

大気中水銀レベル評価における
バイオモニターとしての着生シダ植物の検討と
インドネシア水銀汚染地域へのその応用

2010年9月

河野百合子

目次

| | |
|---|----|
| 第1章 研究の目的と背景 | 1 |
| 第2章 大気中水銀のバイオモニターとしての着生シダ植物の基礎検討 | |
| —ノキシノブの葉中水銀濃度と大気中水銀濃度の関連性— | 7 |
| 2.1. 緒言 | 7 |
| 2.2. 材料と方法 | 9 |
| 2.2.1. サンプルリング | 9 |
| 2.2.2. 水銀濃度測定 | 10 |
| 2.2.2.1. 植物試料 | 10 |
| 2.2.2.1.1. 試薬 | 10 |
| 2.2.2.1.2. 水銀濃度測定手順 | 11 |
| 2.2.2.2. 大気試料 | 15 |
| 2.2.2.2.1. 試薬 | 15 |
| 2.2.2.2.2. 水銀濃度測定手順 | 15 |
| 2.3. 結果と考察 | 17 |
| 2.3.1. バイオモニターとしてのノキシノブの水銀蓄積に関する基礎検討 | 17 |
| 2.3.1.1. ノキシノブ（胞子体）中の水銀濃度分布 | 17 |
| 2.3.1.2. 測定前処理（洗浄方法）の検討 | 19 |
| 2.3.1.3. ノキシノブの葉の成熟に伴う水銀濃度変化 | 20 |
| 2.3.1.4. バイオモニターに適した成熟段階の葉の検討 | 23 |
| 2.3.2. ノキシノブをバイオモニターとした大気中水銀レベル評価法の検討 | 24 |
| 2.3.2.1. 大気中水銀濃度とノキシノブの葉中水銀濃度 | 24 |
| 2.3.2.2. ノキシノブの葉中水銀蓄積量が反映する過去の大気中水銀レベル | 29 |
| 2.3.2.3. ノキシノブをバイオモニターとした 大気中水銀レベルの長期的評価 | 32 |
| 2.4. まとめ | 34 |

| | | |
|----------|---|----|
| 第3章 | インドネシア水銀汚染地域における着生シダ植物による 大気中水銀のバイオモニタリング —シマオオタニワタリによる大気中水銀レベルの評価— | 35 |
| 3.1. | 緒言 | 35 |
| 3.2. | 材料と方法 | 37 |
| 3.2.1. | 調査地点 | 37 |
| 3.2.2. | サンプリング | 38 |
| 3.2.2.1. | 大気中水銀 | 38 |
| 3.2.2.2. | 植物試料 | 38 |
| 3.3. | 結果と考察 | 42 |
| 3.3.1. | 大気中水銀濃度の経時変化 | 42 |
| 3.3.2. | 地理的濃度分布 | 49 |
| 3.3.2.1. | 大気中水銀の濃度分布 | 49 |
| 3.3.2.2. | 着生シダ植物中水銀の地理的濃度分布 | 53 |
| 3.3.3. | シマオオタニワタリ中の水銀濃度分布 | 57 |
| 3.3.3.1. | シマオオタニワタリの葉内の水銀濃度分布 | 57 |
| 3.3.3.2. | シマオオタニワタリの1株の葉の水銀濃度差 | 61 |
| 3.3.3.3. | シマオオタニワタリの葉中水銀濃度の地理的分布 | 64 |
| 3.3.4. | シマオオタニワタリをバイオモニターとした 大気中水銀レベルの評価 | 65 |
| 3.4. | まとめ | 69 |
| 第4章 | 総括 | 72 |
| | 謝辞 | 77 |
| | 引用文献 | 78 |
| | 第1章 | 78 |
| | 第2章 | 84 |
| | 第3章 | 87 |
| | 第4章 | 90 |

第1章 研究の背景と目的

水銀は大気、水、地殻といった環境中に微量に存在し、常温（25℃）で液体の金属で、揮発性が高く、極性・非極性の溶媒に可溶、他の金属とアマルガムを形成するといった特異な物理化学的性質を有し、古くから知られている元素の1つである。また、水銀は毒性の高い物質であることもよく知られており、特に、メチル水銀は食物を通じて体内に吸収されやすく、体内貯留時間が長いことから生態系において食物連鎖を通じた生物濃縮が生じ、高い栄養段階にある捕食者に対し高い毒性を発現すると考えられている。

自然界に存在する水銀は様々な化学形の変換を伴いながら環境中を循環している。大気はこうした自然界の水銀循環における主要なリザーバーの1つである。水銀は地殻/マントルからの脱ガス、土壌・水（陸水および海水）・植生の表面、自然火災（wild fire）、火山および地熱活動といった自然発生源と、化石燃料や廃棄物の燃焼、塩素アルカリ工場、金属の精錬といった人為発生源の双方から大気へ放出される（Scroeder and Munthe, 1997）。大気中に存在する水銀化学種は主に3つである（Gabriel et al., 2005; Cobbett et al., 2007; Gustin and Jaffe, 2010）：ガス状金属水銀（gaseous elemental mercury : Hg^0 ）、活性ガス状水銀（reactive gaseous mercury : RGM *e.g.*, HgO , HgCl_2 , HgBr_2 , $\text{Hg}(\text{OH})_2$ ）、および粒子状水銀（particle-bound mercury : P-Hg）。これらのうち、大気中の主要な化学形態である Hg^0 は全体の90%以上を占め、RGMとP-Hgは通常、2%未満である（Gustin and Jaffe, 2010）。RGMやP-Hgの大気中滞留時間は短いため、これらの水銀は発生源周辺に沈着する一方で、 Hg^0 の大気中滞留時間は0.5–2年と長いため、大気中の酸化物（*e.g.*, O_3 , H_2O_2 ）により酸化されて地表に沈着するまでに長距離輸送されることが考えられている（Lin and Pehkonen, 1999）。沈着した水銀は生態系に取り込まれたり、大気へ再放出されたりして、化学形の変化を伴いながら再び環境中を移動する（Boening, 2000）。このように、大気に排出された Hg^0 は発生源から遠隔地の生態系にとって深刻な流入源になると考えられる。

世界で人為発生源から大気へ排出される水銀の約54%はアジアの国々が起源と報告されている（Pacyna et al., 2006）。化学産業、水銀採掘および金採掘からの水銀放出がアジアにおける主な発生源であり、これらに自然発生源からの

放出も加わることから、アジア地域の水銀放出について、より詳細で正確な評価を行うためのデータの集積と検討が必要とされている (Li et al., 2009)。そのためには、水銀汚染地域において調査を行い、水銀発生源についての詳細な情報を得、発生源周辺での水銀汚染レベルを明らかにする必要がある。

大気に流入した水銀の周辺および遠隔地の生態系や人体への影響を評価するためには、水銀発生源から放出された水銀の広範囲で継続的な追跡調査 (モニタリング) が必要である。Tekran 水銀蒸気分析器や Lumex 水銀分析器, Gardis 自動水銀測定装置, 金トラップ (金アマルガム法) の使用により、大気中水銀を観測地点 (多くの場合 1 地点) において 1 年以上の長期に亘って追跡し、日周および季節変動や年変化を明らかにした研究例は多くある (Shon et al., 2008; Fu et al., 2009; Wanze et al., 2008; Kim and Kim, 2001; Kim et al., 2006; Tomiyasu et al., 2006; Baker et al., 2002; Choi et al., 2009; Denis et al., 2006)。これらの研究により、大気中水銀濃度は気温や太陽光等と関連した変動を示すこと、および、人為的 (石炭やバイオマス燃焼) に排出された水銀によっても変動することが明らかにされている。このような機器を用いた長期的なモニタリングは大気中水銀の挙動に関する詳細な情報を提供することができるが、機器の導入コストが高いことや定期的なメンテナンスが必要となるために、通常、観測地点数や設置個所は制限される。

また、同じく Lumex 水銀分析器を用いて Gosar et al. (1997) はスロベニアの水銀鉱山周辺で、Higuera et al. (2005) はチリの鉱山地域において、水銀放出地点 (精錬所や坑道の通気口) に高濃度に存在する水銀の拡散に対する風向きと風速の影響を明らかにした。これらの調査は調査地域の道路を走行しながら大気中水銀濃度を測定しているため、得られる水銀濃度分布は測定時点の一時的 (それぞれ 10 秒間, 3 秒または 30 秒間) な状況を反映したものである。大気中水銀濃度は気温や風向き, 人為活動などの様々な環境要因に関連して変動するため、調査地点・地域における潜在的な濃度分布をより正確に把握するためにはこの様な測定を繰り返し行なう必要がある。

一方、生物を用いた大気環境の評価法 (バイオモニタリング) も大気中水銀汚染の評価に利用されている。バイオモニタリングはサンプリング機器を使用せずに行えるのでコストが低く、広範囲のサンプリングも容易に行え、ある期間の大気中水銀レベルを生体内の蓄積量として反映し得るため、広範囲・長期

的調査を簡単に実施することができ、水銀発生源の特定 (Chakraborty and Paratkar, 2006) や、発生源からの水銀拡散の評価に利用できると考えられる。環境の定性的な評価を行う場合に用いられる生物はバイオインジケータ (bioindicator)、定量的な評価に用いられる生物はバイオモニター (biomonitor) と呼ばれる (Market et al., 1999)。大気汚染の程度や環境への影響を評価するためには、バイオインジケータやバイオモニターとして適した生物を用いる必要がある (Namieśnik and Wardencki, 2002)。なかでも、陸上生態系のベースとなる生物を利用したバイオモニタリングは、大気から生態系に流入する汚染物質の評価・モデリングも可能となる点で大変有用であると考えられる (De Temmerman et al., 2009)。

大気中水銀のバイオモニタリングはこれまでに北欧米を中心に多く報告されている。バイオモニターとしては地衣類 (Garty, 2001; Horvat et al., 2000; Jeran et al., 2003; Bargagli and Barghigiani, 1991; Loppi, 1996; Loppi et al., 2004; Loppi et al., 2006; Ikingura and Akagi, 2002; Miyamoto et al., 2008)、蘚苔類 (Aničić et al., 2009; Real et al., 2008; Lodenius, 1998; Galsomiès et al., 1999; Harmens et al., 2004; Steinnes et al., 2003; Pesch and Schroeder, 2006)、サルオガセモドキ *Tillandsia usneoides* L. (Calasans and Malm, 1997; Malm et al., 1998)、ホソムギ *Lolium perenne* L. cv Vigor (De Temmerman et al., 2007)、葉物野菜 (De Temmerman et al., 2009)、ブナ科樹木 (*Quercus cerris* と *Q. pubescens*) の葉と幹 (Loppi et al., 1997) などが用いられてきた。これらのバイオモニタリングでは、調査地に生育する生物をバイオモニターとして評価に用いる *in situ* (現地) バイオモニタリングと、一定環境下で栽培した植物や調査地 (汚染地域) とは別の地点から採集した生物を調査地に移植してバイオモニターとして用いる移植バイオモニタリングとがある。これらバイオモニタリングによる大気中水銀濃度・沈着量の評価をより定量的に実施するために、バイオモニター中の水銀濃度と実際の大気中水銀濃度との関連性を明らかにすることの重要性も指摘されている (Calasans and Malm, 1997; Garty, 2001)。移植バイオモニタリングでは、調査地に一定期間移植したバイオモニター中水銀濃度の増減で大気中水銀レベルや沈着量の評価を行なっている (Aničić et al., 2009)。このため、バイオモニターの周辺大気への曝露期間が明確であり、機器を用いた調査と並行して行うことが可能となることから、バイオモニター中水

銀濃度と大気中水銀濃度の比較を行い、両者間の関連性を確認することが可能である (Malm et al., 1998; Horvat et al., 2000; De Temmerman et al., 2007; De Temmerman et al., 2009)。しかし、移植バイオモニタリングには移植に伴う外部環境の変化に対する高い耐性を有する生物を用いる必要がある (Calasans and Malm, 1997 ; Jeran et al., 2003), また, 生体が移植による環境変化によって受けるストレスからの回復期間も考慮する必要がある (De Temmerman et al., 2007)。移植バイオモニタリングでは, バイオモニターの移植, 設置, 回収のためにはパッシブサンプラー (e.g., Lyman et al., 2010) 等の機器を用いた場合と同様の手間がかかるため, 結果的に調査地点数および位置選定には制限が伴う。一方の *in situ* バイオモニタリングでは, 現地に生育する生物をそのまま利用できるのもより簡便に広範囲で長期的な調査を行えることが大きな利点であるが, 広範囲・多地点の *in situ* バイオモニタリングデータと機器分析による大気中水銀濃度を対応させるためには, 多地点での機器による大気中水銀捕集を同時期に行なう必要があるため, 時間的・経済的に高コストとなり困難となっていた。Steinnes et al. (2003)はノルウェー全土の約 500 地点において自生する蘚苔類 *Hylocomium splendens* を採集し, その水銀濃度測定結果からノルウェーにおける大気から沈着すると考えられる水銀の濃度分布を示し, また, 1985 年, 1990 年, 1995 年および 2000 年の同様の調査結果を比較して長期的な傾向についても考察を行った。しかし, 実際の大気中水銀濃度は測定されておらず, バイオモニター中の水銀濃度との関連については検討されていなかった。多くの *in situ* バイオモニタリングでは水銀発生源がないとみなせる地域 (バックグラウンド) の生物試料と水銀発生源周辺の生物試料の水銀濃度を比較して後者の水銀濃度が高められていることを指摘するものの, その定量的な評価は十分でない。これらのことから, 特に *in situ* バイオモニタリングにおいて, より定量的で信頼性のある大気中水銀濃度の評価を行うために, バイオモニター中の水銀濃度と実際の大気中水銀濃度との関連性を明確にする必要がある。

そこで, 本論では水銀捕集管 (金アマルガム法) を用いた大気中水銀の捕集と調査地に自生する植物 (*in situ* バイオモニター) のサンプリングを同時期に行なうことで, *in situ* バイオモニター中水銀濃度とその生育地点周辺の大気中水銀濃度の関連性を明らかにした。*in situ* バイオモニタリングでは調査地に対

象とする生物が生育していることが絶対条件となるため、調査地に豊富に生育する生物種を対象とした。まず、第2章では、*in situ* バイオモニター中水銀濃度と大気中水銀濃度を明確に対応させるために、多地点における2年間の継続的なサンプリングを試みた。多地点での継続的サンプリングを実行するために、調査地点は鹿児島大学構内に設定し、同大学構内に豊富に自生する常緑性の着生シダ植物を *in situ* バイオモニターとして用いた。大気中水銀のバイオモニタリングにシダ植物を用いた研究はこれまでに報告されていなかったため、シダ植物のバイオモニターとしての基礎的検討を行ない、シダ植物の葉は大気中水銀のバイオモニターとして利用できることを示した。2005年12月から2007年11月までの2年間に月に1回、鹿児島大学構内の8地点でシダの葉 (*in situ* バイオモニター) と金アマルガム法による大気中水銀のサンプリングを行ない、水銀濃度を測定した。この2年間分の水銀濃度測定結果を用いることで、ある月に採集した *in situ* バイオモニター中水銀濃度とその前月までの平均大気中水銀濃度とを対応させることが可能となり、*in situ* バイオモニターが大気中水銀レベルを反映し得る期間を示すことができた。

水銀汚染地域では水銀排出源の排出活動の程度、排出源からの距離や風向きにより大気中水銀濃度は一時的に大きく変動することもあるため (Gosar et al., 1997; Higuera et al., 2005), 機器による低頻度のサンプリングでは調査地点の潜在的な大気中水銀濃度を見積もることは困難な場合もある。一方、*in situ* バイオモニターは周辺大気から水銀を生体内に取り込んで蓄積しており、その蓄積量は大気中水銀濃度の一時的な変化を均したある期間の平均的状态 (水銀レベル) を反映するので、機器を用いる場合よりも低頻度のサンプリングで長期の大気中水銀レベルの評価が可能と考えられる。そこで、第3章では *in situ* バイオモニタリングの利点を活かした定量的な大気中水銀濃度の評価を試みた。調査地域は水銀を用いた金精錬により深刻な水銀汚染が生じているインドネシア共和国のチカニキ川流域の源流部から約25km下流までにある9集落・地域 (Site) を対象とし、その中の28地点から *in situ* バイオモニターと金アマルガム法による大気中水銀のサンプリングを行なった。バイオモニター中水銀と大気中水銀の測定結果から、水銀汚染地域における両試料中の水銀濃度の関連を明らかにした上で、この関連性を利用した、バイオモニター中水銀濃度に対応する大気中水銀濃度を計算するための回帰式の導出を試みた。回帰式の導出に

は複数地点から大気中水銀と *in situ* バイオモニターをサンプリングできた Site のデータセットを用いて、水銀濃度を Site 平均値（Site 平均大気中水銀濃度と Site 平均バイオモニター中水銀濃度）で対応させることにより、各地点の大気中水銀濃度の変動とバイオモニター中水銀濃度の個体差の影響を少なくした。こうして得られた回帰式を用いてバイオモニター中水銀濃度から調査地点の平均的な大気中水銀レベルの定量的評価を行なった。

最後に、第 4 章では *in situ* バイオモニターによる大気中水銀レベルの定量的評価手法について総括した。

第2章 大気中水銀のバイオモニターとしての着生シダ植物の基礎検討

—ノキシノブの葉中水銀濃度と大気中水銀濃度の関連性—

2.1. 緒言

調査地に自生する生物を利用した環境評価法である *in situ* バイオモニタリングは水質や大気環境等を評価する有用な手法として用いられている。着生植物は、一般的に、土壌以外の樹木や岩石上に固着生活し、雨水や水蒸気から水分や栄養塩類を摂取しているため、大気起源物質を蓄積していると考えられる。このことから、大気環境のバイオモニタリングにおける着生植物の有用性が認められている (Mhatre, 1991)。大気中水銀のバイオモニタリングにもこうした着生種が用いられており、特に、バイオモニタリングによる大気中水銀に関する研究が多く報告されている北欧米では、地衣類 (*e.g.*, *Parmelia sulcata*, *P. caperata*, *Evernia* sp., *Hypogymnia physodes*, *Xanthoria parietina*) や蘚苔類 (*e.g.*, *Hypnum cupressiforme*, *Hylocomium splendens*, *Pleurozium schreberi*, *Scleropodium purum*) がバイオモニターとして用いられている (Loppi and Bonini, 2000; Jeran et al., 2003; Horvat et al., 2000; Loppi et al., 2006; Loppi et al., 1997; Steinnes et al., 2003; Harmens et al., 2004; Galsomiès et al., 1999)。これら生物種は中緯度から高緯度に主な分布域をもつことから、北欧米では容易に採集でき、その地域における有用な *in situ* バイオモニターとなっている。その一方で、中緯度から低緯度の熱帯・亜熱帯地域での大気中水銀のバイオモニタリングについては少数例しか報告されていない。その中で、Ikingura and Akagi (2002) はタンザニア連合共和国において着生地衣類 *Parmelia* sp. を用いたバイオモニタリングの結果、金採掘場からの 3 km 以内の水銀汚染状況を明らかにした。*Parmelia* などは分布域が世界中に及んでいるが、低緯度域ではモニタリングに十分な個体数の確保が困難な場合もある。この難点に対し、Malm et al. (1998) は調査地の熱帯環境に適応した植物種を用いた移植バイオモニタリング手法を示した。このような移植バイオモニタリングにおいて、調査地の環境条件 (気候、汚染の程度など) 下で生育できることがバイオモニターとして必要な条件となる (Namieśnik and Wardencki, 2002)。調査地域に豊富に自生する植物種のバイオモニタリングへの利用は調査

地の環境条件への適応や十分な個体数の確保といった問題点の有効な解決策であると考えられる。中緯度から低緯度地域の水銀汚染についてより多くの情報を得るためのバイオモニタリングを行うために、この地域に豊富で、大気中水銀のバイオモニターとして適した生物種によるバイオモニタリング手法の検討が必要である。

そこで、本章では東アジアおよび東南アジア（中国、韓国、日本、台湾、インドネシアおよびフィリピン）に分布する雑草的な普通種で、日本国内においては北海道の南部以南の低山地の山林中から村落の陽地まで、樹幹や岩上などに着生する常緑性の着生シダ植物であるウラボシ科 *Polypodiaceae* ノキシノブ属のノキシノブ *Lepisorus thunbergianus* (Kauf.) Ching（岩槻, 1992）を対象として大気中水銀レベルの評価を行うための *in situ* バイオモニタリング法の検討を行った。

2.2. 材料と方法

2.2.1. サンプルリング

鹿児島県鹿児島市の鹿児島大学郡元キャンパス構内およびその周辺道路沿いにおいて、植樹されているクスノキ(*Cinnamomum camphora* (L.) Presl)の樹幹に地表から 1–2m の高さに着生していたシダ植物ノキシノブの胞子体を採集した。採集した試料はチャック付きのポリビニール袋に入れて実験室に持ち帰り、測定までは冷暗所で保管した。試料の同定、和名、学名等については中池 (1982) と岩槻 (1992) に従った。ノキシノブが単一種であるかどうかについては課題となっている (岩槻, 1992) が、本研究ではそこまでの議論を行わない。そのため、本論の中でノキシノブとして扱っている試料の中にはノキシノブの近縁種が含まれている可能性がある。

大気中水銀の捕集は定流量ポンプ (SIBATA MINIPUMP MP - Σ300) に多孔質金捕集剤を充填した水銀捕集管 (日本インスツルメンツ社製) を接続したものを地表からおよそ 1–2 m の地点に設置して行なった。水銀捕集管はあらかじめ十分に空焼きし、使用までは保存容器に密栓して保管した。捕集に用いたポンプの流量は 0.50 L min^{-1} に設定し、約 4 時間現地大気を通気した。捕集後の水銀捕集管は保存容器に入れて密栓して実験室に持ち帰り、1 週間以内に水銀濃度測定を行なった。大気中水銀濃度は日中–夜間での変動があることが報告されているため (Baker et al., 2002; Tomiyasu et al., 2006; Denis et al., 2006; Wanze et al., 2008), 大気中水銀の捕集は日中 (午前 9 時から午後 6 時まで) に限って行った。

2.2.2. 水銀濃度測定

2.2.2.1. 植物試料

湿式分解 - 還元気化 - 冷原子吸光光度法によって総水銀量を測定した。

2.2.2.1.1. 試薬

特に断らない限り、市販の有害金属測定用を使用した。超純水は Elix-5 で得られた蒸留水を日本ミリポア工業製の MILLI-Q SP REAGENT WATER SYSTEM に通して得られた超純水を使用した。

10 M 水酸化ナトリウム溶液：超純水 20 ml に水酸化ナトリウム（和光純薬工業製特級試薬）8 g を溶かした。

0.5 % 過マンガン酸カリウム（0.5 M 硫酸）溶液：0.5 M 硫酸溶液（超純水 35 ml + 硫酸 1 ml）に、過マンガン酸カリウム（和光純薬工業製）0.18 g を溶解した。

10 % 塩化スズ（II）溶液：塩化スズ（II）ニ水和物（和光純薬工業製特級試薬）50 g を濃塩酸（ナカライテクス株式会社製特級試薬）90 ml で溶解し、超純水を加えて 500 ml とした。調製後、窒素ガスを 30 分間通して水銀を除去し、褐色ビンに入れて冷蔵庫に保存した。

0.1 ppm 無機水銀標準溶液（0.05 M 硫酸（3 % 塩化ナトリウム））：1000 ppm 無機水銀標準溶液（塩化水銀（II）和光純薬工業製原子吸光分析用水銀標準液）を 0.05 M 硫酸（3 % 塩化ナトリウム）溶液で適宜希釈した。2005 年度から 2008 年度までの測定に使用。

1 ppm および 0.1 ppm 無機水銀標準溶液（0.1 M 硝酸）：100 ppm 無機水銀標準溶液（塩化水銀（II）和光純薬工業製原子吸光分析用水銀標準液）を 0.1 M 硝酸溶液で適宜希釈した。2009 年度から 2010 年度の測定に使用。

硝酸 - 過塩素酸溶液（1 : 1）：濃硝酸（関東化学株式会社製）と過塩素酸（関東化学株式会社製）を体積比 1 : 1 で混合した。

硫酸：濃硫酸（関東化学株式会社製）

2.2.2.1.2. 水銀濃度測定手順

フローチャートを図 2.1 に示した。試料を 50 ml メスフラスコにとり精秤した。超純水を約 1 ml 入れた後、1 : 1 硝酸 - 過塩素酸溶液 2 ml と濃硫酸 5 ml を入れ、約 230°C のホットプレート (Thermolyne type 2200 Hot plate) 上で 30 分間加熱分解した (酸処理)。その後、室温まで冷却し、超純水で 50 ml に定容し、試料溶液とした。

