

2019 年度 博士論文

有機フッ素化合物の環境中及びラット体内における動態に関する研究

Kinetics of Perfluoroalkyl Acids in both the Environment and in Rats.

岩手県立大学大学院

総合政策研究科

岩渕 勝己

## 目 次

|   |    |
|---|----|
| 第I章 序論 -----                            | 1  |
| I-1 本研究の背景及び研究目的 -----                  | 1  |
| 1) PFAA の環境中における動態 -----                | 3  |
| 2) PFAA の生体内における動態 -----                | 3  |
| 3) 本研究の着眼点 -----                        | 5  |
| I-2 本論文の構成 -----                        | 6  |
| 第II章 PFAA 分析方法 -----                    | 9  |
| II-1 環境試料中の PFAA 分析方法の検討 -----          | 10 |
| (1) サンプルからの PFAA の抽出（分析前処理） -----       | 10 |
| (1) -1 環境水 -----                        | 10 |
| (1) -2 メダカ -----                        | 14 |
| (1) -3 底質 -----                         | 16 |
| (1) -4 操作ブランク -----                     | 18 |
| (2) LC-MS/MS 分析条件 -----                 | 18 |
| (3) 底質乾燥減量及び強熱減量の測定 -----               | 19 |
| (4) 検量線及び検出下限、定量下限 -----                | 19 |
| (5) 底質の分析前処理操作の妥当性の確認 -----             | 20 |
| (5) -1 装置の検出下限、定量下限（IDL、IQL） -----      | 20 |
| (5) -2 サロゲート添加量の検討 -----                | 21 |
| (5) -3 サロゲート回収率 -----                   | 21 |
| (6) 分析前処理操作が適切に行われていることの確認（サロゲート回収率） -- | 23 |
| II-2 生体試料中の PFAA 分析方法の検討 -----          | 24 |
| (1) サンプルからの PFAA の抽出（分析前処理） -----       | 24 |
| (1) -1-① 血液及び臓器からの抽出 -----              | 24 |
| (1) -1-② ラットの飼料、水道水からの抽出 -----          | 26 |
| (1) -2 LC-MS/MS 分析条件 -----              | 26 |
| (1) -3 ヘマトクリット値 -----                   | 26 |
| (2) 検量線及び LOD, LOQ -----                | 26 |
| (3) 分析前処理操作が適切に行われていることの確認（サロゲート回収率） -- | 26 |

|  |    |
|--|----|
| 第III章 環境中の PFAA 存在実態の把握 -----                            | 29 |
| III- 1 試験目的 -----  | 29 |
| III- 2 試験方法の詳細 -----                                     | 29 |
| (1) サンプルの選定 -----  | 29 |
| (2) サンプルの採取 -----  | 29 |
| (3) サンプルの保管及び分析前準備 -----                                 | 30 |
| (4) 試薬及び標準品 -----  | 31 |
| (5) 分析対象 PFAA -----                                      | 31 |
| (6) 分析方法 -----   | 33 |
| (7) 統計解析 -----   | 33 |
| III- 3 環境試料の分析結果 -----                                   | 34 |
| (1) 環境水から検出される PFAA -----                                | 34 |
| (2) 底質から検出される PFAA -----                                 | 38 |
| (3) メダカから検出される PFAA -----                                | 43 |
| (4) 環境水とメダカの PFAA 濃度の関係 -----                            | 48 |
| (5) 環境水から底質への PFAA 移行と蓄積 -----                           | 50 |
| (6) 底質、メダカに蓄積する PFAA の関係 -----                           | 50 |
| III- 4 PFAA の環境中の動態に関する考察 -----                          | 53 |
| (1) 環境水に含まれる PFAA -----                                  | 53 |
| (2) 環境水からメダカへの生物濃縮 (Bioconcentration Factor ; BCF) ----- | 53 |
| (3) 底質に含まれる PFAA -----                                   | 54 |
| (4) メダカに含まれる PFAA -----                                  | 55 |
| (5) 環境サンプルに含まれる PFAA の由来 -----                           | 56 |
| (6) PFAA の移行と蓄積 -----                                    | 57 |
| (7) メダカに蓄積する PFAA 量の推定 -----                             | 64 |
| 第IV章 ラット体内における PFAA 動態の把握 -----                          | 67 |
| IV- 1 試験目的 -----   | 67 |
| IV- 2 試験方法の詳細 -----                                      | 67 |
| (1) 実験動物及び飼育条件 -----                                     | 67 |

|  |        |
|--|--------|
| (2) 試薬及び標準品 -----                                    | 67     |
| (3) 曝露試験 -----                                       | 68     |
| (3) -1 単回投与試験 -----                                  | 68     |
| (3) -2 長期投与試験 -----                                  | 68     |
| (4) 分析対象 PFAA -----                                  | 69     |
| (5) 分析方法 -----                                       | 69     |
| (6) 統計解析 -----                                       | 69     |
| <br>IV-3 生体試料等の分析結果 -----                            | <br>70 |
| (1) ラット飼料と飲用水への PFAA の非意図的混入量 -----                  | 70     |
| (2) ヘマトクリット値測定結果 -----                               | 70     |
| (3) 単回投与試験結果 -----                                   | 70     |
| (3) -1 各臓器における PFAA 濃度とその経時変化 -----                  | 70     |
| (3) -2 消失速度定数と半減期 -----                              | 71     |
| (3) -3 見かけの分布容積 -----                                | 75     |
| (3) -4 各臓器への送達 -----                                 | 76     |
| (4) 長期投与試験結果 -----                                   | 78     |
| (4) -1 各臓器における PFAA 濃度 -----                         | 78     |
| (4) -2 用量標準化濃度 (Dose-normalized concentration) ----- | 82     |
| (4) -3 単回投与試験の結果に基づく各臓器への蓄積量の推定方法の検討 -----           | 84     |
| (4) -4 1、3 か月後の臓器中の PFAA 濃度の推定及び試験結果との照合 ---         | 86     |
| (4) -5 定常状態における臓器中の PFAA 濃度の推定 -----                 | 86     |
| (4) -6 各臓器への送達の時間依存性 -----                           | 88     |
| (4) -7 1、3 か月における平均臓器 PFAA 濃度の推定 -----               | 89     |
| <br>IV-4 PFAA の生体中の動態に関する考察 -----                    | <br>92 |
| (1) コントロール群の PFAA レベル -----                          | 92     |
| (2) PFAA の動態 -----                                   | 92     |
| (3) 用量と臓器における濃度の関係 -----                             | 94     |
| (4) ヒトのデータとの比較 -----                                 | 95     |
| <br>第V章 結論及び今後の展望 -----                              | <br>99 |



|                                   |     |
|-----------------------------------|-----|
| 略語及び用語 -----                      | 103 |
| 引用文献、参考文献 -----                   | 107 |
| 謝辞 -----                          | 119 |
| <br>【付録】 本研究における測定データ（生データ） ----- | 121 |
| (1) 環境水 -----                     | 121 |
| (2) 底質 -----                      | 121 |
| (3) メダカ（カダヤシを含む） -----            | 121 |
| (4) ラット -----                     | 138 |
| (4) -1 体重、組織重量、ヘマトクリット値 -----     | 138 |
| (4) -2 各臓器の PFAA 濃度 -----         | 140 |

## 第I章 序論

### I-1 本研究の背景及び研究目的

有機フッ素化合物 (Perfluoroalkyl acid ; PFAA) は、天然にはほとんど存在しない人工的に作られた化合物である。その構造は、炭化水素鎖の水素がすべてフッ素に置換され、炭素鎖の先端にカルボン酸やスルホン酸などが結合した界面活性剤である。炭素鎖の長さは4～14 が典型である。スルホン酸が結合しているものが Perfluorosulfonic acid (PFSA; 以下 CXS(Xは炭素数)と表記する)、カルボン酸が結合しているものが Perfluorocarboxylic acid (PFCA; 以下 CXA (X は炭素数)と表記する) である。代表的な PFAA としては、Perfluorooctanesulfonic acid (PFOS, C8S)、Perfluorooctanoic acid (PFOA, C8A) がよく知られている (Fig. I-1.)。PFAA の骨格である炭素鎖の炭素-フッ素結合は、化学的に非常に安定なため、分解性が極めて低い。すべての水素がフッ素に置換された炭化水素は、高温の空気中でも非常に安定で、難燃性であり、強酸・強アルカリ・酸化剤でも分解せず、光分解も受けない (Lau *et al.*, 2007)。C8S 及び C8A の物理化学的性状は、Table I-1.のとおりである。

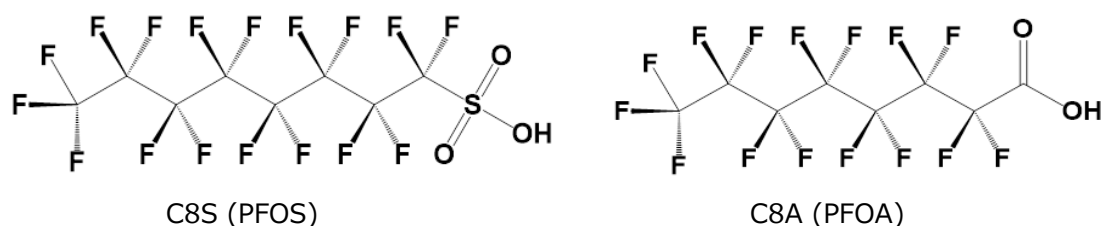


Fig. I-1. C8S、C8A の構造

PFAA には、このように化学的安定性 (難分解性)、高蓄積性、長距離移動性といった残留性有機汚染物質 (Persistent Organic Pollutants ; POPs) としての化学的性質がある。POPs とは、残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約 (POPs 条約) の附属書 A (廃絶)、附属書 B (制限)、附属書 C (非意図的生成物) において対象とされている 30 種の化学物質 (2018 年 9 月現在) のことで、世界中に生息する野生生物の生体内、特に脂肪に蓄積されている。環境中における濃度はそれほど高くなくても、繰り返す摂取することや食物連鎖の影響により、生物体内の POPs 濃度は徐々に高くなっていく。特に食物連鎖の頂点に位置する高次捕食者 (海鳥、海棲哺乳類、大型魚類、大型肉食動物、猛禽類、ヒトなど) では濃度は非常に高くなる。長期間にわたる曝露と蓄積により、POPs は、ヒトや野生動物に様々な影響を及ぼすとされており、免疫毒性、神経毒性、遺伝毒性などを及ぼす可能性が指摘されているが、現段階では未解明な部分も多い。PFAA の中で最も代表的な C8S とその塩は、その POPs としての化学的性質を持つことから、2009 年 5 月、POPs 条約の付属

Table I-1. C8S、C8A の物理化学的性状

|            | C8S (PFOS)  | C8A (PFOA)   |
|------------|---|--|
| 外観         | カリウム塩は白色の粉末   | アンモニウム塩は白色粉末   |
| 分子量        | 500.13 (酸)  | 414.07 (酸)   |
| 融点         | >400°C  | 54.3°C (酸)、157~165°C (167°Cで 20%が分解)   |
| 沸点         | -   | 188°C (酸、760 mmHg)、189°C (酸、736 mmHg)  |
| 比重         | ~0.6、~1.1 (リチウム塩)、~1.1 (アンモニウム塩)、~1.1 (ジエタノールアミン塩)  | -  |
| 密度         | -   | 1.792 g/cm <sup>3</sup> (酸、20°C)、0.6~0.7 g/cm <sup>3</sup> (かさ密度)  |
| 蒸気圧        | 6.4×10 <sup>-3</sup> mmHg (酸、25°C、MPBPWIN により計算) (=0.85 Pa)、1.43×10 <sup>-11</sup> mmHg (25°C、MPBPWIN により計算) (=1.9×10 <sup>-9</sup> Pa)                 | 0.031 mmHg (=4.2 Pa) (酸、25°C、外挿値)、0.02 mmHg (=3 Pa) (酸、20°C、外挿値)、6×10 <sup>-5</sup> mmHg (=8×10 <sup>-3</sup> Pa) (20°C、外挿値) |
| 解離定数 (pKa) | 0.14 (推定値)  | 2.5 (酸)、2.80 (酸)   |
| 水溶性 (水溶解度) | 519 mg/L (20±0.5°C)、680 mg/L (24~25°C)、570 mg/L、370 mg/L (淡水)、12.4 mg/L (未ろ過海水)、25 mg/L (ろ過海水)、12.4 mg/L (天然海水、22~23°C)、20.0 mg/L (3.5%NaCl 溶液、22~24°C) | 9.5×10 <sup>3</sup> mg/L (酸、25°C)  |

備考 C8S：特に断りがない限りカリウム塩としての値、C8A：特に断りがない限りアンモニウム塩としての値  
出典 化学物質の環境リスク評価 第6巻 (環境省)、環境省 中央環境審議会 水環境部会 環境基準健康項目専門委員会 (第16回) 議事次第・資料\_資料5

書 B に追加登録され、世界的に規制されることとなった。これを受けて日本では、POPs 条約の国内法でもある化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (化審法) が 2010 年に改正され、C8S とその塩が規制対象となったため、一部の適用除外を除き、製造・輸入・使用等が禁止された。一方 C8A は、C8S とともに代表的な PFAA ではあるものの、現段階では C8S と同様の規制にはなっていない。このことから、C8A は以前から規制に向けた議論の対象となっていたが、2018 年 9 月に開催されたストックホルム条約残留性有機汚染物質検討委員会第 14 回会合 (POPRC14) において、C8A とその塩及び C8A 関連物質について、条約上の廃絶対象物質 (附属書 A) への追加を締約国会議に勧告することが決定された。今後は、C8A も C8S と同様に世界的に規制されることとなる。これまで C8A は、アメリカ合衆国環境保護庁 (USEPA) 主導のもと、2010/2015 PFOA Stewardship Program によって主要メーカー 8 社 (Arkema、AGC Chemicals/Asahi Glass、BASF Corporation (旧 Ciba)、Clariant、Daikin、3M/Dyneon、DuPont、Solvay Solexis) が使用の削減を開始し、その Program の中で 2015 年までに環境中への排出と製品中の残存を全廃すると約束していた。日本の事業者である Daikin では、自社 HP 内で「フッ素化学製品における PFOA PFOA 及び関連化合物の製造、使用全廃について」との報告を 2016 年 3 月 31 日付で行っており (ダイキン工業、2016)、2015 年末で PFOA 及び関連物質の製造・使用を完全に終了したことを公表している。このように、一定の自主規制がなされてきていることによって、C8A を製造等に使用するその他の事業者からの環境中への排出も削減されてきており、また、今回の附属書 A への追加勧告により、更なる排出削減がなされることになる。

PFAA は、1950 年頃から製造され始め、撥水・撥油性を有するというその特徴的な物性

から、工業的、商業的に利用されてきた。その用途は、C8S では航空機用の作動油、糸を紡ぐために使用する油剤、金属の加工に使用するエッチング剤、消火器用消火薬剤及び泡消火薬剤、カーペット、衣服、革製品、ワックス、印刷紙、液晶、ボードなどの防汚・保護剤、塗料添加剤、食品用耐油紙のコーティング剤など、C8A では樹脂用添加剤（PTFE（polytetrafluoroethylene）や fluoropolymer、fluoroelastomer などの製造時に使用する乳化剤）などであり、さまざまな分野で広く利用されてきた。

#### 1) PFAA の環境中における動態

PFAA は、天然にはほとんど存在しないにもかかわらず、近年、広く環境中に拡散していることを示すデータが次々に発表されている。特に 2000 年以降は、哺乳類や鳥類、魚類など様々な野生動物や環境中からの検出が数多く報告されており、その検出の範囲は人間の産業活動のない極地にまで広がっており、全世界に及んでいる（Giesy *et al.*, 2001, Stahl *et al.*, 2014, Nakayama *et al.*, 2005, Kannan *et al.*, 2001、ほか多数）。その背景として、C8S 関連物質は、1970 年から 2012 年までに全世界で 96,000～122,500 t 製造され、45,250 t（C8S としては 450～2,700 t）が直接又は間接的に環境中に排出されたと推定されること（Paul *et al.*, 2009）、また C8A を含む PFCA は、これまでに 3,200～7,300 t が環境中に排出されたと推定されること（Prevedouros *et al.*, 2006）などが報告されているが、これだけにとどまらず、製造過程で利用又は発生する前駆体物質や副生成物なども、かなりの量が排出されているものと考えられる。

PFAA の環境への排出は、C8S や C8A だけが問題となっているわけではない。PFAA は、前述のとおり炭素鎖が 4～14 が典型であり、C8S、C8A のほかにも Perfluorohexanoic acid（PFHxA, C6A）、Perfluorononanoic acid（PFNA, C9A）、Perfluorohexane sulfonate（PFHxS, C6S）など、多種類の PFAA が環境中から検出されている（Lam *et al.*, 2014, Ahrens *et al.*, 2015, De Solla *et al.*, 2012, Lu *et al.*, 2015, 白坂ら, 2014、ほか多数）。C8S や C8A 以外の PFAA は、現段階では条約や法律、自主規制などの規制対象となっているものではないため、代替品等として現在も使用が継続されており、環境中から検出される原因の 1 つになっている。特に C6A は、C8A の代替品として使用している国内メーカーもあり、近年阪神地域の水環境中において高濃度で検出されているという報告がある（八木ら, 2009, 竹峰ら, 2009）。また、C8S や C8A から代替品へ使用が転換されるのに伴って、C4S、C6A などのより短鎖の PFAA の環境中への負荷量が増加することも指摘されている（村上ら, 2010）。なお、上述の POPRC14 において、C6S とその塩及び C6S 関連物質については、リスク管理に関する評価を検討する段階に進めることが決定されており、これについても今後製造や使用が規制される方向で検討が始められている。

#### 2) PFAA の生体内における動態

このように、環境中に多種かつ多量の PFAA が排出・拡散している事実があることから、その先にはヒト生体への曝露というものが非常に懸念される。ヒトへの曝露の経路としては、大気中からの呼吸による曝露、環境水が浄化処理された飲用水による曝露、野生又は

栽培・飼育された動植物の摂取などによる曝露等が考えられる。ヒトへの曝露が初めて明らかになったのは、C8S を製造していた 3M 社の従業員の血液から高濃度の C8S が検出されたこと (Olsen *et al.*, 1999) であった。フッ素化合物を製造しているメーカーの従業員の血清中 C8S、C8A 濃度は、C8S で約 800 ng/L、C8A で約 700 ng/L との報告があり (Olsen *et al.*, 2007)、また、一般市民の血清中濃度は、フッ素化合物メーカーの従業員の 10 % 以下であるとも報告されている (Lau *et al.*, 2007)。このことはフッ素化合物メーカーの従業員のような高濃度に曝露される環境にはない一般市民でさえも、血清中に数十 ng/L 程度の蓄積があることになる。これは、前述の経路からの曝露による蓄積と考えられる。

PFAA は、ヒト生体に蓄積するということが大きな問題であり、またこのことから、ヒト生体への毒性も懸念されている。PFAA の急性毒性は、ラットにおいて C8S の LD<sub>50</sub> (半数致死量) (経口) で 251 mg/kg (OECD, 2002, USEPA, 2016a)、C8A の LD<sub>50</sub> (経口) については、250~1000 mg/kg とされている (USEPA, 2016b)。また、PFAA の慢性毒性としては、げっ歯類及びヒト以外の霊長類における C8S の反復投与に関する研究において、体重の減少、肝臓重量の増加、コレステロールの減少、死亡に関して急激な用量反応曲線を示すこと (Lau *et al.*, 2007)、カニクイザルで甲状腺ホルモンのレベルの低下 (Seacat *et al.*, 2002) などが報告されている。C8A では、肝臓に腫瘍性病原を引き起こすこと (Biegel *et al.*, 2001) が報告されている。ヒトへの影響については、母体血漿 C8A 濃度と出生時体重との間に負の相関があること (Fei *et al.*, 2007) や、新生児における臍帯血清中 C8S 濃度と C8A 濃度の両方が、出生時体重や頭囲に弱いが有意な負の相関があること (Apelberg *et al.*, 2007)、などが報告されている。発がん性に関しては、ラットやカニクイザルへの反復投与試験において腫瘍を確認した研究は多数ある (Butenhoff *et al.*, 2012、Butenhoff *et al.*, 2002 など)。しかし、C8S、C8A とともにヒトへの発がん性に関しては、現段階で明らかに肯定する評価とはなっていない (USEPA, 2016a, b)。また、国際がん研究機関 (IARC) による評価では、C8A に関して「Perfluorooctanoic acid (PFOA) is possibly carcinogenic to humans (Group 2B).」 (IARC, 2016) とされているが、C8S については評価されていないなど、ヒトへの明確な発がん性に関しては、まだ明らかになっていない点も多い。

PFAA は、生体に対する毒性及び発がん性に関しては上述のとおりであるが、その生体への蓄積性が高いことについては、これまでの研究から疑いの余地はない。C8S、C8A、C6S 等が POPs 条約で取り上げられることとなったのは、この高い蓄積性と、それに伴う長期毒性が懸念されるためである。POPs 条約は、1992 年に開催された国連環境開発会議で採択された「環境と開発に関するリオ宣言」の第 15 原則にある「予防原則」に基づいている。「予防原則」とは、「人の健康、環境に対する深刻かつ不可逆なリスクがあると予想される場合は、因果関係について十分な科学的確実性がなくとも完全な科学的証拠がそろわないのを待たずに、費用対効果を考慮した上で事前に予防的措置を取ることを求めるリスクマネジメントの方策の一つ」とされており (環境省, 2004)、この考え方に基けば、PFAA の生体に及ぼす影響について解明し、評価していくことが必要なのは、明らかである。

生体への影響を考慮する場合、PFAA の体内における動態が非常に重要となる。生体内のどの臓器・組織にどのように蓄積し、どのように排出されるかが解明されなければ、PFAA の生体影響を詳細に評価することは難しい。先行研究では、様々な動物種における生物学的半減期が評価されており、C8S はラットの血漿で 100 日、サルの血漿で 150 日、ヒトの血漿で 5.4 年、C8A ではオスのラットの血漿で 4~6 日、メスで 2~4 時間、オスのサルの血漿で 21 日、メスで 30 日、ヒトの血漿では 3.8 年とされている。その一方で、C8S より短鎖の C6S については、ヒトの血漿で 8.5 年とされており (Lau *et al.*, 2007)、C8S の 5.4 年よりも長くなっている。これは、鎖長が短いほど生物学的半減期が短くなるというアルキル基を持つ化学物質の一般的な傾向とは全く異なっている。このように、C4S、C6S、C8S や C4A、C8A などについては、血漿中の生物学的半減期の研究はある程度進められてきてはいるものの、他の PFAA や血液以外の臓器等における動態の研究はまだそれほど多くはない。また、生体内の各臓器へ PFAA がどのように分布するのかなど、生体内における詳しい動態については、現段階ではまだ十分に解明されていない。

### 3) 本研究の着眼点

このような PFAA を取り巻く背景のもと、本研究では、まず PFAA の環境中における存在状況を詳細に把握することとした。PFAA の環境中の存在状況を把握するためには、発生源から様々な環境媒質や野生生物へ蓄積されるに至る経路を解明することが非常に重要である。また、野生生物やヒトなどへの生体影響を考慮するうえでは、曝露経路だけでなく曝露時の環境中の濃度及び生体内での挙動を明らかにすることも非常に重要であり、曝露濃度を規定する環境中濃度の実態を把握することには大きな意味がある。生体への曝露には、その生息する空間の媒質（空気・水）から呼吸等により曝露されるものと、食物等の摂取により曝露されるものがあるのは前述のとおりである。野生生物のうち水生生物の場合は、生息する環境の水と餌からが主であり、その生体中及び環境水中の対象とする化学物質濃度を測定することで生物濃縮係数 (Bioconcentration Factor ; BCF) を算出することが可能である。一方、PFAA の環境中の存在状況を把握するうえでは、環境水中濃度、生体中濃度及び BCF に加えて、環境中への残留を考慮するために PFAA のソースになり得る底質中の濃度を把握することも非常に重要である。水生生物とその生息環境を関連付けた先行研究としては、河川や湖沼の魚類を対象として PFAA の蓄積や BCF を調査したものがあるものの (De Solla *et al.*, 2012, Furdui *et al.*, 2007)、各地点における環境水、底質、魚類への蓄積まで含めて環境動態を考慮した研究はほとんどなく、そのため PFAA の環境動態はいまだに解明されていない部分が多い。そこで本研究では、日本各地で捕獲可能な魚類であるメダカを対象とし、その生息地点の環境水、底質も採取し、それぞれの環境サンプルにおける PFAA 濃度を測定して存在実態を把握するとともに、その関係性を明らかにすることとした。

次に、動物生体内における PFAA の動態を詳細に把握することとした。先行研究における動物への投与試験は、野生動物やヒトが曝露し得る濃度よりもはるかに高濃度で C8S や

C8A を投与することが多く、また、単回投与後の血液中濃度に関して研究された例が多い。しかし、野生動物やヒトへの曝露を考慮すると、C8S や C8A だけでなく、様々な鎖長の PFAA について、とりわけ環境中から検出される確率の高い PFAA に関して生体内における動態を把握することが不可欠である。また、実際に曝露し得るような、環境中における濃度域での曝露試験を行うことが、環境中の実態に合わせた動態を把握するうえで非常に重要である。そこで本研究では、環境中から比較的高濃度で検出されることの多い 4 種類の PFAA (C6A、C8A、C9A、C8S) を環境中において曝露し得る濃度域を考慮した濃度群でラットに投与し、臓器特異的・PFAA 特異的な動態を把握することを試みた。投与試験は、単回投与試験と長期投与試験をそれぞれ行った。単回投与試験からは、投与後の各臓器における濃度変化を追うことで、各臓器の生物学的半減期や排出速度定数を求めることが可能である。長期投与試験からは、複数の濃度段階で一定期間投与することで、各臓器における蓄積の傾向を把握することが可能である。これらの試験を行うことで、ラット生体における動態を詳細に調べた。

本研究は、これらの様々な試験を行うことにより、環境中における PFAA の存在状況及び生体内における PFAA の動態を詳細に把握することを目的としたものである。

## I-2 本論文の構成

本論文は、IからVIまでの 6 章で構成される。本論文の全体の構成及び流れを Fig. I-2. に示す。各章の内容は以下のとおりである。

### 「第I章 序論」

本研究の背景と研究目的について述べる。本研究のターゲット物質である PFAA とは何か、この物質の何が問題となっているのか、また、先行研究で分かっていることは何かについて述べる。

### 「第II章 PFAA 分析方法」

本研究は、大きく分けて 2 つの研究を行っていることから、それぞれの研究において PFAA 分析の核となる各試料中からの抽出（前処理）方法及び付随する分析方法等について述べる。「II-1 環境試料中の PFAA 分析方法の検討」では、環境中の PFAA 存在実態を把握するために、サンプルとして環境水、メダカ、底質を採取し、そこに含まれる PFAA の特徴を明らかにするために行ったサンプルからの PFAA の抽出方法、分析方法等について詳細を述べる。「II-2 生体試料中の PFAA 分析方法の検討」では、生体中における PFAA の蓄積や排出などの体内動態を把握するために行ったラットへの PFAA 投与試験において得られたサンプルからの PFAA の抽出方法、分析方法等について詳細を述べる。

### 「第III章 環境中の PFAA 存在実態の把握」

1 つ目の大きな柱となる研究である、環境中の PFAA 存在実態把握について、その試験目的、試験方法の詳細、様々なサンプルを分析して得られた結果について述べる。環境水、

底質、メダカからどのような PFAA が検出されるのか、検出量はどの程度か、またその検出される PFAA の種類や量に一定の傾向はあるのか、などについて解析を行う。そして、得られた結果からどのようなことが言えるのかを考察し、分析結果からメダカへの程度蓄積されるのかを推定することを試みる。

