T.: Ocena całkowitej zawartości rtęci w tkankach ludzi. Cz. II: Zawartość rtęci we włosach ludzi z populacji generalnej oraz narażonych zawodowo na pary tego metalu. *Roczn. Państw. Zakł. Hig.* 1983;34:87–94
30. Hać E., Krzyżanowski M., Krechniak J.: Total mercury in human renal cortex, liver, cerebellum and hair. *Sci. Total Environ.* 2000;248:37–43
31. Grandjean P., Weihe P., Jorgensen P.J., Clarkson T., Cernichiari E., Videro T.: Impact of maternal seafood diet on fetal exposure to mercury, selenium, and lead. *Arch. Environ. Health* 1992;47(3):185–195
32. Wilhelm M., Müller F., Idel H.: Biological monitoring of mercury vapor exposure by scalp hair analysis in comparison to blood and urine. *Toxicology* 1996;88:221–226
33. Holsbeek L., Das H.K., Joiris C.D.: Mercury in human hair and relation to fish consumption in Bangladesh. *Sci. Total Environ.* 1996;186(3):181–188
34. Carta P., Flore C., Alinovi R., Ibba A., Tocco M.G., Aru G. i wsp.: Sub-clinical neurobehavioral abnormalities associated with low level of mercury exposure through fish consumption. *Neurotoxicology* 2003;24:617–623
35. Hightower J.M., Moore D.: Mercury levels in high-end consumers of fish. *Environ. Health Perspect.* 2003;111(4):604–608
36. Weihe P., Grandjean P., Jørgensen P.J.: Application of hair-mercury analysis to determine the impact of a seafood advisory. *Environ. Res.* 2005;97:200–207
37. Agusa T., Kunito T., Iwata H., Monirith I., Tana T.S., Subramanian A. i wsp.: Mercury contamination in human hair and fish from Cambodia: levels, specific accumulation and risk assessment. *Environ. Pollut.* 2005;134(1):79–86
38. Debes F., Budtz-Jørgensen E., Weihe P., White R.F., Grandjean P.: Impact of prenatal methylmercury exposure on neurobehavioral function at age 14 years. *Neurotoxicol. Teratol.* 2006;28(5):536–547
39. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Documentation of the threshold values (TLVs) and biological exposure indices (BEIs); mercury, all forms except alkyl. Tom 2. Wyd. 6. ACGIH, Cincinnati (USA) 1996, ss. 881–892
40. Trzcinka-Ochocka M., Gazewski A., Brodzka R.: Exposure to mercury vapors in dental workers in Poland. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* 2007;20(2):147–153
41. Giovanoli-Jakubczak T., Greenwood M.R., Smith J.C., Clarkson T.W.: Determination of total and inorganic mercury in hair by flameless atomic absorption, and of methylmercury by gas chromatography. *Clin. Chem.* 1974;20(2):222–229
42. Farant J.P., Brissette D., Moncion L., Bigras L., Chartrand A.: Improved cold-vapor atomic absorption technique for the microdetermination of total and inorganic mercury in biological samples. *J. Anal. Toxicol.* 1981;5:47–51
43. Campe A., Velghe N., Claeys A.: Determination of inorganic, phenyl and alkyl mercury in hair. *Atom Spectros* 1982;3(4):122–125
44. Harada M., Akagi H., Tsuda T., Kizaki T., Ohno H.: Methylmercury level in umbilical cords from patients with congenital Minamata disease. *Sci. Total Environ.* 1999;234(30):59–62
45. Gill U.S., Schwartz H.M., Bigras L.: Results of Multiyear International Interlaboratory Comparison Program for Mercury in Human Hair. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2002;43:466–472
46. Rodrigues J., Nunes J., Batista B., de Souza S., Barbosa F.: A fast method for the determination of 16 elements in hair samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) with tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature. *J. Anal. At. Spectrom.* 2008;23:992–996
47. Vidler D.S., Jenkins R.O., Hall J.F., Harrington C.F.: The determination of methylmercury in biological samples by HPLC coupled to ICP-MS detection. *Organometal. Chem.* 2007;21(5):303–310



48. Vallant B., Kadnar R., Goessler W.: Development of a new HPLC method for the determination of inorganic and methylmercury in biological samples with ICP-MS detection. *Appl. J. Anal. At. Spektrom.* 2007;22(3):322–325
49. High S., Cheng J.: Determination of methylmercury and estimation of total mercury in seafood using high performance liquid chromatography (HPLC) and inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS): Method development and validation. *Anal. Chim. Acta* 2006;567:160–172
50. Wang M., Feng W., Shi J., Zhang F., Wang B., Zhu M. i wsp.: Development of a mild mercaptoethanol extraction metod for determination of mercury species in biological samples by HPLC-ICP-MS. *Talanta* 2007;71:2034–2039