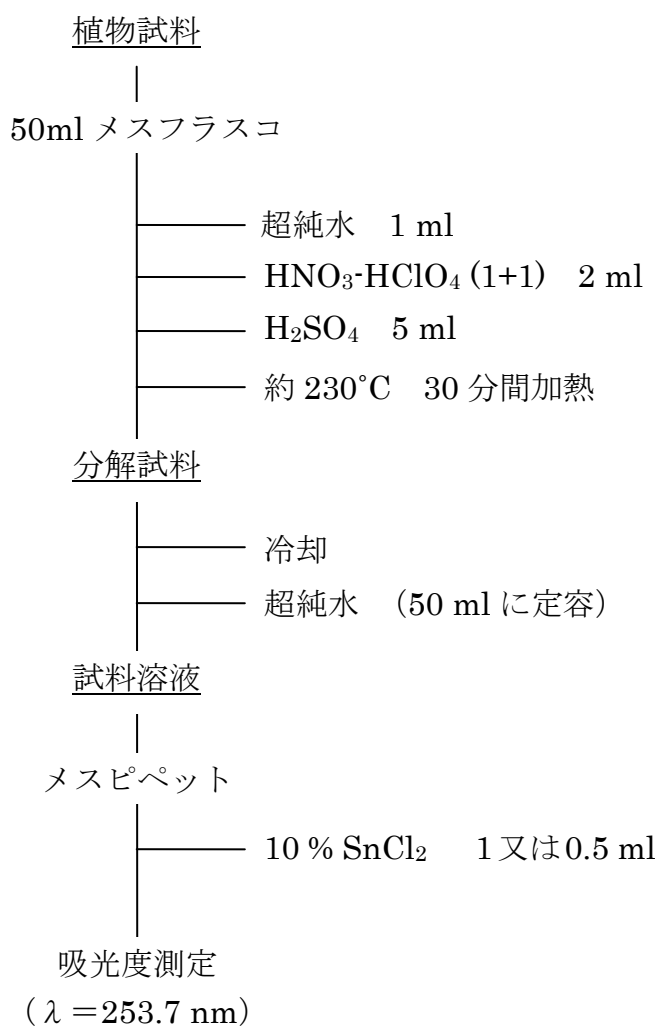


図 2.1 植物試料の水銀濃度測定方法

還元気化—冷原子吸光光度法 (Akagi and Nishimura 1991; Akagi et al. 1995) により, 自動水銀分析装置 (三双製作所モデル; HG-3000) を用いて水銀濃度測定を行なった (図 2.2)。反応容器に試料溶液 < 10 ml を入れ, 容器を密閉した後, 塩化スズ (II) 溶液 1 または 0.5 ml を加えると溶液中の水銀イオン (Hg^{2+}) は金属水銀 (Hg^0) に還元される。スタートボタンを押すとポンプが作動し発生した水銀蒸気が四方コックを介して反応容器と酸性ガストラップ内を 30 秒間循環して試料溶液中の金属水銀は気相へ移動する。この間に試料溶液から発生する酸性ガスはアルカリ溶液中に捕集される。その後, 四方コックが自動的に 90°回転し, 水銀蒸気が除湿器 (アイスバス) を経由して吸光セルに導かれ, 253.7 nm の波長の吸光度が測定される。吸光度は記録計 (SEKONIC ; SS 250F) にピークとして示される。記録計の示度が低下し始めたら反応容器下部のコックを開き, 内部の溶液を排出させて超純水で容器内部を洗浄した後コックを再び閉じてベースラインに戻るまで通気する。リセットボタンを押す, 次の測定に移る。測定後の水銀蒸気 (Hg^0) は過マンガン酸カリウム溶液に通して捕集し, 実験室内の汚染を防いだ。

検量線は 50 ml のメスフラスコに超純水 1 ml 入れ, 0.1 ppm 水銀標準溶液または 1 ppm 水銀標準溶液を適当量添加して試料と同様に酸処理して測定し, 検量線を作成した。0–100 ng / 10 ml の水銀量の範囲で検量線は直線であることを確認した。

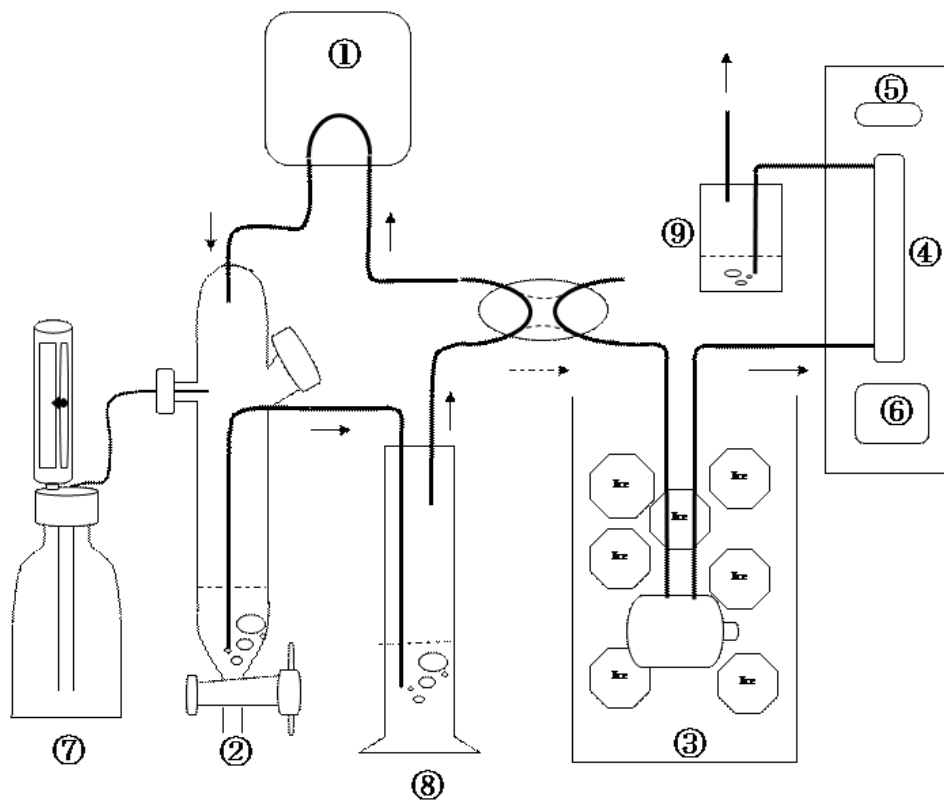


図 2.2 水銀測定装置図

キャリアーガス：空気

- | | |
|--------------------------|----------------------|
| ①エアークポンプ | ②反応容器 |
| ③除湿器 | ④石英セル |
| ⑤水銀ランプ | ⑥検出器 |
| ⑦10 % SnCl ₂ | ⑧10M NaOH (酸性ガストラップ) |
| ⑨0.5 % KMnO ₄ | (水銀捕集ビン) |

水銀濃度の計算

$$\text{試料中総水銀濃度(ng/g)} = 50 / V \times (Ps - Pbl) / a \times 1 / M$$

V : 測定に用いた試料溶液量 ml (通常 10。希釈した場合は希釈倍数で割った値)

Ps : 試料溶液のピーク高 mm

Pbl : ブランク溶液のピーク高 mm

a : 検量線の傾き mm / ng

M : 試料量 g

水銀濃度を湿重量ベースで測定した場合は、濃度測定に用いた試料と類似した試料を 40℃で 3 日間または約 70℃で 1 日乾燥させて試料中の水分含有量を求め、それを用いて湿重量ベースの水銀濃度を乾燥重量ベースに換算した。

$$\text{試料中総水銀濃度(乾燥重量ベース ; ng/g)} = (Cw \times Mw) / Md$$

Cw : 試料中総水銀濃度 (wet ベース) ng/g

Mw : 試料量 (wet) g

Md : 試料量 (dry) g

2.2.2.2. 大気試料

金アマルガム捕集 - 加熱気化 - 冷原子吸光光度法によりガス状総水銀量を測定した。

2.2.2.2.1. 試薬

緩衝溶液：pH 6.86±0.02 標準緩衝液（ナカライテスク株式会社）

2.2.2.2.2. 水銀濃度測定手順

図 2.3 に示す水銀測定装置（日本インスツルメンツ社 マーキュリーアナリシスシステム S-1）を用いた。水銀を捕集した水銀捕集管（第 1 捕集管）を保存容器から取り出し第 1 加熱炉に接続し、装置を始動させると、ポンプによってキャリアーガスが 0.5 L min^{-1} で吸引されると同時に第 1 加熱炉は 3 分間 500°C に加熱されて水銀を気化する。気化した水銀は緩衝溶液の入った洗浄器と除湿器を通して精製用捕集管（第 2 捕集管）に再捕集される。次に、第 2 加熱炉が 500°C で 1 分間加熱され、水銀を気化し、石英セルに導いて波長 253.7 nm の吸光度を測定する。水銀量は ng 単位で測定装置に小数点以下 2 桁までデジタル表示される。定量値はその表示値から事前に測定して一定値となった機械ブランク値を差し引いた値とした。

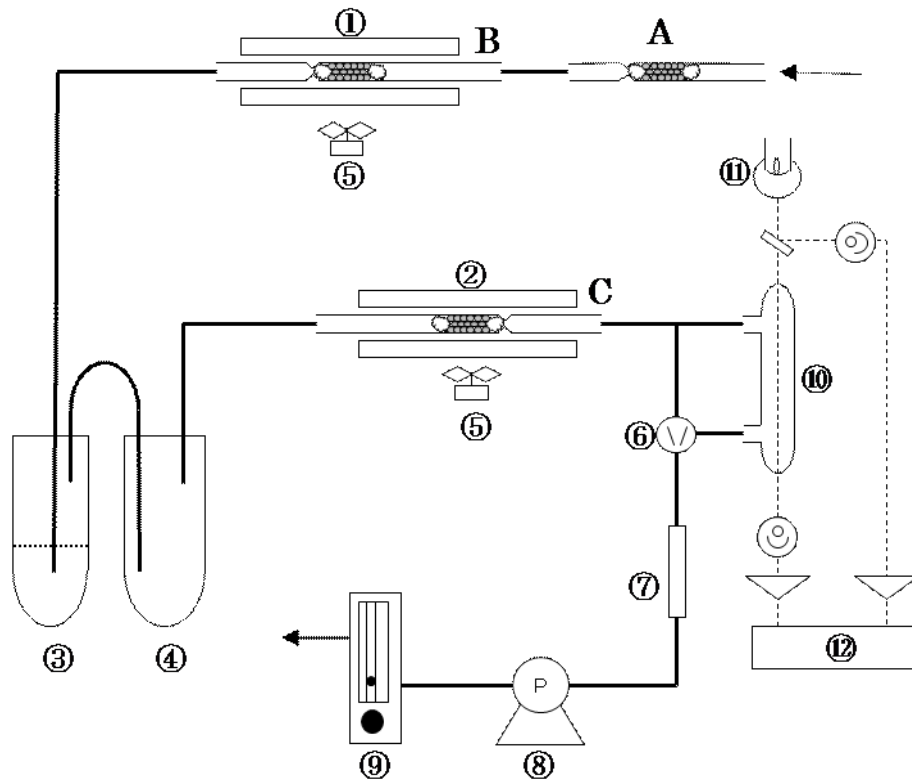


図 2.3 大気中水銀濃度測定装置図

キャリアーガス：水銀捕集管を通過させた空気； 0.5 L min^{-1}

- | | |
|---|---|
| A 空气中水銀除去管 | B 第1捕集管（試料捕集管） |
| C 第2捕集管（精製用捕集管） | |
| ① 第1加熱炉（ $500 \text{ }^\circ\text{C}$ ） | ② 第2加熱炉（ $500 \text{ }^\circ\text{C}$ ） |
| ③ 洗浄器 | ④ 除湿器 |
| ⑤ 冷却ファン | ⑥ 三方バルブ |
| ⑦ 活性炭水銀除去容器 | ⑧ 吸引ポンプ |
| ⑨ 流量計 | ⑩ 石英セル |
| ⑪ 水銀放電管 | ⑫ 検出器 |

2.3. 結果と考察

2.3.1. バイオモニターとしてのノキシノブの水銀蓄積に関する基礎検討

2.3.1.1. ノキシノブ（孢子体）中の水銀濃度分布

ノキシノブの孢子体は他の多くのシダ植物と同様に葉、根茎、不定根からなる。ノキシノブの孢子体内の水銀濃度分布を明らかにするために、2009年7月に鹿児島大学構内4地点から10個体のノキシノブの孢子体を採集し、葉、根茎、不定根の3部位に分けて水銀濃度を測定した。いずれの部位も水洗いした後、ワイパーで水分を拭いたものを濃度測定に用いた。湿重量ベースで測定した濃度は別に求めた水分含有量から乾燥重量ベースに換算した。(2.2.2.1.2.「水銀濃度の計算」参照)。水銀濃度測定結果を表2.1に示す。各部位の水銀濃度を比較した結果、各部位間には有意差が認められた(ANOVA, $p < 0.001$)。次に、これらに対し、Bonferroni correctionによる多重比較を行った結果、葉と根茎との間には有意差が見られなかったが、葉と不定根および根茎と不定根との間には有意差が見られ($p < 0.01$)、葉や根茎に比べて不定根の水銀濃度が高いことが示された。また、各部位間の水銀濃度はいずれの組み合わせにおいても有意な相関は得られなかった(葉と根茎： $p = 0.07$ ；葉と不定根： $p = 0.76$ ；根茎と不定根： $p = 0.51$)。地上生植物について、土壌中の水銀濃度の上昇に伴って、根中水銀濃度が高くなる一方で、葉に蓄積される水銀は根や茎を経由せず、主に周辺大気からとりこまれていることが示唆されている(Tomiyasu et al., 2005)。本研究ではノキシノブが着生する基質の水銀濃度を測定していないが、不定根の水銀濃度は基質中の水銀濃度に関連して高められている可能性が考えられる。しかし、不定根と根茎・葉との間に関連が認められなかったことから、葉に蓄積されている水銀について、不定根から葉への水銀移行による寄与は低く、主に大気起源である可能性が示唆された。よって、以降では、ノキシノブの葉を用いて大気中水銀との関連性の検討を行う。

表 2.1 ノキシノブ胞子体の部位別水銀濃度

| 試料 | 水銀濃度 (ng g ⁻¹) | | |
|-----|----------------------------|------|-------|
| | 葉 | 根茎 | 不定根 |
| a-1 | 14.4 | 4.9 | 116.3 |
| a-2 | 11.7 | 13.8 | 178.5 |
| a-3 | 11.3 | 16.2 | 109.8 |
| a-4 | 13.2 | 18.2 | 122.7 |
| b-1 | 29.1 | 30.4 | 142.4 |
| b-2 | 11.6 | 15.3 | 138.5 |
| c | 30.9 | 22.5 | 183.5 |
| d-1 | 28.0 | 33.5 | 79.1 |
| d-2 | 14.2 | 32.7 | 71.4 |
| d-3 | 18.9 | 16.9 | 44.5 |

a から d は採集地点を示す。

2.3.1.2. 測定前処理（洗浄方法）の検討

ノキシノブの葉の内部に蓄積された水銀量を測定するための測定前処理（洗浄方法）について検討を行った。鹿児島大学構内 2 地点から大きさと成熟段階が同程度の葉を 15 枚ずつ採集し、5 枚ずつを未洗浄、ワイパーによる拭き取り、超純水による洗浄を行った後、濃度測定して比較した結果、1 地点では処理の違いによる濃度差は示されなかった（ANOVA, $p = 0.31$ ）が、他方の地点では処理の違いによる濃度差が示された（ANOVA, $p < 0.05$ ）。後者の地点では未洗浄試料の濃度が拭き取りや超純水による洗浄をおこなった試料の濃度より有意に高かった（Bonferroni correction, それぞれ $p < 0.01$ と $p < 0.05$ ）。一方、拭き取りと超純水による洗浄との間には有意差は示されなかった。

通常、大気中水銀の大部分はガス状で存在しているため、粒子状水銀はごくわずかであるが、焼却施設や自動車からの排ガス等の影響を大きく受けている地点では粒子状水銀濃度が高いことが報告されている（Christoforidis and Stamatis, 2009）。このことから、後者の地点の試料は葉表面に付着した微粒子等により水銀濃度が高められている可能性が示唆された。

両地点とも拭き取りと超純水による洗浄との間に濃度差が見られなかったが、ノキシノブは灌水により比較的速やかに葉表面から水を吸収する（中野と岡, 1953）ので、超純水による洗浄は試料の乾燥状態に影響を及ぼす可能性があった。このため、試料はワイパーによる葉表面の拭き取りによって付着した埃等を落としてから、水銀濃度測定に用いることにした。

2.3.1.3. ノキシノブの葉の成熟に伴う水銀濃度変化

常緑性であるノキシノブは一年を通じて孢子体の葉がみられるが、その大きさは個体によって様々であり、また、孢子を付けていない若い葉から孢子を放出し終わった古い葉までが同時期にみられる。そこで、2005年11月から2006年3月の冬期に鹿児島県鹿児島市でノキシノブの葉823枚を採集し、葉の成熟に伴う水銀濃度変化について検討を行なった。なお、この期間の大気中水銀濃度は低く変動も少ないことを確認した ($1.8 \pm 0.6 \text{ ng m}^{-3}$, $n = 77$)。

ノキシノブの葉には多くのシダ植物で見られるように葉の裏面に孢子嚢が多数集まって形成される孢子嚢群が見られる。この孢子嚢群の有無や孢子嚢の成熟の程度を指標として、葉の成長段階を以下のようにグループ I–VII の 7 群に分けた (図 2.4)；

- I：孢子嚢群の形成が見られない若い葉
- II：孢子嚢群の形成は見られないが、孢子嚢形成が始まっている若い葉
- III：孢子嚢群が形成されているが、孢子嚢が未成熟（明るい黄色）の成熟した葉
- IV：孢子嚢群が形成され、成熟した孢子嚢（黄色から茶色）が見られる成熟した葉
- V：孢子嚢群が形成され、開裂し始めた孢子嚢（暗い茶色）が見られる成熟した葉
- VI：孢子嚢群が形成され、孢子嚢のほとんどが開裂している成熟した葉
- VII：孢子嚢群が形成され、孢子が散布され終わった古い葉

2006年2月から2007年10月までの野外観察において、成熟した葉（グループ III–VI）は出芽から6ヵ月後に現れ、3か月以上存続し、古い葉（グループ VII）は数週間存続することを確認した。

各グループの水銀濃度を表 2.2 に示す。水銀濃度は葉の成熟が I から VII へと進むにつれて上昇する傾向が見られ、グループ VII で最も高い水銀濃度を示した。これらのことから、ノキシノブの葉の存続期間が長いほど水銀は蓄積されると考えられる。その一方で、ノキシノブの葉の大きさと葉中水銀濃度との間には、葉の大きさの指標として乾燥重量を用いた場合、相関が見られなかった (図 2.5)。ノキシノブは同程度の大きさの葉であっても、孢子嚢群が観察されないこともあり、葉の大きさ（乾燥重量）からは葉の成熟の程度を判断することができな

いことを確認した。



図 2.4 各グループの葉

表 2.2 各グループの水銀濃度

| Group | Hg (ng g ⁻¹ DM) | | RSD (%) | n |
|-------|----------------------------|------|---------|-----|
| | Mean | SD | | |
| I | 18.4 | 12.4 | 67.3 | 141 |
| II | 20.3 | 11.0 | 54.1 | 89 |
| III | 21.8 | 6.5 | 29.7 | 69 |
| IV | 22.4 | 5.5 | 24.6 | 137 |
| V | 23.2 | 8.0 | 34.3 | 130 |
| VI | 23.8 | 7.8 | 32.8 | 118 |
| VII | 34.5 | 13.1 | 38.1 | 139 |

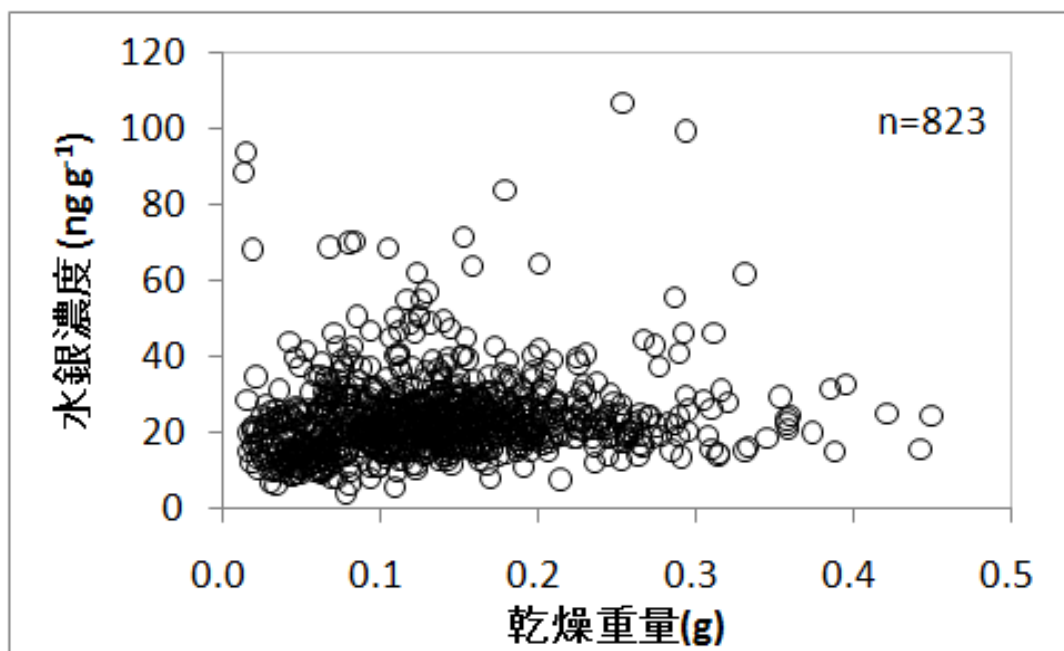


図 2.5 ノキシノブの葉中水銀濃度と乾燥重量の相関関係

2.3.1.4. バイオモニターに適した成熟段階の葉の検討

Bargagli (1998) は大気中物質が生体中に蓄積される量は生物の成長 (= 大気に曝されてきた期間) に関連があることを報告した。ノキシノブの葉においても、孢子嚢群の有無や孢子嚢の成熟の程度を指標として葉の成熟段階を決定することで、葉の成熟に伴う水銀の蓄積傾向が確認された (表 2.2)。大気中水銀のモニタリングに用いるノキシノブの孢子体の葉は、十分に周辺大気に曝されて物質交換を行なっている成葉であること、および、成長段階における水銀蓄積量にばらつきが少ないことが望ましい。これらの点をふまえ、バイオモニターとして用いるのに適した成熟段階の葉の検討を行った。

まず、各グループ間で水銀濃度を比較すると、グループ I から VI の水銀濃度には有意差が得られなかったが、グループ VII の水銀濃度は他のグループより有意に高いことが示された (Mann-Whitney U-test, $p < 0.05$)。グループ VII の葉は老化期の葉で、生理活性の減衰や葉の表面構造の変化 (凹凸の有無など) がこのような水銀の濃縮を引き起こしていると考えられる (Tyler and Olsson, 2006)。また、グループ I, II の水銀濃度のばらつき (相対標準偏差 RSD; それぞれ 67.3% と 54.1%) はグループ III-VI (RSD; 24.6-34.3%) に比べて大きかった。グループ I, II は若い葉を含んでおり、これらの葉は十分な曝露期間に達していない可能性が考えられ、また、活発な成長によって水銀濃度を薄めていることも考えられた。水銀濃度の個体間差を小さくするために、これらグループ I, II および VII の葉を除く、グループ III-VI に含まれる成熟した葉のみをバイオモニターとして用いることとした。

2.3.2. ノキシノブをバイオモニターとした大気中水銀レベル評価法の検討

2.3.2.1. 大気中水銀濃度とノキシノブの葉中水銀濃度

2005年12月から2007年11月までの2年間、月に1回、鹿児島大学郡元キャンパス構内の8地点で成熟したノキシノブの葉(3-8枚)の採集と大気中水銀の捕集を行った。(図2.6)。使用できる定流量ポンプの台数の都合上、8地点全ての試料を得るには数日間を要した。捕集時間帯や捕集日は各地点で異なることから、各地点の大気中水銀の捕集と同時に毎回同じ地点(基準地点)で同型のポンプと水銀捕集管を用いて大気中水銀を捕集し、捕集日時の相違による大気中水銀濃度の変動を確認し、変動が大きいつきは後日、再捕集を行った。各地点の2年間の水銀濃度変動を図2.7に示す。ノキシノブの葉中水銀濃度について、2006年の晩春から初夏(5-6月)と秋(11月)に有意に高い値がSite 1-3, 7および8で示され、Site 4-6では2007年の秋(10, 11月)に高かった。大気中水銀濃度は、Site 1-8では明確な季節変動は見られなかったが、基準地点では、2006年の春から秋(4-11月)および2007年の春から夏(4-7月)に高いことが示された(図2.8)。本調査地の大気中水銀濃度については、これまでにTomiyasu et al. (2000)により、夏から秋季に高く、冬季に低いという気温と関連した季節変動が報告されている。本研究では調査地点での気温を測定していなかったが、基準地点における春季から秋季の高い水銀濃度は気温等に関連した季節変動を含む変動であると考えられる。

表2.3に各地点の2年間平均水銀濃度を示す。ノキシノブの葉中水銀濃度は各月に採集された複数枚の葉の平均水銀濃度を用いて各地点の2年間平均水銀濃度を求めた。大気とノキシノブの平均水銀濃度はそれぞれ $2.6 \pm 1.9 \text{ ng m}^{-3}$ および $34.6 \pm 20.2 \text{ ng g}^{-1}$ であった。両試料ともに、水銀濃度はSite 5で最も高く、Site 1で最も低かった。各地点の2年間平均の大気中水銀濃度とノキシノブの葉中水銀濃度との間には有意な相関が得られた(図2.9)。このことから、ノキシノブの葉中水銀濃度は生育地周辺大気中の水銀レベルを反映していることが示唆された。