#### 「第IV章 ラット体内における PFAA 動態の把握」

2 つ目の大きな柱となる研究である、ラット体内における PFAA 動態について、その試験目的、試験方法の詳細、ラットの各臓器を分析して得られた結果について述べる。対象とした（投与した）PFAA がどのように吸収、排出されるのか、それぞれの臓器や PFAA により排出や蓄積にどのような違いや特徴が見られるか、などについて解析を行う。そして、得られた結果からどのようなことが言えるのかを考察し、定常状態における臓器中の PFAA 濃度や、投与試験中の各臓器における平均 PFAA 濃度の推定を試みる。また、生体内におけるデータであることから、ヒトのデータとの比較も行い、蓄積する濃度から曝露濃度等を推定することも試みる。

#### 「第V章 結論及び今後の展望」

本研究で得られた成果を総括するとともに、本研究ではできなかった内容や本研究をさらに発展させるために必要な事項を洗い出し、今後の展望を述べる。



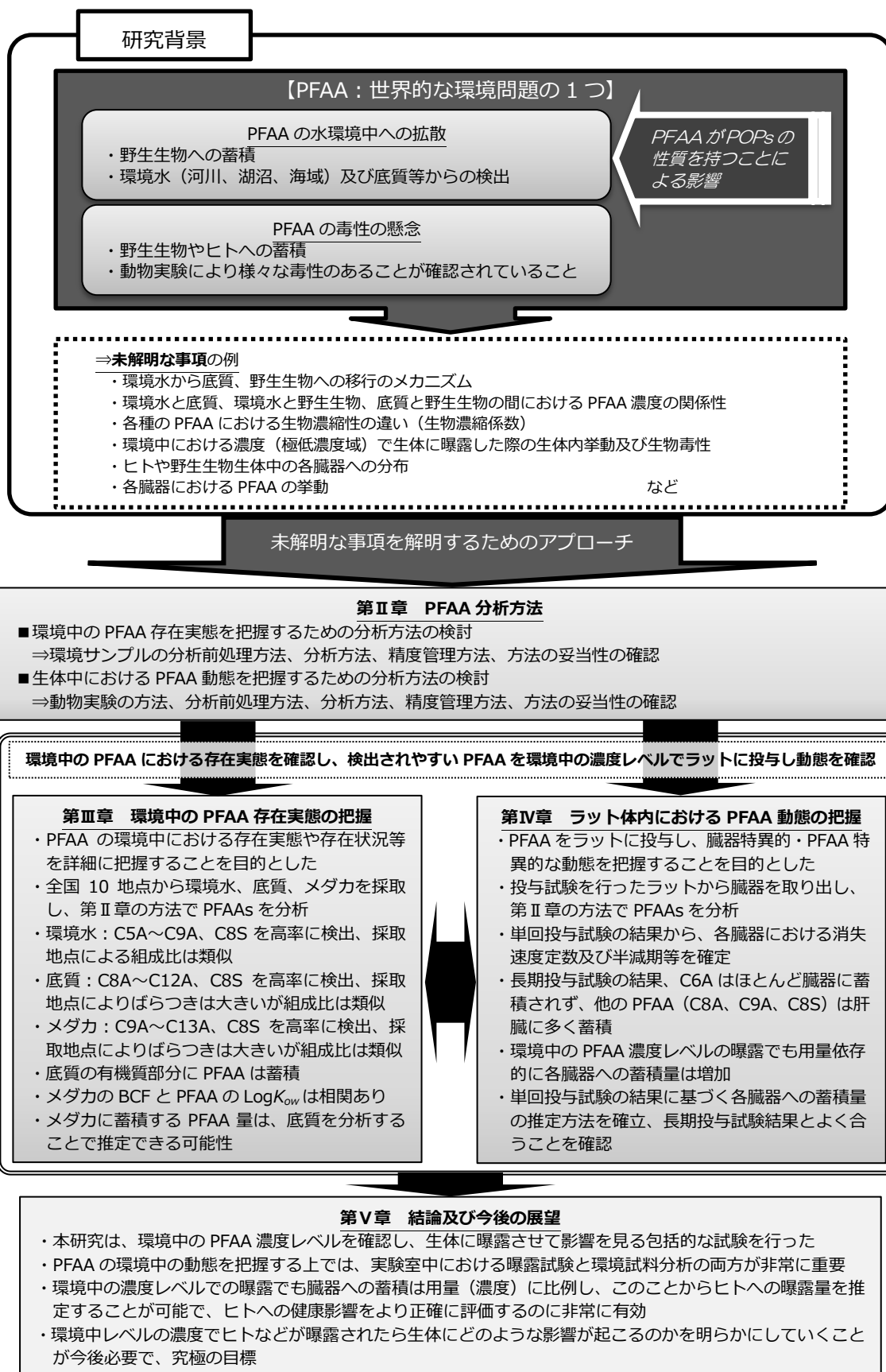


Fig. I-2. 本論文の構成

## 第II章 PFAA 分析方法

環境試料中からの PFAA の抽出は、その濃度が非常に低いことから、濃縮の操作を行う必要がある。特に環境水については、0.1～数 ng/L レベルと非常に低濃度であり、分析が極めて難しい。低濃度の PFAA を分析するのが困難な理由としては、濃縮の操作によって PFAA と一緒に存在するマトリクス成分までも濃縮されてしまい、PFAA と分離させることが非常に難しいこと、PFAA は身の回りのさまざまな製品に使用されているため、非意図的に混入しやすく、濃縮などの前処理操作に使用する器具類に数 ng/L レベルで汚染（コンタミ）してしまい、その除去（ブランクコントロール）が非常に難しいこと、などである。また、分析に使用する装置自体に PTFE などの素材が使用されていることで混入する非意図的の混入も大きな問題となる。海棲哺乳類、大型肉食動物など高次捕食者等の生体試料であれば、PFAA が生物濃縮されていることから、ある程度濃度が高くなる（0.1～数 µg/L レベル；環境試料の数百～数千倍の濃度）ため、ブランクコントロールも環境試料ほどの困難さはなく、回収率に留意すれば、ある程度の分析が可能な場合が多い。このような様々な分析の困難さがあったため、環境試料中の PFAA 分析は、1990 年代後半まではほぼ不可能に近いとされていた。筆者の所属する岩手県環境保健研究センターでは、この難問に取り組み、2001 年（平成 13 年）、世界に先駆けて環境水からの PFOS の分析方法を開発した。環境水からの抽出は、これまでは水試料に含まれる目的物質を、分液ロート等を使用して有機溶媒に移行させることによって抽出する“液液抽出”が一般的であったが、数 L に及ぶ環境水からの抽出には大容量の分液ロートによる抽出操作を何度も繰り返す必要があり、操作が非常に煩雑であった。これを、ブランクコントロールを完璧に行ったうえで、コンセントレータを利用して固相カートリッジに濃縮して有機溶媒で抽出し、LC-MS で分析するという、非常に操作性の良い、かつ高感度で測定可能な分析方法を、当センターが環境省からの委託事業の中で開発した（環境省, 2003）。この方法は、その後、世界のスタンダードとなり、ここから様々な環境試料の分析方法に応用され、現在では LC-MS/MS で分析するという、さらに分析感度の高い方法に発展している。

環境試料は、河川水などの環境水だけでなく、生物（特に水生生物）や底質も含まれる。本研究においては、第III章で詳述するが、環境試料として環境水だけでなくメダカや底質に含まれる PFAA の分析も行った。

生体試料からの化学物質の抽出は、一般に有機溶媒による液液抽出を行い、その抽出液を LC-MS/MS 等で分析する方法が採られており、PFAA の抽出についても同様の方法がとられている（Olsen *et al.*, 1999, Hansen *et al.*, 2001）。生体試料には、環境水よりも非常に多量で多量のマトリクス成分が含まれることから、目的の化学物質を抽出するのは非常に困難である。特に PFAA 等の微量な化学物質は、抽出はされていたとしても、マトリクス成分の影響を受けて検出が困難となる可能性が高い。また、検出はできたとしても、低濃度の場合には定量することが非常に困難という問題もある。

そこで本研究では、一般に行われる液液抽出法に改良を加え、固相カートリッジも使用することでマトリクス成分を除去し、PFAA を効率的に分析する方法を考案し、検討した。

本研究においては、第IV章で詳述するが、ラットに PFAA を投与し、生体内でどのような挙動を示すかを確認する試験も行った。生体試料からの抽出は、ある程度高濃度であれば分析操作はあまり困難ではないことは上述のとおりである。しかし、本研究では、環境中の PFAA 濃度レベルでの曝露試験を行ったことから、高度に生物濃縮された高濃度な生体試料とは異なり、非常に低濃度な生体試料であることが想定された。

そこで本研究では、環境試料としての生体試料であるメダカからの PFAA 抽出方法を応用することとし、ラットの生体試料からも PFAA を効率的に抽出して高感度で分析する方法を考案し、検討した。

また、底質からの PFAA 抽出方法についても検討を行った。底質からの化学物質の抽出は、一般的には、高速溶媒抽出 (ASE) 法等により効率的に抽出し、目的の化学物質以外を除去した後に LC-MS/MS 等で分析する方法 (内山ら, 2011 など) などが採られている。当センターが 2002 年 (平成 14 年) に環境省からの委託事業の中で開発した、底質からの PFOS、PFOA の分析方法は、正に ASE 法であった (環境省, 2004)。しかし、PFAA 濃度が極めて低い環境試料の場合には、上述のとおり、分析に使用する器具類等に由来する汚染 (コンタミ) が測定結果に影響を及ぼさないように配慮する必要がある。ASE 法による底質からの PFAA の抽出は、ASE 部品等から汚染されるリスクが大きいため測定に都度十分にそれらを洗浄する必要があり、それには非常に煩雑な作業を伴う。さらに、ASE 法はコンタミの制御のほかに機器の扱いに一定の技術レベルが要求されるなど、別の問題も含んでいる。

そこで本研究では、より簡易的で効率的に分析する方法を新たに確立することを目指し、底質からの PFAA 抽出方法としてメダカからの抽出方法を応用した方法を考案し、検討した。

本章では、本研究における PFAA 分析の核となる各試料中からの抽出 (前処理) 方法及び付随する分析方法全般について示すと共に、底質中の PFAA をより効率的に抽出し分析するための新たに開発した方法について詳述する。なお、分析前処理操作が適切に行われていること (各試料からの抽出 (前処理) 方法の妥当性) を確認した結果についても述べる。

## II-1 環境試料中の PFAA 分析方法の検討

PFAA の環境中における存在実態及び生物濃縮性を確認するため、サンプルとして環境水、メダカ、底質を選定し、それぞれの環境試料中における PFAA 濃度把握のための分析を、以下の方法で行った。

### (1) サンプルからの PFAA の抽出 (分析前処理)

#### (1) -1 環境水

環境試料中の PFAAs、農薬、POPs 等の分析は、これまで様々な方法が報告されているが、

概ね環境水については、有機溶媒による液液抽出又は固相カートリッジを用いた濃縮・クリーンアップ後に LC-MS/MS 等で分析する方法が採られている。液液抽出法は、抽出力が高いことや蒸発・濃縮させやすいことなど、その取扱いのしやすさからジクロロメタンを使用するのが一般的であったが、人体への悪影響が懸念されることから、最近ではあまり使用されなくなった。また、液液抽出法は、有機溶媒を多量に使用する必要があるということや、分液ロートを使用する必要があるために 1 回で抽出できるサンプル量も限られ、大量のサンプルから微量な化学物質を抽出する操作が非常に煩雑になるという大きな問題がある。また、サンプル毎に分液ロートや付随する器具類を準備する必要もあり、使用する器具数が非常多くなることから、器具の洗浄等にかかる労力も相当大きくなる。そこで、本研究では、固相カートリッジを使用して PFAA を濃縮するという、筆者の所属する岩手県環境保健研究センターが 2001 年に開発した分析方法（環境省, 2003）を取った。

環境水からの PFAA の抽出は、PFAA 濃度が非常に低いため、2 L を濃縮し分析に供した。濃縮操作を含む前処理操作の妥当性を確認するため、2 L の環境水サンプルに 10 µg/L に調製したサロゲート (PFCA、PFSA のマスラベル化体 (MCXA、MCXS (X は炭素数) ; MC4A、MC6A、MC8A、MC9A、MC10A、MC11A、MC12A、MC6S、MC8S の混合品で、それぞれが 10 µg/L に調製されたメタノール溶液) 100 µL を添加した。サロゲートは、分析前処理から測定までの分析操作の全体における回収率や機器分析における変動を補正する目的で添加する内標準 (internal standard; I.S.) 物質のことである。そのため、測定対象物質と全く同じ挙動を示して、イオンの質量を電荷数で割った値 ( $m/z$ ) の異なる物質が理想である。一般にサロゲートには、測定対象物質を  $^{13}\text{C}$ 、 $^2\text{H}$  (D)、 $^{18}\text{O}$  などの安定同位体でマスラベル化したものを利用する。しかし、測定対象物質が多い場合は、すべての測定対象物質のマスラベル化体入手することは困難であるため、一部の測定対象物質についてマスラベル化体を使用し、マスラベル化体のない他の測定対象物質については、挙動の似た物質 (LC における保持時間が近いなど化学的性質の似た物質) をサロゲートとして利用する。本研究で利用したサロゲートについては、第 III 章 III-2 (5)、及び Table III-1b. で詳述する。サロゲートを添加した環境水サンプルは、まず、ガラス繊維ろ紙 (GE ヘルスケア社製 Whatman GF/C、粒子保持能 1.2 µm) を用いて吸引ろ過し、懸濁態 (PFAA が吸着している残渣) と溶存態に分離した。残渣の付着したろ過後のろ紙をガラスビーカーに移し、メタノール 10 mL を加え、懸濁態から PFAA を 5 分間超音波抽出した。溶存態を含んでいるろ液は、あらかじめ 0.1 % アンモニア水含有メタノール、メタノール、0.25 mM 酢酸緩衝液各 5 mL でコンディショニングした固相カートリッジ (Waters 社製 Oasis WAX Plus type 225 mg) にコンセントレータ (Waters 社製 Sep-Pak コンセントレータ Plus) (Fig. II-1.) を使用して通液し、溶存態の PFAA を固相カートリッジに吸着させた。この固相カートリッジに、2 % ギ酸 5 mL、ろ紙の残渣から PFAA を超音波抽出したメタノール、サンプル容器及びろ過に使用した器具類を共洗いしたメタノール (各 10 mL) を、コンセントレータを用いて通し、コンセントレータから取り外した後、続いてガラスシリンジを用いてメタノール 2 mL、超純水

5 mL を通して洗浄した。ガラスシリンジを使用して軽く脱水し、あらかじめ 0.25 mL の超純水を入れておいた 15 mL 容の PP 製バイアルに 0.1 % アンモニア水含有メタノール 5 mL で溶出した。窒素吹き付けにより約 0.5 mL まで濃縮後、メタノールで 1 mL に定容し、LC-MS/MS で測定した。以上の環境水の分析前処理操作のフローを Fig. II-2. に示す。



コンセンレータ上部に固相カートリッジを装着して通液する。



**Fig. II-1.** コンセンレータ

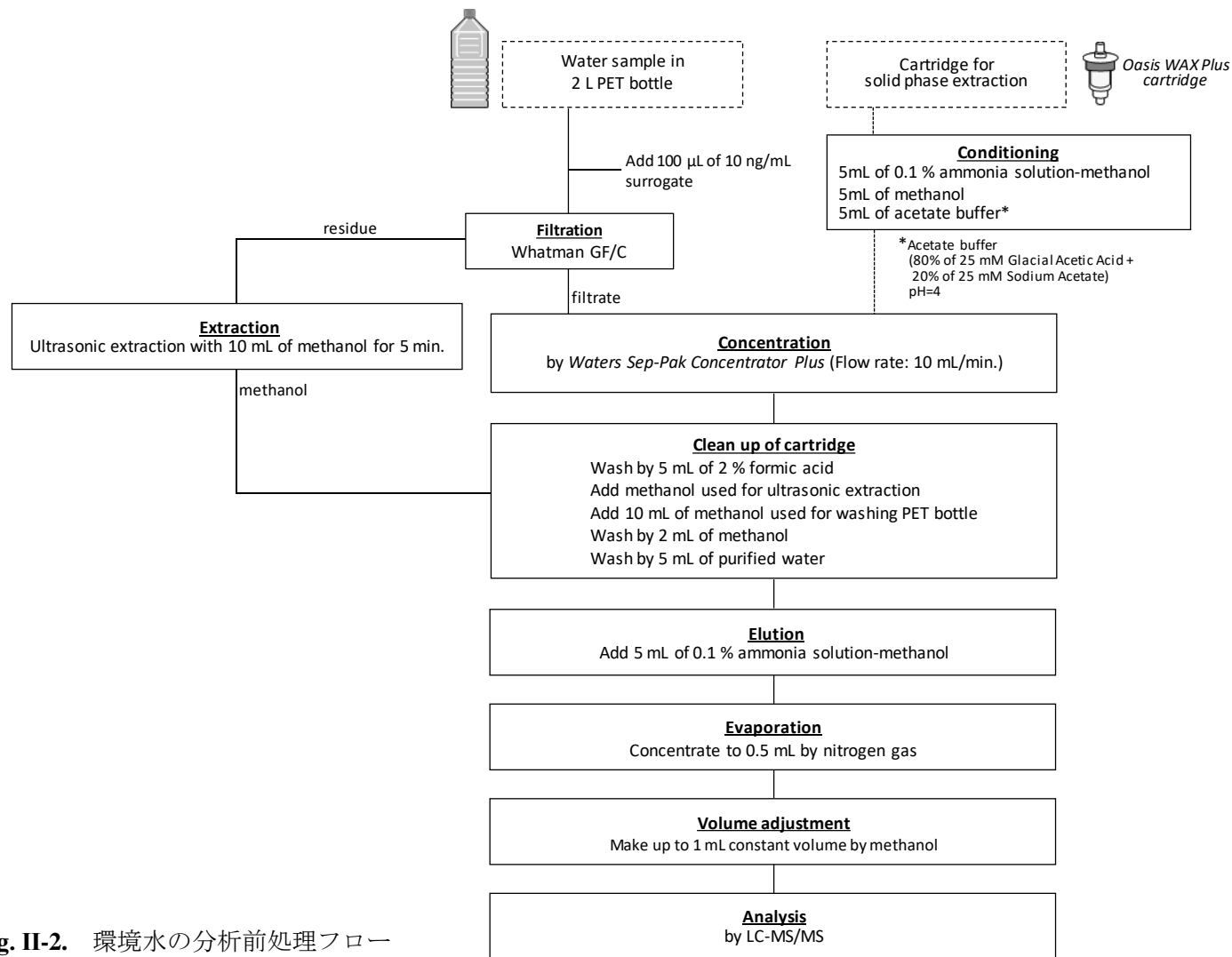


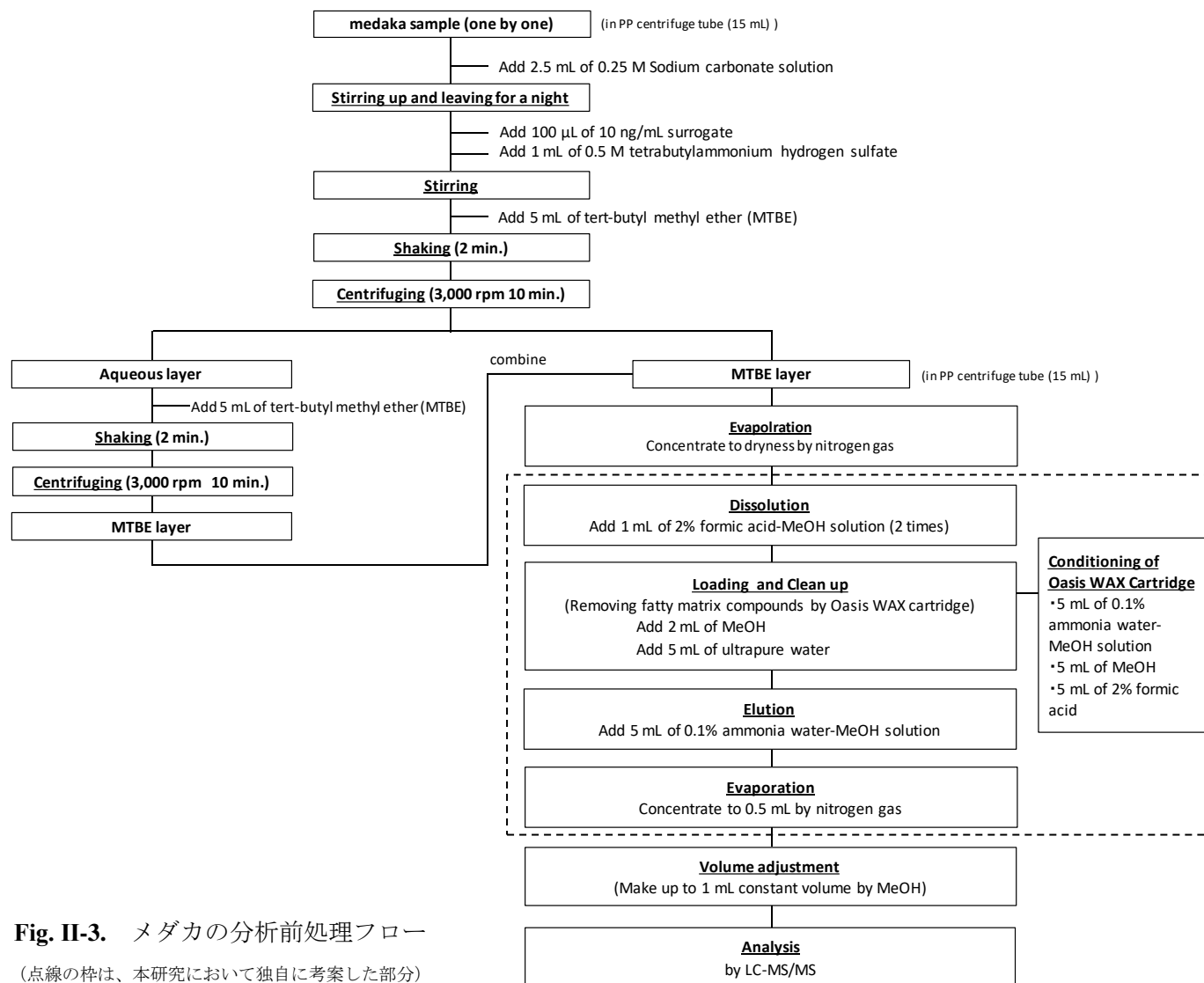
Fig. II-2. 環境水の分析前処理フロー

## (1) -2 メダカ

生体試料からの化学物質の抽出は、有機溶媒による液液抽出が一般的であるが、生体試料は非常に多種、多量のマトリクス成分を含むことから、その除去が必要である。従来は、生体試料から化学物質を液液抽出して、濃縮、ろ過という操作だけで LC-MS (/MS) で分析していたが、これではマトリクス成分が多量に分析装置に導入されることになり、分析感度を高められないばかりか、マトリクス成分で機器を汚すことになり、結果として高感度での分析ができなくなる恐れもある。そこで本研究では、まず常法である液液抽出によって PFAA を抽出し、一緒に抽出される多量のマトリクス成分まで固相カートリッジに濃縮した後固相カートリッジからマトリクス成分を可能な限り除去して、最後に PFAA を含むフラクションを抽出する方法を検討した。

メダカからの PFAA の抽出は、各地点における個体のばらつきも確認するため、コンポジットサンプルとはせず 1 匹ずつ行った。メダカの入った 15 mL 容 PP 製バイアルに 0.25 M 炭酸ナトリウムを 2.5 mL 添加し、4 °C で 1 晩放置、常温に戻した後激しく振とうすることでメダカを分解し、懸濁させた。そこに 10 µg/L に調製したサロゲート 100 µL、0.5 M 硫酸水素テトラブチルアンモニウム (TBAHS) 1 mL を添加して十分混和させた後、t-ブチルメチルエーテル (MTBE) 5 mL を添加し、手で 2 分間激しく振とうした。これを毎分 3000 回転で 10 分間遠心分離し、MTBE 層を分取した。残った水層に再度 MTBE 5 mL を添加し、同様に振とう、遠心分離し、分取した MTBE 層を初めに分取した MTBE と合わせた。窒素吹き付けにより MTBE を除去した後、2 % ギ酸含有メタノール 1 mL に転溶し、あらかじめ 0.1 % アンモニア水含有メタノール、メタノール、2 % ギ酸各 5 mL でコンディショニングした固相カートリッジ (Oasis WAX) に通液した。残渣の残った 15 mL 容 PP 製バイアルに、再度 2 % ギ酸含有メタノール 1 mL を添加、転溶し、同じ固相カートリッジに通液した。メタノール 2 mL、超純水 5 mL で固相カートリッジを洗浄した後、ガラスシリンジを使用して軽く脱水し、あらかじめ 0.25 mL の超純水を入れておいた 15 mL 容の PP 製バイアルに 0.1 % アンモニア水含有メタノール 5 mL で溶出した。窒素吹き付けにより約 0.5 mL まで濃縮後、メタノールで 1 mL に定容し、LC-MS/MS で測定した。

以上のメダカの分析前処理操作のフローを Fig. II-3. に示す。



**Fig. II-3.** メダカの分析前処理フロー  
(点線の枠は、本研究において独自に考案した部分)

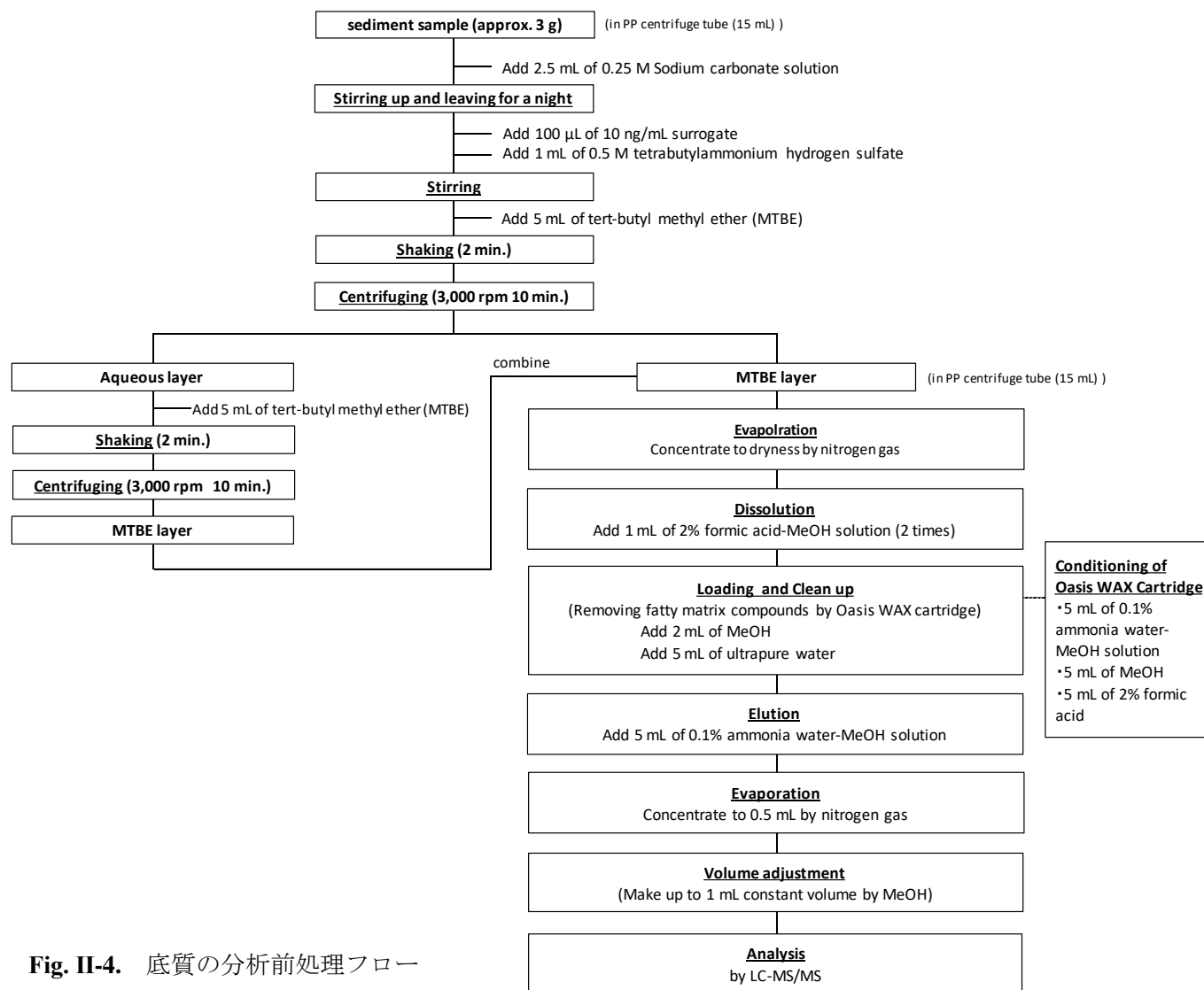


### (1) -3 底質

底質からの化学物質の抽出は、一般的には、高速溶媒抽出 (ASE) 法等により効率的に抽出し、LC-MS/MS 等で分析する方法などが採られているが、ASE 機器に非意図的に混入する PFAA の除去や機器の扱いに一定の技術レベルが要求されるなどの問題を含んでいる。そこで本研究では、ASE を使用することなく底質や土壌から効率的・簡易的に PFAAs を抽出する新しい方法を検討することとした。