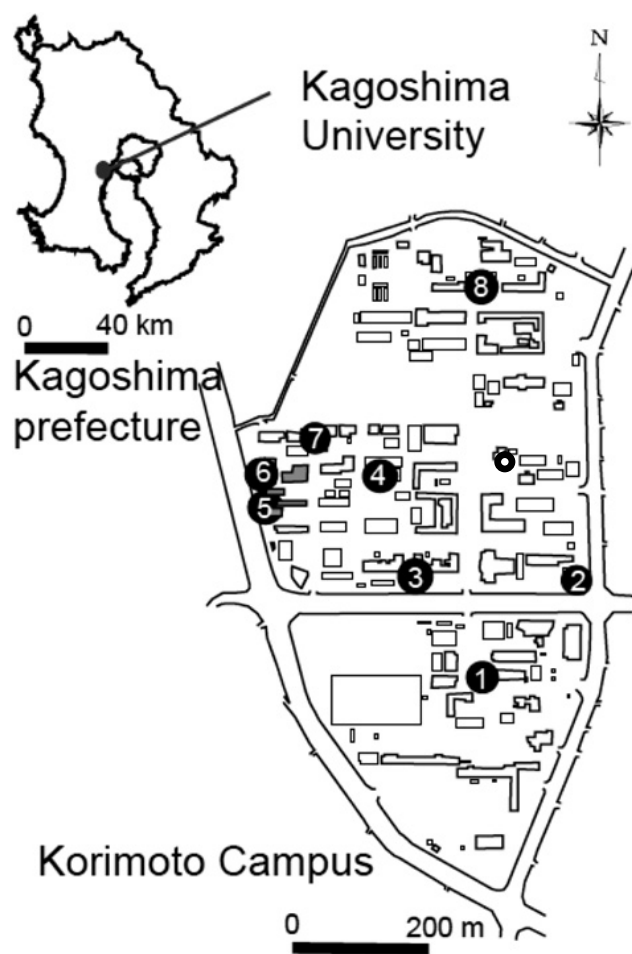


図 2.6 鹿児島大学構内の試料採集地点 (①—⑧)

● は大気中水銀捕集の基準地点

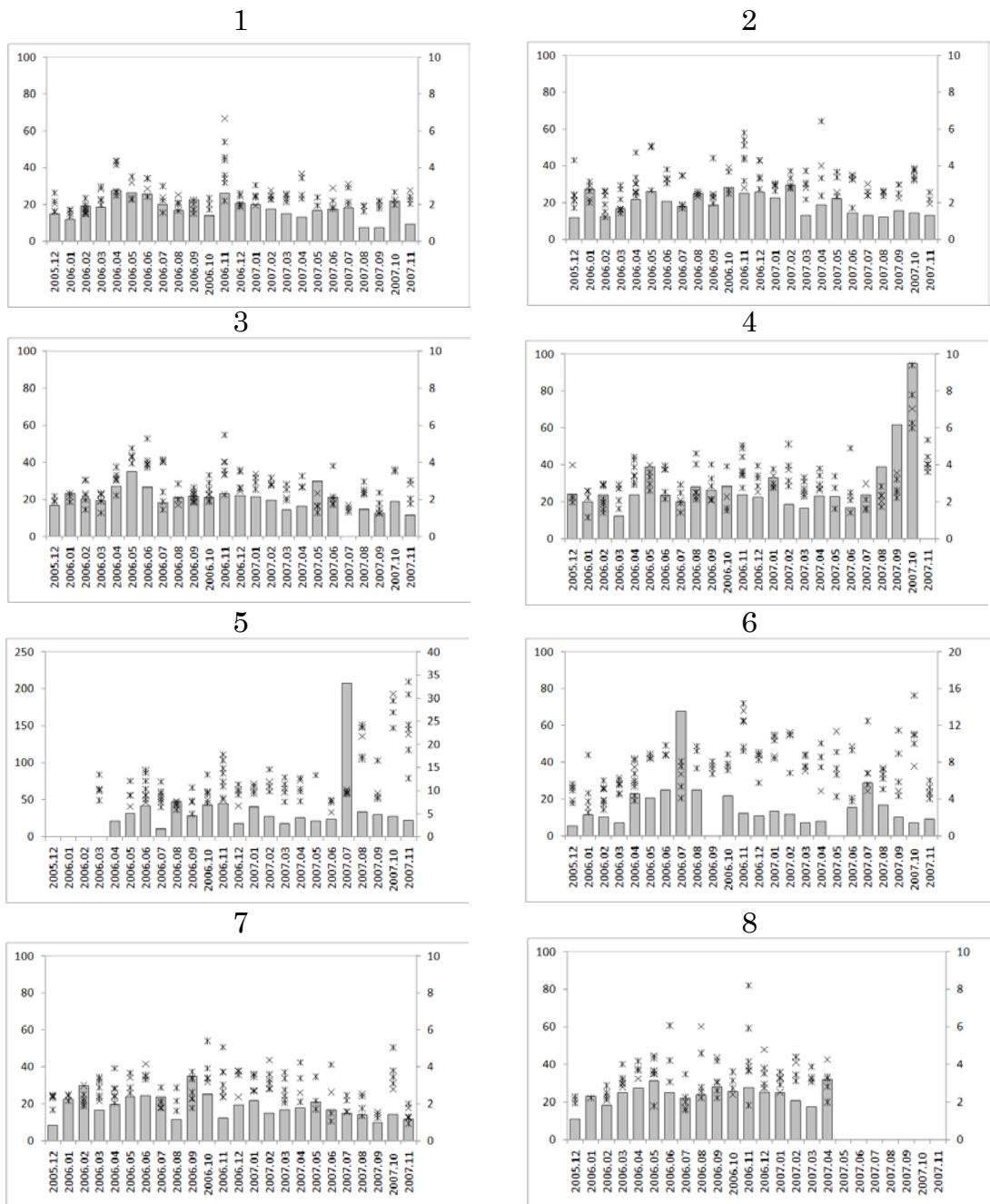


図 2.7 各地点の大気およびノキシノブ葉中水銀濃度の月変化

各グラフの上の数字は Site 番号。

大気中水銀濃度 (ng m^{-3}) : 棒グラフ, 右軸

葉中水銀濃度 (ng g^{-1}) : *プロット, 左軸

サンプリングの年, 月を横軸に示す。

Site 5, 6 の縦軸のスケールは他のグラフとは異なっている。

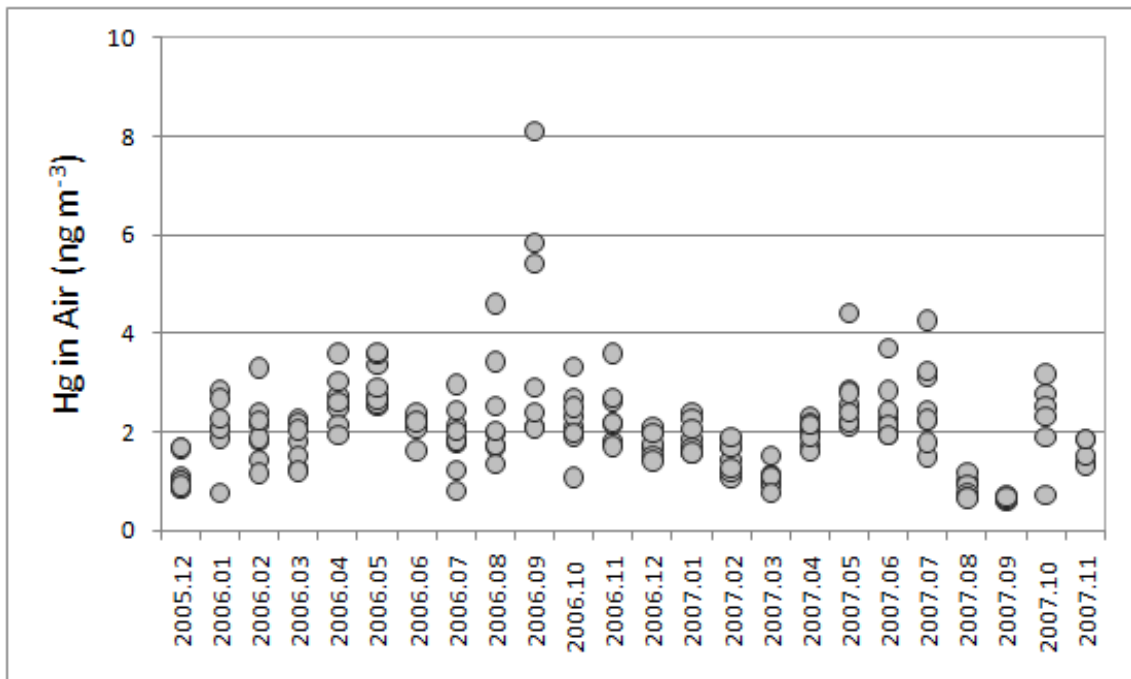


図 2.8 鹿児島大学構内の基準地点の大気中水銀濃度変化

表 2.3 鹿児島大学構内各地点の水銀濃度測定結果

| Site | Hg in Air (ng m ⁻³) | | | Hg in fronds (ng g ⁻¹) | | |
|-----------------|---------------------------------|------------|------------|------------------------------------|-------------|------------|
| | Mean | SD | N | Mean | SD | N |
| 1 | 1.8 | 0.6 | 24 | 23.9 | 5.8 | 24 |
| 2 | 1.9 | 0.6 | 24 | 29.7 | 6.4 | 24 |
| 3 | 2.1 | 0.5 | 23 | 26.3 | 7.5 | 24 |
| 4 | 2.9 | 1.6 | 24 | 30.7 | 10.8 | 24 |
| 5 | 5.3 | 3.6 | 18 | 75.5 | 34.8 | 20 |
| 6 | 3.4 | 2.6 | 22 | 37.8 | 10.0 | 24 |
| 7 | 1.9 | 0.6 | 24 | 26.9 | 6.7 | 24 |
| 8 | 2.4 | 0.5 | 17 | 32.5 | 7.1 | 17 |
| All data | 2.6 | 1.9 | 176 | 34.6 | 20.2 | 181 |

左：大気中水銀濃度

右：ノキシノブの葉中水銀濃度

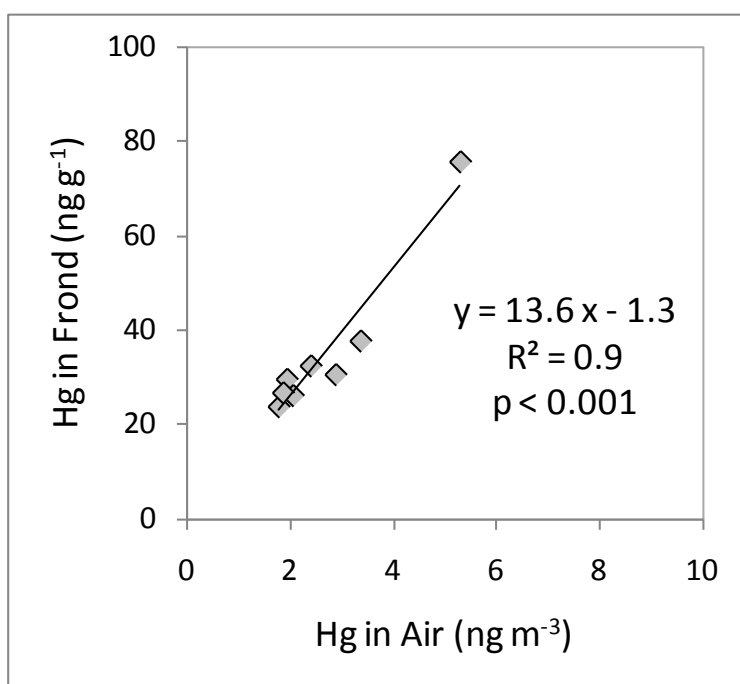


図 2.9 各地点における 2 年間平均の大気中水銀濃度とノキシノブの葉中水銀濃度との相関関係

2.3.2.2. ノキシノブの葉中水銀蓄積量が反映する過去の大気中水銀レベル

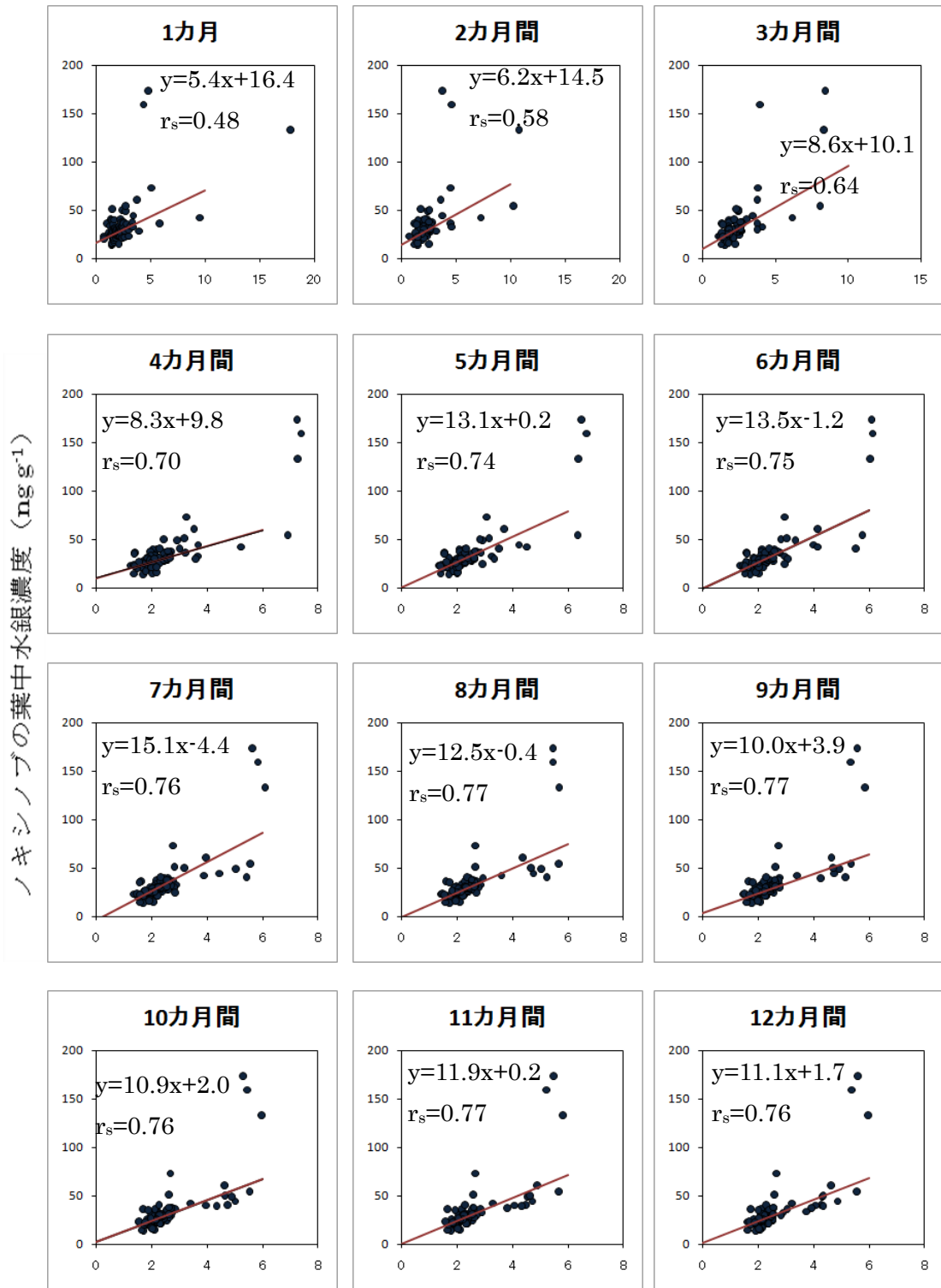
ノキシノブの葉には葉が出芽してから採集されるまでの間に大気中から取り込まれた水銀が蓄積していると考えられ、測定された葉中水銀量はノキシノブが採集されるまでのある期間の大気中水銀レベルを反映していると考えられる。しかし、調査地に自生するノキシノブの葉が実際にいつ出芽したかを特定することは困難である。そこで、ノキシノブの葉中水銀濃度がどのぐらいの期間の大気中水銀レベルを反映しているのかを明らかにするために、ある月に採集したノキシノブの葉中水銀濃度とその月の前月までの1カ月から12カ月間までの平均大気中水銀濃度とを対応させて回帰分析を試みた。6カ月間平均のデータセットを考えた場合、例えば、2007年7月に採集したノキシノブの葉中水銀濃度は2007年1月から6月の大気中水銀濃度を平均した値と対応させることになる。回帰分析に用いるデータセットを統一するために、対応させるノキシノブの葉中水銀濃度は2006年12月から2007年11月までのデータを用いた。また、これらのデータは非正規分布していたため、ノンパラメトリック法を用いた。

全てのプロットで有意な相関が得られた(図 2.10, $p < 0.001$, $n = 79$)。スピアマンの順位相関係数(r_s)は大気中水銀濃度の平均に用いる期間が4カ月間以上になると0.7以上の値を示したことから、ノキシノブの葉に蓄積された水銀量は過去4カ月間以上の大気中水銀濃度と直線性良く対応することが示された。すなわち、ノキシノブの葉中水銀濃度は過去4カ月間以上の大気中水銀濃度を反映していると考えられる。

図 2.10 において、大気中水銀濃度に対応しない高いノキシノブの葉中水銀濃度の外れ値が3点確認された。大気中水銀の捕集は月に1回(約30日間隔)で行っていたので、1度のサンプリングから次のサンプリングまでの間に生じた大気中水銀濃度を上昇させるような事象(水銀を含んだガスの一時的な漏出など)は大気中水銀のデータとして反映されていない。一方で、ノキシノブの葉中水銀濃度はこうした一時的な水銀濃度の上昇を均した過去のある期間の大気中水銀レベルを反映していると考えられる。これらの違いが大気中水銀濃度から期待される濃度より高いノキシノブの葉中水銀濃度を示す外れ値となったと考えられる。

各プロットの回帰式を Theil's incomplete method を用いて導出した。回帰式の傾きは1カ月から6カ月間までは大気中水銀濃度の平均に用いる期間が長く

なるにつれて値が大きくなり、7カ月間で最大となった後、約 $11 \text{ m}^3 \text{ g}^{-1}$ まで減少した。切片は1カ月から4カ月間までは平均に用いる期間が長くなるにつれて値が小さくなり、その後は0に近い値となった。5ヶ月間から8カ月間のプロットでは相関係数と回帰直線の傾きが大きく、切片はほぼ0であったことから、この期間の回帰式を利用することにより、ノキシノブの葉中水銀濃度から約半年間（5ヶ月間から8カ月間）の大気中水銀レベルの評価が可能であると考えられる。



対応させた期間平均の大気中水銀濃度 (ng m⁻³)

図 2.10 ノキシノブの葉中水銀濃度と過去 1 カ月から 12 カ月間までの平均大気中水銀濃度との関連性 (p < 0.001, n = 79)。

2.3.2.3.ノキシノブをバイオモニターとした大気中水銀レベルの長期的評価

2.3.2.2.で得られた5カ月間から8カ月間のデータセットの回帰式の傾きと切片を平均して回帰式 $y = 13.6x - 1.4$ を得た。ここで y はノキシノブの葉中水銀濃度 (ng g^{-1}) で、 x はそれに対応する約半年間の平均大気中水銀濃度 (ng m^{-3}) である。本式を用いて、ノキシノブの葉中水銀濃度から半年間の大気中水銀レベルの評価を試みた。

鹿児島大学構内8地点で得られた全てのノキシノブの葉中水銀濃度(月平均値)を上記式に代入し、大気中水銀濃度を計算した。この計算値はノキシノブが採集された月の前月までの半年間の大気中水銀レベルを反映していると考えられる。そこで、ノキシノブの葉中水銀濃度から得られた大気中水銀濃度の計算値と実際に各サンプリングで定量した大気中水銀濃度との比較を行った。実測した大気中水銀濃度の6カ月間平均値に対してノキシノブの葉中水銀濃度から得られた計算値をプロットすると、傾き0.9、切片0.2の回帰直線が得られ、計算値と平均実測値とはよく一致していることが示された(図2.11)。また、ノキシノブの葉中水銀濃度より計算された大気中水銀濃度 5 ng m^{-3} は、95%予測区間から、 $3\text{--}8 \text{ ng m}^{-3}$ の大気中水銀レベルとなることが示された。

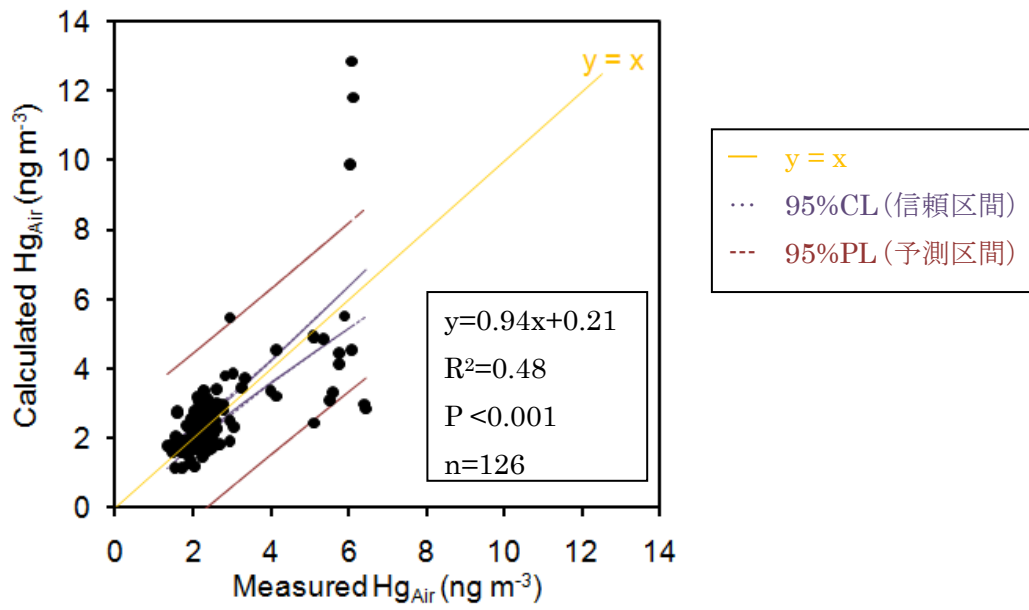


図 2.11 ノキシノブの葉中水銀濃度から得られた計算値と実測値の比較

2.4. まとめ

シダ植物は地衣類や蘚苔類とは異なり、葉、根茎、不定根が区別されるが、ノキシノブの葉に含まれる水銀は、根茎や不定根からの移行による寄与は少なく、大気由来である可能性が高いことが示唆された。このことから、ノキシノブを大気中水銀のバイオモニターとして利用した大気中水銀濃度評価法の検討を行った。ノキシノブは東アジアおよび東南アジアに広く分布する普通種で、野外において発見・採集を容易に行うことができることはバイオモニターとしての大きな利点となる。

葉の大きさ（乾燥重量）と葉中水銀濃度との間に明確な相関は見られなかったが、ノキシノブの葉裏面の孢子嚢群の有無や孢子嚢の成熟の程度を指標とした葉の成熟に伴って水銀濃度が上昇する傾向がみられた。これは葉の存続期間（＝曝露期間）が長くなるにつれて葉中に蓄積される水銀量が増加することを示唆する。また、孢子嚢群の形成がみられる成熟した葉の水銀濃度は孢子嚢群の形成がみられない若い葉や孢子散布後の古い葉に比べ個体間差が小さかったので、そのような成葉を用いることで精度の高いデータを得ることが可能と考えられる。

次に、鹿児島大学構内 8 地点における 2 年間の追跡調査により、大気中水銀濃度とノキシノブの葉中水銀濃度との間には強い相関が得られた。ある月に採集したノキシノブの葉中水銀濃度と、その採集地点における過去 1 カ月から 12 カ月間までの平均大気中水銀濃度との回帰分析によって、ノキシノブの葉中水銀濃度は採集前の 4 カ月間以上にわたる長期の大気中水銀レベルを反映していることが推定された。

ノキシノブの葉中水銀濃度と大気中水銀濃度との関連性から、葉中水銀濃度から半年間の大気中水銀レベルを評価する式を導出した。この式を用いて葉中水銀濃度から計算した大気中水銀濃度は実際の大気中水銀濃度の 6 カ月間平均値とよく一致していた。よって、ノキシノブを *in situ* バイオモニターとして用いることで、1 回のノキシノブのサンプリングにより、調査地の過去半年間の大気中水銀レベルの評価が可能となる。

第3章 インドネシア水銀汚染地域における着生シダ植物による大気中水銀の バイオモニタリング —シマオオタニワタリによる大気中水銀レベルの評価—

3.1. 緒言

水銀は自然発生源（火山活動，土壌・水・植生の表面など）および人為発生源（化石燃料燃焼，塩素アルカリ工場，金精錬など）の双方から大気中に放出されている（Scroeder and Munthe, 1998）。これらの水銀発生源，例えば，地熱地帯（Loppi et al., 2006; Loppi and Bonini, 2000），塩素アルカリ工場（De Temmerman et al., 2009; De Temmerman et al., 2007; Lodenius, 1998），天然ガス処理工場（Jeran et al., 2003; Horvat et al., 2000），金精錬（Ikingura and Akagi, 2002; Malm et al., 1998），都市や工業活動（Galsomiès et al., 1999; Steinnes et al., 2003; Harmens et al., 2004），からの水銀拡散を広範囲・長期的に評価したバイオモニタリングが報告されている。バイオモニタリングはサンプリング機器を使用せずに行えるのでコストが低く，広範囲のサンプリングも容易に行え，ある期間の大気中水銀レベルを生体内の蓄積量として反映し得るため，広範囲・長期的調査を簡単に実施することができ，水銀発生源の特定（Chakraborty and Paratkar, 2006）や，発生源からの水銀拡散の評価に利用できると考えられる。

インドネシア共和国西ジャワ州のチカニキ川流域では水銀を用いた金精錬（artisanal and small-scale gold mining: ASGM）が行われており，土壌や水系において高濃度の水銀汚染が報告されている（Hidayati et al., 2009）が，大気中水銀汚染についての研究は行なわれていない。水銀汚染地域では水銀排出源の排出活動の程度，排出源からの距離や風向きにより大気中水銀濃度は一時的に大きく変動することもあるため（Gosar et al., 1997; Higuera et al., 2005），機器による低頻度のサンプリングでは調査地点の潜在的な大気中水銀濃度を見積もることは困難な場合もある。一方，*in situ* バイオモニターは周辺大気から水銀を生体内に取り込んで蓄積しており，その蓄積量は大気中水銀濃度の一時的な変化を均したある期間の平均的状态（水銀レベル）を反映するので，機器を用いる場合よりも低頻度のサンプリングで長期の大気中水銀レベルの評価が

可能と考えられる。ASGM は簡易な設備と操作で金を得られることから、発展途上国を中心に、現在でも 55 カ国以上で行なわれており (UNEP, 2008), その多くは主要都市から離れた村落で行われているため, ASGM からの水銀拡散を評価するための調査には移動やサンプリング回数・時間に制限が伴う。このような状況で, *in situ* バイオモニタリングは他の手法に比べて安価で容易に広範囲の調査を行うことができるため, 対象地域の潜在的な大気中水銀レベルと拡散状況を明らかにする有力な手法であると考えられる。

しかし, これまでの *in situ* バイオモニタリングではパッシブサンプラー等の機器や移植バイオモニターを用いた場合に比べ, 実際の大気中水銀濃度との関連は明確にされてこなかった。そこで, 本章では機器による直接的な大気中水銀濃度測定結果と *in situ* バイオモニタリング結果の比較から, *in situ* バイオモニタリングの利点を活かし, より定量的な大気中水銀濃度の評価手法として利用するための検討を行った。

調査地域において, 実際の大気中水銀濃度の変動性と地理的分布を金アマルガム捕集 - 加熱気化 - 冷原子吸光光度法によって明らかにするとともに, 調査地に豊富に自生する着生シダ植物を *in situ* バイオモニターとして選択し, 実際の大気中水銀濃度とバイオモニター中の水銀濃度との関連性を明らかにした。さらに, 大気中水銀濃度とバイオモニター中水銀濃度との関連性を利用して, *in situ* バイオモニタリングによる調査地点の大気中水銀レベルの定量的評価を試みた。

3.2. 材料と方法

3.2.1. 調査地点

2008年2-3月, 10-11月と2009年10-11月にチカニキ川流域(インドネシア共和国西ジャワ州ボゴール県)の28地点でサンプリングを行った(図3.1)。チカニキ川は全長約30kmで, Mount Halimun-Salak National Park内に源流域を有し, ボゴール県内を南西から北東に向けて流れ, チサダネ川に合流後, 約70kmを流下してジャワ海にいたる。Site AはMount Halimun-Salak National Park内に位置するチカニキ川源流域にある。Site BとCはSite Aから約12km下流にある集落であり, Site DはSite Cから約1km下流で川から約100m高所にある集落である。Site E, FおよびGはSite Aからそれぞれ約18, 19および21km下流に位置する集落内にある。Site HおよびIはSite Aからそれぞれ約21km, 23km北にあり, チカニキ川からも約2km離れている。Site A, B, C, DおよびIでは3から8地点のサンプリングポイントを設定した。そのほかのSite E, F, GおよびHでは1地点で採集を行った。チカニキ川沿いのSite B, C, E, FおよびGの集落内では水銀を用いた金精錬が行われており, 特にSite BとCでは集落内のほぼ全域で多数の精錬小屋が確認された。Site A, D, HおよびIでは精錬活動は確認されなかった。

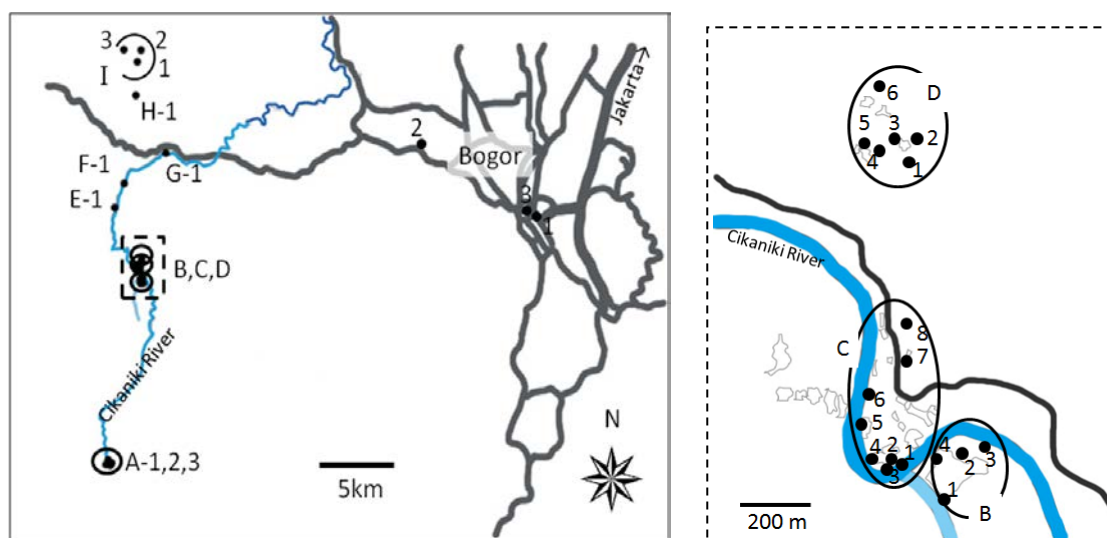


図3.1 試料採集地点 左: 広域

右: Site B-D 詳細

— main road — Cikaniki R. — Cisadane R.

3.2.2. サンプルリング

3.2.2.1. 大気中水銀

大気中水銀の捕集は 2.2.1.と同様に定流量ポンプ（SIBATA MINIPUMP MP-Σ300）に多孔質金捕集剤を充填した水銀捕集管（日本インスツルメンツ社製）を接続したものを地表からおよそ 1–2 m に設置して行なった。水銀捕集管はあらかじめ十分に空焼きし、使用時までには保存容器に密栓して保管した。大気中水銀の捕集に用いたポンプの流量は 0.50 L min^{-1} に設定し、一定時間現地大気を通気した。捕集後の水銀捕集管は再び保存容器に入れて密栓して実験室に持ち帰り測定まで保管した。

大気中水銀の測定方法は 2.2.2.2.と同様に行った。

3.2.2.2. 植物試料

調査地域に豊富に自生する植物種である着生シダ植物を対象とした。着生シダ植物の採集は、2008 年 2–3 月は、調査地域に生育するウラボシ科 Polypodiaceae, チャセンシダ科 Aspleniaceae およびシノブ科 Davalliaceae の数種を採集した（表 3.1.a）。2008 年と 2009 年 10–11 月はそれらのうち複数地点で採集が可能であったシマオオタニワタリ *Asplenium nidus* L. (Aspleniaceae) と *Pyrrosia longifolia* (Burm. F.) Morton (Polypodiaceae), を主に採集した（表 3.1.b）。2008 年 2–3 月および 10–11 月に採集した全ての試料, 2009 年 10–11 に採集した全てのウラボシ科試料と D-4 で採集した *Asplenium* sp.は Herbarium Bogoriense (Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Indonesia)に同定を依頼した。これ以外の 2009 年 10–11 に採集したシマオオタニワタリは採集地点での観察から岩槻（1992）に従って同定を行った。なお、シマオオタニワタリについては、現状において、葉の大きさや形がきわめて多型で、広義に扱われている（岩槻, 1992）分類群であるため、本研究でシマオオタニワタリとしてとして扱っている試料の中にはシマオオタニワタリの近縁種や隠蔽種（Yatabe et al., 2001; Yatabe et al., 2002）が含まれている可能性がある。

実験に用いたシダ植物はすべて樹皮に地表から 1–3 m の高さに着生しているものを対象とした。各調査地点において 1–3 個体の全植物体（葉および茎）も

しくは 1 個体から 3 枚以上の葉を採集した。採集した植物試料はチャック付きのポリビニール袋に入れて密封し、実験室に持ち帰った。シダ植物の葉は水道水で洗浄後、ワイパーでよく拭いて表面の汚れや塵を取り去った後、70℃の恒温乾燥器内で 1-3 日間乾燥させた、乾燥重量が 0.4 g 以上の大きな葉は乳鉢やミキサーを用いて粉末(<0.7 mm)にし、測定には約 0.4 g を分取した。0.4 g 未満の葉は 1 枚全体を 1 回の測定に用いて、2.2.2.1.と同様に測定した。

表 3.1.a 採集したシダ植物種と個体数 (2008 年 2-3 月)

| Site. | Point | Family | Species | n |
|-------|-------|---------------|-----------------------------------|---|
| A | A-1 | — | — | — |
| | A-2 | — | — | — |
| | A-3 | — | — | — |
| B | B-1 | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia nummularifolia</i> | 1 |
| | B-2 | — | — | — |
| | B-3 | — | — | — |
| | B-4 | — | — | — |
| C | C-1 | Aspleniaceae | <i>Asplenium nidus</i> | 1 |
| | | Davalliaceae | <i>Davallia denticulata</i> | 1 |
| | | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia nummularifolia</i> | 3 |
| | | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia longifolia</i> | 1 |
| | C-2 | — | — | — |
| | C-3 | — | — | — |
| | C-4 | — | — | — |
| | C-5 | Aspleniaceae | <i>Asplenium nidus</i> | 1 |
| | | Davalliaceae | <i>Davallia solida</i> | 2 |
| | | Polypodiaceae | <i>Selliguea</i> sp. | 1 |
| | | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia nummularifolia</i> | 2 |
| | | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia longifolia</i> | 2 |
| | C-6 | — | — | — |
| | C-7 | — | — | — |
| | C-8 | — | — | — |
| D | D-1 | — | — | — |
| | D-2 | Aspleniaceae | <i>Asplenium nidus</i> | 1 |
| | | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia longifolia</i> | 2 |
| | | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia nummularifolia</i> | 1 |
| | | Polypodiaceae | <i>Drymoglossum piloselloides</i> | 1 |
| | D-3 | — | — | — |
| | D-4 | — | — | — |
| D-5 | — | — | — | |
| D-6 | — | — | — | |
| E | E-1 | — | — | — |
| F | F-1 | — | — | — |
| G | G-1 | — | — | — |
| H | H-1 | — | — | — |
| I | I-1 | — | — | — |
| | I-2 | — | — | — |
| | I-3 | — | — | — |

表 3.1.b 採集したシダ植物種と個体数 (左 : 2008 年 10–11 月, 右 : 2009 年 10–11 月)

| Site | Point | Oct.–Nov. 2008 | | Oct.–Nov.2009 | |
|------|-------|----------------------|--------------------------|---------------------|--------------------------|
| | | <i>A. nidus</i> n | <i>P.longifolia</i> n | <i>A.nidus</i> n | <i>P.longifolia</i> n |
| A | A-1 | 3 | — | — | — |
| | A-2 | — | — | 2 | 1 |
| | A-3 | — | — | 1 | — |
| B | B-1 | — | — | — | — |
| | B-2 | 1 | — | — | — |
| | B-3 | — | — | 2 | — |
| | B-4 | — | — | 1 | — |
| C | C-1 | — | — | 2 | — |
| | C-2 | — | — | — | — |
| | C-3 | — | — | 1 | — |
| | C-4 | — | — | 2 | — |
| | C-5 | — | — | 1 | — |
| | C-6 | — | — | — | — |
| | C-7 | — | — | 1 | — |
| | C-8 | 1 | 1 | 2 | — |
| D | D-1 | 1 | — | — | — |
| | D-2 | 1 | 1 | 2 | — |
| | D-3 | — | — | 1 | 1 |
| | D-4 | — | — | 1 | — |
| | D-5 | — | — | 1 | 1 |
| | D-6 | — | — | 3 | 1 |
| E | E-1 | — | — | 1 | 1 |
| F | F-1 | 1 | 1 | 1 | — |
| G | G-1 | — | — | 1 | 1 |
| H | H-1 | — | — | 3 | 1 |
| I | I-1 | — | 1 | 1 | 1 |
| | I-2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | I-3 | — | — | 1 | 1 |

3.3. 結果と考察

3.3.1. 大気中水銀濃度の経時変化

大気中水銀濃度の1日の間の経時変化を明らかにするために、2008年10–11月にA-1、C-2およびI-1において2時間おきに24時間または32時間、2009年はA-1およびC-2において48時間連続で大気中水銀を捕集し、捕集中の気温、相対湿度および天候の変化を記録した。

2008年10–11月のA-1、C-2およびI-1における大気中水銀濃度範囲（最小値–最大値）はそれぞれ3.2–90.2 ng m⁻³ (n = 16), 2.64×10²–1.06×10⁴ ng m⁻³ (n = 12)および1.4–29.3 ng m⁻³ (n = 12)であった（図3.2）。また2009年10–11月のA-1およびC-2の濃度範囲はそれぞれ2.2–61.9 ng m⁻³ (n = 24)および9.30×10²–1.02×10⁴ ng m⁻³ (n = 24)であった。いずれの地点においても、大気中水銀濃度は1日のうちに大きく変化することが示された。

2008年のI-1において7:00–9:00に大気中水銀濃度の上昇が示された（図3.2a）。また、A-1においても2008年は10:00–12:00、2009年は10:30–12:30と18:30–20:30に大気中水銀濃度の急激な上昇が示された（図3.2b）。これらの濃度上昇は気温の上昇と相対湿度の低下に引き続いて生じていた。大気中水銀濃度は気温、湿度、太陽光線などの気象要因に関連した変動が報告されている（Lin and Pehkonen, 1999; Liu et al., 2007; Stamenkovic et al., 2007; Amouroux et al., 1999; Fu et al., 2009; Wanze et al., 2008）。今回得られたこれらの濃度変動も光化学プロセスや土壌表層などでの水銀の沈降・放出プロセスと関連したものと考えられるが、何に起因した変化であるかを明らかにするためにはさらに詳細な検討が必要である。一方、C-2においてはA-1とI-1で見られたような傾向はなく、水銀濃度は1日を通じて短時間の上昇と低下を繰り返していた。C-2におけるこれらの変動は調査地点周辺で行われていた精錬活動の作業工程や、アマルガム燃焼が行われていた作業場との距離やそこからの風向き等の影響を反映していると考えられる。

A-1とC-2のデータについて、2008年と2009年で比較すると、A-1では有意差はなかった（Mann-Whitney U-test, P = 0.19）一方で、C-2では有意な差が見られた（P < 0.001）。2009年の調査時に、C-2の近く（約10m）に新たに精

錬作業場が建てられており、そこでは水銀回収設備が設置されないままアマルガムの燃焼が行われていた。従って、その精錬作業場から排出された燃焼ガスの影響を強く受けた結果、2009年の水銀濃度は2008年に比べて高くなったと考えられる。

本調査地域において、同一地点であっても、気象要因や精錬活動によって大気中水銀濃度は大きく変化することが示唆された。以降の検討では経時変化を追跡した各調査地点の大気中水銀濃度の代表値として中央値を用いる。

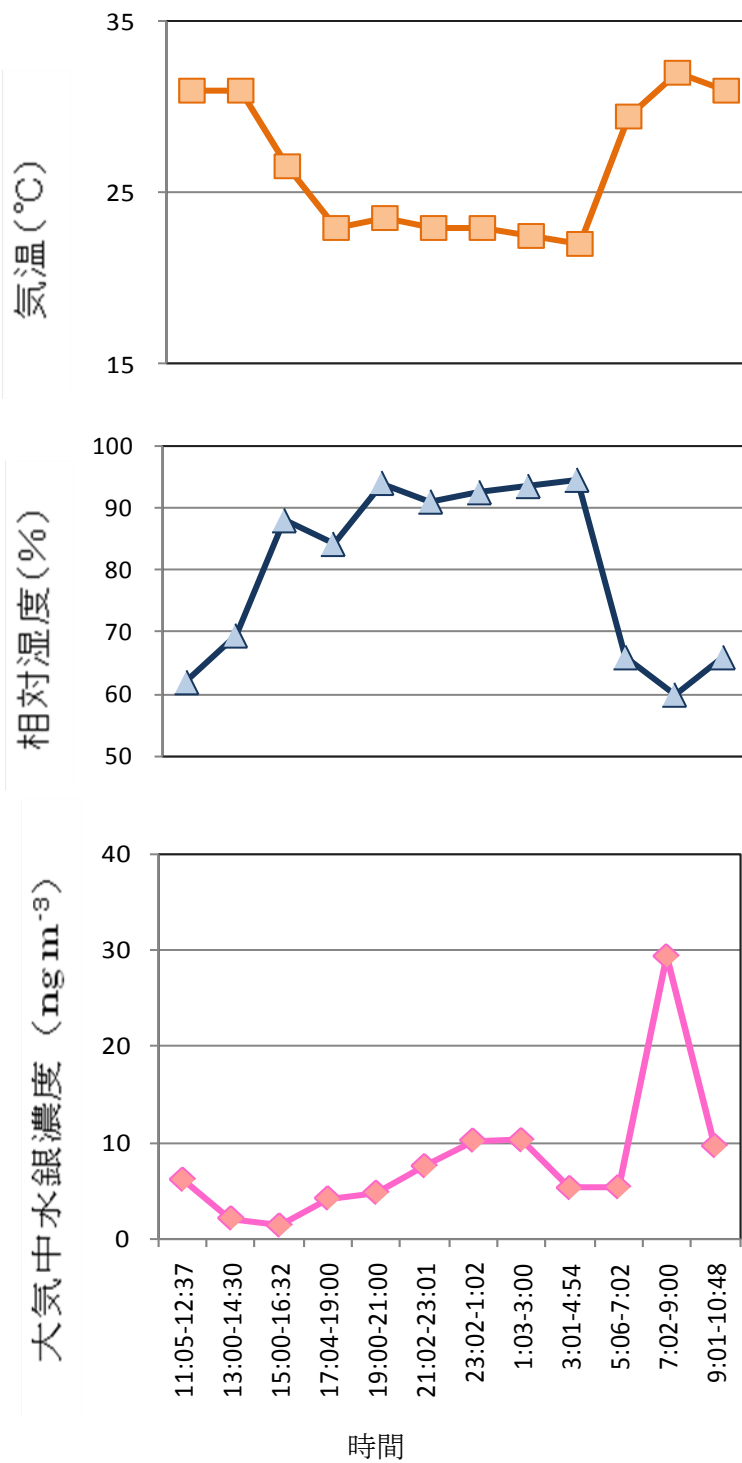


図 3.2 a 大気中水銀濃度の時間変化 (I-1)

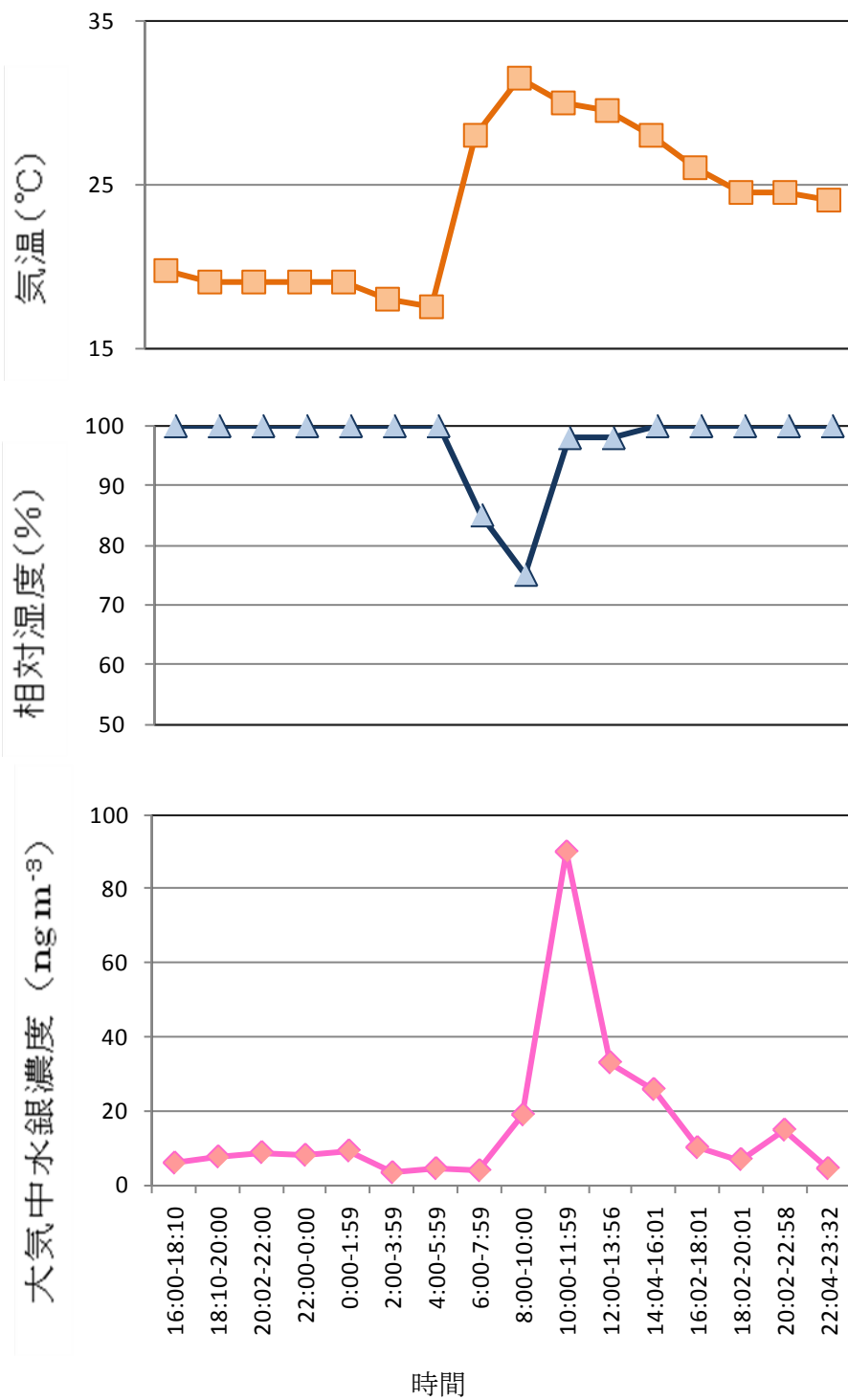


図 3.2 b(2008 年) 大気中水銀濃度の時間変化 (A-1)

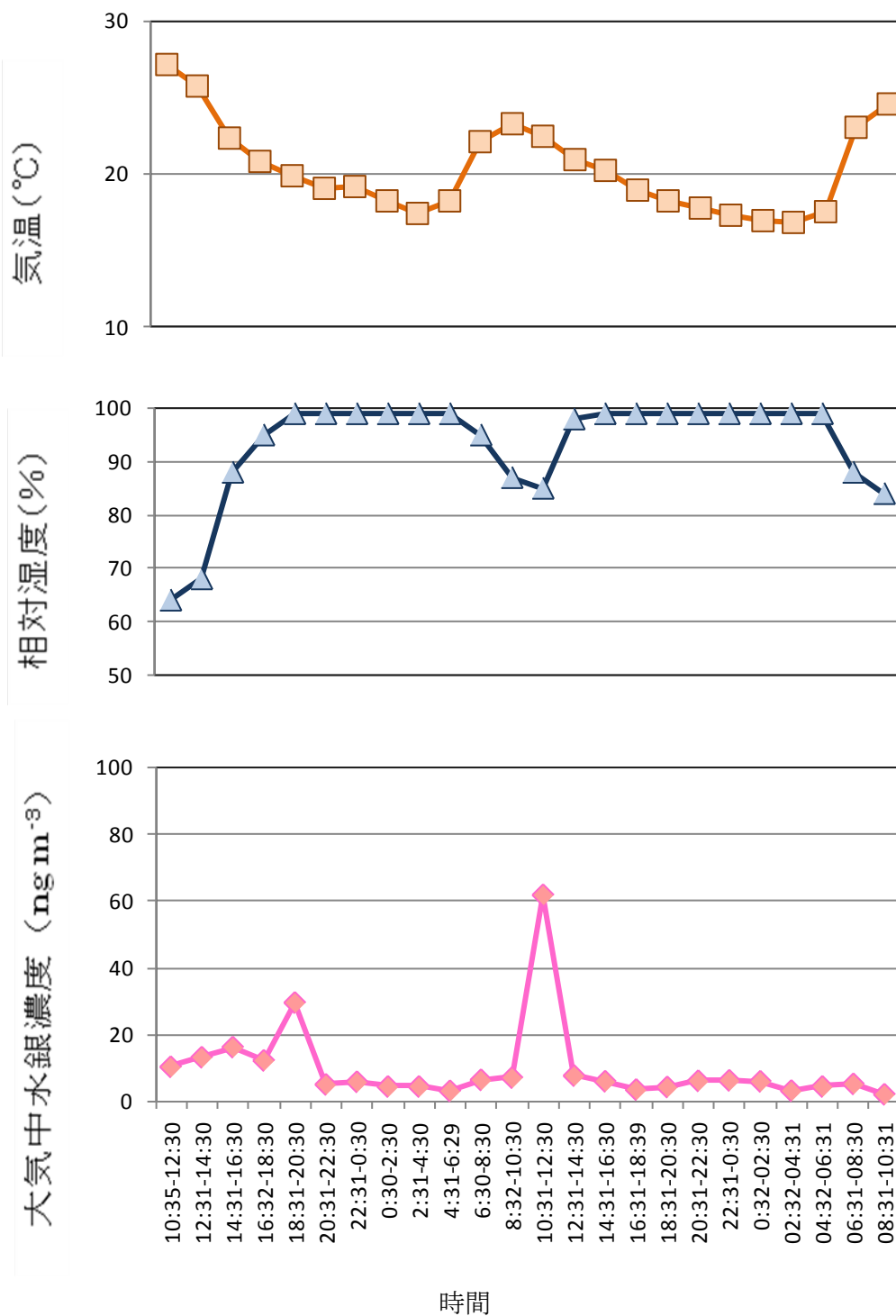


図 3.2 b(2009 年) 大気中水銀濃度の時間変化 (A-1)