底質からの抽出にあたっては、Fig. II-3.の方法を応用し、メダカと同様の分析前処理操作で抽出できるかを検討した。均一に攪拌した底質サンプル約 3 g-wet を 15 mL のポリプロピレン (PP) チューブに量り採り、その後の操作はメダカからの抽出に倣い、Fig. II-4.のとおりとした。なお、底質の分析前処理では、1 サンプルあたり 3 連で抽出及び測定を行った。

なお、底質については、含まれる PFAA 濃度を正確に算出するには、それぞれの底質サンプルの乾燥重量が必要となるため、各サンプルの乾燥減量も測定した。また、各地点で採取したサンプルの性状がかなり異なっており、一部のサンプルでは、強熱減量 (IL) あたりの濃度も併せて算出して検討することとしたため、IL の測定も行った。



**Fig. II-4.** 底質の分析前処理フロー

(1) -4 操作ブランク

各サンプルの操作ブランクには、メダカと底質についてはサンプルの代わりとして超純水 3 g を、環境水については超純水 2 L を使用した。それぞれの操作ブランクサンプルにサロゲートを添加した後、サンプルと全く同じ抽出操作及び測定を行った。

(2) LC-MS/MS 分析条件

LC-MS/MS による分析条件は、Table II-1a.及び Table II-1b.のとおりである。研究期間中に LC-MS/MS の機器更新があったため、2013 年度の分析条件は Table II-1a.、2014～2016 年度は Table II-1b.のとおりである。

**Table II-1a.** LC-MS/MS 分析条件 (2013 年度)

|                        |   |    |    |    |    |
|------------------------|---|----|----|----|----|
| 【HPLC】                 |   |    |    |    |    |
| device                 | Agilent Technologies 1200 series                                      |    |    |    |    |
| guard column           | ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1×30 mm 1.8 μm)<br>(Agilent Technologies)  |    |    |    |    |
| analysis column        | ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1×100 mm 1.8 μm)<br>(Agilent Technologies) |    |    |    |    |
| column temperature     | 40°C  |    |    |    |    |
| mobile phase           | (A) 10 mM Ammonium acetate (B) Acetonitrile                           |    |    |    |    |
| gradient               | (linear gradient)   |    |    |    |    |
|                        | time (min)  | 0  | 4  | 20 | 28 |
|                        | (B) (%)   | 25 | 25 | 75 | 75 |
|                        | post time 17 min (Acetonitrile 95% to 25%)                            |    |    |    |    |
| flow rate              | 0.2 mL min <sup>-1</sup>  |    |    |    |    |
| injection volume       | 10 μL   |    |    |    |    |
| 【MS】                   |   |    |    |    |    |
| device                 | Agilent Technologies G6410  |    |    |    |    |
| ionization             | ESI Negative  |    |    |    |    |
| measurement mode       | MRM   |    |    |    |    |
| gas temperature        | 350°C   |    |    |    |    |
| sheath gas temperature | 400°C   |    |    |    |    |
| nebulizer              | 60 psi  |    |    |    |    |

**Table II-1b.** LC-MS/MS 分析条件 (2014～2016 年度)

|                        |   |    |    |    |    |
|------------------------|---|----|----|----|----|
| 【HPLC】                 |   |    |    |    |    |
| device                 | Agilent Technologies 1260 series                                      |    |    |    |    |
| guard column           | ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1×30 mm 1.8 μm)<br>(Agilent Technologies)  |    |    |    |    |
| analysis column        | ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1×100 mm 1.8 μm)<br>(Agilent Technologies) |    |    |    |    |
| column temperature     | 40°C  |    |    |    |    |
| mobile phase           | (A) 10 mM Ammonium acetate (B) Acetonitrile                           |    |    |    |    |
| gradient               | (linear gradient)   |    |    |    |    |
|                        | time (min)  | 0  | 4  | 20 | 28 |
|                        | (B) (%)   | 25 | 25 | 75 | 75 |
|                        | post time 17 min (Acetonitrile 95% to 25%)                            |    |    |    |    |
| flow rate              | 0.2 mL min <sup>-1</sup>  |    |    |    |    |
| injection volume       | 2 μL  |    |    |    |    |
| 【MS】                   |   |    |    |    |    |
| device                 | Agilent Technologies G6490A   |    |    |    |    |
| ionization             | ESI Negative  |    |    |    |    |
| measurement mode       | MRM   |    |    |    |    |
| gas temperature        | 200°C   |    |    |    |    |
| sheath gas temperature | 400°C   |    |    |    |    |
| nebulizer              | 50 psi  |    |    |    |    |

### (3) 底質の乾燥減量及び強熱減量の測定

乾燥減量及び強熱減量 (IL) は、改訂版底質調査方法とその解説 (環境庁水質保全局水質管理課編, 1988) を参考に測定した。恒量とした蒸発皿に、底質約 20 g-wet を秤量し、105°C で 2 時間加熱乾燥させ、デシケーターで 40 分間放冷後、サンプルの乾燥重量及び乾燥減量を測定した。次に乾燥重量を測定したサンプルを用いて 600°C で 2 時間強熱し、デシケーターで常温まで放冷後、強熱後のサンプル重量を測定した。IL は、サンプルの乾燥重量から強熱後の重量を差し引き、乾燥重量で除して算出した。

### (4) 検量線及び検出下限、定量下限

分析対象のすべての PFAA について、0.05～100 μg/L の濃度範囲 (0.05、0.1、0.5、1、5、10、30、50、100 の 9 段階) で、また、すべて native 体 (マスラベル化されていない、通常の PFAA) で検量線を作成した。より正確な検量線とするため濃度範囲に応じて 2 つの検量線を作成し、低濃度側を 0.05～5 μg/L (5 段階)、高濃度側を 5～100 μg/L (5 段階) とした。両検量線ともに、すべての PFAA で高い直線性を示し、相関係数は 0.995 以上であった。検量線の最低濃度において、すべての PFAA で S/N 比 (ブランクで測定されたノイズに対する PFAA のシグナルの比率) はおよそ 3 又はそれ以上であったため、検出下限 (LOD) を 0.05 μg/L とした。定量下限 (LOQ) は、S/N 比でおよそ 10 とし、C5A、C7A については 0.1 μg/L、それ以外については 0.05 μg/L とした。

# (5) 底質の分析前処理操作の妥当性の確認

底質の分析前処理は、これまで実施したことのない新しい方法で抽出操作を検討することとしたことから、装置の検出下限 (IDL)、定量下限 (IQL)、適正なサロゲートの添加量も併せて確認した。なお、本検討においては、底質と併せて土壌についても同様に検討を行った。(土壌については、今後分析が必要になることを想定して同時に検討を行ったものであり、本研究では、サンプルとしての土壌の分析は実施しなかった。)

## (5) -1 装置の検出下限、定量下限 (IDL、IQL)

本検討に利用した検量線も、サロゲートの各物質と同鎖長の native 体で作成した。検量線の最低濃度を 0.05 ng/mL とし、5 ng/mL までの範囲では、すべての物質で相関係数が 0.998 以上であり、良好な直線性が確認できた。

IDL 及び IQL を化学物質環境実態調査の手引き (平成 27 年度版) (環境省, 2016) に従い算出した。検量線の最低濃度 (0.05) の S/N 比は、各 PFAA (各サロゲートと同じ鎖長の native 体) とも 10 程度以上であったことから、この標準液を 7 回装置に導入し、標本標準偏差 (SD) を求め、次の 2 つの式から IDL と IQL を算出した。

$$IDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1, I} \times 2$$

$$IQL = 10 \times \sigma_{n-1, I}$$

ここで、

n : 測定回数

t(n-1, 0.05) : 危険率 5 %、自由度 n-1 の t 値 (片側)

n = 7 の場合、1.9432

$\sigma_{n-1, I}$  : IDL 算出のための測定値の標本標準偏差 (SD)

サロゲートと native 体では、同じ 1 ng/mL 濃度でも感度差があるため、サロゲートとしての IDL、IQL は、native 体とサロゲートの比で補正する必要がある。これにより算出した各 PFAA の native 体の IDL、IQL と native 体とサロゲートのピーク強度比、及びこの比で補正したサロゲートの IDL、IQL を Table II-2. に示す。

**Table II-2.** native 体 PFAA とサロゲートの IDL、IQL (ng/mL)

|                                  |     | C6A   | C8A   | C9A   | C10A  | C11A  | C12A  | C6S   | C8S   |
|----------------------------------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| native                           | SD  | 0.001 | 0.006 | 0.004 | 0.003 | 0.006 | 0.003 | 0.003 | 0.004 |
|                                  | IDL | 0.005 | 0.023 | 0.014 | 0.013 | 0.023 | 0.013 | 0.012 | 0.017 |
|                                  | IQL | 0.013 | 0.060 | 0.036 | 0.034 | 0.058 | 0.035 | 0.031 | 0.043 |
| surrogate/native Peak Area Ratio |     | 1.1   | 2.0   | 0.99  | 0.97  | 1.0   | 2.5   | 0.29  | 0.40  |
| surrogate                        | IDL | 0.005 | 0.012 | 0.014 | 0.014 | 0.022 | 0.005 | 0.042 | 0.042 |
|                                  | IQL | 0.012 | 0.030 | 0.036 | 0.035 | 0.056 | 0.014 | 0.11  | 0.11  |

native 体の IDL、IQL は、検量線の最低濃度の標準液を 7 回装置に導入して得られた結果から算出した値。  
surrogate の IDL、IQL は、native 体の IDL、IQL を「surrogate/native Peak Area Ratio」で除して算出した。

#### (5) -2 サロゲート添加量の検討

化学物質環境実態調査の手引き（平成 27 年度版）（環境省, 2016）によると、開発される分析法のサロゲート回収率は 50～120 %が必要とされる。今回の検討では、調製した検量線の範囲と装置の定量下限を考慮し、サンプルに添加するサロゲートを 1 ng とした。この量であれば、最終のサンプル溶液が 1 mL であることから、回収率が 50 %だったと仮定すれば、定量値で少なくとも 0.5 ng/mL を測定できる感度が分析機器に求められる。各サロゲートの IQL は、0.012～0.11 ng/mL であったため、1 ng の添加量で分析機器の感度は十分担保できた。また、検量線の範囲も 5.0 ng/mL までとしたため、120 %の回収率 (= 1.2 ng/mL) でも十分定量範囲であった。これらのことより、本検討における回収率を確認するには、1 ng のサロゲート添加量が適当と考えられた。

#### (5) -3 サロゲート回収率

分析前処理操作が適切であるかどうかを確認するためには、環境試料への添加回収試験が不可欠であるが、分析対象である PFAA は、あらゆる環境試料から微量検出されることが明らかとなっているため、低濃度域における添加回収試験が非常に困難である。そこで、サロゲートとして使用した MCXA、MCXS であれば PFAA と挙動がほぼ同じで、且つ環境試料からの検出はないことから、調製したそれぞれの分析用のサンプルからのサロゲート回収率を確認し、分析前処理操作が適切に行われていることを評価することとした。回収率の算出にあたっては、検量線用のスタンダードにあらかじめ添加しておいたサロゲート (1 µg/L) のピーク面積値の平均とサンプルのサロゲートのピーク面積値の比から求めた。検量線用のスタンダードは、0.05～100 µg/L の濃度範囲で 9 段階に分けて調製しており、それぞれのスタンダードにサロゲートを添加しているため、ピーク面積のデータは 9 つ得られる。これらのデータを平均し、検量線用のスタンダードのサロゲートピーク面積とした。検量線用のスタンダードは、前処理操作を行っていないことから、得られたピークは、ロスのない 100 %ということになる。サンプルについては、あらかじめサロゲートを添加して分析前処理操作を行うので、操作段階である程度ロスが生じる。分析前処理したサンプルを測定して、サロゲートのピーク面積を計測し、これと検量線用のスタンダードのサロゲートピーク面積を比較することでサンプルのサロゲートピーク面積が何%になっているかを算出して、回収率を求めた。

Fig. II-4.の方法で分析前処理したサンプルからのサロゲート回収率を Table II-3.に示す。

**Table II-3.** 底質・土壌サンプルからのサロゲート回収率 (%)

|               | MC6A    | MC8A   | MC9A   | MC10A  | MC11A  | MC12A  | MC6S   | MC8S   |
|---------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 2014 sediment | 59±1.1  | 61±0.9 | 56±1.1 | 56±0.9 | 53±0.7 | 51±0.9 | 52±1.3 | 50±1.5 |
| 2015 sediment | 52±1.0  | 57±1.1 | 68±1.6 | 85±2.2 | 79±2.1 | 56±1.3 | 50±0.6 | 51±0.5 |
| 2016 sediment | 81±1.5  | 75±1.0 | 68±1.0 | 63±0.6 | 54±0.6 | 53±0.7 | 64±2.0 | 73±1.3 |
| 2016 soil     | 110±0.9 | 98±0.9 | 83±1.0 | 72±1.0 | 61±1.3 | 56±1.2 | 66±0.6 | 87±1.3 |

算術平均±SE。2014 年は 27 例、2015・2016 年は 15 例から算出。(SE：標準誤差)

2014 年のサンプルは、9 地点 (n = 3) の 27 例、2015 年及び 2016 年のサンプルは、5 地点 (n = 3) の 15 例から算出した (算術平均±SE (%))。サロゲート回収率は、底質では 50 ~85 %、土壌では 56~110 %であった。PFAA によって回収率にばらつきが見られたが、PFAAs の物理的・化学的性質に基づくような一定の傾向は認められなかった。また、回収率は MC11A を除いて底質よりも土壌の方が高い傾向が見られた。今回の分析方法では、サンプルごとの分析精度は非常に高く、SE は最大でも 2.2 %であった。底質・土壌ともに、回収率は 50~120 %の範囲に収まっており、図 2 に示した方法は、PFAAs 抽出・分析法として妥当であることが確認された。しかし、平均で 50 %程度の回収率の PFAA は、サンプルによっては 50 %を下回ったものもあり、この分析方法には、改良の余地があることも示唆された。Meng ら (Meng *et al.*, 2013) は、我々が今回検討した方法に似た MTBE による液液抽出法を採用しており、その PFAAs 回収率は PFCAs で 76~96 %、PFSAs で 76~97 %と報告している。処理開始時の液性が酸性であること、MTBE による抽出を 3 回行っていること、攪拌時間が長いこと、固相カートリッジによるクリーンアップを行っていないこと、などの点が我々の方法と異なっている。一方、Naile ら (Naile *et al.*, 2010) は、MTBE による抽出は行わず、1 %酢酸と少量の酢酸含有メタノールで超音波による抽出を行っており、PFAAs 回収率は、PFCAs で Insufficient Recovery ~135 %、PFSAs で 32~134 %と報告している。回収率は各 PFAA によって非常に差があり、SD も C6S で 38 % (n = 12) とばらつきが大きい。ASE 法による抽出は内山らが報告している (内山ら, 2011)。この報告では、超音波抽出法と ASE 法を比較しており、ASE 法は最低でも回収率が 60 %以上で、超音波抽出法よりも回収率が高い結果となっている。しかし、C8A や C8S の回収率が 100 %を大きく超え、試験によっては 300 %を超える値もあった。この原因として、ASE 機器に由来するコンタミの影響としており、装置の洗浄等のブランクコントロールの重要性を指摘している。これらのことから、底質・土壌からの PFAA の抽出及び分析は、MTBE を使用した抽出と固相カートリッジによるクリーンアップを組み合わせた方法が、ASE に内在するコンタミのリスクなどもなく、回収率にも問題がないうえに、効率的で且つ簡易であることから、妥当な方法と考えられる。回収率を更に向上させるためには、今回行わなかった超音波による抽出工程を加えることや液性をコントロールすることを検討することが必要と考えられ、これらは今後の課題である。

今回検討した方法では、サンプル間でのばらつきは少なかった。これは添加回収の試験

であったことから、PP チューブにサンプルを量り採った後でサロゲートを添加したため、サンプル自体の性状による PFAA の不均一分散に由来するばらつきを考慮する必要がなかったためであると考えられる。サンプル中の PFAAs 濃度を測定する際には、今回検討した抽出方法に由来するばらつきのほかに、サンプルの性状によって PFAA が不均一に分散していることに由来するばらつきも含まれる。つまり、チューブに量り採る際にサンプルを均一にすることが非常に重要である。サンプルの性状が砂質あるいは泥質なのか、含水率はその程度か、植物の破片や小石等が混入していないか、などによりサンプル中の PFAA の均一性は異なってくると考えられる。サンプルを保存していたチャック付き袋等の容器から量り採る際に、十分に均一にすることで、サンプル間の測定値のばらつきを小さくできると考えられるが、その効率的な方法確立することは今後の課題である。また、分析の精度をより向上させるため、砂質であるか泥質であるかにかかわらず、IL 量が同量程度になるよう試料量を調整したうえで分析することも、今後検討すべき課題である。

今回の検討により、底質（及び土壌）の分析前処理方法としては、Fig. II-4.の方法は今後解決すべき課題はあるものの、現時点では妥当であると考えられたため、以降、この方法を利用して分析前処理を行うこととした。

#### (6) 分析前処理操作が適切に行われていることの確認（サロゲート回収率）

環境水、底質及びメダカについて、調製したそれぞれの分析用のサンプルからのサロゲート回収率を確認し、Fig. II-2.、Fig. II-3.、及び Fig. II-4.に示す分析前処理が適切に行われたかどうかを確認した。

2015 年～2016 年にかけて採取した環境水、底質、メダカの各サンプル及び操作ブランクからのサロゲートの回収率を Table II-4. に示す。環境水は全 10 サンプル、底質は全 30 サンプル、メダカは全 238 サンプル、また、操作ブランクは、環境水用操作ブランク及び底質・メダカ用操作ブランクそれぞれ 6 サンプルからのサロゲート回収率を算出した。サロゲート回収率は、環境水で 58～74 %、底質で 53～73 %、メダカで 85～97 %、環境水操作ブランクで 77～93 %、底質及びメダカ操作ブランクで 68～93 %であった。環境水、底質、メダカとも、すべてのサロゲートで 50 %以上の回収率となっていたことから、Fig. II-2.、Fig. II-3.、及び Fig. II-4.に示す分析前処理は適切に行われていたことが確認できた。

**Table II-4.** サロゲート回収率 (%)

|                           |         | MC4A   | MC6A   | MC8A   | MC9A   | MC10A  | MC11A  | MC12A  | MC6S   | MC8S   |
|---------------------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| environmental water       | (n=10)  | 62±4.2 | 72±4.3 | 67±3.6 | 64±3.3 | 60±5.4 | 61±8.9 | 58±10  | 74±3.6 | 63±2.2 |
| sediment                  | (n=30)  | 67±6.6 | 62±1.8 | 65±1.4 | 73±3.7 | 70±5.3 | 61±7.1 | 59±3.6 | 56±4.7 | 53±2.5 |
| medaka                    | (n=238) | 86±2.0 | 89±1.6 | 93±1.7 | 97±1.7 | 95±2.0 | 94±1.8 | 93±1.6 | 86±1.8 | 85±1.5 |
| environmental water blank | (n=6)   | 93±4.1 | 83±4.2 | 84±3.3 | 82±6.4 | 79±4.9 | 77±5.8 | 79±4.8 | 86±1.8 | 81±5.5 |
| sediment, medaka blank    | (n=6)   | 89±6.3 | 71±2.7 | 87±2.8 | 93±5.6 | 93±7.0 | 85±9.4 | 91±3.0 | 68±3.4 | 80±4.2 |



## II-2 生体試料中の PFAA 分析方法の検討

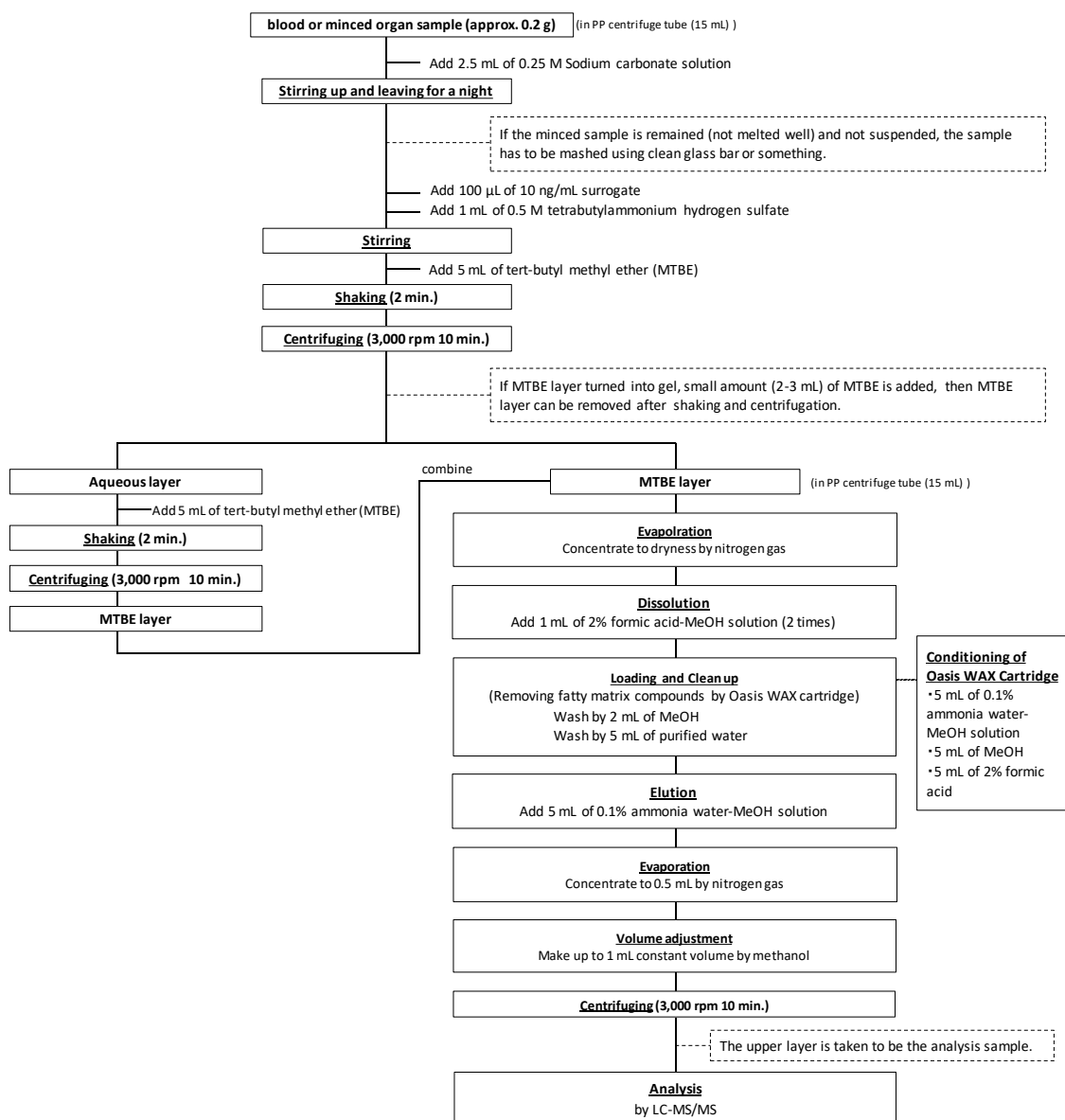
生体内において PFAA の蓄積がどのようになっているかを確認するため、ラットに PFAA を投与し、取り出した様々な臓器における PFAA 濃度把握のための分析を、以下の方法で行った。II-1 と同様に分析前処理操作が適切に行われているかどうかを確認する必要があるため、調製したそれぞれの分析用のサンプルからのサロゲート回収率を確認し、評価することとした。

### (1) サンプルからの PFAA の抽出 (分析前処理)

#### (1) -1-① 血液及び臓器からの抽出

採取した血液及び臓器からの PFAA の抽出は、II-1 (1) の方法を参考に行った。採取した臓器はあらかじめ解剖ばさみで 1 mm 以下まで細切し、そこから約 0.2 g-wet を 15 mL 容 PP 製バイアルに取り、採取量を秤量した。秤量後、サンプルの入った 15 mL 容 PP 製バイアルに 0.25 M 炭酸ナトリウムを 2.5 mL 添加し、4 °C で 1 晩放置、常温に戻した後激しく振とうして懸濁させた。この操作で懸濁しなかったサンプルは、ガラス棒を用いて押しつぶして分解し、懸濁させた。そこに 10 µg/L に調製したサロゲート 0.1 mL、0.5 M TBAHS 1 mL を添加して十分混和させた後、MTBE 5 mL を添加し、手で 2 分間激しく振とうした。これを毎分 3000 回転で 10 分間遠心分離し、MTBE 層を分取した。この時点でサンプルの水層以外の部分がゲル化して MTBE 層を分取できなかった場合は、MTBE を 2~3 mL 程度追加して再度振とうし、遠心分離することで、ゲル化がおおむね解消し、MTBE 層を分取することができた。残った水層に再度 MTBE 5 mL を添加し、同様に振とう、遠心分離し、分取した MTBE 層を初めに分取した MTBE と合わせた。窒素吹き付けにより MTBE を除去した後、2 %ギ酸含有メタノール 1 mL に転溶し、あらかじめ 0.1 %アンモニア水含有メタノール、メタノール、2 %ギ酸各 5 mL でコンディショニングした固相カートリッジ (Oasis WAX Plus type 225 mg) に通液した。残渣の残った 15 mL 容 PP バイアルに、再度 2 %ギ酸含有メタノール 1 mL を添加、転溶し、同じ固相カートリッジに通液した。メタノール 2 mL、超純水 5 mL で固相カートリッジを洗浄した後、ガラスシリンジを使用して軽く脱水し、あらかじめ 0.25 mL の超純水を入れておいた 15 mL 容の PP 製バイアルに 0.1 %アンモニア水含有メタノール 5 mL で溶出した。窒素吹き付けにより約 0.5 mL まで濃縮後、メタノールで 1 mL に定容し、LC-MS/MS で測定した。

以上の血液及び臓器の分析前処理操作のフローを Fig. II-5. に示す。



**Fig. II-5.** 血液及び臓器の分析前処理フロー

### (1) ー1ー② ラットの飼料、水道水からの抽出

投与試験には、飼料や飲料水に非意図的に含まれている PFAA の摂取も結果に影響することになるため、与えた飼料（市販の粉末飼料（MF、オリエンタル酵母工業株式会社製））及び水道水に含まれている PFAA も測定した。飼料は、乳鉢で粉碎し、約 0.5 g を採取した。抽出操作は、Fig. II-5. に準じて行った。サンプルを 15 mL 容 PP 製バイアルに入れ、これを十分に湿潤させるために 0.25 M 炭酸ナトリウムの添加量は 4.5 mL とした。以降の操作は(1)ー1ー①のとおりに行った。水道水は、ペットボトルに 2 L 採取し、サンプルとした。抽出操作は、Fig. II-2. に準じて行った。サンプルが水道水であるため、ろ過操作は行わなかった。