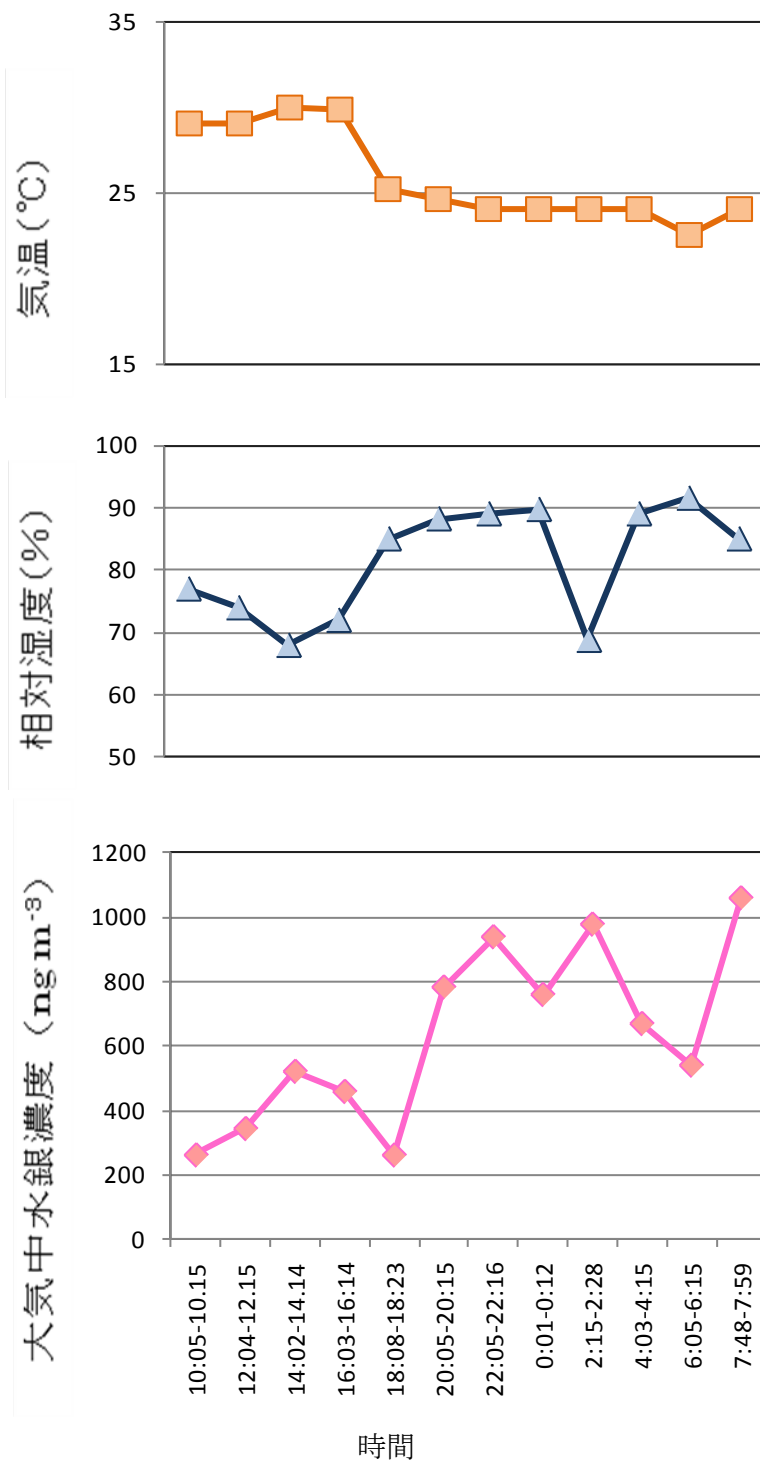


図 3.2c(2008 年) 大気中水銀濃度の時間変化 (C-2)

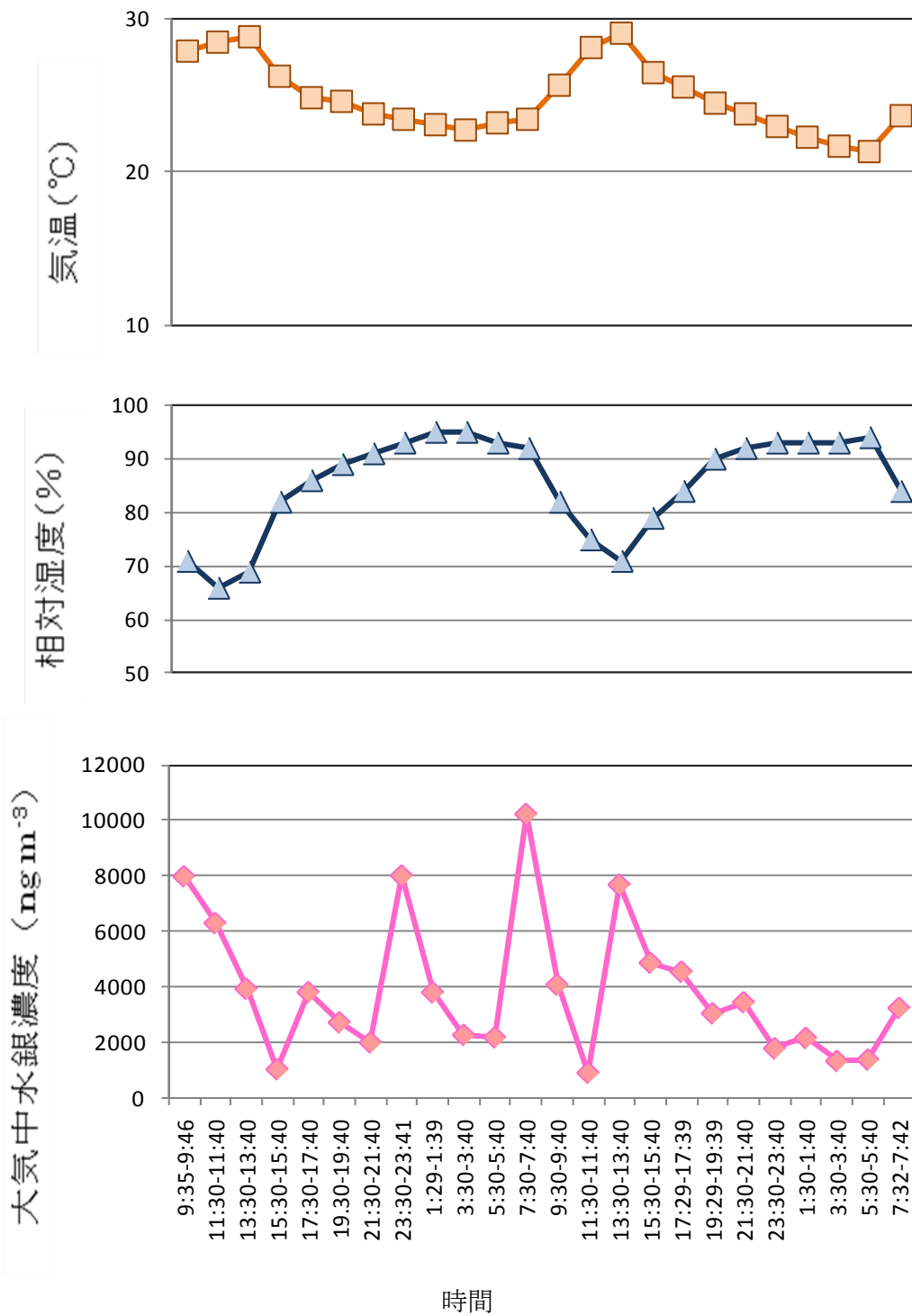


図 3.2c(2009 年) 大気中水銀濃度の時間変化 (C-2)

3.3.2. 地理的濃度分布

3.3.2.1. 大気中水銀の濃度分布

各地点の水銀濃度測定結果を表 3.2 に示す。各調査時期の中で最も高い水銀濃度は Site B 又は C で、最も低い水銀濃度は Site H 又は I で得られた。2008 年 2–3 月の調査では大気中水銀濃度が高い地点においても長時間（30 分から 1 時間；15–30 L）の水銀捕集を行ったために定量範囲（0.01–100 ng）を超える試料があった。そこで、2008 年 10–11 月と 2009 年 10–11 月のサンプリングでは 2008 年 2–3 月の調査結果から水銀高濃度地点と予想される地点では捕集時間を 10 分以内（< 5 L）にして捕集を行い、全ての測定濃度を定量範囲内に収めることができた。よって、以降の検討では 2008 年 10–11 月と 2009 年 10–11 月の調査結果を用いる。

各 Site の平均水銀濃度は 2008 年と 2009 年で有意差はなかった（Wilcoxon t-test; $P = 0.14$, $n = 5$ ）。金精錬が行われている地域（Site B, C, E, F および G）の水銀濃度が高く（ $39\text{--}26 \times 10^3 \text{ ng m}^{-3}$ ）、精錬を行っていない地域（Site A, H および I）で低かった（ $5.1\text{--}8.3 \text{ ng m}^{-3}$ ）。しかし、Site D の大気中水銀濃度は金精錬を行っていないにもかかわらず、 $3.6\text{--}9.6 \text{ ng m}^{-3}$ と Site I（ $5.1\text{--}7.8 \text{ ng m}^{-3}$ ）よりも有意に高く（Unpaired t-test, $P < 0.01$ ）、Site E, F および G と同程度の値が示された。このことから、Site D は Site B, C で大気中に排出された水銀の影響を受けていることが示唆された。

表 3.2a 大気中水銀濃度の測定結果 (2008 年 2-3 月)

| Site | Point | n* | Hg (ng m ⁻³) | | | Site ave. | s.d. | n** |
|------|-------|----|--------------------------|------|-------|-----------|------|-----|
| | | | median | min. | max. | | | |
| A | A-1 | 4 | 15 | 9 | 35 | 15 | - | 1 |
| | A-2 | - | - | - | - | | | |
| | A-3 | - | - | - | - | | | |
| B | B-1 | 1 | >6980 | - | - | >6980 | - | 1 |
| | B-2 | - | - | - | - | | | |
| | B-3 | - | - | - | - | | | |
| | B-4 | - | - | - | - | | | |
| C | C-1 | 1 | 360 | - | - | 856 | 924 | 3 |
| | C-2 | 2 | 1922 | 586 | >2860 | | | |
| | C-3 | - | - | - | - | | | |
| | C-4 | - | - | - | - | | | |
| | C-5 | - | - | - | - | | | |
| | C-6 | 1 | 286 | - | - | | | |
| | C-7 | - | - | - | - | | | |
| | C-8 | - | - | - | - | | | |
| D | D-1 | - | - | - | - | 285 | - | 1 |
| | D-2 | 1 | 285 | - | - | | | |
| | D-3 | - | - | - | - | | | |
| | D-4 | - | - | - | - | | | |
| | D-5 | - | - | - | - | | | |
| | D-6 | - | - | - | - | | | |
| E | E-1 | - | - | - | - | - | - | - |
| F | F-1 | - | - | - | - | - | - | - |
| G | G-1 | - | - | - | - | - | - | - |
| H | H-1 | - | - | - | - | - | - | - |
| I | I-1 | - | - | - | - | - | - | - |
| | I-2 | - | - | - | - | | | |
| | I-3 | - | - | - | - | | | |

n*:各地点で捕集した試料数、n**:各 Site の中で捕集を行った地点 (Point) 数

表 3.2b 大気中水銀濃度の測定結果 (2008 年 10–11 月)

| Site | Point | n* | Hg (ng m ⁻³) | | | | Site ave. | s.d. | n** |
|------|-------|----|--------------------------|------|------|-----|-----------|------|-----|
| | | | median | min. | max. | | | | |
| A | A-1 | 16 | 8.3 | 3.2 | 90 | | | | |
| | A-2 | - | - | - | - | 8.3 | - | 1 | |
| | A-3 | - | - | - | - | | | | |
| B | B-1 | - | - | - | - | | | | |
| | B-2 | - | - | - | - | | | | |
| | B-3 | - | - | - | - | | | | |
| | B-4 | - | - | - | - | | | | |
| C | C-1 | - | - | - | - | | | | |
| | C-2 | 12 | 605 | 264 | 1057 | | | | |
| | C-3 | - | - | - | - | | | | |
| | C-4 | - | - | - | - | | | | |
| | C-5 | - | - | - | - | 353 | 356 | 2 | |
| | C-6 | - | - | - | - | | | | |
| | C-7 | - | - | - | - | | | | |
| | C-8 | 1 | 102 | - | - | | | | |
| D | D-1 | 1 | 55 | - | - | | | | |
| | D-2 | 1 | 45 | - | - | | | | |
| | D-3 | - | - | - | - | | | | |
| | D-4 | - | - | - | - | 50 | 7 | 2 | |
| | D-5 | - | - | - | - | | | | |
| | D-6 | - | - | - | - | | | | |
| E | E-1 | - | - | - | - | | | | |
| F | F-1 | 1 | 45 | - | - | 45 | - | 1 | |
| G | G-1 | - | - | - | - | | | | |
| H | H-1 | - | - | - | - | | | | |
| I | I-1 | 12 | 5.6 | 1.5 | 28 | | | | |
| | I-2 | - | - | - | - | 5.6 | - | 1 | |
| | I-3 | - | - | - | - | | | | |

n*:各地点で捕集した試料数、n**：各 Site の中で捕集を行った地点 (Point) 数

表 3.2c 大気中水銀濃度の測定結果 (2009 年 10–11 月)

| Site | Point | n* | Hg (ng m ⁻³) | | | | Site ave. | s.d | n** |
|------|-------|----|--------------------------|------|-------|------|-----------|-----|-----|
| | | | median | min. | max. | | | | |
| A | A-1 | 24 | 6.1 | 2.2 | 62 | | | | |
| | A-2 | - | - | - | - | 6.1 | - | 1 | |
| | A-3 | - | - | - | - | | | | |
| B | B-1 | 1 | 1758 | - | - | | | | |
| | B-2 | - | - | - | - | 1250 | 718 | 2 | |
| | B-3 | 1 | 742 | - | - | | | | |
| | B-4 | - | - | - | - | | | | |
| C | C-1 | - | - | - | - | | | | |
| | C-2 | 24 | 3365 | 929 | 10246 | | | | |
| | C-3 | - | - | - | - | | | | |
| | C-4 | - | - | - | - | 1798 | 1629 | 3 | |
| | C-5 | - | - | - | - | | | | |
| | C-6 | 1 | 1916 | - | - | | | | |
| | C-7 | - | - | - | - | | | | |
| | C-8 | 1 | 114 | - | - | | | | |
| D | D-1 | - | - | - | - | | | | |
| | D-2 | 1 | 36 | - | - | | | | |
| | D-3 | - | - | - | - | 66 | 43 | 2 | |
| | D-4 | - | - | - | - | | | | |
| | D-5 | - | - | - | - | | | | |
| | D-6 | 1 | 96 | - | - | | | | |
| E | E-1 | 1 | 291 | - | - | 291 | - | 1 | |
| F | F-1 | 1 | 127 | - | - | 127 | - | 1 | |
| G | G-1 | 1 | 39 | - | - | 39 | - | 1 | |
| H | H-1 | 1 | 5.1 | - | - | 5.1 | - | 1 | |
| I | I-1 | 1 | 7.8 | - | - | | | | |
| | I-2 | 1 | 3.9 | - | - | 5.6 | 2.0 | 3 | |
| | I-3 | 1 | 5.1 | - | - | | | | |

n*:各地点で捕集した試料数、n**：各 Site の中で捕集を行った地点 (Point) 数

3.3.2.2. 着生シダ植物中水銀の地理的濃度分布

着生シダ植物の水銀濃度測定結果を表 3.3 に示す。大気中水銀濃度の地理的分布と同様に、金精錬が行われている地点で最も高い水銀濃度が見られ、最も低い水銀濃度は金精錬が行われていない地域で示された。2008年2-3月の予備サンプリングで、シマオオタニワタリと *Pyrrrosia* 属の数種が対象地域に比較的豊富に生育していることを確認した。2008年10-11月と2009年10-11月のサンプリングではその結果を踏まえて対象種を限定しつつ、調査地点数を増やした。シマオオタニワタリは3回のサンプリングを通じて金精錬を行なっている集落内と精錬を行なっていない集落内の双方で採集が可能であった。特に、2009年のサンプリングではほとんどの調査地点で採集でき、1地点から複数個体の採集も可能であった。*P. longifolia* は2008年2-3月のサンプリングでは精錬を行っている集落で採集することができたが、2009年のサンプリングでは採集できなかった。このため、以降では2008年10-11月と2009年の10-11月のシマオオタニワタリを対象として検討を行った。

表 3.3.a シダ植物中水銀濃度測定結果 (2008 年 2-3 月)

| Site | Point | Family | Species | Hg in Fern (ng g ⁻¹) | s.d. |
|---------------|-------|--------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|------|
| A | A-1 | — | — | — | — |
| | A-2 | — | — | — | — |
| | A-3 | — | — | — | — |
| B | B-1 | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia nummularifolia</i> | 2800 | — |
| | B-2 | — | — | — | — |
| | B-3 | — | — | — | — |
| | B-4 | — | — | — | — |
| C | C-1 | Aspleniaceae | <i>Asplenium nidus</i> | 3173 | — |
| | | Davalliaceae | <i>Davallia denticulata</i> | 7927 | — |
| | | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia nummularifolia</i> | 7227 | 3324 |
| | | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia longifolia</i> | 1032 | — |
| | C-2 | — | — | — | — |
| | C-3 | — | — | — | — |
| | C-4 | — | — | — | — |
| | C-5 | Aspleniaceae | <i>Asplenium nidus</i> | 2028 | — |
| | | Davalliaceae | <i>Davallia solida</i> | 2712 | 471 |
| | | Polypodiaceae | <i>Selliguea sp.</i> | 9477 | — |
| Polypodiaceae | | <i>Pyrrosia nummularifolia</i> | 1648 | 1899 | |
| Polypodiaceae | | <i>Pyrrosia longifolia</i> | 1234 | 95 | |
| C-6 | — | — | — | — | |
| C-7 | — | — | — | — | |
| C-8 | — | — | — | — | |
| D-1 | — | — | — | — | |
| D | D-2 | Aspleniaceae | <i>Asplenium nidus</i> | 268 | — |
| | | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia longifolia</i> | 478 | 99 |
| | | Polypodiaceae | <i>Pyrrosia nummularifolia</i> | 606 | — |
| | | Polypodiaceae | <i>Drymoglossum piloselloides</i> | 811 | — |
| | D-3 | — | — | — | — |
| | D-4 | — | — | — | — |
| D-5 | — | — | — | — | |
| D-6 | — | — | — | — | |
| E | E-1 | — | — | — | — |
| F | F-1 | — | — | — | — |
| G | G-1 | — | — | — | — |
| H | H-1 | — | — | — | — |
| I | I-1 | — | — | — | — |
| | I-2 | — | — | — | — |
| | I-3 | — | — | — | — |

表 3.3.b シダ植物中水銀濃度測定結果 (2008 年 10-11 月)

| Site | Point | <i>A. nidus</i> | | | | | | <i>P. longifolia</i> | | | | | |
|------|-------|--------------------------|------|------|-----------|------|---|--------------------------|------|------|-----------|------|---|
| | | Hg (ng g ⁻¹) | | | | | | Hg (μg g ⁻¹) | | | | | |
| | | median | min. | max. | Site ave. | s.d. | n | median | min. | max. | Site ave. | s.d. | n |
| A | A-1 | 287 | 219 | 306 | | | | — | — | — | | | |
| | A-2 | — | — | — | 287 | — | 1 | — | — | — | — | — | — |
| | A-3 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| B | B-1 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| | B-2 | 3828 | — | — | 3828 | — | 1 | — | — | — | — | — | — |
| | B-3 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| | B-4 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| C | C-1 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| | C-2 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| | C-3 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| | C-4 | — | — | — | 3910 | — | 1 | — | — | — | 1250 | — | 1 |
| | C-5 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| | C-6 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| | C-7 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| | C-8 | 3910 | — | — | | | | 1250 | — | — | | | |
| D | D-1 | 881 | — | — | | | | — | — | — | | | |
| | D-2 | 884 | — | — | | | | 361 | — | — | | | |
| | D-3 | — | — | — | 883 | 2 | 2 | — | — | — | 361 | — | 1 |
| | D-4 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| | D-5 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| | D-6 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |
| E | E-1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| F | F-1 | 787 | — | — | 787 | — | 1 | 434 | — | — | 434 | — | 1 |
| G | G-1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| H | H-1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| I | I-1 | — | — | — | | | | 96 | — | — | | | |
| | I-2 | 310 | — | — | 310 | — | 1 | 186 | — | — | 141 | 64 | 2 |
| | I-3 | — | — | — | | | | — | — | — | | | |

表 3.3.c シダ植物中水銀濃度測定結果 (2009 年 10–11 月)

| Site | Point | <i>A.nidus</i> | | | | | | <i>P.longifolia</i> | | | | | | |
|------|-------|--------------------------|------|-------|-----------|------|---|--------------------------|------|------|-----------|-----|---|--|
| | | Hg (ng g ⁻¹) | | | | | n | Hg (ng g ⁻¹) | | | | | n | |
| | | median | min. | max. | Site ave. | s.d | | median | min. | max. | Site ave. | s.d | | |
| A | A-1 | — | — | — | | | | — | — | — | | | | |
| | A-2 | 235 | 195 | 276 | 370 | 191 | 2 | 462 | — | — | 462 | — | 1 | |
| | A-3 | 505 | — | — | | | | — | — | — | | | | |
| B | B-1 | — | — | — | | | | — | — | — | | | | |
| | B-2 | — | — | — | 3853 | 539 | 2 | — | — | — | — | — | — | |
| | B-3 | 3472 | 2774 | 4170 | | | | — | — | — | | | | |
| | B-4 | 4234 | — | — | | | | — | — | — | | | | |
| C | C-1 | 5210 | 4241 | 6180 | | | | — | — | — | | | | |
| | C-2 | — | — | — | | | | — | — | — | | | | |
| | C-3 | 5600 | — | — | | | | — | — | — | | | | |
| | C-4 | 8441 | 6797 | 10085 | 5390 | 1603 | 6 | — | — | — | — | — | — | |
| | C-5 | 4508 | — | — | | | | — | — | — | | | | |
| | C-6 | — | — | — | | | | — | — | — | | | | |
| | C-7 | 4656 | — | — | | | | — | — | — | | | | |
| | C-8 | 3926 | 3526 | 4327 | | | | — | — | — | | | | |
| D | D-1 | — | — | — | | | | — | — | — | | | | |
| | D-2 | 303 | 221 | 384 | | | | — | — | — | | | | |
| | D-3 | 452 | — | — | 544 | 248 | 5 | 406 | — | — | 785 | 407 | 3 | |
| | D-4 | 595 | — | — | | | | — | — | — | | | | |
| | D-5 | 947 | — | — | | | | 734 | — | — | | | | |
| | D-6 | 422 | 301 | 540 | | | | 1216 | — | — | | | | |
| E | E-1 | 938 | — | — | 938 | — | 1 | 1460 | — | — | 1460 | — | 1 | |
| F | F-1 | 814 | — | — | 814 | — | 1 | — | — | — | — | — | — | |
| G | G-1 | 396 | — | — | 396 | — | 1 | 460 | — | — | 460 | — | 1 | |
| H | H-1 | 295 | 192 | 304 | 295 | — | 1 | 34 | — | — | 34 | — | — | |
| I | I-1 | 103 | — | — | | | | 64 | — | — | | | | |
| | I-2 | 63 | — | — | 70 | 30 | 3 | 29 | — | — | 38 | 22 | 3 | |
| | I-3 | 43 | — | — | | | | 22 | — | — | | | | |

3.3.3. シマオオタニワタリ中の水銀濃度分布

シマオオタニワタリは多数の葉を出し、葉の長さは1 m以上に達するため、まず、1枚の葉の中の水銀濃度分布と1株の各葉の水銀濃度差の確認を行った。

3.3.3.1. シマオオタニワタリの葉内の水銀濃度分布

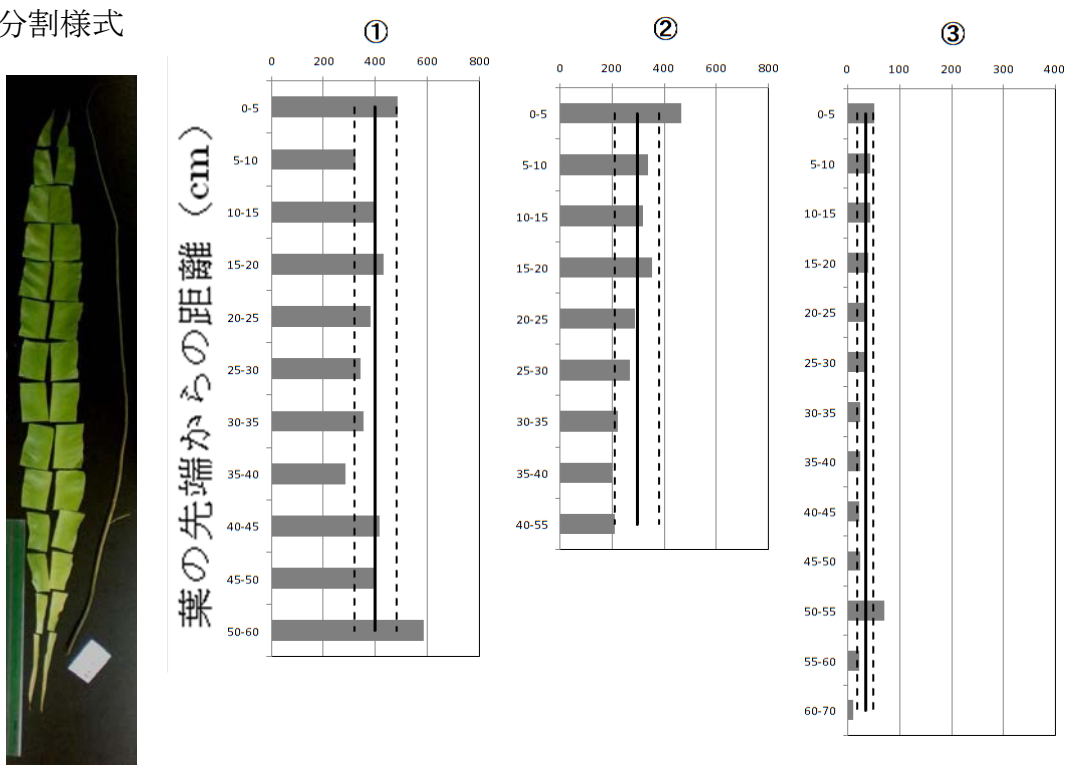
シマオオタニワタリの葉はSite Aから1地点とボゴール市街地3地点(Bogor 1-3)で採集した(図3.1)。Site Aでは2個体から1枚ずつ葉を採取し(①, ②), Bogor 1では1個体から2枚(③, ④), Bogor 2では2個体から2枚ずつ(それぞれ⑤, ⑥と⑦, ⑧), およびBogor 3では1個体から2枚ずつ(⑨, ⑩)の計10枚の葉について測定した。葉の全長は0.5-1 mであった。いずれの地点の大気中水銀濃度も 10 ng m^{-3} 以下であった。採集した葉は水洗い後、先端から中肋を挟んで左右に5 cmごとに切り分け、左右の一方をそのまま水銀濃度測定に用い、もう一方は水分含有量を測定するために用いた。水分含有量は試料を 70°C の恒温乾燥器で1-3日間乾燥させて求めた。水銀濃度は湿重量ベースで測定し、水分含有量を用いて乾燥重量ベースに換算した(2.2.2.1. 参照)。