### (1) ー2 LC-MS/MS 分析条件

LC-MS/MS による分析条件は、Table II-1b. のとおりである。

### (1) ー3 ヘマトクリット値

ヘマトクリット値とは、血液中に占める赤血球の体積の割合である。この値を利用することで全血量から血清量を算出することができるため、ラット血液のヘマトクリット値の測定を行った。

ヘパリン処理されたヘマトクリットチューブに全血を入れ、ヘマトクリット遠心機（久保田製作所製 3220）を使用し、12,000 rpm で 5 分間遠心分離した。ヘマトクリットは、ヘマトクリットリーダーを用いて測定した。

### (2) 検量線及び LOD、LOQ

分析対象の 4 種の PFAA（C6A、C8A、C9A、C8S）について、0.05～80 µg/L の濃度範囲で検量線を作成した。より正確な検量線とするため濃度範囲に応じて 2 つの検量線を作成し、低濃度側を 0.05～5 µg/L、高濃度側を 5～80 µg/L とした。両検量線ともに、すべての PFAA で高い直線性を示し、相関係数は 0.999 以上であった。環境試料中の PFAA 分析方法の検討における分析条件と同一の条件で LC-MS/MS による分析を行い、検量線の最低濃度において 4 種の PFAA とともに S/N 比がおおよそ 10 又はそれ以上であったため、LOD 及び LOQ を 0.05 µg/L とした。

### (3) 分析前処理操作が適切に行われていることの確認（サロゲート回収率）

Fig. II-5. に示す分析前処理が適切に行われたかどうかを確認するため、調製したそれぞれのサンプル（血液及び臓器）からのサロゲート回収率を確認した。各サンプルからのサロゲートの回収率（20 サンプルの算術平均値±SE）を Table II-5. に示す。回収率の算出方法は、II-1（6）と同様である。サロゲート回収率は、脳で 74～95 %、心臓で 69～81 %、肝臓で 78～86 %、脾臓で 77～80 %、腎臓で 81～91 %、全血で 78～91 %、血清で 78～84 %であった。サロゲートの回収率がどの臓器においても 50～120 % の範囲に入っていたことから、

Fig. II-5. に示す分析前処理は適切に行われていたことが確認できた。

**Table II-5.** サロゲート回収率 (%)

|             |          | MC6A    | MC8A   | MC9A   | MC8S   |
|-------------|----------|---------|--------|--------|--------|
| brain       | (n = 20) | 88±1.4  | 95±1.5 | 95±2.7 | 74±5.4 |
| heart       | (n = 20) | 80±1.9  | 78±2.9 | 81±3.8 | 69±4.3 |
| liver       | (n = 20) | 78±1.4  | 84±2.5 | 86±1.9 | 80±1.7 |
| spleen      | (n = 20) | 77±0.93 | 80±1.8 | 78±1.7 | 80±3.3 |
| kidney      | (n = 20) | 81±1.2  | 87±1.2 | 87±1.1 | 91±3.1 |
| whole blood | (n = 20) | 85±0.51 | 91±1.0 | 86±1.2 | 78±2.3 |
| serum       | (n = 20) | 78±1.0  | 83±1.0 | 84±1.6 | 82±2.5 |

(算術平均±SE)



### 第Ⅲ章 環境中の PFAA 存在実態の把握

#### Ⅲ-1 試験目的

第Ⅰ章で述べたとおり、PFAA は広く環境中に拡散し、哺乳類や鳥類、魚類など様々な野生動物や環境中からの検出が数多く報告されている。環境中の PFAA の存在実態を把握するには、野生生物への蓄積状況を明らかにする必要があるとともに、環境媒質中の濃度を明らかにすることも必須である。このように環境中の存在状況を把握することで、PFAA の化学的な性質に基づいた環境中における動態や分布の状況を把握することが可能となる。本章では、PFAA の環境中における存在の状況等を詳細に把握することを目的として、以下のとおり検討を行った。

#### Ⅲ-2 試験方法の詳細

##### (1) サンプルの選定

サンプルとして環境水、底質を採取し、それぞれに含まれる PFAA の濃度を測定した。また、生物への蓄積状況を把握し、生物濃縮性を検討するため、水生生物の生体試料としてメダカ (*Oryzias latipes*) を選定した。メダカを選定した理由は、日本各地で採取できること、比較的小さな小川や農業用水路等に生息していて採取が容易であること、野外での寿命が2年程度と短いこと、既往研究の試験生物として広く利用されてきたことなどである。

##### (2) サンプルの採取

サンプルの環境水と底質は、メダカの生息地点のものを採取した。

採取した地点は、岩手、茨城、石川、兵庫、福岡を中心に日本各地とし、2013年から2016年にかけてサンプル採取を行った。採取地点と採取年は Fig. Ⅲ-1.に示すとおりであり、岩手県一関市、茨城県龍ケ崎市、新潟県新潟市、石川県小松市、静岡県静岡市、兵庫県神戸市、山口県山口市、愛媛県松山市、福岡県久留米市、長崎県長崎市である。岩手は山間部の水田の農業用水路で、付近には民家が数軒あるものの住宅地ではなく、事業場などもない。茨城、静岡、兵庫、愛媛、福岡、長崎も水田横の農業用水路で採取しているが、岩手とは異なり、都市部の郊外の水田である。石川、山口は、都市部郊外の公園の中を流れる用水路で、付近には水田が広がっており、付近に民家や事業場などはあまりない。新潟は、市街地の公園の池に水を供給している用水路である。なお、これらすべての採取地点は、流速は穏やかで、水質は事業場の排水などによる直接的な影響がない地点であり、ほかの採取地点と生息環境が著しく異なるような地点でのサンプル採取は行わなかった。また、複数年採取している地点については、できる限り同一の地点あるいはその近傍でサンプル

を採取しており、流域が全く異なる地点での採取は行わなかった。

サンプルのメダカは、体長が小さすぎると分析ができないため、ある程度成長した個体を採取する必要がある。そのため、分析に適した大きさの個体の採取が可能な7月～10月にかけて採取した。採取時は天候にも留意した。採取時や前日に多量の降雨があると、採取地点が水田横の農業用水路や公園の中を流れる用水路などであることから、増水の影響でメダカが流されてしまうなど、採取できなくなる可能性が高くなるためである。サンプル採取時の天候は、すべての採取年、採取地点で晴れまたは曇りであり、採取前日又は数日前に多量の降雨のなかった日を選んだ。採取前日に少量の降雨のあった地点もあったが、農業用水路等では増水もなく流速も穏やかで、採取に影響はなかった。各年、各地点からメダカを20～30匹程度、環境水及び底質を各1サンプルずつ採取した。底質は、1地点につき数か所から表層約3cmの厚さで合計500g程度採取し、チャック付ポリエチレン製袋に入れて混合した。なお、2014年の福岡では、メダカとほぼ同じ大きさの魚体のカダヤシ (*Gambusia affinis*) も採取した。

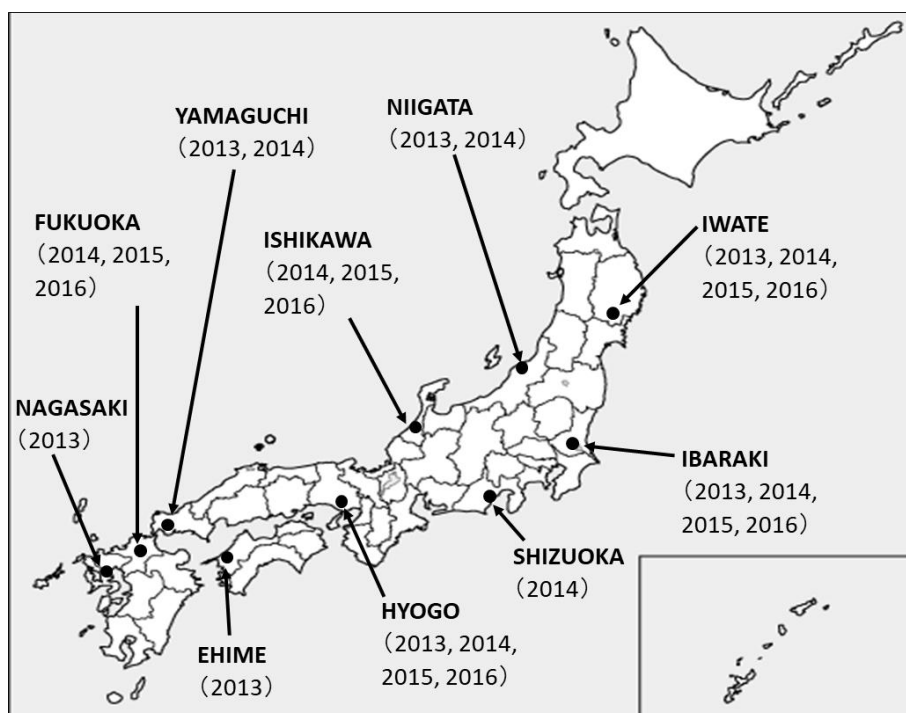


Fig. III-1. サンプル採取地点、採取年

### (3) サンプルの保管及び分析前準備

メダカは、採取後、外見的にオスとメスを分別し、体長及び湿重量を計測し、1匹ずつ15 mLのポリプロピレン (PP) 製バイアルに入れた後、-30℃で冷凍保管した。環境水は、未使用の2Lペットボトルに採取し、採取後は4℃で保管した。底質は、泥状のものを未使用のチャック付ポリエチレン製袋に採取し、採取後は4℃で保管した。サンプルの輸送に

は宅配便を利用し、メダカは冷凍便、環境水、底質は冷蔵便を利用した。

底質サンプルは、小石や植物片を取り除いた後で、底質調査方法（環境省, 2012）を参考にして、2 mm 目のふるいに通し、ふるい下を回収した。なお、サンプルの採取及び調製に使用した器具類（スコップ、ふるい等）は、器具類からの非意図的な PFAA の混入を防ぐため、使用前にメタノールで 3 回洗浄したものを使用した。また、メダカの保管に使用した PP 製バイアル及び環境水の保管に使用したペットボトルも、メタノールで 3 回洗浄したものを使用した。PFAA の分析は、器具類からの非意図的混入が大きな影響を及ぼし、操作ブランクを増大させる要因である。環境試料の分析は、非常に低濃度域で定量を行うことから、可能な限り非意図的混入を排除する必要があるため、非常に入念にメタノールによる洗浄を行った。

#### （4）試薬及び標準品


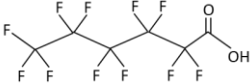
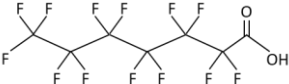
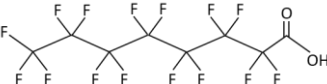
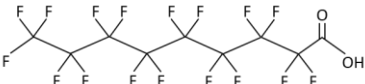
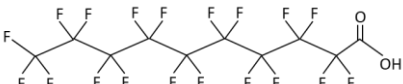


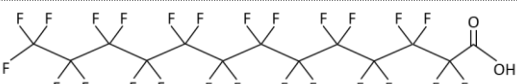




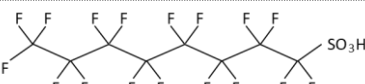
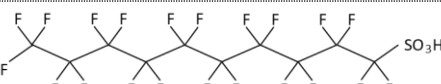
抽出に使用した試薬は、すべて市販品を使用した。炭酸ナトリウム（特級）、t-ブチルメチルエーテル（MTBE ; HPLC 用）、25 %アンモニア水（精密分析用）、酢酸（LC/MS 用）、酢酸ナトリウム（無水）（特級）、ギ酸（LC/MS 用）、酢酸アンモニウム（特級）、メタノール（LC/MS 用）、アセトニトリル（LC/MS 用）は和光純薬工業社製を、硫酸水素テトラブチルアンモニウム 99 %（TBAHS ; HPLC 用）は ACROS ORGANICS 社製を使用した。標準品には、WELLINGTON LABORATORIES 社製の native 体（マスラベル化されていない元素だけで構成されている標準品）である PFC-MXA（PFCA11 種の native 体の混合品、各成分 2 µg/mL メタノール溶液）及び PFS-MXA（PFSA5 種の native 体の混合品、各成分 2 µg/mL メタノール溶液）を使用した。サロゲート（サンプルの分析前処理を行う際に、前処理操作前に添加して、操作に起因するばらつきを分析時に補正する目的で使用する内部標準）には、同社製の MPFAC-MXA（PFCA、PFSA のマスラベル化体（MCXA、MCXS（X は炭素数））の 9 種混合品、各成分 2 µg/mL メタノール溶液）を使用した。

#### （5）分析対象 PFAA

分析対象 PFAA は、PFCA の C5A～C14A、PFSA の C4S、C6S、C7S、C8S、C10S とした。サロゲートは、MC4A、MC6A、MC8A、MC9A、MC10A、MC11A、MC12A、MC6S、MC8S である。構造式及びイオンの質量を電荷数で割った値（m/z）を Table III-1a., b.に示す。



**Table III-1a.** 環境試料の分析対象 PFAA

| compound                    | abbreviation      | structure  |
|-----------------------------|-------------------|--|
| Perfluoropentanoic acid     | PFPeA<br>(C5A)    |    |
| Perfluorohexanoic acid      | PFHxA<br>(C6A)    |    |
| Perfluoroheptanoic acid     | PFHpA<br>(C7A)    |    |
| Perfluorooctanoic acid      | PFOA<br>(C8A)     |    |
| Perfluorononanoic acid      | PFNA<br>(C9A)     |    |
| Perfluorodecanoic acid      | PFDA<br>(C10A)    |    |
| Perfluoroundecanoic acid    | PFUdA<br>(C11A)   |   |
| Perfluorododecanoic acid    | PFDoA<br>(C12A)   |  |
| Perfluorotridecanoic acid   | PFTTrDA<br>(C13A) |  |
| Perfluorotetradecanoic acid | PFTeDA<br>(C14A)  |  |
| Perfluorobutanesulfonate    | PFBS<br>(C4S)     |  |
| Perfluorohexanesulfonate    | PFHxS<br>(C6S)    |  |
| Perfluoroheptanesulfonate   | PFHpS<br>(C7S)    |  |
| Perfluorooctanesulfonate    | PFOS<br>(C8S)     |  |
| Perfluorodecanesulfonate    | PFDS<br>(C10S)    |  |

**Table III-1b.** 環境試料の分析対象 PFAA 及びサロゲート物質

| compound                    | abbreviation   | m/z       | surrogate compound (I.S.)  | abbreviation   | m/z       |
|-----------------------------|----------------|-----------|--|----------------|-----------|
| Perfluoropentanoic acid     | PFPeA (C5A)    | 263 → 219 | Perfluoro-n-[ <sup>13</sup> C <sub>4</sub> ]butanoic acid            | MPFBA (MC4A)   | 217 → 172 |
| Perfluorohexanoic acid      | PFHxA (C6A)    | 313 → 269 | Perfluoro-n-[1,2- <sup>13</sup> C <sub>2</sub> ]hexanoic acid        | MPFHxA (MC6A)  | 315 → 270 |
| Perfluoroheptanoic acid     | PFHpA (C7A)    | 363 → 319 |  |                |           |
| Perfluorooctanoic acid      | PFOA (C8A)     | 413 → 369 | Perfluoro-n-[1,2,3,4- <sup>13</sup> C <sub>4</sub> ]octanoic acid    | MPFOA (MC8A)   | 417 → 372 |
| Perfluorononanoic acid      | PFNA (C9A)     | 463 → 419 | Perfluoro-n-[1,2,3,4,5- <sup>13</sup> C <sub>5</sub> ]nonanoic acid  | MPFNA (MC9A)   | 468 → 423 |
| Perfluorodecanoic acid      | PFDA (C10A)    | 513 → 469 | Perfluoro-n-[1,2- <sup>13</sup> C <sub>2</sub> ]decanoic acid        | MPFDA (MC10A)  | 515 → 470 |
| Perfluoroundecanoic acid    | PFUdA (C11A)   | 563 → 519 | Perfluoro-n-[1,2- <sup>13</sup> C <sub>2</sub> ]undecanoic acid      | MPFUdA (MC11A) | 565 → 520 |
| Perfluorododecanoic acid    | PFDoA (C12A)   | 613 → 569 | Perfluoro-1-hexane[ <sup>18</sup> O <sub>2</sub> ]sulfonate          | MPFHxS (MC6S)  | 403 → 103 |
| Perfluorotridecanoic acid   | PFTTrDA (C13A) | 663 → 619 |  |                |           |
| Perfluorotetradecanoic acid | PFTeDA (C14A)  | 713 → 669 |  |                |           |
| Perfluorobutanesulfonate    | PFBS (C4S)     | 299 → 80  | Perfluoro-1-[1,2,3,4- <sup>13</sup> C <sub>4</sub> ]octane sulfonate | MPFOS (MC8S)   | 503 → 99  |
| Perfluorohexanesulfonate    | PFHxS (C6S)    | 399 → 80  |  |                |           |
| Perfluoroheptanesulfonate   | PFHpS (C7S)    | 449 → 80  |  |                |           |
| Perfluorooctanesulfonate    | PFOS (C8S)     | 499 → 80  |  |                |           |
| Perfluorodecanesulfonate    | PFDS (C10S)    | 599 → 80  |  |                |           |

#### (6) 分析方法

環境水、メダカ及び底質サンプルの分析前処理に使用した器具類については、サンプルの採取や保管に使用した器具類と同様に、すべてメタノールで3回洗浄したものを使用した。

分析方法については、II-1 に詳述したとおりである。

#### (7) 統計解析

得られた様々なデータを客観的に判断するため、以下の統計解析を行った。

メダカからの PFAA 検出量については、性別及び体長で差異を検討した。各採取地点において環境水からの曝露の差（環境水の濃度差）があるため、検討を地点ごとに行った。検出量の性差の確認には、F 検定でオスからの検出量とメスからの検出量の分散に有意差があるかどうかを確認したうえで、有意差がない（等分散である）場合は t 検定、有意差がある（等分散でない）場合は Welch の t 検定を行った。体長と検出量については、採取地点ごとに相関性を検討し、得られた相関係数の検定を行うことで有意性を確認した。

それぞれのサンプルから検出された PFAA 濃度についても同様に、環境水と底質、底質とメダカで相関性を検討し、得られた相関係数の検定を行うことで有意性を確認した。

さらに、メダカに蓄積する PFAA 量を、これまで得られているデータから推定するための重回帰分析を行った。

統計解析には、すべて Excel 2010 を利用した。

### III-3 環境試料の分析結果

#### (1) 環境水から検出される PFAA

各年、各地点の環境水サンプルから検出された PFAA を Fig. III-2. 及び Table III-2. に示す。また、検出量の PFAA ごとの平均を Fig. III-3a. に（エラーバーは標準偏差）、検出量の採取地点ごとの平均を Fig. III-3b. に示す。この数値は、濃縮して分析した測定値を濃縮率（2,000 倍）で割り、もとの環境水中の濃度に戻したものである。「n.d.」（not detected）は、濃縮して分析した結果が LOD 未満であったことを示す。なお、2014 年の福岡における採取地点は、メダカの採取地点を A、カダヤシの採取地点を B と表記した。

採取地点、採取年によって検出量の差が非常に大きいことが明らかとなった。

検出の傾向を把握するために検出率を算出したところ、C5A～C10A、C8S は 100 %、C11A、C4S、C6S は 85% 以上であった一方で、C14A と C10S は、すべての年、地点で全く検出されず 0% であった。検出率に特徴的な地域性は見られなかった。採取地点別に見ると、茨城、石川、兵庫、愛媛については、比較的ほかの地点よりも検出された PFAA の総量は高い傾向にあった（Fig. III-3b.）。これらの地点は、都市部郊外の水田の広がっている地域又は公園であり、近隣に PFAA の発生源となるような事業場などの施設は見当たらなかった。また、Fig. III-3b. からは、各採取地点で検出された PFAA の構成割合に一定の傾向は見られなかった。そこで、全サンプルにおいてそれぞれの PFAA が全体の PFAA 検出量のどの程度の割合を占めているのかを確認するため、15 種の PFAA の検出量の合計で各 PFAA の検出量を除して、組成比（検出量の合計に占める各 PFAA の検出量の割合）を算出した（Fig. III-4.）。日本各地の全く異なる流域で採取したサンプルであるにもかかわらず、採取年や採取地点により若干の差はあるものの、15 種の PFAA の中では概ね PFCA の C5A～C9A 及び PFSA の C8S の組成比が大きい傾向にあることが明らかとなった。

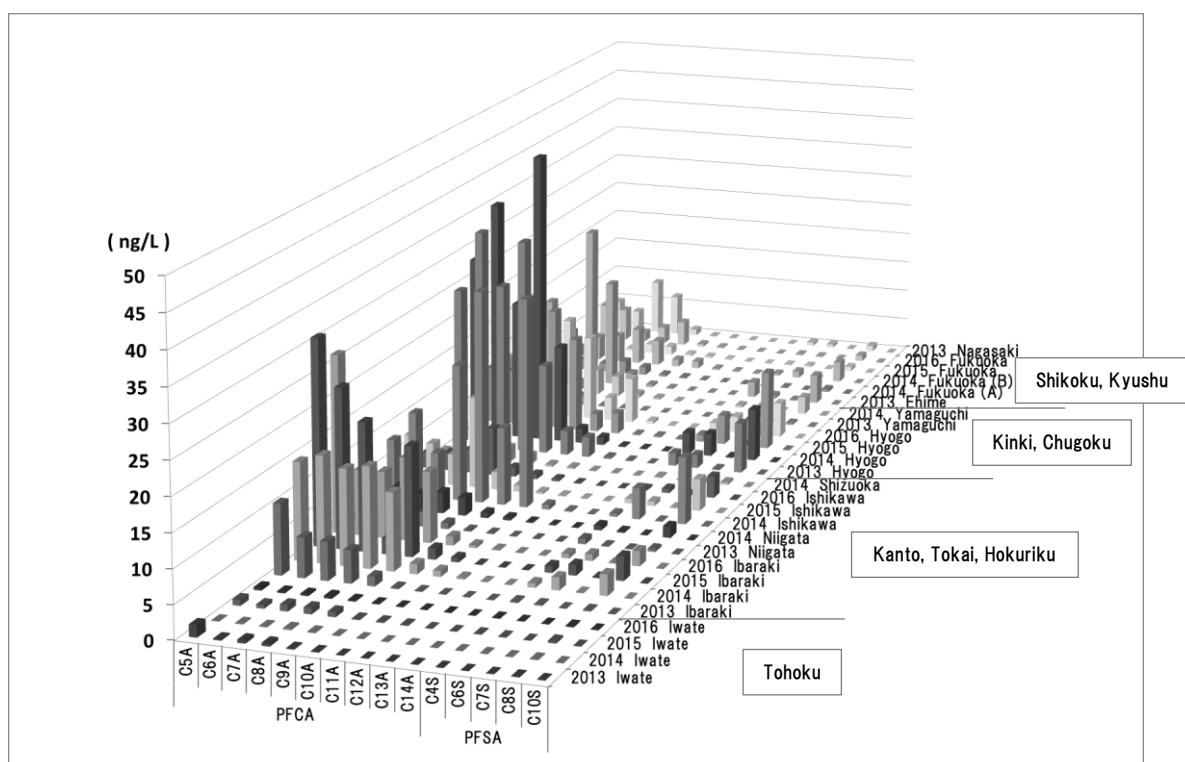
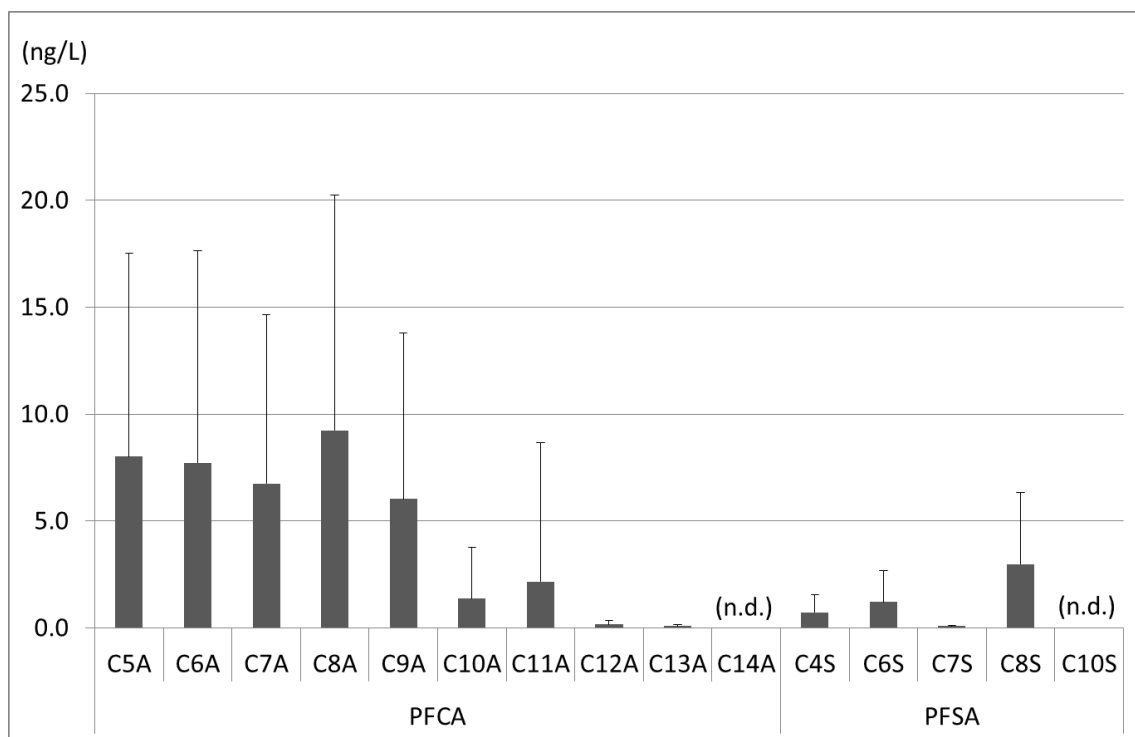


Fig. III-2. 環境水からの PFCA 検出量



(エラーバーは標準偏差)

Fig. III-3a. 環境水からの検出量の PFCA ごとの平均

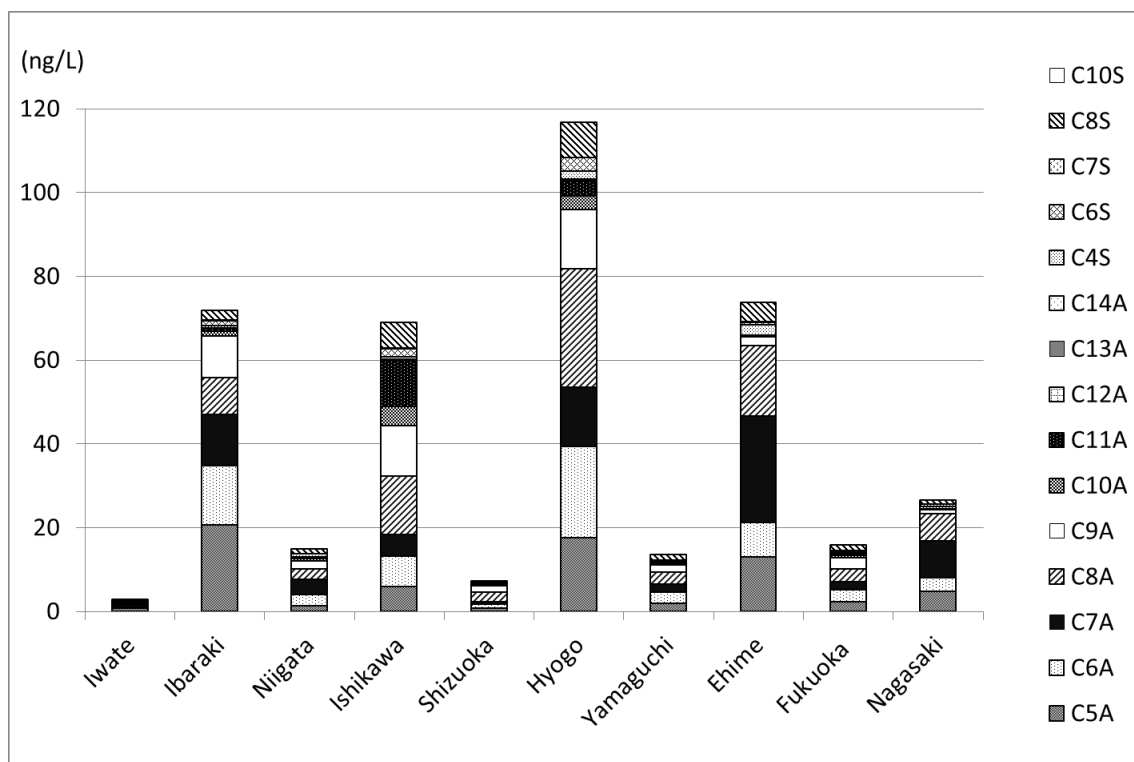


Fig. III-3b. 環境水からの検出量の採取地点ごとの平均

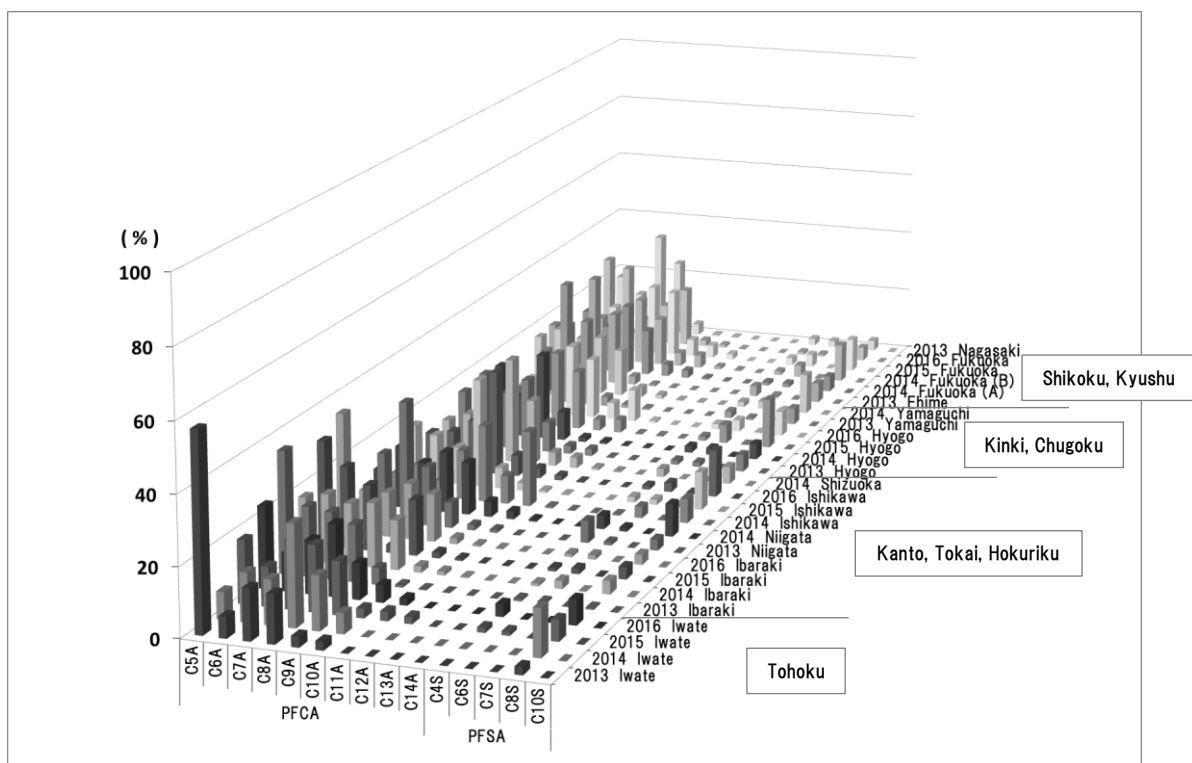


Fig. III-4. 環境水から検出された PFAS の組成

Table III-2. 環境水から検出された PFAA (ng/L)

| Site               | Year | Perfluorocarboxylates |      |      |      |      |      |      |      |      |      | Perfluorosulfonates |      |      |      |      | PFAA  |
|--------------------|------|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---------------------|------|------|------|------|-------|
|                    |      | C5A                   | C6A  | C7A  | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S                 | C6S  | C7S  | C8S  | C10S | total |
| Iwate              | 2013 | 1.8                   | 0.19 | 0.46 | 0.44 | 0.10 | 0.08 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.07 | n.d. | 3.1   |
|                    | 2014 | 0.06                  | 0.11 | 0.10 | 0.22 | 0.12 | 0.05 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.10 | n.d. | 0.75  |
|                    | 2015 | 0.88                  | 0.55 | 0.94 | 0.92 | 0.74 | 0.13 | 0.13 | 0.10 | n.d. | n.d. | 0.07                | 0.06 | n.d. | 0.30 | n.d. | 4.8   |
|                    | 2016 | 0.41                  | 0.19 | 0.27 | 0.36 | 0.18 | 0.09 | 0.03 | n.d. | n.d. | n.d. | 0.06                | n.d. | n.d. | 0.13 | n.d. | 1.7   |
| Ibaraki            | 2013 | 11                    | 6.0  | 5.7  | 4.9  | 1.4  | 0.19 | 0.08 | 0.03 | n.d. | n.d. | 0.20                | 0.18 | n.d. | 0.15 | n.d. | 29    |
|                    | 2014 | 15                    | 16   | 14   | 15   | 12   | 1.5  | 0.88 | 0.27 | 0.03 | n.d. | 0.65                | 1.9  | 0.05 | 3.1  | n.d. | 80    |
|                    | 2015 | 31                    | 24   | 19   | 2.4  | 16   | 1.7  | 0.67 | 0.04 | n.d. | n.d. | 1.0                 | 1.6  | 0.06 | 3.6  | n.d. | 100   |
|                    | 2016 | 27                    | 10   | 10   | 12   | 11   | 1.4  | 0.42 | 0.15 | 0.03 | n.d. | 0.69                | 0.99 | 0.07 | 2.3  | n.d. | 76    |
| Niigata            | 2013 | 0.62                  | 2.5  | 4.4  | 2.1  | 0.92 | 0.19 | 0.10 | n.d. | n.d. | n.d. | 0.80                | 0.12 | n.d. | 0.40 | n.d. | 12    |
|                    | 2014 | 1.9                   | 3.2  | 2.5  | 3.2  | 2.7  | 0.80 | 0.42 | 0.11 | n.d. | n.d. | 0.71                | 0.19 | n.d. | 1.7  | n.d. | 17    |
| Ishikawa           | 2014 | 8.3                   | 13   | 6.9  | 21   | 32   | 12   | 32   | 0.73 | 0.20 | n.d. | 0.48                | 4.8  | 0.10 | 10   | n.d. | 140   |
|                    | 2015 | 7.1                   | 6.1  | 4.8  | 14   | 2.7  | 1.0  | 0.31 | 0.12 | n.d. | n.d. | 0.70                | 0.67 | 0.09 | 4.9  | n.d. | 42    |
|                    | 2016 | 2.5                   | 2.7  | 3.7  | 7.3  | 1.5  | 0.71 | 0.34 | 0.07 | n.d. | n.d. | 0.27                | 0.63 | 0.09 | 3.3  | n.d. | 23    |
| Shizuoka           | 2014 | 0.81                  | 1.0  | 0.51 | 2.4  | 1.5  | 0.30 | 0.24 | 0.05 | 0.03 | n.d. | 0.18                | n.d. | n.d. | 0.39 | n.d. | 7.3   |
| Hyogo              | 2013 | 25                    | 34   | 26   | 33   | 14   | 3.8  | 3.1  | 0.28 | 0.11 | n.d. | 2.0                 | 2.1  | 0.17 | 7.7  | n.d. | 150   |
|                    | 2014 | 28                    | 37   | 22   | 45   | 15   | 2.3  | 1.2  | 0.12 | 0.08 | n.d. | 3.4                 | 3.5  | 0.15 | 8.1  | n.d. | 170   |
|                    | 2015 | 8.7                   | 8.6  | 4.5  | 19   | 15   | 2.8  | 3.2  | 0.17 | 0.22 | n.d. | 1.1                 | 4.6  | 0.15 | 12   | n.d. | 80    |
|                    | 2016 | 8.7                   | 7.6  | 4.4  | 16   | 13   | 3.7  | 7.1  | 0.45 | n.d. | n.d. | 1.1                 | 2.5  | 0.18 | 5.4  | n.d. | 70    |
| Yamaguchi          | 2013 | 0.26                  | 0.89 | 2.1  | 1.5  | 0.16 | 0.06 | 0.02 | n.d. | n.d. | n.d. | 0.12                | 0.03 | n.d. | 0.28 | n.d. | 5.4   |
|                    | 2014 | 3.7                   | 4.4  | 1.7  | 4.0  | 3.2  | 0.67 | 0.28 | 0.06 | 0.03 | n.d. | 0.36                | 0.52 | 0.03 | 2.7  | n.d. | 22    |
| Ehime              | 2013 | 13                    | 8.2  | 25   | 17   | 2.0  | 0.38 | 0.14 | n.d. | n.d. | n.d. | 2.4                 | 0.57 | 0.09 | 4.6  | n.d. | 74    |
| Fukuoka (A)<br>(B) | 2014 | 1.2                   | 1.7  | 1.3  | 2.0  | 1.3  | 0.34 | 0.21 | 0.05 | n.d. | n.d. | 0.09                | 0.11 | n.d. | 0.43 | n.d. | 8.7   |
|                    | 2014 | 1.7                   | 3.8  | 4.3  | 5.8  | 4.1  | 1.2  | 1.1  | 0.24 | 0.09 | n.d. | 0.33                | 1.0  | 0.03 | 3.2  | n.d. | 27    |
|                    | 2015 | 0.48                  | 0.93 | 0.40 | 1.4  | 1.4  | 0.35 | 0.26 | 0.11 | n.d. | n.d. | 0.15                | 0.26 | n.d. | 0.68 | n.d. | 6.4   |
|                    | 2016 | 5.7                   | 5.2  | 1.5  | 2.7  | 4.0  | 0.40 | 0.18 | 0.03 | n.d. | n.d. | 0.19                | 0.15 | 0.03 | 0.91 | n.d. | 21    |
| Nagasaki           | 2013 | 4.8                   | 3.3  | 8.8  | 6.5  | 1.0  | 0.13 | 0.08 | n.d. | n.d. | n.d. | 0.55                | 0.51 | 0.02 | 0.87 | n.d. | 26    |
| mean               |      | 8.0                   | 7.7  | 6.8  | 9.2  | 6.0  | 1.4  | 2.2  | 0.17 | 0.09 | -    | 0.73                | 1.2  | 0.09 | 3.0  | -    | 46    |
| SD                 |      | 9.5                   | 9.9  | 7.9  | 11   | 7.8  | 2.4  | 6.5  | 0.17 | 0.07 | -    | 0.82                | 1.4  | 0.05 | 3.3  | -    | 49    |

n.d. : below LOD

## (2) 底質から検出される PFPA

各年、各地点の底質サンプルから検出された乾燥重量あたりの PFPA を Fig. III-5.及び Table III-3. に示す。また、検出量の PFPA ごとの平均を Fig. III-6a.に（エラーバーは標準偏差）、検出量の採取地点ごとの平均を Fig. III-6b.に示す。Table に記載の数値は、3 連で試験を行った平均値（LOQ 未満を 0 として計算、n.d.は 3 連すべてが LOD 未満であったもの）である。

環境水と同様に、採取地点、採取年によって検出量の差が非常に大きいことが明らかとなった。検出の傾向を把握するために検出率を算出したところ、C8A～C12A、C8S で 62～88%と高率であった一方で、C4S、C6S、C7S はすべての年、地点で全く検出されておらず、0%であった。底質からの検出量も、C8A～C12A と C8S が多い傾向が見られた。採取地点別に見ると、石川、兵庫で比較的ほかの地点よりも検出された PFPA の総量は高い傾向にあった（Fig. III-6b.）。これらの地点は、環境水と同様、都市部郊外の水田の広がっている地域又は公園であり、近隣に PFPA の発生源となるような事業場などの施設は見当たらなかった。愛媛と長崎のサンプルは、砂質で細かい石が多く、他の地点と比較して検出量は少なかった。また、Fig. III-6b.からは、各採取地点で検出された PFPA の構成割合に一定の傾向は見られなかった。そこで、環境水と同様に検出量の合計に占める各 PFPA の組成比を算出したところ（Fig. III-7.）、採取年や採取地点によりばらつきは大きかったものの、15 種の PFPA のの中では、検出率、検出量と同様に C8A～C12A 及び C8S の組成比が大きい傾向にあることが明らかとなった。

底質からの検出は、底質の性状に大きくかかわっており、砂質であるか泥質であるかによって蓄積量が異なるものと考えられる。サンプルによる底質の性状の差をなくすために、2015 年と 2016 年に採取した底質については強熱減量（IL）を測定し、乾燥重量あたりとともに IL あたりの濃度としても算出した（Fig. III-8.）。乾燥重量あたりの濃度と IL あたりの濃度の比較については、III-4（6）で詳述する。

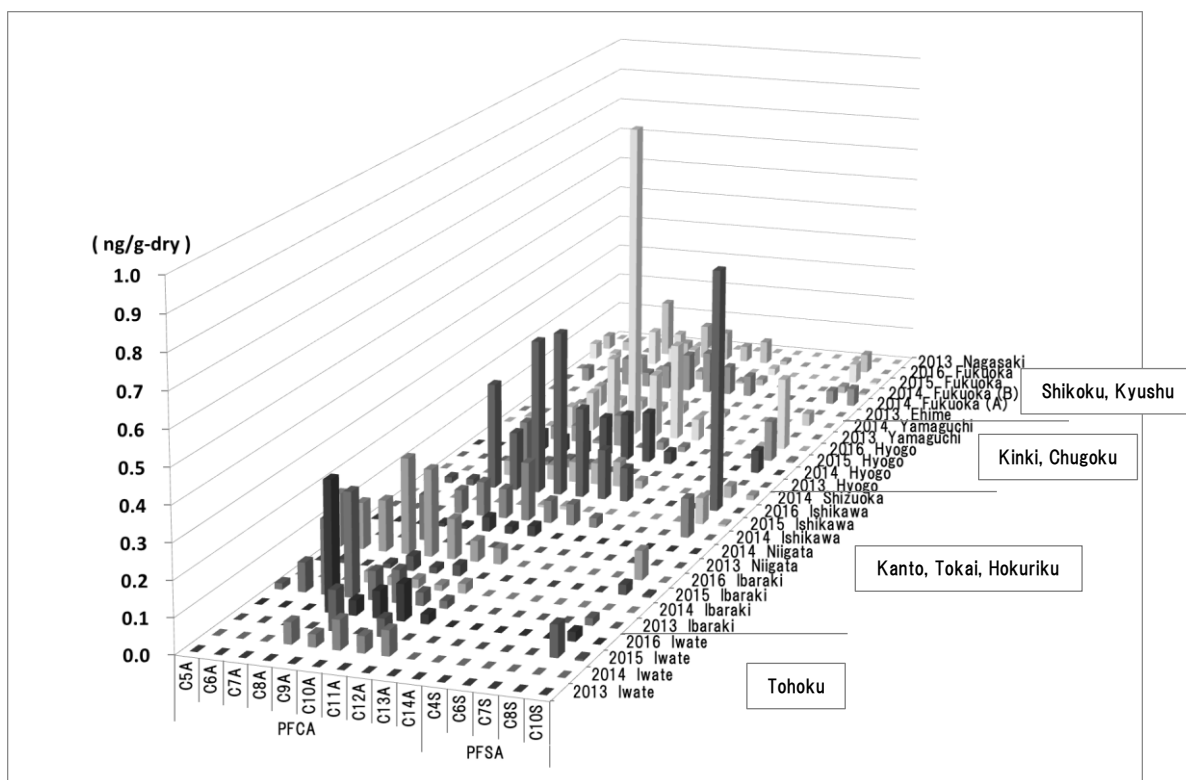
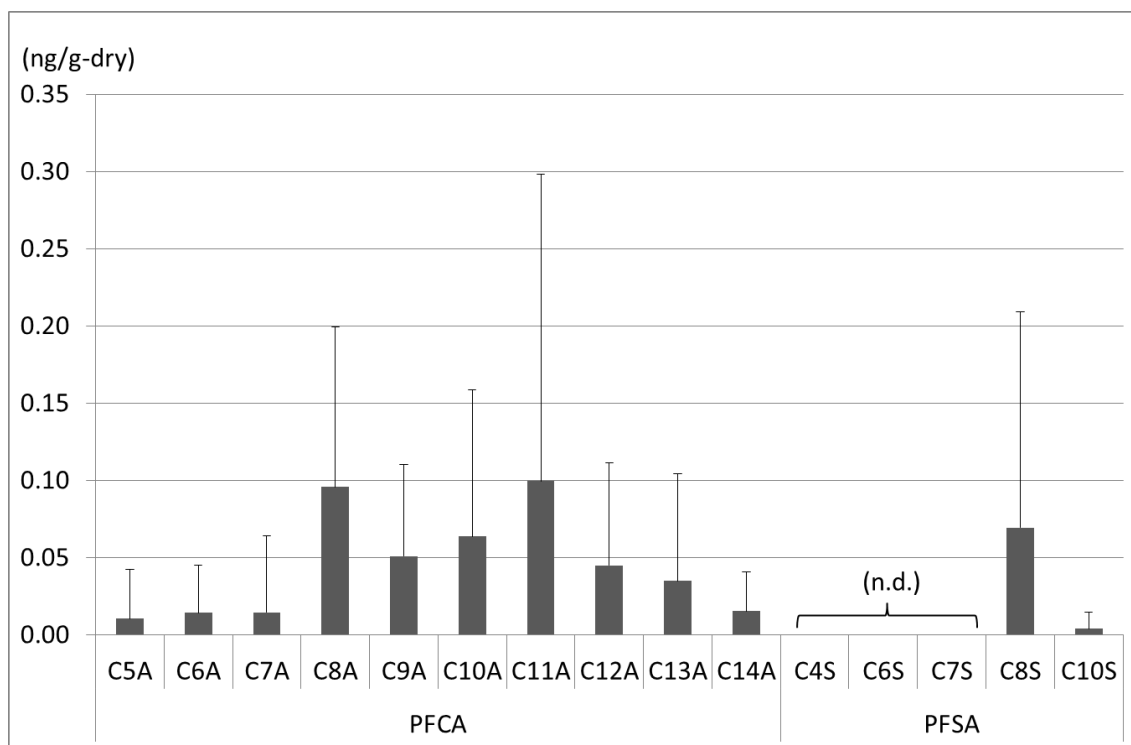


Fig. III-5. 底質からの PFAA 検出量（乾燥重量あたり）



(エラーバーは標準偏差)

Fig. III-6a. 底質からの PFAA ごとの検出量（乾燥重量あたり）の平均



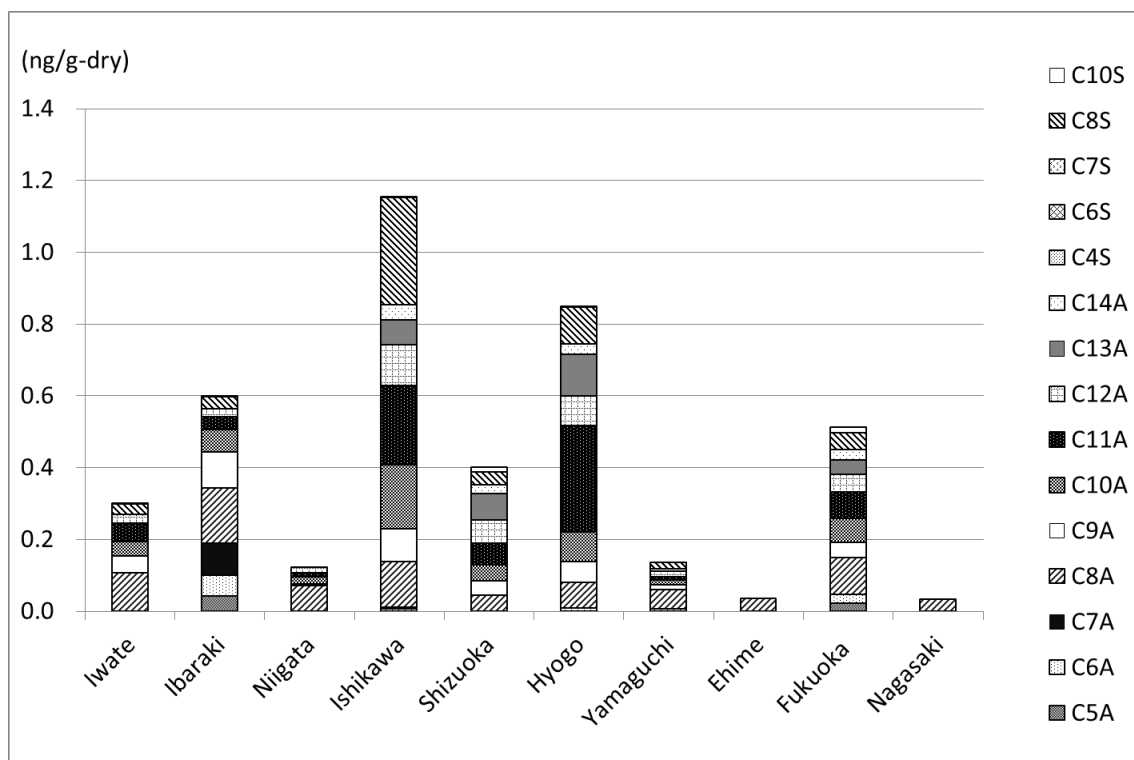


Fig. III-6b. 底質からの検出量（乾燥重量あたり）の採取地点ごとの平均

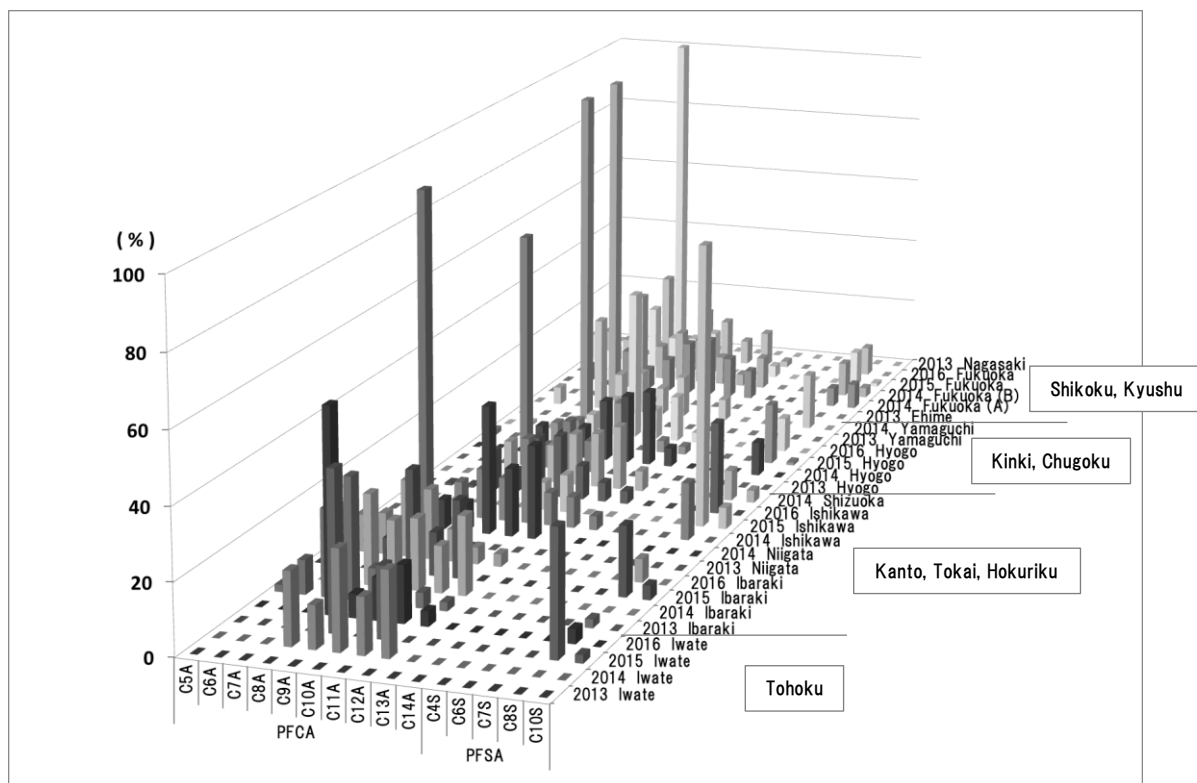
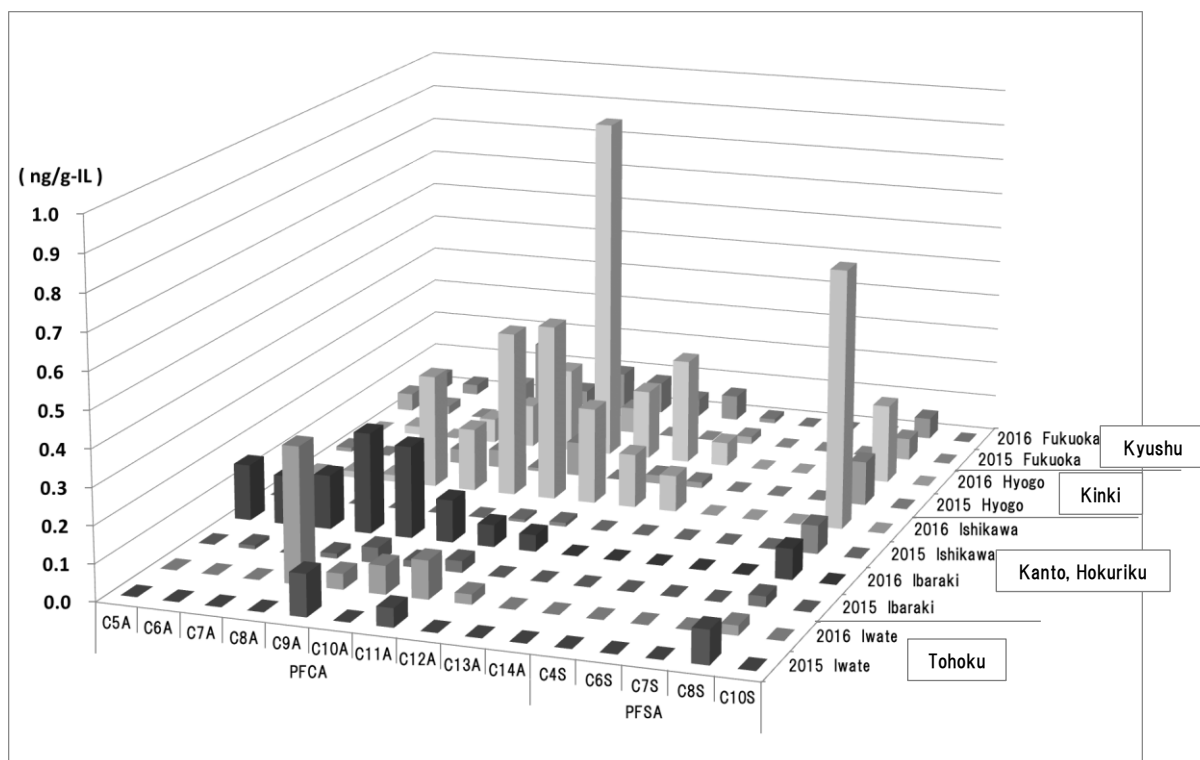