各葉の水銀濃度分布を図3.3に示す。各試料の平均水銀濃度±標準偏差(SD)は① $401 \pm 82 \text{ ng g}^{-1}$, ② $296 \pm 84 \text{ ng g}^{-1}$, ③ $34.2 \pm 15.9 \text{ ng g}^{-1}$, ④ $41.4 \pm 7.2 \text{ ng g}^{-1}$, ⑤ $179 \pm 73 \text{ ng g}^{-1}$, ⑥ $227 \pm 30 \text{ ng g}^{-1}$, ⑦ $148 \pm 30 \text{ ng g}^{-1}$, ⑧ $157 \pm 25 \text{ ng g}^{-1}$, ⑨ $74.5 \pm 16.5 \text{ ng g}^{-1}$, および⑩ $50.9 \pm 17.0 \text{ ng g}^{-1}$ であった。相対標準偏差(RSD)は13-47%で、10試料の平均RSD値は26%であった。葉内の水銀濃度分布については明確な傾向は見られなかったものの、葉の先端部(0-10 cm)と下部では平均±26%の範囲から外れるものもあった。葉の下部での水銀濃度の低下は、シマオオタニワタリの葉が1株から放射状に複数枚の葉を出すことによって、葉の下部が同一個体の別の葉によって被陰(自己被陰)されている影響が考えられる。実際に、葉の基部から10-15 cmでは葉緑素が少なく、葉は白っぽくなっていた(図3.3 分割様式)。このことから、葉の下部は外部環境に曝されにくく、中・上部と比べて物質を取り込みにくい状況にあることが推測される。このことが葉の下部での水銀濃度の低下に関わっているものと考えられる。先端部での水銀濃度の上昇については、葉の伸長を維持するために必要なエネルギーを供給するための物質の取り込みや保持に伴う現象であることが予測される

が、詳細な要因解明にはさらなる検討が必要である。また、試料③の最も水銀濃度が高かった部分には虫食いが観察された。こうした虫食いなどによる損傷は健全な葉表面の状態に比べて凹凸が増し、微粒子などを付着・保持しやすいと考えられる。試料は十分に洗浄していたが、損傷部分に付着していた微粒子などは除去しきれなかった可能性や損傷部分から直接水銀が葉内に取り込まれた可能性が考えられる。

これらのことから、1枚の葉の水銀濃度の代表値を得るためには葉の中央部で虫食いなどの損傷がない部分を用いることとした。

分割様式



水銀濃度 (ng g⁻¹)

図 3.3 シマオオタニワタリの葉中水銀濃度分布 (分割様式と試料①-③)
 「分割様式」に実際に分取した部分を並べて示した。試料①-⑩の濃度分布をグラフ①-⑩に示す。①および②の横軸のスケールは 0-800 ng g⁻¹であるが、そのほかは 0-400 ng g⁻¹である。グラフ中の実線と 2本の点線はそれぞれ各葉の平均水銀濃度と平均濃度-標準偏差および平均濃度+標準偏差を示す。

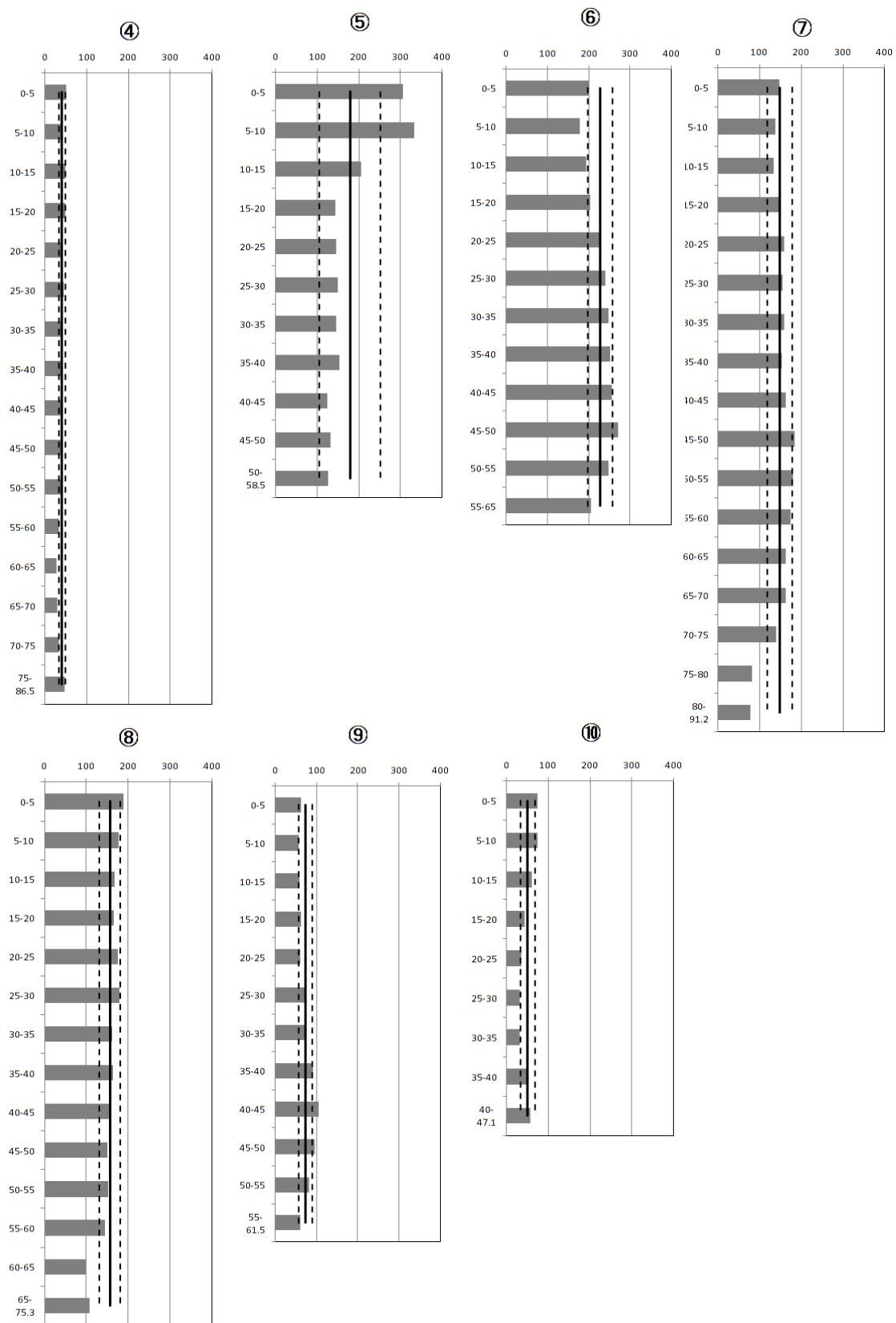


図 3.3 シマオオタニワタリの葉中水銀濃度分布 (試料④-⑩)

3.3.3.2. シマオオタニワタリの 1 株の葉の水銀濃度差

Site A, H の各 2 地点から計 5 個体(株 I-V)のシマオオタニワタリを採集し、各株の葉を外側(古い葉)から内側(若葉)に向けて順番に採取した。図 3.4 に示すように、最も外側の葉を 1 として番号を付けた。葉表面の付着物等による汚染を避けるために、葉は水道水で洗浄後、表面をワイパーで拭いた。水銀濃度測定は 3.3.3.1.の結果を考慮し、葉の中央部を中心に、虫食いや破れなどの損傷や変色のない部分を分取して行った。水銀濃度は湿重量ベースで測定し、水銀測定に用いた部位と対称となる部位を用いて求めた水分含有量をもとに乾燥重量ベースに換算した(2.2.2.1.参照)。採集した各株の葉数は 14-32 枚であった。

各株の水銀濃度測定結果を図 3.5 に示す。各株の葉の平均水銀濃度は I : $520 \pm 174 \text{ ng g}^{-1}$, II : $425 \pm 142 \text{ ng g}^{-1}$, III : $64 \pm 22 \text{ ng g}^{-1}$, IV : $43 \pm 8 \text{ ng g}^{-1}$, および V : $69 \pm 25 \text{ ng g}^{-1}$ であった。相対標準偏差(RSD)は 18-37 %で、5 株平均の RSD 値は 31 %であった。葉の新旧(内側/外側)や大きさによる明確な水銀濃度差は見られなかった。株ごとの各葉の水銀濃度差は概ね平均 ± 31 %の範囲内であったが、外れるものもあった。同一株の中で新旧や大きさに関わらず水銀濃度が高い葉/低い葉が生じる原因としては葉の洗浄不足(汚染)が考えられるが、シマオオタニワタリの成長速度や寿命、葉の成長速度や存続期間などの生態・生理学的情報が不足しており、解明にはさらなる検討が必要である。

以上の結果から、葉の新旧や大きさによらず、2 枚以上の葉を採取して水銀濃度を測定することでシマオオタニワタリ 1 株の水銀濃度の代表値を得た。



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
Outside Inside
(Old) (Young)

図 3.4 株 I から採取した葉

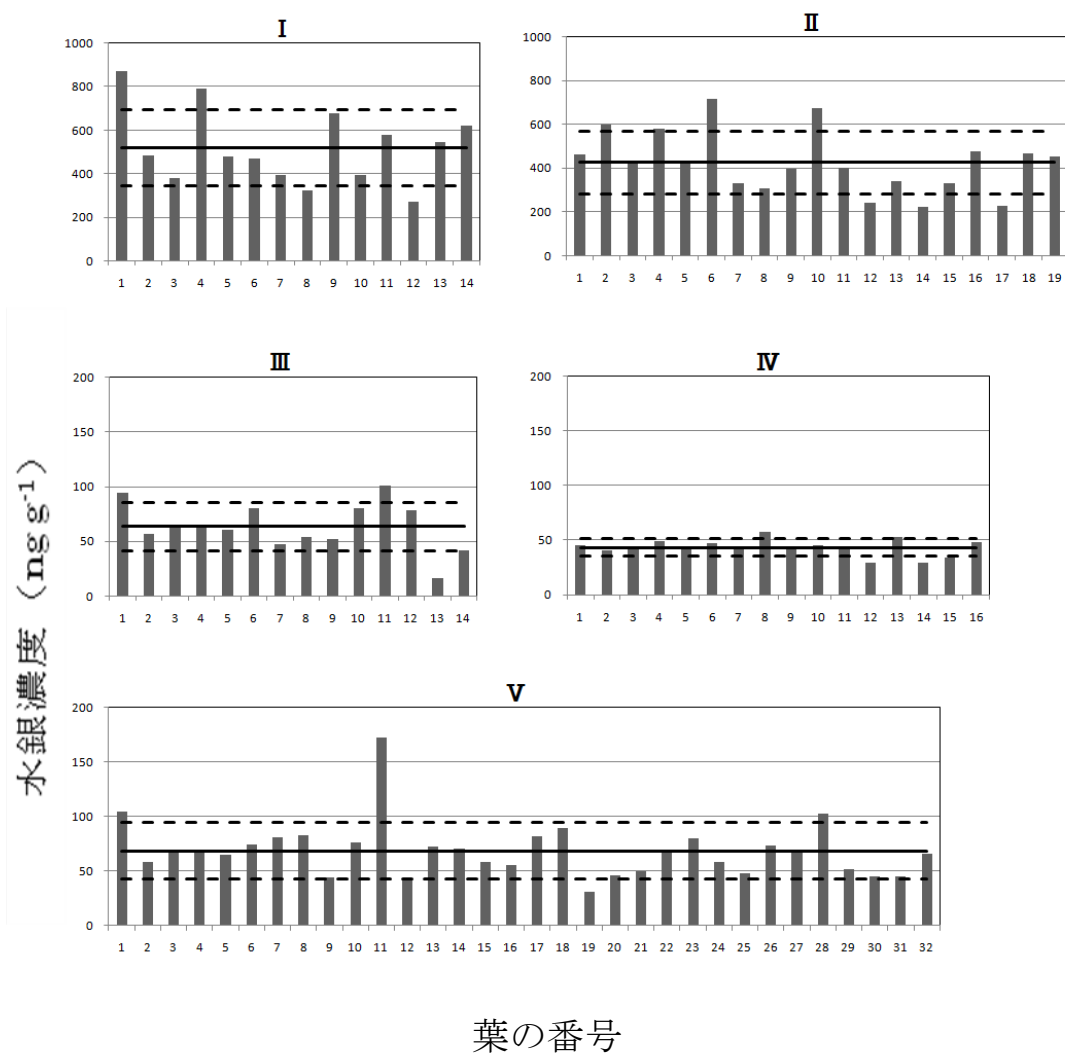


図 3.5 各株の葉の水銀濃度

葉の番号は数字が大きくなるほど内側の葉を示す（1 は外側の古い葉）。

株 I と II の縦軸のスケールは 0–1000 ng g⁻¹，その他は 0–200 ng g⁻¹である。

グラフ中の実線は各葉の平均水銀濃度を，2 本の点線はそれぞれ平均濃度－標準偏差と平均濃度＋標準偏差を示す。

3.3.3.3. シマオオタニワタリの葉中水銀濃度の地理的分布

各 Site のシマオオタニワタリの平均水銀濃度は 2008 年と 2009 年で有意差はなかった (Wilcoxon t-test; $P = 0.77$, $n = 6$)。多数の精錬小屋が確認された Site B と C の水銀濃度が 3.8×10^3 – 5.4×10^3 ng g^{-1} と高く, 少数の精錬小屋があった Site E, F および G では 4.0×10^2 – 9.4×10^2 ng g^{-1} であった。金精錬活動の行われていない Site A, H および I の平均水銀濃度は 70–370 ng g^{-1} , Site D では 544 と 883 ng g^{-1} であった。Site D の水銀濃度は Site I より有意に高く (Unpaired t-test, $P < 0.05$), Site E, F および G と同程度の値が示され, 大気中水銀濃度と同様の傾向を示した。

シマオオタニワタリの葉中水銀濃度分布と大気中水銀濃度分布は類似の傾向を示し, 両者の間には有意な相関が示された (図 3.6, $r = 0.895$, $p < 0.001$, $n = 14$)。このことから, シマオオタニワタリの葉中水銀濃度はそのシマオオタニワタリが生育する地点の周辺大気中水銀濃度を反映していることが示唆された。

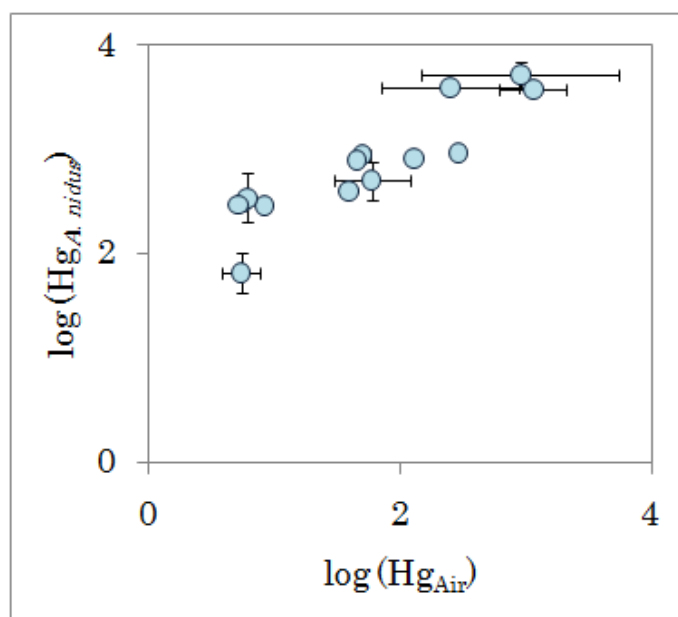


図 3.6 シマオオタニワタリの葉中水銀濃度と大気中水銀濃度の関連性

大気中水銀濃度 (Hg_{Air} ; ng m^{-3}) とシマオオタニワタリの葉中水銀濃度 ($\text{Hg}_{\text{A.nidus}}$; ng g^{-1}) はそれぞれ常用対数値に変換した。エラーバーは標準偏差を示す。

3.3.4. シマオオタニワタリをバイオモニターとした大気中水銀レベルの評価

大気中水銀濃度とシマオオタニワタリの葉中水銀濃度との関連性から、シマオオタニワタリの葉中水銀濃度に対応する大気中水銀レベルの評価を行うための回帰式の導出を試みた。各地点の大気中水銀濃度の変動とシマオオタニワタリの葉中水銀濃度の個体差の影響を少なくするために、複数地点から大気中水銀とシマオオタニワタリをサンプリングできた2009年のSite B, C, DおよびIのデータセットを回帰式の導出に用いた。両水銀濃度をSiteごとに平均し、常用対数値で対応させてプロットすると、直線性の良い回帰直線が得られた(図3.7; $r = 0.994$, $p < 0.01$, $n = 4$)。次に、このプロットにより得られた回帰式 $\log(\text{Hg}_{A, \text{nidus}}) = 0.799 \log(\text{Hg}_{\text{Air}}) + 1.255$ を用いて、シマオオタニワタリの葉中水銀濃度から大気中水銀レベルの算出を試みた。

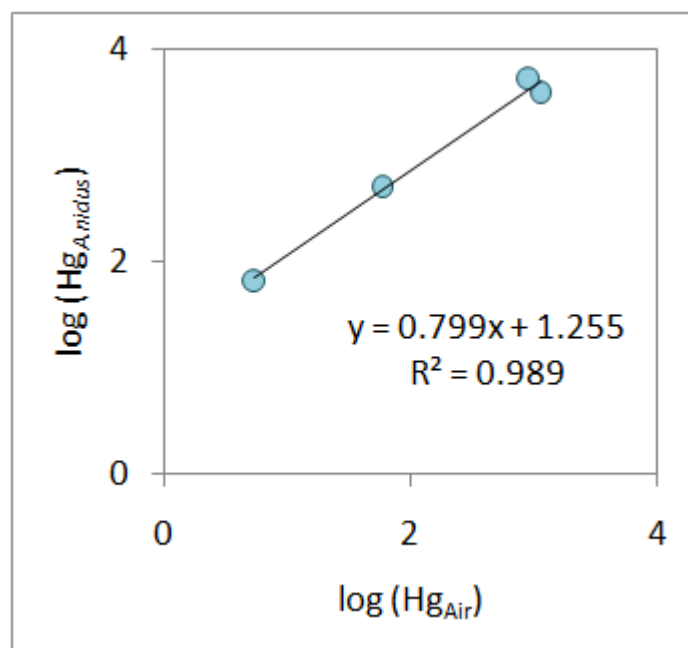


図 3.7 Site B, C, D, I の大気およびシマオオタニワタリの葉の平均水銀濃度の回帰式

大気中水銀濃度 : Hg_{Air} (ng m^{-3})

シマオオタニワタリの葉中水銀濃度 : $\text{Hg}_{A, \text{nidus}}$ (ng g^{-1})

2008年から2009年に採集した全てのシマオオタニワタリの葉中水銀濃度を上記回帰式に代入し、大気中水銀濃度 Hg_{Air} を計算し、それぞれの値を各年の Site ごとに平均した (表 3.4)。この平均した計算値と実際の大気中水銀濃度 (実測値) を Site ごとに平均した値とを比較した結果、計算値 (Estimated Hg) と実測値 (Measured Hg) はよく一致していた (図 3.8)。従って、上記回帰式を用いることで、シマオオタニワタリの葉中水銀濃度から大気中水銀レベルの評価ができることが示された。

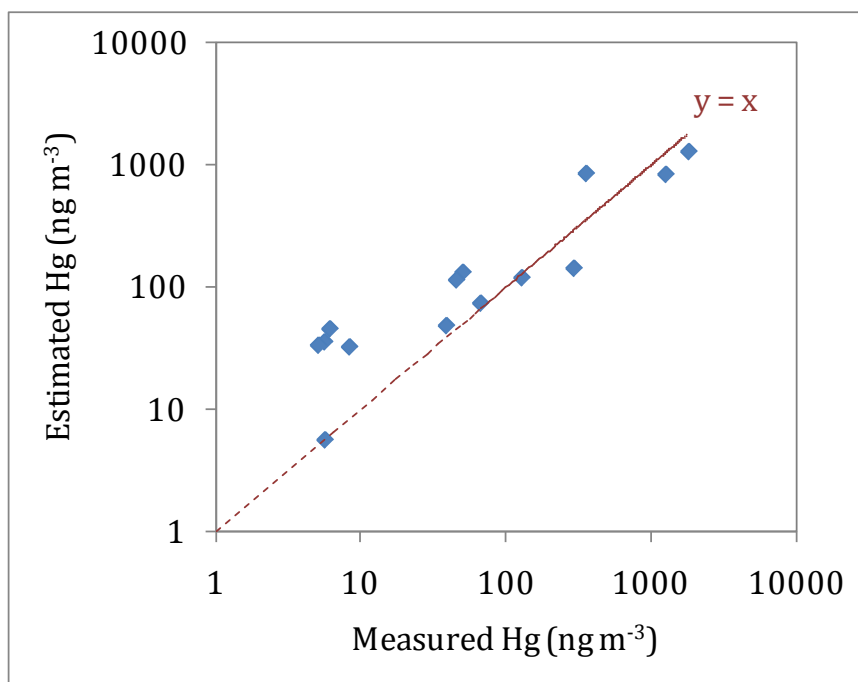


図 3.8 大気中水銀濃度の計算値と実測値の比較

表 3.4 中の Site 平均の大気中水銀の実測値 Ave. M- Hg_{Air} (ng m⁻³)と計算値 Ave. E- Hg_{Air} (ng m⁻³)によるプロット。

両軸とも対数目盛で表示している。

表 3.4 各地点のシマオオタニワタリの葉中水銀濃度 ($\text{Hg}_{A.nidus}$) と大気中水銀濃度の実測値 (M-Hg_{Air}) と計算値 (E-Hg_{Air})

| Site | Point | Oct.-Nov. 2008 | | | Oct.-Nov. 2009 | | |
|------|-------------|---|--|--|---|--|--|
| | | $\text{Hg}_{A.nidus}$ (ng g^{-1}) | E-Hg_{Air} (ng m^{-3}) | M-Hg_{Air} (ng m^{-3}) | $\text{Hg}_{A.nidus}$ (ng g^{-1}) | E-Hg_{Air} (ng m^{-3}) | M-Hg_{Air} (ng m^{-3}) |
| A | A-1 | 287 | 32 | 8.3 | — | — | 6.1 |
| | A-2 | — | — | — | 235 | 25 | — |
| | A-3 | — | — | — | 505 | 65 | — |
| | Ave. | 287 | 32 | 8.3 | 370 | 45 | 6.1 |
| B | B-1 | — | — | — | — | — | 1758 |
| | B-2 | 3828 | 820 | — | — | — | — |
| | B-3 | — | — | — | 3472 | 725 | 742 |
| | B-4 | — | — | — | 4234 | 930 | — |
| | Ave. | 3828 | 820 | — | 3853 | 828 | 1250 |
| C | C-1 | — | — | — | 5210 | 1206 | — |
| | C-2 | — | — | 605 | — | — | 3365 |
| | C-3 | — | — | — | 5600 | 1319 | — |
| | C-4 | — | — | — | 8441 | 2205 | — |
| | C-5 | — | — | — | 4508 | 1006 | — |
| | C-6 | — | — | — | — | — | 1916 |
| | C-7 | — | — | — | 4656 | 1047 | — |
| | C-8 | 3910 | 842 | 102 | 3926 | 846 | 114 |
| | Ave. | 3910 | 842 | 353 | 5390 | 1271 | 1798 |
| D | D-1 | 881 | 130 | 55 | — | — | — |
| | D-2 | 884 | 131 | 45 | 303 | 34 | 36 |
| | D-3 | — | — | — | 452 | 56 | — |
| | D-4 | — | — | — | 595 | 80 | — |
| | D-5 | — | — | — | 947 | 143 | — |
| | D-6 | — | — | — | 422 | 52 | 96 |
| | Ave. | 883 | 131 | 50 | 544 | 73 | 66 |
| E | E-1 | — | — | — | 938 | 141 | 291 |
| | Ave. | — | — | — | 938 | 141 | 291 |
| F | F-1 | 787 | 113 | 45 | 814 | 118 | 127 |
| | Ave. | 787 | 113 | 45 | 814 | 118 | 127 |
| G | G-1 | — | — | — | 396 | 48 | 39 |
| | Ave. | — | — | — | 396 | 48 | 39 |
| H | H-1 | — | — | — | 295 | 33 | 5.1 |
| | Ave. | — | — | — | 295 | 33 | 5.1 |
| I | I-1 | — | — | 5.6 | 103 | 8.8 | 7.8 |
| | I-2 | 310 | 35 | — | 63 | 4.8 | 3.9 |
| | I-3 | — | — | — | 43 | 3.0 | 5.1 |
| | Ave. | 310 | 35 | 5.6 | 70 | 5.6 | 5.6 |