Fig. III-7. 底質から検出された PFAA の組成比



**Fig. III-8.** 底質からの PFAA 検出量 (IL あたり)  
(2015、2016 年サンプル)

**Table III-3.** 底質から検出された PFAA (ng/g-dry)

| Site               | Year | Perfluorocarboxylates |      |      |      |      |      |      |      |      |      | Perfluorosulfonates |      |      |      |      | PFAA  |
|--------------------|------|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---------------------|------|------|------|------|-------|
|                    |      | C5A                   | C6A  | C7A  | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S                 | C6S  | C7S  | C8S  | C10S | total |
| Iwate              | 2013 | n.d.                  | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.  |
|                    | 2014 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.06 | 0.04 | 0.08 | 0.05 | 0.07 | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0.30  |
|                    | 2015 | n.d.                  | n.d. | n.d. | n.d. | 0.11 | n.d. | 0.05 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.09 | 0.01 | 0.26  |
|                    | 2016 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.37 | 0.04 | 0.08 | 0.10 | 0.03 | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.03 | n.d. | 0.64  |
| Ibaraki            | 2013 | 0.02                  | 0.08 | 0.21 | 0.30 | 0.08 | 0.09 | 0.04 | 0.02 | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.02 | n.d. | 0.86  |
|                    | 2014 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.03 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.03 | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0.12  |
|                    | 2015 | n.d.                  | 0.01 | n.d. | 0.01 | 0.04 | 0.02 | 0.03 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.03 | 0.01 | 0.14  |
|                    | 2016 | 0.15                  | 0.13 | 0.15 | 0.28 | 0.25 | 0.12 | 0.06 | 0.05 | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.08 | n.d. | 1.3   |
| Niigata            | 2013 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.13 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0.13  |
|                    | 2014 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.01 | 0.01 | 0.04 | 0.02 | 0.03 | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0.11  |
| Ishikawa           | 2014 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.07 | 0.10 | 0.09 | 0.17 | 0.07 | 0.06 | 0.03 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.11 | n.d. | 0.69  |
|                    | 2015 | n.d.                  | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0.01 | 0.01 | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.08 | 0.01 | 0.09  |
|                    | 2016 | n.d.                  | 0.02 | 0.02 | 0.31 | 0.17 | 0.45 | 0.48 | 0.26 | 0.15 | 0.10 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.71 | n.d. | 2.7   |
| Shizuoka           | 2014 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.06 | 0.06 | 0.07 | 0.02 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.04 | 0.01 | 0.40  |
| Hyogo              | 2013 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.13 | 0    | 0.0  | 0.0  | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0.18  |
|                    | 2014 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.06 | 0.05 | 0.06 | 0.12 | 0.14 | 0.15 | 0.04 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.07 | n.d. | 0.69  |
|                    | 2015 | 0.01                  | n.d. | n.d. | 0.04 | 0.05 | 0.01 | 0.09 | n.d. | 0.02 | 0.02 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.12 | 0.01 | 0.68  |
|                    | 2016 | n.d.                  | 0.02 | n.d. | 0.07 | 0.12 | 0.23 | 0.95 | 0.19 | 0.29 | 0.07 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.22 | n.d. | 2.2   |
| Yamaguchi          | 2013 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.05 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0.05  |
|                    | 2014 | n.d.                  | 0.0  | n.d. | 0.06 | 0.03 | 0.03 | 0.02 | 0.03 | n.d. | 0.01 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.04 | n.d. | 0.23  |
| Ehime              | 2013 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.04 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0.04  |
| Fukuoka (A)<br>(B) | 2014 | n.d.                  | 0.0  | n.d. | 0.08 | 0.04 | 0.07 | 0.11 | 0.13 | 0.09 | 0.06 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.04 | 0.05 | 0.73  |
|                    | 2014 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.05 | 0.02 | 0.03 | 0.03 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.02 | 0.01 | 0.20  |
|                    | 2015 | 0.05                  | 0.02 | n.d. | 0.11 | 0.06 | 0.06 | 0.07 | n.d. | n.d. | 0.02 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.06 | 0.01 | 0.57  |
|                    | 2016 | 0.04                  | 0.03 | n.d. | 0.17 | 0.04 | 0.10 | 0.09 | 0.05 | 0.07 | 0.01 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.06 | n.d. | 0.67  |
| Nagasaki           | 2013 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 0.03 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0.03  |
| mean               |      | 0.06                  | 0.04 | 0.08 | 0.09 | 0.07 | 0.09 | 0.14 | 0.08 | 0.10 | 0.04 | -                   | -    | -    | 0.12 | 0.01 | 0.56  |
| SD                 |      | 0.06                  | 0.04 | 0.09 | 0.08 | 0.06 | 0.11 | 0.23 | 0.08 | 0.09 | 0.03 | -                   | -    | -    | 0.17 | 0.02 | 0.68  |

n.d. : when all triplicate test results were below LOD

### (3) メダカから検出される PFAA

各年、各地点のメダカから検出された PFAA を Fig. III-9.及び Table III-4.に示す。また、検出量の PFAA ごとの平均を Fig. III-10a.に（エラーバーは標準偏差）、検出量の採取地点ごとの平均を Fig. III-10b.に示す。表の数字は、各年で分析したメダカから検出された PFAA 濃度の平均値±標準誤差を表している（平均値は、LOQ 未満を 0 として計算、n.d.はすべてのメダカで LOD 未満であったもの）。なお、2014 年の福岡（B）については、カダヤシからの検出結果である。PFCA は C8A～C13A が、PFSA は C8S がすべての年ですべての地点のメダカから検出された。個々のメダカからの検出率は、C8A が 60 %、C9A が 73 %、C10A が 90 %、C11 が 99 %、C12A が 93 %、C13A が 96 %、C14A が 76 %、C8S が 95 %であった。また、Table III-4.に示した平均値及び標準誤差から、各地点・各年のメダカからの PFAA 検出量の母平均の 95 %信頼区間を算出した（Table III-5.）。計算上、95 %信頼区間の下限値がマイナスになる場合は、求めているのは検出量であることから、下限値は 0 とした。同じ地点のメダカでも、採取年が異なれば母集団が異なることになるため、検出量の 95 %信頼区間にはばらつきが見られた。

採取地点別に見ると、底質と同様に石川、兵庫で比較的ほかの地点よりも検出された PFAA の総量は高い傾向にあったが、PFAA の由来の推定には至らなかった。Fig. III-9b.からは、各採取地点で検出された PFAA の構成割合に一定の傾向は見られなかった。環境水、底質と同様に検出量の合計に占める各 PFAA の組成比を算出したところ（Fig. III-11.）、採取年や採取地点により若干の差はあるものの、15 種の PFAA の中では概ね PFCA の C9A～C13A 及び PFSA の C8S の組成比が大きい傾向にあることが明らかとなった。

メダカからの検出量について、性別によって差があるかどうかを検討した。対象の PFAA は、メダカからの検出率が 60 %以上であった C8A～C14A と C8S とした。なお、対象としたメダカは、性別を確実に判別できたオス 288 匹とメス 305 匹とした。検出量に有意差が見られたのは、岩手 C14A（5 %有意）、茨城 C12A（1 %有意）、C13A（1 %有意）、C14A（1 %有意）、石川 C9A（1 %有意）、C10A（1 %有意）、C11A（5 %有意）、C14A（5 %有意）、C8S（1 %有意）、静岡 C13A（5 %有意）、C14A（1 %有意）、兵庫 C9A（5 %有意）、山口 C14A（5 %有意）、愛媛 C10A（1 %有意）、C12A（1 %有意）、C13A（1 %有意）、C14A（1 %有意）、福岡 C10A（5 %有意）、全地点 C10A（5 %有意）、C12A（5 %有意）、C14A（5 %有意）、C8S（5 %有意）であった。長崎では、どの PFAA にもオスとメスの検出量に有意な差は見られなかった。（Table III-6.）。また、体長と検出量に相関があるかを採取地点ごと及び全地点で検討したところ、新潟の C13A が 0.66（1 %有意）、石川の C9A が 0.66（1 %有意）、C10A が 0.64（1 %有意）、C11A が 0.79（1 %有意）と相関係数が 0.6 ～ 0.8 程度見られたものの、その他の地点及び全地点、PFAA ではそれほど高い相関係数にはなっていなかった（Table III-7.）。なお、体長と検出量の間に負の相関となっているものも多く、特に福岡では、検討したすべての PFAA で相関係数が負となっていた。

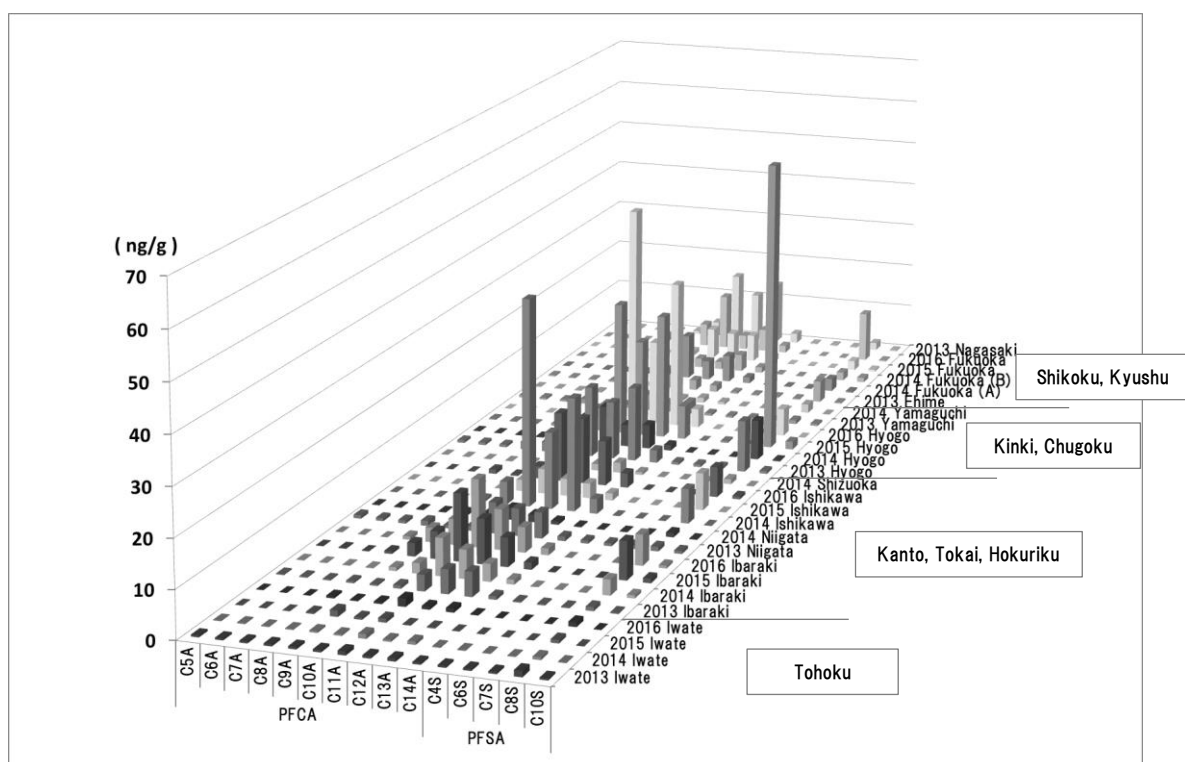
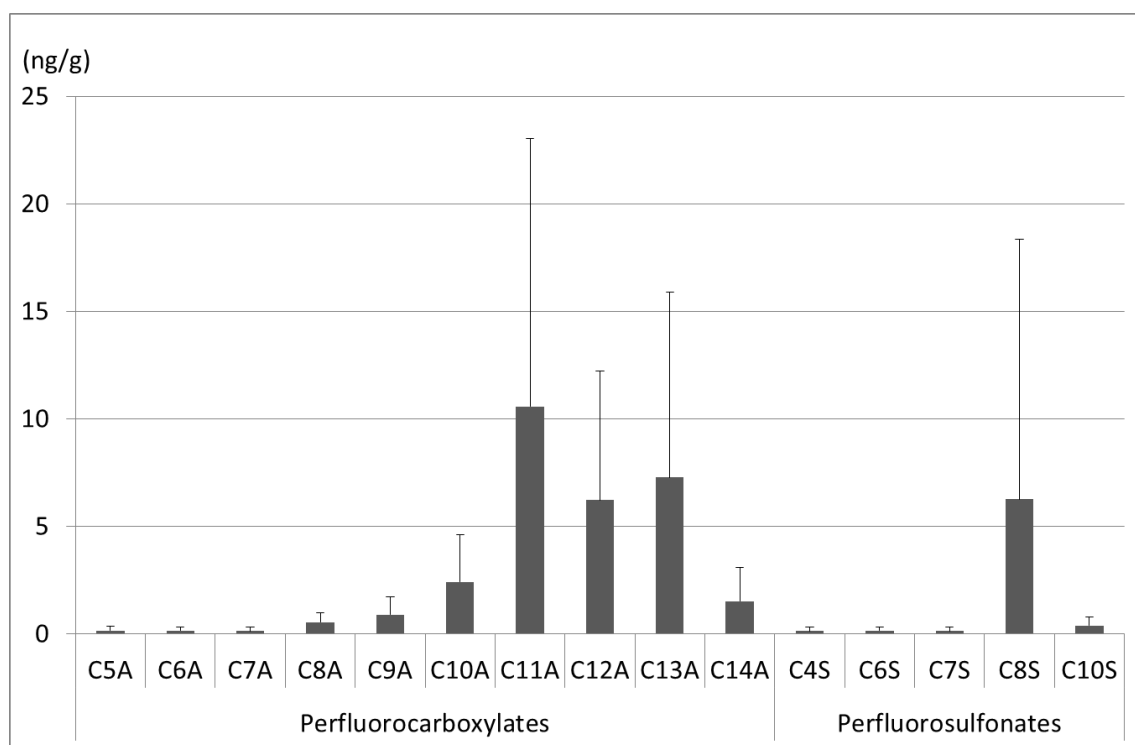


Fig. III-9. メダカからの PFCA 検出量



(エラーバーは標準偏差)

Fig. III-10a. メダカからの PFCA ごとの検出量の平均

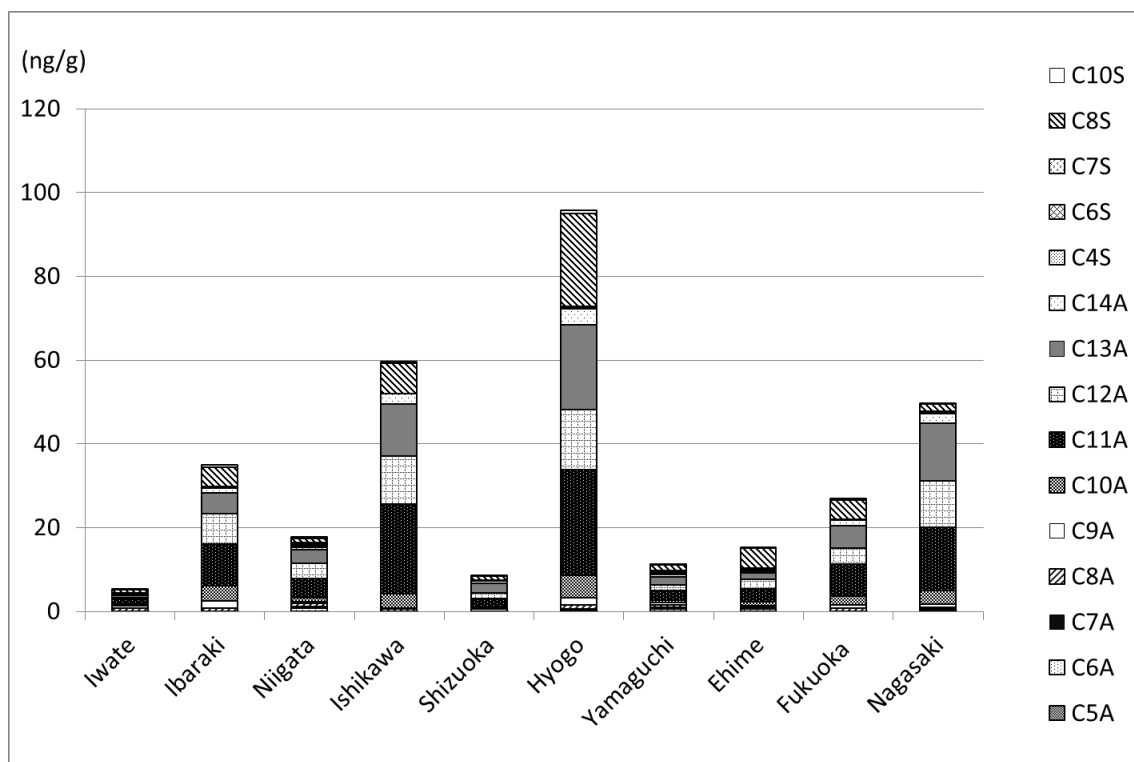


Fig. III-10b. メダカからの検出量の採取地点ごとの平均

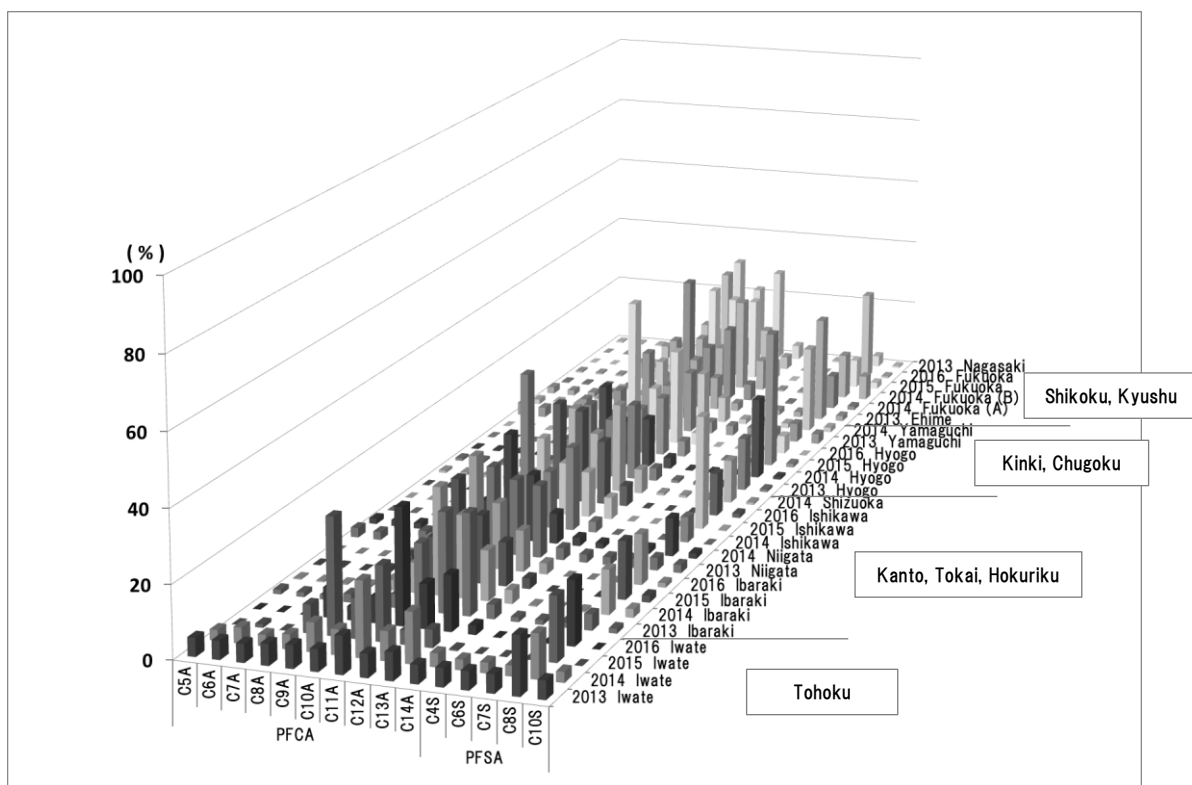


Fig. III-11. メダカから検出された PFAS の組成比

**Table III-4.** メダカから検出された PFAA (ng/g) (平均±標準誤差)

| Site                | Year |        | Perfluorocarboxylates |             |             |             |             |             |             |             |             |             | Perfluorosulfonates |             |             |             |             | PFAA total |
|---------------------|------|--------|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|
|                     |      |        | C5A                   | C6A         | C7A         | C8A         | C9A         | C10A        | C11A        | C12A        | C13A        | C14A        | C4S                 | C6S         | C7S         | C8S         | C10S        |            |
| Iwate               | 2013 | (n=30) | 0.40 ± 1.6            | 0.40 ± 1.6  | 0.40 ± 1.6  | 0.46 ± 1.6  | 0.49 ± 1.4  | 0.47 ± 1.4  | 0.81 ± 1.4  | 0.50 ± 1.3  | 0.59 ± 1.3  | 0.40 ± 1.6  | 0.40 ± 1.6          | 0.40 ± 1.6  | 0.40 ± 1.6  | 1.2 ± 1.8   | 0.40 ± 1.6  | 7.8        |
|                     | 2014 | (n=23) | 0.13 ± 1.3            | 0.20 ± 2.8  | 0.15 ± 1.4  | 0.18 ± 1.9  | 0.37 ± 2.1  | 0.32 ± 1.9  | 0.94 ± 1.8  | 0.37 ± 1.9  | 0.64 ± 2.3  | 0.17 ± 1.7  | 0.13 ± 1.3          | 0.13 ± 1.3  | 0.13 ± 1.3  | 0.56 ± 1.9  | 0.13 ± 1.3  | 4.5        |
|                     | 2015 | (n=30) | n.d.                  | 0.04 ± 0.02 | n.d.        | 0.31 ± 0.07 | 1.3 ± 0.08  | 0.44 ± 0.04 | 0.82 ± 0.05 | 0.16 ± 0.03 | 0.20 ± 0.03 | 0.02 ± 0.01 | n.d.                | n.d.        | n.d.        | 0.71 ± 0.06 | n.d.        | 4.0        |
|                     | 2016 | (n=30) | n.d.                  | n.d.        | n.d.        | 0.44 ± 0.06 | 0.20 ± 0.03 | 0.39 ± 0.05 | 1.7 ± 0.20  | 0.65 ± 0.11 | 0.82 ± 0.12 | 0.14 ± 0.02 | n.d.                | n.d.        | n.d.        | 0.95 ± 0.11 | n.d.        | 5.3        |
| Ibaraki             | 2013 | (n=22) | 0.24 ± 1.6            | 0.24 ± 1.6  | 0.24 ± 1.6  | 0.42 ± 2.5  | 0.32 ± 1.5  | 0.69 ± 1.9  | 3.4 ± 2.4   | 5.1 ± 2.1   | 5.2 ± 1.8   | 0.73 ± 1.7  | 0.24 ± 1.6          | 0.24 ± 1.6  | 0.25 ± 1.6  | 0.81 ± 2.2  | 0.24 ± 1.6  | 18         |
|                     | 2014 | (n=27) | 0.10 ± 1.2            | 0.10 ± 1.2  | 0.10 ± 1.2  | 0.15 ± 2.1  | 0.78 ± 1.4  | 2.2 ± 1.5   | 7.9 ± 1.4   | 6.0 ± 1.4   | 3.7 ± 1.4   | 1.0 ± 1.4   | 0.10 ± 1.2          | 0.10 ± 1.2  | 0.10 ± 1.2  | 3.3 ± 1.5   | 0.63 ± 1.3  | 26         |
|                     | 2015 | (n=28) | 0.08 ± 0.03           | 0.16 ± 0.08 | 0.03 ± 0.02 | 0.55 ± 0.09 | 2.8 ± 0.10  | 5.8 ± 0.36  | 14 ± 1.3    | 9.5 ± 0.81  | 6.1 ± 0.63  | 1.5 ± 0.10  | n.d.                | n.d.        | n.d.        | 8.1 ± 0.46  | 0.96 ± 0.07 | 50         |
|                     | 2016 | (n=20) | n.d.                  | n.d.        | n.d.        | 0.73 ± 0.08 | 3.0 ± 0.28  | 5.4 ± 0.49  | 14 ± 1.6    | 8.5 ± 1.0   | 5.3 ± 0.60  | 1.4 ± 0.15  | n.d.                | n.d.        | n.d.        | 6.5 ± 0.50  | 0.58 ± 0.06 | 46         |
| Niigata             | 2013 | (n=29) | 0.73 ± 1.7            | 0.62 ± 1.3  | 0.67 ± 1.5  | 1.1 ± 2.2   | 0.62 ± 1.3  | 0.98 ± 1.8  | 6.6 ± 2.4   | 5.8 ± 2.3   | 5.5 ± 2.0   | 0.92 ± 1.5  | 0.62 ± 1.3          | 0.62 ± 1.3  | 0.68 ± 1.6  | 0.95 ± 1.9  | 0.62 ± 1.3  | 27         |
|                     | 2014 | (n=17) | 0.13 ± 1.5            | 0.15 ± 1.7  | 0.13 ± 1.5  | 0.18 ± 2.3  | 0.46 ± 1.8  | 0.87 ± 2.3  | 2.5 ± 2.6   | 1.6 ± 2.4   | 0.73 ± 2.6  | 0.20 ± 2.1  | 0.13 ± 1.5          | 0.13 ± 1.5  | 0.13 ± 1.5  | 0.91 ± 2.2  | 0.13 ± 1.5  | 8.4        |
| Ishikawa            | 2014 | (n=21) | 0.06 ± 1.7            | 0.06 ± 1.6  | 0.15 ± 2.0  | 0.08 ± 2.0  | 0.60 ± 1.6  | 4.8 ± 1.5   | 44 ± 1.6    | 16 ± 2.0    | 24 ± 2.6    | 3.1 ± 1.9   | 0.05 ± 1.2          | 0.05 ± 1.2  | 0.05 ± 1.2  | 7.4 ± 1.4   | 0.08 ± 1.6  | 100        |
|                     | 2015 | (n=22) | n.d.                  | 0.02 ± 0.02 | n.d.        | 0.24 ± 0.10 | 0.06 ± 0.03 | 2.4 ± 0.24  | 5.3 ± 0.39  | 3.7 ± 0.21  | 3.18 ± 0.15 | 1.5 ± 0.08  | n.d.                | n.d.        | n.d.        | 7.9 ± 0.57  | 0.07 ± 0.03 | 24         |
|                     | 2016 | (n=20) | n.d.                  | n.d.        | n.d.        | 0.93 ± 0.13 | 0.29 ± 0.06 | 2.7 ± 0.37  | 15 ± 2.1    | 14 ± 2.4    | 9.7 ± 1.6   | 3.1 ± 0.43  | n.d.                | n.d.        | n.d.        | 6.5 ± 0.78  | 0.64 ± 0.12 | 53         |
| Shizuoka            | 2014 | (n=25) | 0.06 ± 1.2            | 0.07 ± 1.8  | 0.06 ± 1.2  | 0.09 ± 2.1  | 0.24 ± 1.5  | 0.52 ± 1.3  | 2.0 ± 1.3   | 1.4 ± 1.4   | 2.2 ± 1.5   | 0.61 ± 1.5  | 0.06 ± 1.2          | 0.06 ± 1.2  | 0.06 ± 1.2  | 1.1 ± 1.3   | 0.06 ± 1.2  | 8.6        |
| Hyogo               | 2013 | (n=21) | 0.57 ± 2.0            | 0.57 ± 2.0  | 0.57 ± 2.0  | 1.7 ± 2.0   | 2.2 ± 1.6   | 7.3 ± 1.4   | 15 ± 1.4    | 12 ± 1.6    | 16 ± 1.6    | 2.8 ± 1.6   | 0.57 ± 2.0          | 0.57 ± 2.0  | 0.57 ± 2.0  | 11 ± 1.6    | 0.57 ± 2.0  | 73         |
|                     | 2014 | (n=23) | 0.10 ± 1.4            | 0.11 ± 1.6  | 0.10 ± 1.4  | 0.23 ± 3.1  | 1.8 ± 1.5   | 5.6 ± 1.3   | 8.4 ± 1.3   | 4.8 ± 1.3   | 5.3 ± 1.3   | 1.2 ± 1.3   | 0.10 ± 1.4          | 0.10 ± 1.4  | 0.10 ± 1.4  | 8.6 ± 1.2   | 0.27 ± 1.4  | 37         |
|                     | 2015 | (n=24) | 0.26 ± 0.19           | 0.19 ± 0.16 | 0.02 ± 0.02 | 0.50 ± 0.17 | 2.1 ± 0.31  | 5.0 ± 0.42  | 29 ± 2.3    | 21 ± 1.1    | 27 ± 1.9    | 7.4 ± 0.60  | n.d.                | 0.37 ± 0.08 | 0.02 ± 0.02 | 63 ± 5.0    | 1.7 ± 0.17  | 160        |
|                     | 2016 | (n=20) | n.d.                  | n.d.        | n.d.        | 0.97 ± 0.12 | 0.82 ± 0.05 | 3.8 ± 0.31  | 48 ± 8.1    | 19 ± 2.9    | 32 ± 4.8    | 4.1 ± 0.42  | n.d.                | n.d.        | n.d.        | 6.0 ± 0.30  | 0.01 ± 0.01 | 110        |
| Yamaguchi           | 2013 | (n=42) | 0.58 ± 1.7            | 0.45 ± 1.6  | 0.45 ± 1.6  | 1.0 ± 2.3   | 0.45 ± 1.6  | 0.67 ± 1.9  | 3.5 ± 2.2   | 2.1 ± 2.1   | 2.8 ± 1.9   | 0.52 ± 1.5  | 0.45 ± 1.6          | 0.45 ± 1.6  | 0.45 ± 1.6  | 0.84 ± 1.8  | 0.45 ± 1.6  | 15         |
|                     | 2014 | (n=26) | 0.11 ± 1.4            | 0.11 ± 1.3  | 0.11 ± 1.4  | 0.27 ± 2.7  | 0.57 ± 1.4  | 0.46 ± 1.6  | 1.3 ± 1.5   | 0.58 ± 1.9  | 1.1 ± 1.7   | 0.57 ± 1.4  | 0.11 ± 1.4          | 0.11 ± 1.4  | 0.11 ± 1.4  | 1.9 ± 1.5   | 0.11 ± 1.4  | 7.6        |
| Ehime               | 2013 | (n=35) | 0.31 ± 1.8            | 0.24 ± 1.6  | 0.24 ± 1.6  | 0.33 ± 1.8  | 0.31 ± 1.6  | 0.81 ± 1.8  | 3.1 ± 2.0   | 2.3 ± 2.3   | 1.5 ± 2.3   | 0.37 ± 2.1  | 0.24 ± 1.6          | 0.24 ± 1.6  | 0.24 ± 1.6  | 4.8 ± 2.2   | 0.24 ± 1.6  | 15         |
| Fukuoka (A)<br>(B)* | 2014 | (n=19) | 0.11 ± 1.3            | 0.11 ± 1.3  | 0.11 ± 1.3  | 0.15 ± 2.1  | 0.47 ± 1.3  | 1.5 ± 1.7   | 9.9 ± 2.0   | 4.3 ± 1.9   | 6.1 ± 1.7   | 1.4 ± 1.6   | 0.11 ± 1.3          | 0.11 ± 1.3  | 0.11 ± 1.3  | 2.8 ± 1.5   | 0.31 ± 2.4  | 28         |
|                     | 2014 | (n=12) | 0.07 ± 1.8            | 0.07 ± 1.8  | 0.07 ± 1.8  | 0.71 ± 1.7  | 0.49 ± 1.4  | 0.51 ± 1.3  | 2.0 ± 1.1   | 1.7 ± 1.2   | 3.8 ± 1.3   | 1.3 ± 1.3   | 0.07 ± 1.8          | 0.07 ± 1.8  | 0.07 ± 1.8  | 1.9 ± 1.3   | 1.0 ± 1.1   | 14         |
|                     | 2015 | (n=24) | n.d.                  | n.d.        | n.d.        | 0.38 ± 0.12 | 0.30 ± 0.10 | 1.0 ± 0.14  | 6.7 ± 1.6   | 6.1 ± 1.4   | 6.1 ± 1.7   | 1.3 ± 0.31  | 0.04 ± 0.03         | n.d.        | 0.02 ± 0.02 | 2.1 ± 0.39  | 0.47 ± 0.15 | 25         |
|                     | 2016 | (n=20) | n.d.                  | n.d.        | n.d.        | 1.6 ± 0.19  | 1.5 ± 0.19  | 5.2 ± 0.72  | 12 ± 1.5    | 3.3 ± 0.22  | 5.1 ± 0.27  | 1.6 ± 0.11  | n.d.                | n.d.        | n.d.        | 11 ± 1.1    | 0.26 ± 0.06 | 42         |
| Nagasaki            | 2013 | (n=19) | 0.22 ± 1.5            | 0.22 ± 1.5  | 0.22 ± 1.5  | 0.37 ± 1.8  | 0.66 ± 1.7  | 3.3 ± 2.3   | 15 ± 3.5    | 11 ± 3.9    | 14 ± 3.7    | 2.2 ± 2.5   | 0.22 ± 1.5          | 0.22 ± 1.5  | 0.24 ± 1.7  | 1.7 ± 2.4   | 0.29 ± 1.6  | 50         |

\* : カダヤシからの検出結果 (Fukuoka (B), 2014 のみ)

n.d. : when the extraction results from all medaka samples were below LOD

**Table III-5.** 各地点・各年のメダカからの PFAA 検出量の母平均の 95 %信頼区間 (ng/g)

| Site                | Year        | Perfluorocarboxylates |        |        |           |           |           |           |           |           |           | Perfluorosulfonates |           |        |           |           |
|---------------------|-------------|-----------------------|--------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------------|-----------|--------|-----------|-----------|
|                     |             | C5A                   | C6A    | C7A    | C8A       | C9A       | C10A      | C11A      | C12A      | C13A      | C14A      | C4S                 | C6S       | C7S    | C8S       | C10S      |
| Iwate               | 2013 (n=30) | 0~3.6                 | 0~3.6  | 0~3.6  | 0~3.7     | 0~3.4     | 0~3.2     | 0~3.7     | 0~3.2     | 0~3.3     | 0~3.6     | 0~3.6               | 0~3.6     | 0~3.6  | 0~5.0     | 0~3.6     |
|                     | 2014 (n=23) | 0~2.8                 | 0~6.1  | 0~3.1  | 0~4.1     | 0~4.6     | 0~4.2     | 0~4.6     | 0~4.2     | 0~5.3     | 0~3.7     | 0~2.8               | 0~2.8     | 0~2.8  | 0~4.4     | 0~2.8     |
|                     | 2015 (n=30) | -                     | 0~0.09 | -      | 0.17~0.46 | 1.1~1.5   | 0.35~0.49 | 0.71~0.93 | 0.10~0.21 | 0.13~0.27 | 0~0.04    | -                   | -         | -      | 0.59~0.83 | -         |
|                     | 2016 (n=30) | -                     | -      | -      | 0.32~0.55 | 0.15~0.26 | 0.29~0.49 | 1.3~2.1   | 0.43~0.87 | 0.58~1.1  | 0.09~0.18 | -                   | -         | -      | 0.72~1.2  | -         |
| Ibaraki             | 2013 (n=22) | 0~3.6                 | 0~3.6  | 0~3.6  | 0~5.6     | 0~3.4     | 0~4.7     | 0~8.5     | 0.72~9.4  | 1.3~9.0   | 0~4.4     | 0~3.6               | 0~3.6     | 0~3.5  | 0~5.4     | 0~3.6     |
|                     | 2014 (n=27) | 0~2.6                 | 0~2.6  | 0~2.6  | 0~4.4     | 0~3.7     | 0~5.2     | 5.1~11    | 3.3~8.8   | 0.84~6.5  | 0~3.9     | 0~2.6               | 0~2.6     | 0~2.6  | 0.28~6.3  | 0~3.3     |
|                     | 2015 (n=28) | 0.01~0.15             | 0~0.33 | 0~0.07 | 0.37~0.73 | 2.6~3.0   | 5.0~6.5   | 12~17     | 7.8~11    | 4.8~7.4   | 1.3~1.7   | -                   | -         | -      | 7.2~9.1   | 0.81~1.1  |
|                     | 2016 (n=20) | -                     | -      | -      | 0.57~0.88 | 2.5~3.6   | 4.4~6.4   | 11~18     | 6.4~11    | 4.1~6.6   | 1.1~1.7   | -                   | -         | -      | 5.5~7.5   | 0.46~0.70 |
| Niigata             | 2013 (n=29) | 0~4.2                 | 0~3.2  | 0~3.7  | 0~5.5     | 0~3.2     | 0~4.6     | 1.7~11    | 1.0~10    | 1.5~9.5   | 0~4.0     | 0~3.2               | 0~3.2     | 0~3.9  | 0~4.9     | 0~3.2     |
|                     | 2014 (n=17) | 0~3.2                 | 0~3.8  | 0~3.2  | 0~5.1     | 0~4.2     | 0~5.7     | 0~8.1     | 0~6.6     | 0~6.3     | 0~4.7     | 0~3.2               | 0~3.2     | 0~3.2  | 0~5.6     | 0~3.2     |
| Ishikawa            | 2014 (n=21) | 0~3.6                 | 0~3.3  | 0~4.4  | 0~4.3     | 0~3.9     | 1.7~7.9   | 41~48     | 12~21     | 19~30     | 0~7.0     | 0~2.6               | 0~2.6     | 0~2.6  | 4.4~10    | 0~3.4     |
|                     | 2015 (n=22) | -                     | 0~0.07 | -      | 0.03~0.45 | 0~0.13    | 1.9~2.9   | 4.5~6.1   | 3.2~4.1   | 2.9~3.5   | 1.4~1.7   | -                   | -         | -      | 6.8~9.1   | 0.01~0.12 |
|                     | 2016 (n=20) | -                     | -      | -      | 0.65~1.2  | 0.17~0.40 | 1.9~3.4   | 10~19     | 9.1~19    | 6.3~13    | 2.2~4.0   | -                   | -         | -      | 4.8~8.1   | 0.39~0.90 |
| Shizuoka            | 2014 (n=25) | 0~2.6                 | 0~3.7  | 0~2.6  | 0~4.3     | 0~3.3     | 0~3.1     | 0~4.7     | 0~4.3     | 0~5.2     | 0~3.7     | 0~2.6               | 0~2.6     | 0~2.6  | 0~3.7     | 0~2.6     |
| Hyogo               | 2013 (n=21) | 0~4.8                 | 0~4.8  | 0~4.8  | 0~5.9     | 0~5.5     | 4.4~10    | 12~18     | 9.2~16    | 13~20     | 0~6.1     | 0~4.8               | 0~4.8     | 0~4.8  | 7.8~15    | 0~4.8     |
|                     | 2014 (n=23) | 0~3.1                 | 0~3.4  | 0~3.1  | 0~6.6     | 0~4.9     | 2.9~8.2   | 5.7~11    | 2.1~7.5   | 2.5~8.0   | 0~3.9     | 0~3.1               | 0~3.1     | 0~3.1  | 6.0~11    | 0~3.2     |
|                     | 2015 (n=24) | 0~0.66                | 0~0.52 | 0~0.05 | 0.15~0.85 | 1.5~2.7   | 4.2~5.9   | 24~34     | 19~23     | 23~31     | 6.2~8.6   | -                   | 0.21~0.53 | 0~0.06 | 53~73     | 1.4~2.1   |
|                     | 2016 (n=20) | -                     | -      | -      | 0.71~1.2  | 0.71~0.94 | 3.1~4.4   | 31~65     | 12~25     | 22~42     | 3.2~5.0   | -                   | -         | -      | 5.4~6.7   | 0~0.03    |
| Yamaguchi           | 2013 (n=42) | 0~4.0                 | 0~3.7  | 0~3.7  | 0~5.8     | 0~3.7     | 0~4.4     | 0~7.9     | 0~6.3     | 0~6.5     | 0~3.6     | 0~3.7               | 0~3.7     | 0~3.7  | 0~4.5     | 0~3.7     |
|                     | 2014 (n=26) | 0~3.0                 | 0~2.8  | 0~3.0  | 0~5.8     | 0~3.4     | 0~3.8     | 0~4.5     | 0~4.5     | 0~4.5     | 0~3.5     | 0~3.0               | 0~3.0     | 0~3.0  | 0~4.9     | 0~3.0     |
| Ehime               | 2013 (n=35) | 0~4.0                 | 0~3.5  | 0~3.5  | 0~4.1     | 0~3.5     | 0~4.4     | 0~7.1     | 0~6.9     | 0~6.2     | 0~4.7     | 0~3.5               | 0~3.5     | 0~3.5  | 0.21~9.3  | 0~3.5     |
| Fukuoka (A)<br>(B)* | 2014 (n=19) | 0~2.8                 | 0~2.8  | 0~2.8  | 0~4.5     | 0~3.2     | 0~5.0     | 5.7~14    | 0.26~8.4  | 2.5~9.6   | 0~4.7     | 0~2.8               | 0~2.8     | 0~2.8  | 0~6.0     | 0~5.4     |
|                     | 2014 (n=12) | 0~4.1                 | 0~4.1  | 0~4.1  | 0~4.4     | 0~3.6     | 0~3.3     | 0~4.5     | 0~4.4     | 1.1~6.6   | 0~4.0     | 0~4.1               | 0~4.1     | 0~4.1  | 0~4.7     | 0~3.5     |
|                     | 2015 (n=24) | -                     | -      | -      | 0.14~0.63 | 0.09~0.50 | 0.74~1.3  | 3.4~10    | 3.1~9.1   | 2.7~9.5   | 0.67~2.0  | 0~0.90              | -         | 0~0.05 | 1.3~2.9   | 0.16~0.79 |
|                     | 2016 (n=20) | -                     | -      | -      | 1.2~2.0   | 1.1~1.9   | 3.7~6.7   | 9.2~16    | 2.8~3.7   | 4.5~5.7   | 1.4~1.9   | -                   | -         | -      | 8.9~14    | 0.13~0.38 |
| Nagasaki            | 2013 (n=19) | 0~3.3                 | 0~3.3  | 0~3.3  | 0~4.2     | 0~4.1     | 0~8.2     | 7.8~23    | 2.8~19    | 6.2~22    | 0~7.4     | 0~3.3               | 0~3.3     | 0~3.8  | 0~6.8     | 0~3.7     |



**Table III-6.** メダカから検出された PFAA 濃度の性差に係る有意差 (%)

| sampling sites | PFCA |      |      |      |      |      |      | PFSA |
|----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C8S  |
| Iwate          | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 5    | n.s. |
| Ibaraki        | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 1    | 1    | 1    | n.s. |
| Niigata        | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Ishikawa       | n.s. | 1    | 1    | 5    | n.s. | n.s. | 5    | 1    |
| Shizuoka       | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 5    | 1    | n.s. |
| Hyogo          | n.s. | 5    | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Yamaguchi      | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | 5    | n.s. |
| Ehime          | n.s. | -    | 1    | n.s. | 1    | 1    | 1    | n.s. |
| Fukuoka        | n.s. | n.s. | 5    | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| Nagasaki       | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| all sites      | n.s. | n.s. | 5    | n.s. | 5    | n.s. | 5    | 5    |

n.s. : not significant

**Table III-7.** メダカの体長と検出された PFAA 濃度の相関係数

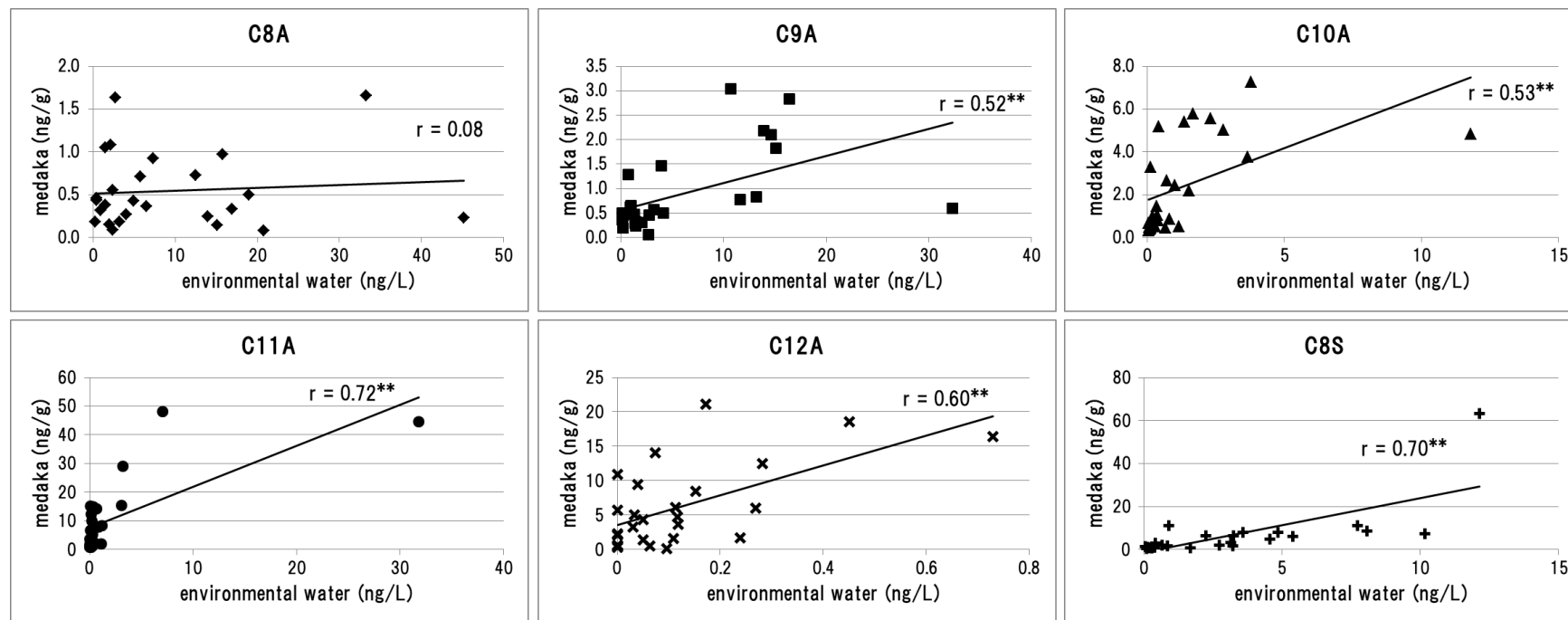
| sampling sites | PFCA    |         |         |        |        |        |         | PFSA    |
|----------------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|---------|---------|
|                | C8A     | C9A     | C10A    | C11A   | C12A   | C13A   | C14A    | C8S     |
| Iwate          | 0.13    | 0.17    | 0.43**  | 0.40** | 0.31** | 0.15   | 0.28**  | -0.04   |
| Ibaraki        | -0.10   | 0.37**  | 0.29**  | 0.37** | 0.29** | 0.20*  | 0.30**  | 0.28**  |
| Niigata        | 0.21    | -0.45** | 0.08    | 0.45** | 0.53** | 0.66** | 0.58**  | 0.06    |
| Ishikawa       | -0.33** | 0.66**  | 0.64**  | 0.79** | 0.54** | 0.53** | 0.41**  | 0.21    |
| Shizuoka       | 0.11    | -0.36   | -0.18   | 0.02   | -0.30  | -0.39  | -0.55** | 0.04    |
| Hyogo          | 0.11    | 0.10    | 0.27*   | -0.07  | -0.06  | -0.07  | -0.24*  | -0.28*  |
| Yamaguchi      | -0.14   | -0.47** | 0.05    | 0.23   | 0.22   | 0.17   | -0.03   | -0.05   |
| Ehime          | -0.02   | 0.41*   | 0.07    | -0.12  | -0.22  | -0.29  | -0.10   | 0.06    |
| Fukuoka        | -0.42** | -0.31*  | -0.37** | -0.21  | -0.13  | -0.16  | -0.17   | -0.34** |
| Nagasaki       | 0.06    | 0.13    | 0.14    | 0.26   | 0.38   | 0.32   | 0.41    | 0.43    |
| all sites      | -0.15** | 0.08*   | 0.04    | 0.04   | 0.04   | 0.003  | -0.09*  | -0.11** |

\* : p&lt;0.05, \*\* : p&lt;0.01

## (4) 環境水とメダカの PFAA 濃度の関係

メダカへの PFAA の蓄積には、環境水中の PFAA が鰓（呼吸）を通じて蓄積される経路と、餌として摂取したものに含まれていた PFAA が蓄積される経路の 2 通りの経路が考えられる。野生のメダカの餌となるのは、主にミジンコ等の動物プランクトンである。餌として摂取された PFAA も、もともとは環境水中の PFAA であり、メダカに蓄積する PFAA はすべて環境水に由来していることから、環境水から検出された PFAA とメダカから検出された PFAA の間に関係性があるかどうかを確認した。

環境水とメダカの両方から検出された割合の高かった C8A～C12A と C8S で散布図を作成した (Fig. III-12.)。それぞれの相関係数は、C8A が 0.08、C9A が 0.52、C10A が 0.53、C11A が 0.72、C12A が 0.60、C8S が 0.70 であり、C8A 以外の相関係数は有意 (1%水準) であった。地点によってばらつきがあるものの、C8A 以外は、環境水中の PFAA 濃度が高ければ、その地点に生息するメダカ中の PFAA 濃度も高くなる傾向が見られた。



\*\* :  $p < 0.01$

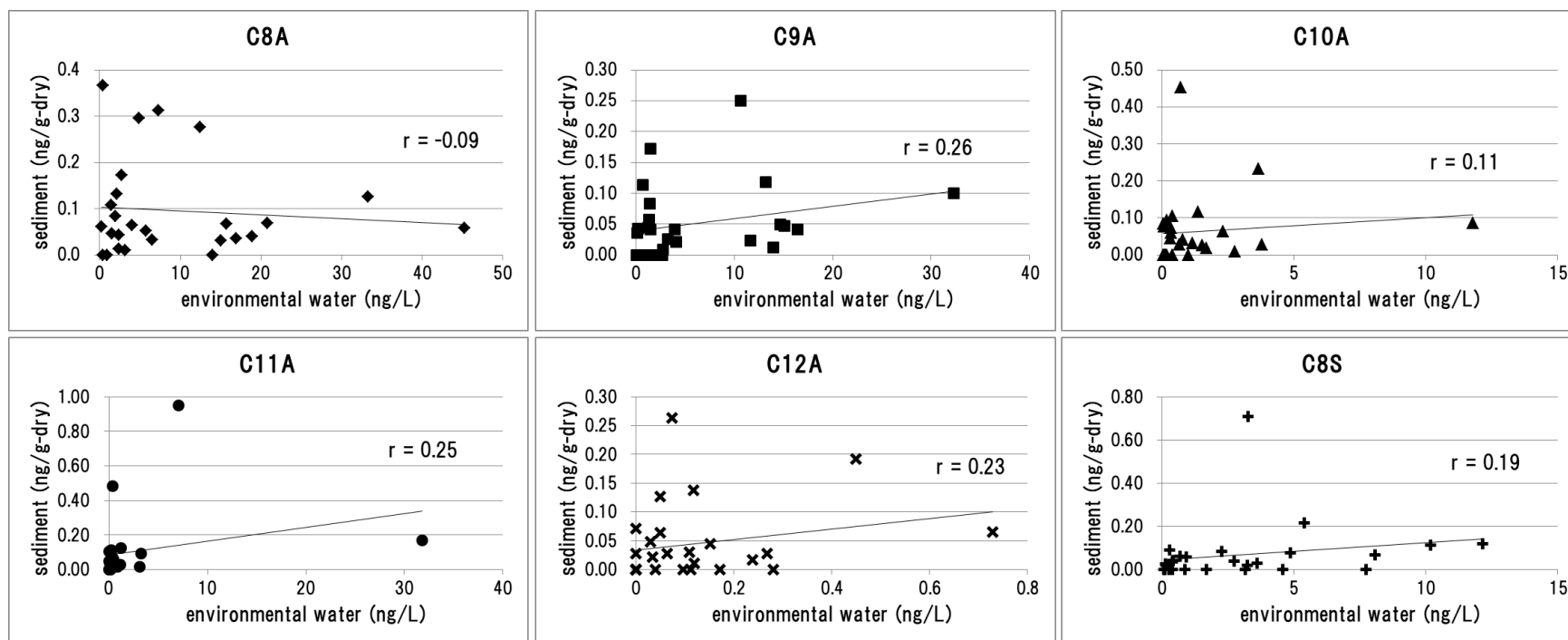
**Fig. III-12.** 環境水とメダカから検出された PFAA 濃度の相関

#### (5) 環境水から底質への PFAA 移行と蓄積

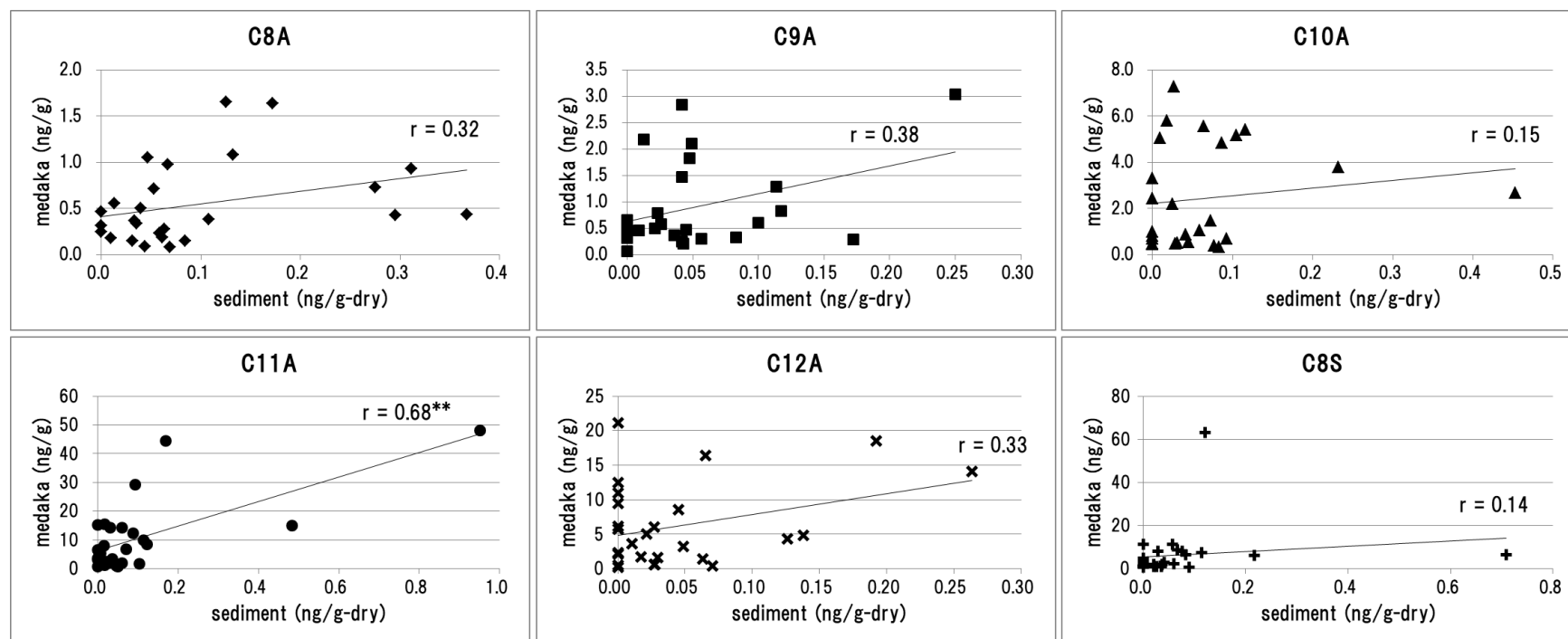
底質に蓄積する PFAA は、長期的には環境水と平衡状態にあると考えられるため、環境水の PFAA 濃度に依存するものと考えられる。環境水と底質の両方から検出された PFAA は主に C8A~C12A、C8S であったため、それぞれの PFAA 濃度について散布図を作成した (Fig. III-13.)。それぞれの相関係数は、C8A が -0.09、C9A が 0.26、C10A が 0.11、C11A が 0.25、C12A が 0.23、C8S が 0.19 であり、弱い正の相関または負の相関であった。また、どの PFAA も相関係数は有意ではなく、相関がないこと (帰無仮説) を棄却することはできなかった (相関があるとは言えなかった)。