Site B, C, D, H のシマオオタニワタリの葉中水銀濃度と大気中水銀濃度の Site 平均値 (赤字で示す) の対数値を用いて図 3.7 を作成。

表 3.4 において、C-8 地点の計算値は実測値より 7 倍以上高い値が示された。C-8 地点は C 集落の外れに位置し、約 100m 南西に精錬作業場があった。C-8 地点の大気中水銀濃度はその作業場で行われる精錬作業状況（作業工程、休止期間）と風向・風速の影響を受けて大きく変動していることが推測される。2009 年は C-8 地点でのサンプリング前日にその精錬作業場でアマルガムの焼きだしが行われていたものの、サンプリング当日は焼きだし作業は確認されなかった。今回、サンプリング時の風向き等を記録してはいなかったが、サンプリング時の C-8 地点は大気中水銀濃度を高めるような精錬活動の影響が少なかったことが推測され、その結果が実測値の大気中水銀濃度として表れていると考えられる。その一方で、シマオオタニワタリの葉中水銀濃度から計算された値は、植物体や器官の寿命および葉内に水銀を保持している期間に関連したある期間における大気中水銀濃度の変動を均して反映していると考えられる。つまり、実測値は捕集時の一時的 (C-8 地点の場合は約 10 分間) な大気中水銀濃度を表し、計算値はその地点の潜在的な大気中水銀レベルを表すと考えられる。シマオオタニワタリ中水銀濃度から評価された C-8 地点の潜在的な大気中水銀濃度は 800ng m^{-3} となり、B、C 集落内と同程度の水銀汚染レベルにある可能性が示唆された。

3.4. まとめ

チカニキ川流域における大気中水銀濃度

チカニキ川源流域から約 25 km 下流までの間にある集落・地域 (Site A-I) 内において、水銀捕集管 (金アマルガム法) を用いて大気中水銀を捕集し、濃度測定した結果、金精錬が行われている集落 (Site B, C, E, F および G) の水銀濃度は精錬を行っていない地域 (Site A, H および I) に比べ、約 5–5000 倍高いことが示された (それぞれ、 $39\text{--}26 \times 10^3 \text{ ng m}^{-3}$, $5.1\text{--}8.3 \text{ ng m}^{-3}$)。また、金精錬活動を通じて大量に大気中に排出された水銀は約 1 km 先にまで及んでいることが示唆された。

Site A において、大気中水銀濃度は 1 日の大部分の時間で 20 ng m^{-3} を下回っていたものの、一時的に 60 ng m^{-3} を超える変動が見られた。この水銀濃度の上昇は気温の上昇と相対湿度の低下に引き続いて生じていたため、気温、湿度、太陽光線などの気象要因に関連した変動であると考えられる。一方、Site C では、大気中水銀濃度は 1 日を通じて 200 ng m^{-3} を超えており、短時間の上昇と低下を繰り返していたものの、Site A で見られたような気象要因に伴う濃度変動は見られなかった。Site C における水銀濃度の変動は調査地点周辺で行われている金精錬の作業工程や風向き等の影響を強く反映していると考えられる。

このように、金精錬が行われている集落およびその近隣では大気中水銀が高レベルにあることが示されたものの、その水銀濃度は気象要因や精錬活動、風向き等の影響を受けて変動することが示唆された。

シマオオタニワタリによる大気中水銀の *in situ* バイオモニタリング

シマオオタニワタリはアジアやアフリカの熱帯に広く分布するシダ植物であり、本調査地域においてもチカニキ川の源流域から下流まで生育しており、大気中水銀濃度が高かった Site B, C においても豊富に生育していた。このシマオオタニワタリを *in situ* バイオモニタリングに利用するために、自生するシマオオタニワタリの葉中水銀濃度と周辺大気中水銀濃度との関連性について検討を行った。

まず、チカニキ川流域のシマオオタニワタリの葉中水銀濃度と大気中水銀濃度との間に有意な相関が得られたことから、シマオオタニワタリの葉中水銀濃

度は生育地点周辺の大気中水銀濃度を反映していることが示唆された。

次に、シマオオタニワタリの葉に蓄積された水銀量から定量的に大気中水銀レベルを評価するために、シマオオタニワタリの葉中水銀濃度に対応する大気中水銀レベルを算出する回帰式の導出を試みた。各地点の大気中水銀濃度の変動とシマオオタニワタリの葉中水銀濃度の個体差の影響を少なくするために、複数地点から大気中水銀とシマオオタニワタリをサンプリングできた Site のデータセットを回帰式の導出に用いた。導出した回帰式に 2008 年から 2009 年に採集した全てのシマオオタニワタリの葉中水銀濃度を代入して大気中水銀濃度を計算した値と実際に現地で捕集して得た大気中水銀濃度の実測値を比較した結果、計算値と実測値はよく一致していた。従って、この回帰式を用いてシマオオタニワタリの葉中水銀濃度から大気中水銀レベルを定量的に評価できることが示された。

さらに、C-8 地点の大気中水銀レベルについて、2008 年と 2009 年の実測値はそれぞれ 102 ng m^{-3} 、 114 ng m^{-3} であったが、シマオオタニワタリの葉中水銀濃度から計算された値はそれぞれ 842 ng m^{-3} 、 846 ng m^{-3} であり、C-8 地点の大気中水銀レベルは実測値より 7–8 倍高く、Site B と同レベルにあると評価された。C-8 地点は精錬小屋から約 100m しか離れておらず、そこで行われている精錬作業工程や風向きによっては、大気中水銀濃度が極めて高くなると推測される。大気中水銀の実測値は捕集時の一時的な大気中水銀濃度であるのに対し、シマオオタニワタリの葉中水銀濃度から計算された値はそのような短時間の変動を均した大気中水銀レベルを反映していると考えられる。これらのことから、シマオオタニワタリをバイオモニターとして用いることで、大気中水銀濃度の一時的変動を均した調査地の大気中水銀レベルを評価できると考えられる。

水銀を用いた金精錬 (ASGM) は簡易な設備と操作で金を得られることから、発展途上国を中心に、現在でも 55 カ国以上で行なわれている (UNEP, 2008)。このような ASGM の多くは主要都市から離れた村落で行われているため、ASGM からの水銀拡散を評価するための調査には移動やサンプリング回数・時間に制限が伴う。実際に、本研究の調査地はインドネシア共和国の首都ジャカルタから車で約 6 時間、研究施設のあるチビノンからは車で約 3 時間の距離にある。チカニキ川流域は広大な国立公園内にあり、研究者用の宿泊施設チカ

ニキ・リサーチ・ステーションが設けられているものの、上流部は道路が未発達な山間部で、中流から下流にかけては集落が発達するため、調査のための移動とサンプリングのための滞在時間は制限される。他の手法に比べて安価で容易に広範囲の調査を行うことができる *in situ* バイオモニタリングは、潜在的な大気中水銀レベルの定量的評価を行なうことで、このような水銀汚染地域における水銀の拡散状況を明らかにすることができる有力な手法になると考えられる。

第4章 総括

バイオモニタリングは生体の状態と環境の状態の関係を利用して環境汚染を評価する手法であり、バイオインジケーターが環境変化の定性的評価に用いられるのに対し、バイオモニターは汚染物質の定量的評価に用いられる (Górecki and Namieśnik, 2002)。Chakraborty and Paratkar (2006) はバイオモニター利用の利点として次の点を挙げている：①高価なサンプリング装備を要しない；②サンプリングが容易；③生体中の濃度は周辺環境（水，大気）中の濃度より高く，測定精度を向上させる；④ある期間の平均的な状態を反映する。これらの利点から，バイオモニターは大気中水銀の汚染状況の評価にも利用されている。水銀発生源から大気へ排出された水銀のうち，活性ガス状水銀 (RGM) や粒子状水銀 (P-Hg) の大気中滞留時間は短く，発生源周辺に沈着する一方で，大気中の主要水銀化学種であるガス状金属水銀 (Hg^0) の大気中滞留時間は約1年と長いため，発生地点から長距離輸送されて遠隔地まで到達すると考えられている (Lin and Pehkonen, 1999)。こうした点から，大気中水銀の汚染拡散の評価には広範囲のデータが必要となるが，バイオモニターの利用により，1地点におけるサンプリングにかかる時間的・経済的コストを低く抑えられるので調査範囲を拡大し，多地点でのサンプリングを容易に行なうことができる。また，大気中水銀濃度は気温や風速・風向，人為活動などの様々な環境要因に関連して変動するため，調査地点・地域の潜在的な水銀濃度を明らかにするには長期的な調査が必要となる。バイオモニターは周辺大気から水銀を生体内に取り込んで蓄積しており，その蓄積量は大気中水銀濃度の一時的な変化を均したある期間の平均的な状態（水銀レベル）を反映するので，機器を用いる場合よりも低頻度のサンプリングで長期の大気中水銀レベルの評価が可能である。

これまでの大気中水銀のバイオモニタリングは北欧米を中心に行なわれており，中緯度から高緯度に主な分布域をもつ *Parmelia sulcata*, *P. caperata*, *Evernia* sp., *Hypogymnia physodes*, *Xanthoria parietina* といった地衣類や *Hypnum cupressiforme*, *Hylocomium splendens*, *Pleurozium schreberi*, *Scleropodium purum* などの蘚苔類がバイオモニターとして用いられている。こうした地衣類や蘚苔類は根が未発達で栄養素を大気から直接吸収し，土壌の影響を受けにくいことから，大気中水銀のバイオモニターとしての有用性が示

されている (Loppi and Bonini, 2000; Jeran et al., 2003; Horvat et al., 2000; Loppi et al., 2006; Loppi et al., 1997; Steinnes et al., 2003; Harmens et al., 2004; Galsomiès et al., 1999)。一方, Malm et al. (1998) はブラジルの熱帯域の水銀汚染地において, 現地環境に適応した着生植物を用いた移植バイオモニタリング手法を示した。熱帯域では北欧米で用いられている生物種の採集が困難である場合があり, 現地環境に適応した生物種の利用はバイオモニタリング手法の汎用性を高めるものとなる。移植バイオモニタリングでは調査地の環境条件下 (気候, 汚染の程度など) で生育できることがバイオモニターとして必要な条件となる (Namieśnik and Wardencki, 2002) のに対し, 調査地域に豊富に自生する植物種のバイオモニタリングへの利用 (*in situ* バイオモニタリング) は調査地の環境条件への適応や十分な個体数の確保といった問題点の有効な解決策であると考えられる。

本研究ではこうしたバイオモニターの利点を活かした大気中水銀汚染の評価をアジア地域で行なうための *in situ* モニタリング手法の検討を行なった。バイオモニターとしては調査地域に広く分布する着生シダ植物を対象とした。シダ植物を用いた大気中水銀の汚染評価についての研究はこれまでに報告されていなかったため, バイオモニターとしての基礎的な検討から始めた。本論第 2 章では東アジアおよび東南アジアに広く分布する着生シダ植物ノキシノブを対象とした。ノキシノブの胞子体の葉中水銀は根 (不定根) からの寄与は少なく, 葉中水銀の大部分は大気由来と考えられたことから, ノキシノブを大気中水銀のバイオモニターとして用いた。

バイオモニタリングでは同一地点で採集された試料間の水銀濃度に個体差が生じることは避けられない。特に, 自生種を試料とする *in situ* バイオモニタリングではバイオモニターとして用いる生体や器官のライフサイクルや外部環境 (乾燥や気温の上昇・下降など) からのストレスによる濃縮速度の変化を反映した濃度差をなくすことは技術的に困難である。バイオモニタリングはこうした濃度差を踏まえたうえで調査地域の水銀濃度分布を評価することになる。従って, 地点間の水銀濃度差を明確にするためには同一地点内の試料間の水銀濃度差をできるだけ小さくする必要がある。本論ではバイオモニターとして用いるシダ植物の葉の測定前処理 (洗浄) や成熟段階, 測定部位の選定をしたことで, 水銀濃度の個体差を踏まえつつも, 地点間の有意な濃度差を示すことがで

きた。

大気中水銀のバイオモニタリングの信憑性は、バイオモニタリング結果と実際の大気中水銀濃度変化との照合により確認される。移植バイオモニタリングではバイオモニターの調査地点への移植から回収までの曝露期間が明確であり、その間の大気中水銀濃度を継続的に測定することが可能である。De Temmerman et al., 2007 はホソムギ (*Lolium perenne* L. cv Vigor) を 3 地点に移植して異なる曝露期間 (7 日間, 14 日間および 28 日間) で栽培し、その期間の各地点の大気中水銀の捕集を金アマルガム法 (金トラップ) により行なった。回収したホソムギと金トラップの水銀濃度測定結果から、ホソムギ中の水銀蓄積量は周辺大気中のガス状総水銀濃度と相関があることを示し、周辺大気中水銀濃度および曝露期間に応じてホソムギ中水銀濃度が変化することを示した。一方、*in situ* バイオモニタリングでは移植バイオモニタリングよりも多地点・広範囲に調査地点を設定可能であることが利点であるが、多地点での機器による大気中水銀の捕集は時間的・経済的に高コストとなり困難となっているため、大気中水銀濃度の反映期間や実際の大気中水銀濃度との関連は明確にされてこなかった。

そこで、本論第 2 章では鹿児島大学構内 8 地点において 2 年間、水銀捕集管 (金アマルガム法) を用いた大気中水銀の捕集を自生するノキシノブのサンプリングと同時期に行なうことで、ノキシノブの葉中水銀濃度は生育地点周辺の大気中水銀レベルを反映していることを示した。また、回帰分析の結果、ノキシノブの葉中水銀濃度はサンプリング以前の 4 カ月間から 12 カ月間の平均大気中水銀濃度とよく対応していたことから、ノキシノブの葉中水銀濃度は過去 4 カ月間以上の大気中水銀レベルを反映していることが示唆された。さらに、ノキシノブの葉をバイオモニターとして用いることで調査地点の 6 カ月間平均に相当する大気中水銀濃度を評価することができた。これまでの *in situ* バイオモニタリングでは、バイオモニターとして用いる生体や器官の寿命や成長量から大気中水銀レベルの反映期間が見積もられてきたが (Loppi et al., 2006; Loppi et al., 1997), 9 カ月以上の葉寿命であるノキシノブの葉をバイオモニターとして用いて、6 カ月間平均の大気中水銀濃度を評価することができた。このようにバイオモニターの水銀レベル反映期間を明らかにすることにより、精度と信頼性のより高い *in situ* バイオモニタリングを行うことができると考えられる。

第 3 章ではインドネシアの水銀汚染地域において調査地に豊富に自生するシマオオタニワタリを *in situ* バイオモニターとして選択し、金アマルガム法により直接捕集して測定した大気中水銀濃度とバイオモニター中の水銀濃度との関連性を明らかにし、その関連性を利用した、*in situ* バイオモニタリングによる調査地点の大気中水銀レベルの定量的評価法を示した。調査対象地域であるチカニキ川流域では複数個所で水銀を用いた金精錬(零細・小規模金採掘 *artisanal and small-scale gold mining: ASGM*) が行われており、精錬過程では、水銀回収装置の不備や開放系でのアマルガム燃焼によって、使用される水銀の 55–87% が周辺環境中へ排出されている (Luiz D. de Lacerda and Wim Salomons, 1998)。ASGM によって大量に大気へ排出される水銀の追跡と評価を行うことは周辺環境への水銀汚染の影響評価を行う上で重要であることから、これまでにブラジル (Malm, 1998; Lacerda and Marins, 1997; von Tümpling. et al., 1995; Lacerda and Pfeiffer, 1992; Hacon et al., 1995), ベネズエラ (Drake et al., 2001; Veiga et al., 2005; García-Sánchez et al., 2006), エクアドル (Patricio et al., 2010), 中国 (Feng et al., 2006) などで大気中水銀汚染が調査され、報告されている。インドネシアではカリマンタン島やスラウェシ島において、ASGM による河川や河口などの水系や土壌の水銀汚染について報告されている (Kambey et al., 2001; Castilhos et al., 2006; Limbong et al., 2003; Elvince et al., 2008; Awalina and Hartoto, 2001; Telmer and Stapper, 2007; Bose-O'Reilly et al., 2010; Lasut et al., 2010; Edinger et al., 2007; Limbong et al., 2005; Veiga et al., 2006) 一方で、本調査地域を含め、大気の水銀汚染については報告されていない。これは ASGM の多くが主要都市から離れた村落で行われており、道路や電気等のライフラインが未発達であるため、大気中水銀汚染の拡散を明らかにするための機器を用いた詳細な調査が困難であることが一因となっていると考えられる。本論で示してきた *in situ* バイオモニタリングは移動やサンプリング回数・時間に制限が伴う場合であっても調査対象地点の大気中水銀レベルの評価が可能であることから、ASGM のような水銀発生源からの汚染拡散の評価に大変有効な手法である。

現行のバイオモニタリングでは主に地衣類と蘚苔類がバイオモニターとして用いられており、高等植物の利用はごく少数例である。根の発達した維管束植物であっても、その葉に含まれる水銀は土壌からの寄与は少なく、大部分は大

気由来であることが報告されている (Tomiyasu et al., 2005; De Temmerman et al., 2009)。植物体への水銀取り込みの経路や植物体内での水銀の挙動等については今後の検討課題であるが、根の有無，着生・地上生といった区分に関わらず，多様な生物種の葉状体や葉が大気中水銀のバイオモニターとして利用できる可能性がある。バイオモニタリングに利用できる生物種が多様であれば，適用できる環境（気候区など）も広がり，世界規模での *in situ* バイオモニタリングの実施が可能である。このようにして得られるバイオモニタリングデータは，数種のバイオモニター間でのモニタリング結果の比較や機器分析結果との比較によって校正されることで，バイオモニタリングをさらに汎用性の高い大気中水銀濃度の評価手法として確立させることができると考えられる。

謝辞

本章の研究を進めるにあたり、終始懇篤な指導をしてくださった鹿児島大学大学院理工学研究科の富卓滋教授に対し心からの感謝の意を表します。また、貴重な助言をくださった鹿児島大学大学院理工学研究科の神崎亮准教授、児玉谷仁助教および穴澤活郎准教授（現 東京大学大学院新領域創成科学研究科）をはじめとする無機分析化学研究室の皆様、多様性生物学講座の佐藤正典教授および宮本旬子准教授、また、松山明人客員教授（国立水俣病研究センター リスク評価室長）にも厚く感謝の意を表します。

また、インドネシア科学院生物学研究センター (RCB-LIPI) の Dr. Joeni Setio Rahajoe と Dr. Nurul Hidayati にはインドネシアでのサンプリング、現地での分析や測定前処理にご協力いただき、さらに、測定結果について貴重なご意見をいただきました。インドネシアで採集した植物試料の同定を行っていただいた Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi-LIPI にも感謝いたします。

最後に、第 3 章の研究は鹿児島大学の「熱帯域における生物資源の多様性保全のための国際教育プログラム」として、独立行政法人日本学術振興会 (JSPS) の「若手研究者インターナショナル・トレーニング・プログラム (ITP)」による支援を得て進めることができました。貴重な機会を与えてくださった JSPS および ITP の関係者に大変感謝しております。

引用文献

第 1 章

- Aničić M., Tomašević M., Tasić M., Rajšić S., Popović A., Frontasyeva M.V., Lierhagen S. and Steinnes E., 2009. Monitoring of trace element atmospheric deposition using dry and wet moss bags: Accumulation capacity versus exposure time. *Journal of Hazardous Materials* 171, 182–188.
- Baker P.G.L., Brunke E.-G., Slemr F. and Crouch A.M., 2002. Atmospheric mercury measurements at Cape Point, South Africa. *Atmospheric Environment* 36, 2459–2465.
- Bargagli R. and Barghigiani C., 1991. Lichen biomonitoring of mercury emission and deposition in mining, geothermal and volcanic areas of Italy. *Environmental Monitoring and Assessment* 16, 265–275.
- Boening D. W., 2000. Ecological effects, transport, and fate of mercury: A general review. *Chemosphere* 40, 1331–1351.
- Calasans C.F. and Malm O., 1997. Elemental mercury contamination survey in a chlor-alkali plant by the use of transplanted Spanish moss, *Tillandsia usneoides* L. *The Science of the Total Environment* 208, 165–177.
- Chakraborty S. and Paratkar G.T., 2006. Biomonitoring of trace element air pollution using mosses. *Aerosol and Air Quality Research*. 6 (3), 247–258.
- Choi E.-M., Kim S.-H., Holsen T. M. and Yi S.-M., 2009. Total gaseous concentrations in mercury in Seoul, Korea: Local sources compared to long-range transport from China and Japan. *Environmental Pollution* 157, 816–822.
- Cobbett F.D., Steffen A., Lawson G. and Van Heyst B.J., 2007. GEM fluxes and atmospheric mercury concentrations (GEM, RGM and Hg^p) in the Canadian Arctic at Alert, Nunavut, Canada (February–June 2005).

- Atmospheric Environment 41, 6527–6543.
- De Temmerman L., Claeys N., Roekens E. and Guns M., 2007. Biomonitoring of airborne mercury with perennial ryegrass cultures. *Environmental Pollution* 146, 458–462.
- De Temmerman L., Waegeneers N., Claeys N. and Roekens E., 2009. Comparison of concentrations of mercury in ambient air to its accumulation by leafy vegetables: An important step in terrestrial food chain analysis. *Environmental Pollution* 157, 1337–1341.
- Denis M., Song X., Lu J. Y. and Feng X., 2006. Atmospheric gaseous elemental mercury in downtown Toronto. *Atmospheric Environment* 40, 4016–4024.
- Ericksen J.A., Gustin M.S., Schorran D.E., Johnson D.W., Lindberg S.E. and Coleman J.S., 2003. Accumulation of atmospheric mercury in forest foliage. *Atmospheric Environment* 37, 1613–1622.
- Fu X., Feng X., Wang S., Rothenberg S., Shang L., Li Z. and Qiu G., 2009. Temporal and spatial distributions of total gaseous mercury concentrations in ambient air in a mountainous area in southwestern China: Implications for industrial and domestic mercury emissions in remote areas in China. *Science of the total environment* 407, 2306–2314.
- Gabriel M.C., Williamson D. G., Brooks S. and Lindberg S., 2005. Atmospheric speciation of mercury in two contrasting Southeastern US airsheds. *Atmospheric Environment* 39, 4947–4958.
- Galsomiès L., Letrouit M.A., Deschamps C., Savanne D. and Avnaim M., 1999. Atmospheric metal deposition in France: Initial results on moss calibration from the 1996 biomonitoring. *The Science of the Total Environment* 232, 39–47.
- Garty J., 2001. Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens: Theory and application. *Critical Reviews in Plant Sciences* 20(4), 309–371.
- Gosar M., Pirc S., Šajn R., Bidovec M., Mashyanov N. R. and Sholupov S.E., 1997. Distribution of mercury in the atmosphere over Idorija, Slovenia.

- Environmental Geochemistry and Health 19, 101–110.
- Gustin M. and Jaffe D., 2010. Reducing the uncertainty in measurement and understanding of mercury in the atmosphere. *Environmental science and technology* 44, 2222–2227.
- Harmens H., Buse A., Büker P., Norris D., Mills G., Williams B., Reynolds B., Ashenden T. W., Rühling Å. and Steinnes E., 2004. Heavy metal concentration in European mosses: 2000/2001 survey. *Journal of Atmospheric Chemistry* 49, 425–436.
- Higueras P., Oyarzun R., Lillo J., Oyarzún J. and Maturana H., 2005. Atmospheric mercury data for the Coquimbo region, Chile: Influence of mineral deposits and metal recovery practices. *Atmospheric Environment* 39, 7587–7596.
- Horvat M., Jeran Z., Špirič Z., Jaćimović R. and Miklavčič V., 2000. Mercury and other elements in lichens near the INA Naftaplin gas treatment plant, Molve, Croatia. *J. Environ. Monit.* 2, 139–144.
- Ikingura J.R. and Akagi H., 2002. Lichens as a good bioindicator of air pollution by mercury in small-scale gold mining areas, Tanzania. *Bulletain of Environmental Contamination and Toxicology* 68, 699–704.
- Jeran Z., Horvat M., Jaćimović R. and Spiric Z., 2003. Biomonitoring with epiphytic lichens around gas treatment plants, IAEA-TECDOC-1338 Biomonitoring of atmospheric pollution (with emphasis on trace elements) — BioMAP II, by the International Atomic Energy Agency in co-operation with the Instituto Tecnológico Nuclear and the Universidade dos Açores and held in Praia da Vitória, Azores Islands, Portugal, 28 August–3 September 2000, IAEA January 2003.
- Kim K.-H. and Kim M.-Y., 2001. The temporal distribution characteristics of total gaseous mercury at an urban monitoring site in Seoul during 1999–2000. *Atmospheric Environment* 35, 4253–4263.
- Kim K.-H., Mishra V. K. and Hong S., 2006. The rapid and continuous monitoring of gaseous elemental mercury (GEM) behavior in ambient air. *Atmospheric Environment* 40, 3281–3293.

- Li P., Feng X.B., Qiu G.L., Shang L.H. and Li Z.G., 2009. Mercury pollution in Asia: A review of the contaminated sites. *Journal of Hazardous Materials* 168, 591–601.
- Lin C-J. and Pehkonen S.O., 1999. The chemistry of atmospheric mercury: A review. *Atmospheric Environment* 33, 2067–2079.
- Lodenius M., 1998. Dry and wet deposition of mercury near a chlor-alkali plant. *The Science of the Total Environment* 213, 53–56.
- Loppi S., 1996. Lichens as bioindicators of geothermal air pollution in central Italy. *The Bryologist* 99(1), 41–48.
- Loppi S., Nelli L., Ancora S. and Bargagli R., 1997. Passive monitoring of trace elements by means of tree leaves, epiphytic lichens and bark substrate. *Environmental Monitoring and Assessment* 45, 81–88.
- Loppi S., Frati L., Paoli L., Bigagli V., Rossetti C., Bruscoli C. and Corsini A., 2004. Biodiversity of epiphytic lichens and heavy metal contents of *Flavoparmelia ceperata* thalli as indicators of temporal variations of air pollution in the town of Montecatini Terme (Central Italy). *The Science of the Total Environment* 326, 113–122.
- Loppi S., Paoli L. and Gaggi C., 2006. Diversity of epiphytic lichens and Hg contents of *Xanthoria parietina* thalli as monitors of geothermal air pollution in the Mt. Amiata area (Central Italy). *Journal of Atmospheric Chemistry* 53, 93–105.
- Lyman S. N., Gustin M.S. and Prestbo E.M., 2010. A passive sampler for ambient gaseous oxidized mercury concentrations. *Atmospheric Environment* 44, 246–252.
- Malm O., Fonseca M.deF., Miguel P. H., Bastos W.R. and Pinto F.N., 1998. Use of epiphytic plants as biomonitors to map atmospheric mercury in a gold trade center city, Amazon, Brazil. *The Science of the Total Environment* 213, 57–64.
- Market B., Wappelhorst O., Siewers U., Friese K. and Breulmann G., 1999. The use of biomonitors for monitoring the heavy-metal status of the environment. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 240(2),

- 425–429.
- Miyamoto J., Kono Y., Tomiyasu T. and Imura R., 2008. Measurement of mercury contents in *Parmotrema tinctorum* (Parmeliaceae) around Sakurajima Volcano, Kagoshima, Japan. *Lichenology* 7(2), 143–151.
- Namieśnik J. and Wardencki W., 2002. Monitoring and analytics of atmospheric air pollution. *Polish Journal of Environmental Studies* 11(3), 211–218.
- Pacyna E. G., Pacyna J. M., Steenhuisen F. and Wilson S., 2006. Global anthropogenic mercury emission inventory for 2000. *Atmospheric Environment* 40, 4048–4063.
- Pesch R. and Schroeder W., 2006. Mosses as bioindicators for metal accumulation: Statistical aggregation of measurement data to exposure indices. *Ecological Indicators* 6, 137–152.
- Real C., Fernández J.A., Aboal J.R. and Carballeira A., 2008. Detection of pulses of atmospheric mercury deposition with extensive surveys and frequently sampled stations: A comparison. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 70, 392–399.
- Schroeder W. H. and Munthe J., 1998. Atmospheric mercury — An overview. *Atmospheric Environment* 32 (5), 809–822.
- Shon Z.-H., Kim K.-H., Song S.-K., Kim M.-Y., and Lee J.S., 2008. Environmental fate of gaseous elemental mercury at an urban monitoring site based on long-term measurements in Korea (1997-2005). *Atmospheric Environment* 42, 142–155.
- Steinnes E., Berg T., and Sjøbakk T.E., 2003. Temporal and spatial trends in Hg deposition monitored by moss analysis. *The Science of the Total Environment* 304, 215–219.
- Tomiyasu T., Eguchi M., Sakamoto H., Anazawa K. and Imura R., 2006. Seasonal change and vertical movement of atmospheric mercury at Kagoshima city in relation with Sakurajima Volcano, Japan. *Geochemical Journal* 40, 253–263.
- Wanze Z., Xuewu F., Xinbin F. and Lu J.Y., 2008. Annual time-series

analyses of total gaseous mercury measurement and its impact factors on the Gongga Mountains in the Southeastern Fringe of the Qinghai-Tibetan Plateau. *J. Mt. Sci.* 5, 17–31.

第 2 章

- Akagi H. and Nishimura H., 1991. Speciation of mercury in the environment, pp 53–76. In: Suzuki T., Imura N. and Clarkson TW.(eds) *Advances in mercury toxicology*. Plenum Press, New York.
- Akagi H., Malm O., Branches FJP., Kinjo Y., Kashima Y., Guimaraes JRD., Oliveira RB., Haraguchi K., Pfeiffer WC., Takizawa Y. and Kato H., 1995. Human exposure to mercury due to gold mining in the Tapajos River basin, Amazon, Brazil: speciation of mercury in human hair, blood and urine. *Water. Air. Soil Pollut.* 80, 85–94.
- Baker P.G.L., Brunke E.-G., Slemr F. and Crouch A.M., 2002. Atmospheric mercury measurements at Cape Point, South Africa, *Atmospheric Environment* 36, 2459–2465.
- Bargagli R., 1998. *Trace Elements in Terrestrial Plants*. Springer, Berlin.
- Calasans C.F. and Malm O., 1997. Elemental mercury contamination survey in a chlor-alkali plant by the use of transplanted Spanish moss, *Tillandsia usneoides* L. *The Science of the Total Environment* 208, 165–177.
- Christoforidis A., and Stamatis N., 2009. Heavy metal concentration in street dust and roadside soil along the major national road in Kavala's region, Greece. *Geoderma* 151, 257–263.
- Denis M., Song X., Lu J.Y. and Feng X., 2006. Atmospheric gaseous elemental mercury in downtown Toronto. *Atmospheric Environment* 40, 4016–4024.
- Galsomiès L., Letrouit M.A., Deschamps C., Savanne D. and Avnaim M., 1999. Atmospheric metal deposition in France: initial results on moss calibration from the 1996 biomonitoring. *The Science of the Total Environment* 232, 39–47.
- Harmens H., Buse A., Bükér P., Norris D., Mills G., Williams B., Reynolds B., Ashenden T. W., Rühling Å. and Steinnes E., 2004. Heavy metal concentration in European mosses: 2000/2001 survey. *Journal of Atmospheric Chemistry* 49, 425–436.

- Horvat M., Jeran Z., Špirič Z., Jaćimović R. and Miklavčič V., 2000. Mercury and other elements in lichens near the INA Naftaplin gas treatment plant, Molve, Croatia. *J. Environ. Monit.* 2, 139–144.
- Ikingura J.R. and Akagi H., 2002. Lichens as a good bioindicator of air pollution by mercury in small-scale gold mining areas, Tanzania. *Bulletain of Environmental Contamination and Toxicology* 68, 699–704.
- 岩槻邦男, 1992. 『日本の野生植物 シダ』 初版第2刷, 平凡社 (東京).
- Jeran Z., Horvat M., Jaćimović R. and Spiric Z., 2003. Biomonitoring with epiphytic lichens around gas treatment plants, IAEA-TECDOC-1338 Biomonitoring of atmospheric pollution (with emphasis on trace elements) — BioMAP II, by the International Atomic Energy Agency in co-operation with the Instituto Tecnológico Nuclear and the Universidade dos Açores and held in Praia da Vitória, Azores Islands, Portugal, 28 August–3 September 2000, IAEA January 2003.
- Loppi S. and Bonini I., 2000. Lichens and mosses as biomonitors of trace elements in areas with thermal springs and fumaroles activity (Mt. Amiata, Central Italy). *Chemosphere* 41, 1333–1336.
- Loppi S., Nelli L., Ancora S. and Bargagli R., 1997. Passive monitoring of trace elements by means of tree leaves, epiphytic lichens and bark substrate. *Environmental Monitoring and Assessment* 45, 81–88.
- Loppi S., Paoli L. and Gaggi C., 2006. Diversity of epiphytic lichens and Hg contents of *Xanthoria parietina* thalli as monitors of geothermal air pollution in the Mt. Amiata area (Central Italy). *Journal of Atmospheric Chemistry* 53, 93–105.
- Malm O., Fonseca M.deF., Miguel P. H., 1998. Bastos W.R. and F.N. Pinto. Use of epiphytic plants as biomonitors to map atmospheric mercury in a gold trade center city, Amazon, Brazil. *The Science of the Total Environment* 213, 57–64.
- Mhatre G.N., 1991. Biomonitors and biomonitoring of heavy metals. *Journal of Environmental Biology* 201–209.
- 中池敏之, 1982. 『新日本植物誌 シダ篇』 至文堂 (東京) .

- 中野治房と岡考., 1953. ノキシノブ葉の吸水に就ての再研究. 植物学雑誌. 第 66 卷, 第 783–784 号 227–233 頁.
- Namieśnik J. and Wardencki W., 2002. Monitoring and analytics of atmospheric air pollution. *Polish Journal of Environmental Studies* 11(3), 211–218.
- Steinnes E., Berg T., and Sjøbakk T.E., 2003. Temporal and spatial trends in Hg deposition monitored by moss analysis. *The Science of the Total Environment* 304, 215–219.
- Tomiyasu T., Eguchi M., Sakamoto H., Anazawa K. and Imura R., 2006. Seasonal change and vertical movement of atmospheric mercury at Kagoshima city in relation with Sakurajima Volcano, Japan. *Geochemical Journal* 40, 253–263.
- Tomiyasu T., Matsuo T., Miyamoto J., Imura R., Anazawa K. and Sakamoto H., 2005. Low level mercury uptake by plants from natural environments —mercury distribution in *Solidago altissima* L. —. *Environmental Sciences* 12(4), 231–238.
- Tomiyasu T., Nagano A., Sakamoto H. and Yonehara N., 2000. Background levels of atmospheric mercury in Kagoshima City, and influence of mercury emission from Sakurajima Volcano, Southern Kyushu, Japan. *The Science of the Total Environment* 259, 231–237.
- Tyler G. and Olsson T., 2006. The importance of atmospheric deposition, charge and atomic mass to the dynamics of minor and rare elements in developing, ageing, and wilted leaves of beech (*Fagus sylvatica* L.). *Chemosphere* 65, 250–260.
- Wanze Z., Xuewu F., Xinbin F. and Lu J.Y., 2008. Annual time-series analyses of total gaseous mercury measurement and its impact factors on the Gongga Mountains in the Southeastern Fringe of the Qinghai-Tibetan Plateau. *J. Mt. Sci.* 5, 17–31.

第 3 章

- Amouroux D., Wasserman J.C. and Donard O.F.X., 1999. Elemental Mercury in the Atmosphere of a Tropical Amazonian Forest (French Guiana). *Environmental Science and Technology* 33(17), 3044–3048.
- Chakraborty S. and Paratkar G.T., 2006. Biomonitoring of trace element air pollution using mosses. *Aerosol and Air Quality Research* 6(3), 247–258.
- De Temmerman L., Claeys N., Roekens E., and Guns M., 2007. Biomonitoring of airborne mercury with perennial ryegrass cultures. *Environmental Pollution* 146, 458–462.
- De Temmerman L., Waegeneers N., Claeys N., and Roekens E., 2009. Comparison of concentrations of mercury in ambient air to its accumulation by leafy vegetables: An important step in terrestrial food chain analysis. *Environmental Pollution* 157, 1337–1341.
- Fu X., Feng X., Wang S., Rothenberg S., Shang L., Li Z. and Qiu G., 2009. Temporal and spatial distributions of total gaseous mercury concentrations in ambient air in a mountainous area in southwestern China: Implications for industrial and domestic mercury emissions in remote areas in China. *Science of the total environment*. 407, 2306–2314.
- Galsomière L., Letrouit M.A., Deschamps C., Savanne D., and Avnaim M., 1999. Atmospheric metal deposition in France: initial results on moss calibration from the 1996 biomonitoring. *The Science of the Total Environment* 232, 39–47.
- Gosar M., Pirc S., Šajn R., Bidovec M., Mashyanov N. R. and Sholupov S.E., 1997. Distribution of mercury in the atmosphere over Idrija, Slovenia. *Environmental Geochemistry and Health* 19, 101–110.
- Harmens H., Buse A., Büker P., Norris D., Mills G., Williams B., Reynolds B., Ashenden T. W. Å. Rühling and E. Steinnes., 2004. Heavy metal concentration in European mosses: 2000/2001 survey. *Journal of Atmospheric Chemistry* 49, 425–436.
- Hidayati N., Juhaeti T., and Syarif F., 2009. Mercury and Cyanide

- Contaminations in Gold Mine Environment and Possible Solution of Cleaning Up by Using Phytoextraction. *Journal of Biosciences*, September, 88–94.
- Higueras P., Oyarzun R., Lillo J., Oyarzún J. and Maturana H., 2005. Atmospheric mercury data for the Coquimbo region, Chile: influence of mineral deposits and metal recovery practices. *Atmospheric Environment* 39, 7587–7596.
- Horvat M., Jeran Z., Špirič Z., Jaćimović R., and Miklavčič V., 2000. Mercury and other elements in lichens near the INA Naftaplin gas treatment plant, Molve, Croatia. *J. Environ. Monit.* 2, 139–144.
- Ikingura J.R. and Akagi H., 2002. Lichens as a good bioindicator of air pollution by mercury in small-scale gold mining areas, Tanzania. *Bulletain of Environmental Contamination and Toxicology* 68, 699–704.
- 岩槻邦男, 1992. 『日本の野生植物 シダ』 初版第2刷, 平凡社 (東京).
- Jeran Z., Horvat M., Jaćimović R., and Spiric Z., 2003. Biomonitoring with epiphytic lichens around gas treatment plants, IAEA-TECDOC-1338 Biomonitoring of atmospheric pollution (with emphasis on trace elements) — BioMAP II, by the International Atomic Energy Agency in co-operation with the Instituto Tecnológico e Nuclear and the Universidade dos Açores and held in Praia da Vitória, Azores Islands, Portugal, 28 August–3 September 2000, IAEA January 2003.
- Lin C.-J. and Pehkonen S.O., 1999. The chemistry of atmospheric mercury: A review. *Atmospheric Environment* 33, 2067–2079.
- Liu B., Keeler G.J., Dvonch J.T., Barres J.A., Lynam M.M., Marsik F.J. and Morgan J.T., 2007. Temporal variability of mercury speciation in urban air. *Atmospheric Environment*. 41, 1911–1923.
- Lodenius M., 1998. Dry and wet deposition of mercury near a chlor-alkali plant. *The Science of the Total Environment* 213, 53–56.
- Loppi S. and Bonini I., 2000. Lichens and mosses as biomonitors of trace elements in areas with thermal springs and fumarole activity (Mt. Amiata, Central Italy). *Chemosphere* 41, 1333–1336.

- Loppi S., Paoli L. and Gaggi C., 2006. Diversity of epiphytic lichens and Hg contents of *Xanthoria parietina* thalli as monitors of geothermal air pollution in the Mt. Amiata area (Central Italy). *Journal of Atmospheric Chemistry* 53, 93–105.
- Malm O., Fonseca M. de F., Miguel P. H., Bastos W.R., and Pinto F.N., 1998. Use of epiphytic plants as biomonitors to map atmospheric mercury in a gold trade center city, Amazon, Brazil. *The Science of the Total Environment* 213, 57–64.
- Schroeder W. H. and Munthe J., 1998. Atmospheric mercury—An overview. *Atmospheric Environment* 32(5), 809–822.
- Stamenkovic J., Lyman S. and Gustin M.S., 2007. Seasonal and diel variation of atmospheric mercury concentrations in the Reno (Nevada, USA) airshed. *Atmospheric Environment* 41, 6662–6672.
- Steinnes E., Berg T., and Sjøbakk T.E., 2003. Temporal and spatial trends in Hg deposition monitored by moss analysis. *The Science of the Total Environment* 304, 215–219.
- UNEP Chemicals Branch, 2008. The global atmospheric mercury assessment: sources, emissions and transport. UNEP–Chemicals, Geneva.
- Wanzw Z., Xuwu F., Xinbin F. and Lu J.Y., 2008. Annual time-series analyses of total gaseous mercury measurement and its impact factors on the Gongga Mountains in the Southeastern Fringe of the Qinghai-Tibetan Plateau. *J. Mt. Sci.* 5, 17–31.
- Yatabe Y., Darnaedi D., Murakami N., 2002. Allozyme analysis of cryptic species in the *Asplenium nidus* complex from West Java, Indonesia. *J. Plant Res.* 115, 483–490.
- Yatabe Y., Masuyama S, Darnaedi D., and Murakami N., 2001. Molecular systematics of the *Asplenium nidus* complex from Mt. Halimun National Park, Indonesia: Evidence for reproductive isolation among three sympatric *rbcL* sequence types. *American Journal of Botany* 88(8), 1517–1522.

第 4 章

- Awalina and Hartoto D.I., 2001. Heavy metals pollution in rivers at Tanjung Puting National Park, Central Kalimantan. *Oceanologi dan Limnologi di Indonesia* 33, 27–40.
- Bose-O'Reilly S., Drasch G., Beinhoff C., Rodrigues-Filho S., Roider G., Lettmeier B., Maydl A., Maydl S., and Siebert U., 2010. Health assessment of artisanal gold miners in Indonesia. *Science of the Total Environment* 408, 713–725.
- Castihos Z.C., Rodrigues-Filho S., Rodrigues A.P.C., Villas-Bôas R.C., Siegel S., Veiga M.M., and Beinhoff C., 2006. Mercury contamination in fish from gold mining areas in Indonesia and human health risk assessment. *The Science of the Total Environment* 368, 320–325.
- Chakraborty S. and Paratkar G.T., 2006. Biomonitoring of trace element air pollution using mosses. *Aerosol and Air Quality Research* 6(3), 247–258.
- De Lacerda L.D. and Salomons W., 1998. *Mercury from Gold and Silver Mining: A Chemical Time Bomb?* Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- De Temmerman L., Claeys N., Roekens E., and Guns M., 2007. Biomonitoring of airborne mercury with perennial ryegrass cultures. *Environmental Pollution* 146, 458–462.
- De Temmerman L., Waegeneers N., Claeys N., and Roekens E., 2009. Comparison of concentrations of mercury in ambient air to its accumulation by leafy vegetables: An important step in terrestrial food chain analysis. *Environmental Pollution* 157, 1337–1341.
- Drake P.L., Rojas M., Reh C.M., Mueller C. A., and Jenkins F.M., 2001. Occupational exposure to airborne mercury during gold mining operations near El Callao, Venezuela. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 74, 206–212.
- Edinger E.N., Siregar P.R. and Blackwood G.M., 2007. Heavy metal concentrations in shallow marine sediments affected by submarine tailings disposal and artisanal gold mining, Buyat-Ratototok district,

- North Sulawesi, Indonesia. *Environ. Geol.* 52, 701–714.
- Elvince R., Inoue T., Tsushima K., Takayanagi R., Ardianor, Darung U., Gumiri S., Dohong S., Nagafuchi O., Kawakami T. and Yamada T., 2008. Assessment of Mercury Contamination in the Kahayan River, Central Kalimantan, Indonesia. *Journal of Water and Environment Technology* 6(2), 102–112.
- Feng X., Dai Q., Qiu G., Li G., He L., and Wang D., 2006. Gold mining related mercury contamination in Tongguan, Shaanxi Province, PR China. *Applied Geochemistry* 21, 1955–1968.
- Galsomiès L., Letrouit M.A., Deschamps C., Savanne D., and Avnaim M., 1999. Atmospheric metal deposition in France: Initial results on moss calibration from the 1996 biomonitoring. *The Science of the Total Environment* 232, 39–47.
- García-Sánchez A., Contreras F., Adams M. and Santos F., 2006. Atmospheric mercury emissions from polluted gold mining areas (Venezuela). *Environ. Geochem. Health.* 28, 259–540.
- Górecki T. and Namieśnik J., 2002. Passive sampling. *Trends in Analytical Chemistry* 21(4), 276–291.
- Hacon S., Artaxo P., Gerab F., Yamasoe M.A., Campos R.S., Conti L.F., and De Lacerda D., 1995. Atmospheric mercury and trace elements in the region of Alta Floresta in the Amazon Basin. *Water, Air, and Soil Pollution* 80, 273–283.
- Harmens H., Buse A., Bükler P., Norris D., Mills G., Williams B., Reynolds B., Ashenden T., Rühling W.Å. and Steinnes E., 2004. Heavy metal concentration in European mosses: 2000/2001 survey. *Journal of Atmospheric Chemistry* 49, 425–436.
- Horvat M., Jeran Z., Špirič Z., Jaćimović R., and Miklavčič V., 2000. Mercury and other elements in lichens near the INA Naftaplin gas treatment plant, Molve, Croatia. *J. Environ. Monit.* 2, 139–144.
- Jeran Z., Horvat M., Jaćimović R., and Spiric Z., 2003. Biomonitoring with epiphytic lichens around gas treatment plants, IAEA-TECDOC-1338

- Biomonitoring of atmospheric pollution (with emphasis on trace elements) — BioMAP II, by the International Atomic Energy Agency in co-operation with the Instituto Tecnológico e Nuclear and the Universidade dos Açores and held in Praia da Vitória, Azores Islands, Portugal, 28 August–3 September 2000, IAEA January 2003.
- Kambey J.L., Farrell A.P., and Bendell-Young L.I., 2001. Influence of illegal gold mining on mercury levels in fish of North Sulawesi's Minahasa Peninsula, (Indonesia). *Environmental Pollution* 114, 299–302.
- Lacerda L.D. and Marins R.V., 1997. Anthropogenic mercury emissions to the atmosphere in Brazil: The impact of gold mining. *Journal of Geochemical Exploration* 58, 223–229.
- Lacerda L.D. and Pfeiffer W.C., 1992. Mercury from gold mining in the Amazon environment—An overview. *Química nova* 15(2), 155–160.
- Lasut M.T., Yasuda Y., Edinger E.N. and Pangemana n J.M., 2010. Distribution and Accumulation of Mercury Derived from Gold Mining in Marine Environment and Its Impact on Residents of Buyat Bay, North Sulawesi, Indonesia. *Water Air Soil Pollut.* 208, 153–164.
- Limbong D., Kumampung J., Ayhuan D., Arai T., and Miyazaki N., 2005. Mercury Pollution Related to Artisanal Gold Mining in North Sulawesi Island, Indonesia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 75, 989–996.
- Limbon g D., Kumampung J., Rimoer J., Arai T., and Miyazaki N., 2003. Emissions and environmental implications of mercury from artisanal gold mining in north Sulawesi, Indonesia. *The Science of The total Environment* 302, 227–236.
- Lin C-J. and Pehkonen S.O., 1999. The chemistry of atmospheric mercury: A review. *Atmospheric Environment* 33, 2067–2079.
- Loppi S. and Bonini I., 2000. Lichens and mosses as biomonitors of trace elements in areas with thermal springs and fumarole activity (Mt. Amiata, Central Italy). *Chemosphere* 41, 1333–1336.
- Loppi S., Nelli L., Ancora S. and Bargagli R., 1997. Passive monitoring of trace elements by means of tree leaves, epiphytic lichens and bark

- substrate. *Environmental Monitoring and Assessment* 45, 81–88.
- Loppi S., Paoli L. and Gaggi C., 2006. Diversity of epiphytic lichens and Hg contents of *Xanthoria parietina* thalli as monitors of geothermal air pollution in the Mt. Amiata area (Central Italy), *Journal of Atmospheric Chemistry* 53, 93–105.
- Malm O., Fonseca M. de F., Miguel P. H., Bastos W.R., and Pinto F.N., 1998. Use of epiphytic plants as biomonitors to map atmospheric mercury in a gold trade center city, Amazon, Brazil. *The Science of the Total Environment* 213, 57–64.
- Namieśnik J. and Wardencki W. Monitoring and analytics of atmospheric air pollution, *Polish Journal of Environmental Studies* 11(3) (2002) 211-218.
- Patricio C., Velásquez-López, Veiga M.M., and Hall K., 2010. Mercury balance in amalgamation in artisanal and small-scale gold mining: identifying strategies for reducing environmental pollution in Portovelo-Zaruma, Ecuador. *Journal of Cleaner Production* 18, 226–232.
- Steinnes E., Berg T., and Sjøbakk T.E., 2003. Temporal and spatial trends in Hg deposition monitored by moss analysis. *The Science of the Total Environment* 304, 215–219.
- Telmer K. and Stapper D., 2007. Evaluating and Monitoring Small Scale Gold Mining and Mercury Use: Building a Knowledge-base with Satellite Imagery and Field Work. UNIDO PROJECT EG/GLO/01/G34 Final Report. November 2007.
- Tomiyasu T., Matsuo T., Miyamoto J., Imura R., Anazawa K. and Sakamoto H., 2005. Low level mercury uptake by plants from natural environments — mercury distribution in *Solidago altissima* L. —. *Environmental Sciences* 12, 231-238.
- Veiga M.M., Bermudez D., Pacheco-Ferreira H., Pedroso L.R.M., Gunson A.J., Berrios G., Huidobro P. and Roeser M., 2005. Mercury pollution from artisanal gold mining in Block B, El Callao, Bolívar State, Venezuela. In: *Dynamics of mercury pollution on regional and global scales: Atmospheric processes, Human exposure around the world*, p. 421–450. N. Pirrone &

K. Mahaffey (Eds), ISBN: 0-387-24493-X, July 2005, Springer Publisher, Norwell, MA, USA.

Veuga M.M., Maxson P.A. and Hylander L.D., 2006. Origin and consumption of mercury in small-scale gold mining. *Journal of Cleaner Production* 14, 436–447.

Von Tümpling W.Jr., Wilken R.-D. and Einax J., 1995. Mercury contamination in the northern Pantanal region Mato Grosso. Brazil. *Journal of Geochemical Exploration* 52, 127–13423.