#### (6) 底質、メダカに蓄積する PFAA の関係

底質とメダカの両方から検出される PFAA は、環境水と底質の両方から検出される PFAA と同様に、C8A~C12A、C8S の検出率が高かったため、それぞれの PFAA 濃度について散布図を作成した (Fig. III-14.)。それぞれの相関係数は、C8A が 0.32、C9A が 0.38、C10A が 0.15、C11A が 0.68、C12A が 0.33、C8S が 0.14 であり、C11A では高い相関が見られ有意であった (1%水準) もの、そのほかは弱い正の相関で、環境水と底質の傾向と類似していた。



**Fig. III-13.** 環境水と底質（乾燥重量あたり）から検出された PFAA 濃度の相関



\*\* :  $p < 0.01$

**Fig. III-14.** 底質（乾燥重量あたり）とメダカから検出された PFAS 濃度の相関

### III-4 PFAA の環境中の動態に関する考察

#### (1) 環境水に含まれる PFAA

環境水からの PFAA 検出量は Table III-2. のとおりであり、検出率は C5A～C10A、C8S は 100 %、C11A、C4S、C6S は 85%以上であったが、C14A と C10S は 0%であった。環境水から検出された PFAA の組成比は、C5A～C9A 及び C8S の組成比が大きい傾向にあり、採取地点によらず組成比の傾向は類似していた。先行研究によると、国内河川からの PFAA の検出は C6A、C7A、C8A、C9A、C8S などが多く（津田・居川, 2012）、本研究の結果とほぼ一致している。

このような検出傾向を生じる理由としては、次の 2 点、①各 PFAA の親水性の差、②国内における過去の使用量の差、が考えられる。①の親水性に関しては、各 PFAA のオクタノール/水 分配係数 ( $\text{Log } K_{ow}$ ) は C6A が 3.26、C7A が 3.82、C8A が 4.30、C9A が 4.84、C10A が 5.30、C11A が 5.76、C12A が 6.41、C8S が 5.25 と報告されており（Arp *et al.*, 2006）、PFCA では炭素鎖が短いほど親水性が高いことから、環境水からは概ね C5A～C9A が多く検出されている本研究の検出の傾向と一致する。しかし、親水性が低いと考えられる C12A、C13A などの長鎖の PFAA が検出された地点や、C5A～C9A の中でも、鎖長の短い C5A や C6A よりも鎖長の長い C8A や C9A の検出量が多かった地点もあり、必ずしも親水性の差だけがこの検出傾向を示してはいなかった。これは、②の国内の過去の使用量の差が影響しているものと考えられる。国内における PFAA の製造量や使用量などに関する統計を入手することができなかったため、推論とはなるが、C5A、C6A、C12A、C13A などよりも C8A や C9A の使用量（環境中に排出された量）が過去に多かったことを反映したものであると考えられる。PFSA に関しては、親水性は PFCA と同様の傾向があると考えられ、C8S よりも鎖長の短い C4S、C6S、C7S のほうが  $\text{Log } K_{ow}$  は小さいものと考えられる。しかし、環境水中の組成比は、ほぼすべての年、地点において C8S よりも C4S、C6S、C7S のほうが小さく、最も親水性が高いと考えられる C4S がほぼすべての年、地点で最も高濃度で検出されてはいなかった。このことから、親水性だけがこのような組成比を示した理由であるとは言えなかった。PFSA の検出傾向についても PFCA と同様に①の親水性の差の影響はあると考えられるが、またそれ以上に②の国内におけるこれまでの使用量の差に基づく影響のほうが大きかったものと考えられる。ほぼすべての年、地点において C8S の組成比が最も大きいのは、C8S が PFAA の中でも最も代表的な物質であり、過去数十年にわたり工業的、商業的に使用されてきたことを反映しているもので、このことが C4S、C6S、C7S よりも環境中に拡散している量が多い理由であると考えられる。

#### (2) 環境水からメダカへの生物濃縮 (Bioconcentration Factor ; BCF)

メダカから検出された PFAA 濃度をその生息地点の環境水の PFAA 濃度で除して、BCF を算出した。算出には、すべての環境水及びメダカから検出された PFAA 濃度の平均値を利

用した。環境水、メダカとも、70 %以上の検出率であった C8A～C12A、C8S について BCF を算出したところ、C8A が 260、C9A が 710、C10A が 4,500、C11A が 35,000、C12A が 67,000、C8S が 3,600 であった。先行研究の魚類の BCF データと比較すると、whole body での BCF は、Sunfish、Bullhead、Lake trout で C8A が 81～4,000、C9A が 1,300～6,300、C10A が 5,000～46,600 以上、C11A が 5,300～21,000 以上、C12A が 5,400 以上、C8S が 5,800～25,000 と報告されており（津田・居川, 2012）、これらは本研究の BCF とほぼ同等からやや高い傾向にあった。

BCF は、一般に物質の親水性や疎水性が大きく関わっている。各 PFAA の  $\text{Log } K_{ow}$  は、III-4 (1) のとおり報告されており、この  $\text{Log } K_{ow}$  が大きくなるのにしたがって PFAA のメダカへの BCF も大きくなっていくことはデータから明らかである。 $\text{Log } K_{ow}$  と BCF の間の関係性を把握するため散布図を作成したところ、BCF は  $\text{Log } K_{ow}$  に従って指数的に増加している傾向が明らかとなり、高い相関性が確認された (Fig. III-15.)。

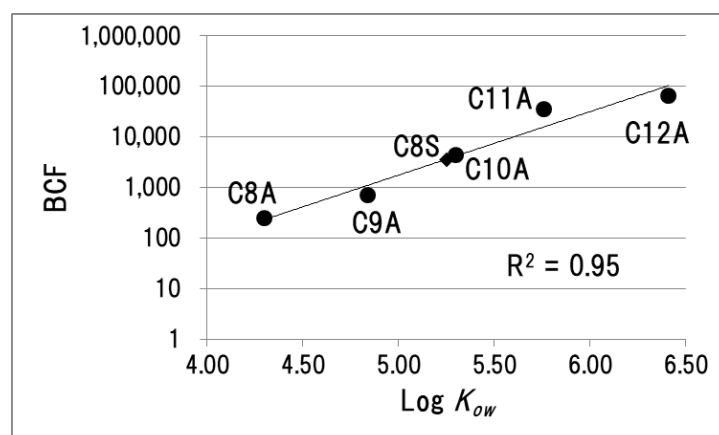


Fig. III-15. メダカに蓄積した PFAA の BCF と  $\text{Log } K_{ow}$

### (3) 底質に含まれる PFAA

底質から検出される PFCA は、炭素鎖長が比較的短い PFCA が多く検出された環境水とは異なり、炭素鎖長が 2～3 程度長いものが多かった。しかし PFSA については、検出されたのは C8S が多く、C10S も検出はされていたが検出率も低く、C8S に比較して検出量もかなり少なかった。環境水からは C10S 以外の PFSA は検出されていたにもかかわらず、底質からは C4S、C6S、C7S は検出されなかった。このことを考慮すると、底質への蓄積傾向は、環境水と同様、各 PFAA の親水性の差、及び国内における過去の使用量の差、が関連していると考えられる。親水性が高い PFAA ほど底質への移行は少なく、環境水に溶存態のまま存在する割合が多いと推測される。一方、C13A、C14A、C10S などはその鎖長から親水性は低いと考えられ、結果として懸濁態の形で底質に蓄積されやすいものと推測されるが、本

研究ではそのような結果は得られなかった。これは、C13A、C14A、C10S は環境水中の濃度が非常に低く、ほぼ検出下限値未満であったため、本研究においては底質からもほとんど検出されなかったと考えられる。C8S については、環境水と同様、過去の使用量の差が現れているものと考えられる。

本研究においては、底質から C4S、C6S、C7S が検出されなかったことから、PFSA をさらに高感度で分析できるようにする検討が必要である。今回使用した分析機器では PFSA のほうが PFCA よりも若干感度が高かったため、検量線の最低濃度をより低濃度まで下げることで定量できる可能性がある。その際、低濃度域での PFSA のピークに重なるバックグラウンドのピークの存在やマトリクス効果、S/N などの確認を含めた種々の検討が必須である。どの程度まで検出、定量が可能であるかについては、今後詳細に検討していく必要がある。

底質に蓄積している PFAA は、吸着と遊離が平衡状態にあると考えられ、これは、IL 量や PFAA の種類などによって異なるものと推測される。このため、底質と環境水の間における溶脱率について検討することで、PFAA の種類ごとの底質と環境水中の分配の傾向が確認できる可能性がある。これについても、今後検討していく必要がある。

#### (4) メダカに含まれる PFAA

メダカから検出される PFAA は、底質に含まれている PFAA よりも、さらに長鎖長側であり、環境水からはほとんど検出されない C13A や C14A も含まれていた。Log  $K_{ow}$  が大きくなれば BCF も大きくなっていくことが明らかとなったことから、検討した PFAA の中でも疎水性の高い PFAA ほど蓄積される傾向にある。PFAA は、化学的に非常に安定であることから生体内で代謝されることはほとんどないと考えられ、また、体外への排出は親水性にも関連すると考えられる。メダカからの検出量と体長の間にはあまり相関が見られなかったが、これは蓄積の速度と成長の速度が比例していないためと推定される。PFAA の生物蓄積は、炭素鎖が 7 以上で大きくなり、同じ鎖長であれば PFCA よりも PFSA のほうがより蓄積されやすいと報告されており (Murphy *et al.*, 2012)、本研究においても C8A や C9A よりも C8S のほうが高濃度で検出されるという結果が得られた。C8S と C8A では、Table I-1. に示したとおり pKa がそれぞれ 0.14、2.5 程度とされており、C8S のほうがより解離しやすいことから、この差が蓄積性に関連している可能性がある。また PFAA は、ポリ塩化ビフェニル (PCB) やポリ臭化ジフェニルエーテル (PBDE) などの POPs とは異なり親油性ではないため、蓄積の仕方が PCB や PBDE とは異なっているとされ (Meghan *et al.*, 2016)、コイ、ニワトリ、ハクトウワシ、ラットなどの肝臓や血中において  $\beta$ -lipoprotein や albumin、liver-fatty acid binding protein (L-FABP) と結合していることが報告されている (Jones *et al.*, 2003; Luebker *et al.*, 2002)。本研究からは、メダカへの詳細な蓄積のメカニズムは明らかにはできなかったが、これと同様、ある種のタンパク質と結合した形で体内に存在しているものと考えられる。

魚類への化学物質の生物蓄積を検証する方法として OECD テストガイドライン No. 305



があるが、これを利用して PFAA の生物蓄積を確認した先行研究によると、PFAA の BCF は、本研究において確認した BCF よりもかなり低い結果となっていた (Inoue *et al.*, 2012)。本研究で得られた結果と比較すると、BCF は数分の一から数百分の一程度であった (Table III-8.)。この理由としては、OECD テストガイドライン No. 305 の実験における曝露濃度が環境中の PFAA 濃度レベルよりもはるかに高く、魚類の曝露されている環境が大きく異なること (実験における曝露濃度は、環境中で曝露される濃度の数十倍から数千倍)、実験にはメダカでない種 (コイ) を使用しており種差があること、本研究で採取したメダカと比較すると曝露期間が 28~60 日と短いこと (本研究では、十分に成長したメダカを採取しており、メダカのライフサイクルから 1 年程度は環境中で曝露されている個体であると推測される)、などが考えられる。このことから、魚類に蓄積する PFAA を考慮する際、実際に環境中で曝露されている個体と、実験系で曝露された個体では、生物蓄積に大きく差が出る可能性がある。実験系での曝露は、PFAA 等の化学物質の生物蓄積の性質を確認する手段としては非常に有用であると考えられるが、このテストガイドラインの実験方法のままでは、実際に環境中で曝露されている個体との生物蓄積性の比較には利用できない可能性がある。

#### (5) 環境試料に含まれる PFAA の由来

環境水、底質、及びメダカとも、それぞれに含まれる PFAA には、採取地点により大きな差が見られた。環境水では茨城、石川、兵庫、愛媛において、底質とメダカでは石川と兵庫において比較的高濃度で検出された。一方、岩手、新潟、山口では、どのサンプルも比較的低濃度であった。それぞれの採取地点は、水田の農業用水路や公園の用水路などで、事業場等の施設からの排水がその上流部等で直接流入していることは確認できず、比較的高濃度が検出された地点と低濃度であった地点とで、流域の状況に大きな相違点は認められなかった。ただし、岩手の採取地点については、山間部で、その水路の流域に存在する民家もわずかであり、また、都市部の郊外でもないという点が、ほかのどの地点とも異なっている。このことから、人間の日常生活及び産業活動に由来する生活雑排水や事業場からの排水等の流入も非常に少ない地域である。

これらのことを考慮すると、環境中から検出される PFAA の由来は、PFAA を使用する事業場等のような、明らかな特定の発生源となるもの以外では、人間の生活や産業活動に由来する、都市部からの面源負荷のような発生源となっているものと考えられる。また、岩手のような山間部の採取地点でも検出されるということは、都市部からの面源負荷のような発生源とは異なった発生源 (供給源) があることが示唆され、これは、気体で存在している PFAA 前駆体や、大気浮遊塵、PM2.5 等の微小粒子状物質に吸着した PFAA が、大気降下物や降水として環境中に供給されているものと考えられることができる。

採取地点の上流の土地利用形態としては、岩手では森林が多く、茨城、石川、静岡、兵庫、山口、愛媛、福岡、長崎ではほぼ水田で民家や集落が点在しており、住宅地となっているところもある。また、新潟はほぼ市街地である。都市部の PFAA 発生源としては、生活

雑排水等の多くは下水道に入って下水処理施設で処理されることを考慮すると、下水処理施設からの放流水が大きな発生源（供給源）となっていると考えられる。筆者の最近の研究で、下水処理施設からの放流水からは C5A～C9A、C8S が高濃度で検出されること、比較的炭素数の少ない PFCA (C5A～C9A) は下水処理工程における除去率がマイナスであり、処理工程中に生成している可能性があることなどが明らかとなっている (Iwabuchi *et al.*, 2018) ことから、都市部における主要な発生源は下水処理施設からの放流水であることが強く示唆される。そのほかの発生源としては、下水道に入らずに環境中に排出される一部の生活雑排水等や、市街地や住宅地への降雨、公共用水域に直接排出される事業場 (PFAA を製造等に使っていない事業場) 等の排出水などがあると考えられるが、これらは、どこからどの程度発生しているかを把握することは非常に難しく、これが面源負荷のような発生源の一部になっているものと考えられる。本研究においては、発生源まで詳細に検証することはできなかったが、今後、PFAA を含む化学物質管理を見据えたうえで、環境中への供給のルートを解明していくことは必須である。

#### (6) PFAA の移行と蓄積

III-3 (2) で述べたとおり、底質中の PFAA 濃度は採取年や採取地点により多少ばらつきがあった。これは、メダカの採取地点において底質を採取する際に、研究の初期段階では、サンプルの性状を特段考慮することなく採取していたためと考えられた。ばらつきの原因は、サンプルが泥質か砂質かという性状に起因するものと推定され、つまり、有機物量が関与しているものと考えられた。2014 年以降はなるべく泥質のサンプルを採取するようにはしたが、それでも地点によっては、砂質のものしか採取できないこともあった。そこで、有機物量を測定することでサンプルの性状に起因するばらつきを無くすことを考案し、2015 年からは底質の IL の測定を行った。このデータをもとに、底質サンプルの乾燥重量あたりの PFAA 濃度ではなく、IL あたりの PFAA 濃度で検討を行った。測定した底質サンプルの IL あたりの PFAA 濃度 (2015 年及び 2016 年のサンプルのもの) を Table III-9. に示す。また、環境水と底質から検出された PFAA 濃度、及び底質とメダカから検出された PFAA 濃度で散布図を作成し、底質の乾燥重量あたりと IL あたり、それぞれで比較した (Fig. III-16a., 16b., 及び Fig. III-17a., 17b.)。比較対象の PFAA は、III-3 (5) (6) と同様 C8A～C12A、C8S とした。

環境水と底質について、相関係数は、底質の乾燥重量あたりの PFAA 濃度で比較すると C8A -0.23、C9A 0.01、C10A 0.10、C11A 0.80、C12A 0.40、C8S 0.12、底質の IL あたりでは C8A 0.20、C9A 0.52、C10A 0.51、C11A 0.96、C12A 0.79、C8S 0.83 であり、IL あたりの濃度で比較したほうが、相関係数が高くなった。特に、IL あたりで比較したときの C11A、C12A、C8S では高い相関が見られ (1% 有意)、C12A、C8S については、IL あたりの PFAA 濃度で比較することで有意となった。C8A、C9A、C10A においても、乾燥重量あたりの PFAA 濃度と比較したものよりもかなり相関は高くなった。このことから、底質への蓄積には IL が

関係していることが示唆され、泥質の底質に含まれる有機物に PFAA が結合している、又は、有機質に結合した PFAA が砂質の底質に付着していることが示唆された。

底質とメダカについて、相関係数は、乾燥重量あたりでは C8A 0.30、C9A 0.35、C10A 0.02、C11A 0.79、C12A 0.47、C8S -0.03、IL あたりでは C8A 0.26、C9A 0.72、C10A 0.34、C11A 0.92、C12A 0.51、C8S 0.60 であり、環境水との相関は、底質と同様に IL あたりの濃度で比較したほうが、相関係数は高くなった。特に、C9A、C11A では高い相関が見られた（C9A は 5 % 有意、C11A は 1 % 有意）。C9A については、IL あたりの PFAA 濃度で比較することで、有意となった。C8A 以外は、乾燥重量あたりの PFAA 濃度と比較したものよりも相関係数は高くなっていた。このことは、底質に含まれる IL あたりの PFAA 濃度を測定することで、そこに生息するメダカに蓄積している PFAA の濃度を推定できる可能性があることを示唆している。

**Table III-8.** 野生メダカと実験サンプルのコイ（OECD テストガイドライン No. 305）における曝露濃度と BCF の比較

| PFAAs | wild medaka                                   |        | carp                                       |               | ratio                                      |              |
|-------|---|--------|--|---------------|--|--------------|
|       | (environmental samples) (a)                   |        | (OECD TG 305 samples) <sup>1)</sup> (b)    |               | (b)/(a)                                    |              |
|       | concentration<br>of exposure <sup>2) 3)</sup> | BCF    | concentration<br>of exposure <sup>2)</sup> | BCF           | concentration<br>of exposure <sup>2)</sup> | BCF          |
| C8A   | 9.2   | 260    | 4,710-47,600                               | 3.1-9.4       | 510-5,100                                  | 0.012-0.036  |
| C9A   | 6.0   | 710    | -  | -             | -  | -            |
| C10A  | 1.4   | 4,500  | -  | -             | -  | -            |
| C11A  | 2.2   | 35,000 | 91.1-946                                   | 2,300-3,700   | 42-430                                     | 0.066-0.11   |
| C12A  | 0.17  | 67,000 | 97.8-978                                   | 10,000-16,000 | 580-5800                                   | 0.0015-0.015 |
| C8S   | 3.0   | 3,600  | 1,880-16,000                               | 720-1,300     | 630-5,400                                  | 0.20-0.36    |

1) Results of Inoue *et al.*

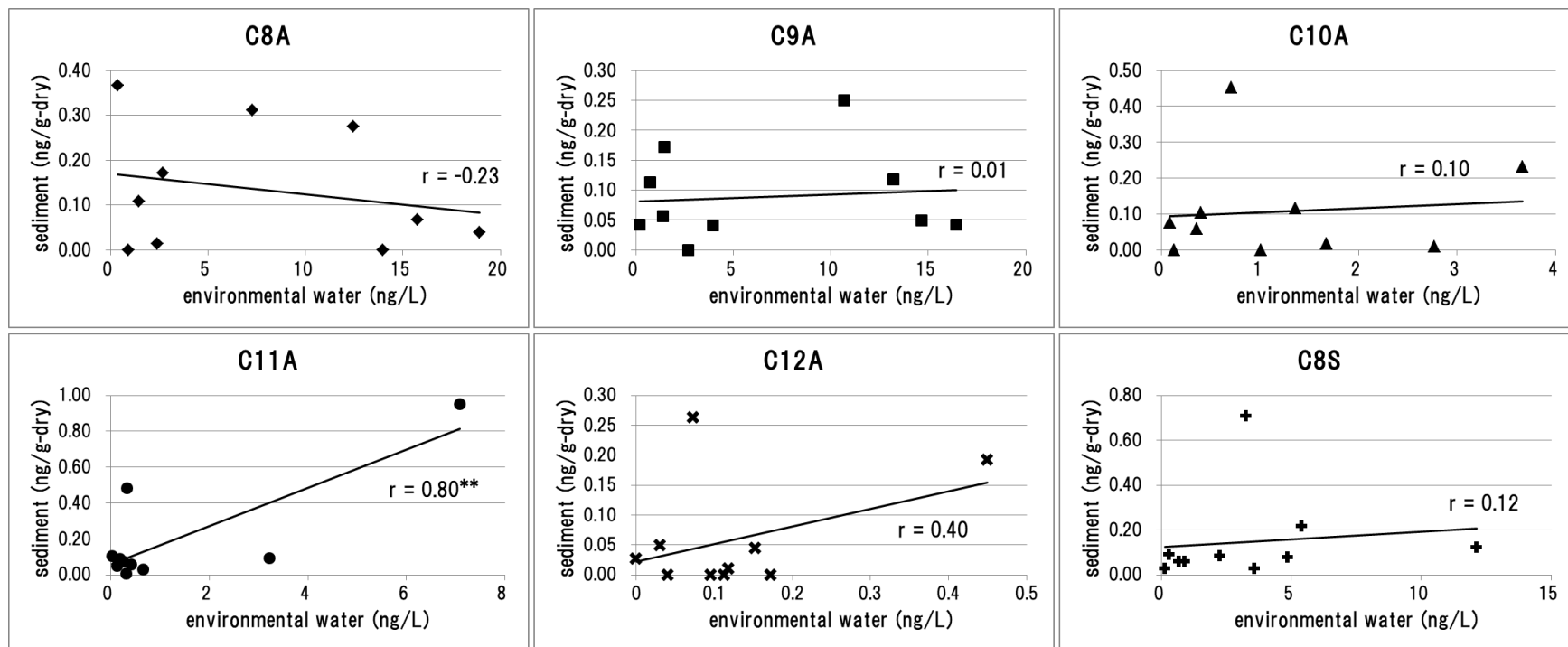
2) Concentrations are in ng/L

3) Mean concentration of 26 samples of environmental water

**Table III-9.** 底質から検出された PFAA（IL あたり）（ng/g-IL）

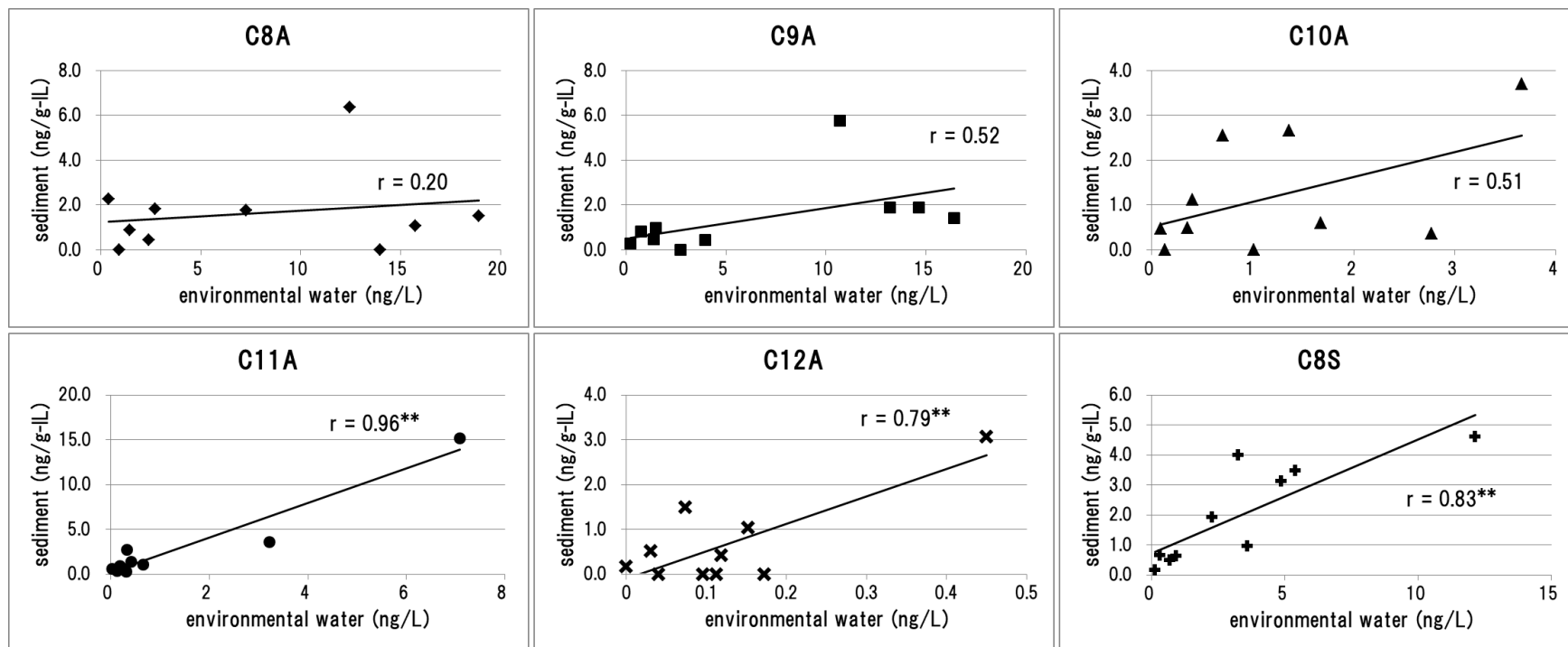
| Site     | Year | Perfluorocarboxylates |      |      |      |      |      |      |      |      |      | Perfluorosulfonates |      |      |      |      | PFAA<br>total |
|----------|------|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---------------------|------|------|------|------|---------------|
|          |      | C5A                   | C6A  | C7A  | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S                 | C6S  | C7S  | C8S  | C10S |               |
| Iwate    | 2015 | n.d.                  | n.d. | n.d. | n.d. | 0.82 | n.d. | 0.37 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.65 | n.d. | 1.8           |
|          | 2016 | n.d.                  | n.d. | n.d. | 2.3  | 0.26 | 0.47 | 0.64 | 0.17 | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.16 | n.d. | 4.0           |
| Ibaraki  | 2015 | n.d.                  | 0.35 | n.d. | 0.44 | 1.4  | 0.59 | 1.0  | n.d. | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.95 | n.d. | 4.8           |
|          | 2016 | 3.5                   | 3.1  | 3.4  | 6.3  | 5.8  | 2.7  | 1.4  | 1.0  | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 1.9  | n.d. | 29            |
| Ishikawa | 2015 | n.d.                  | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0.31 | 0.42 | n.d. | n.d. | n.d.                | n.d. | n.d. | 3.1  | n.d. | 3.9           |
|          | 2016 | n.d.                  | 0.10 | 0.10 | 1.8  | 0.97 | 2.6  | 2.7  | 1.5  | 0.83 | 0.56 | n.d.                | n.d. | n.d. | 4.0  | n.d. | 15            |
| Hyogo    | 2015 | 0.43                  | n.d. | n.d. | 1.5  | 1.9  | 0.35 | 3.6  | n.d. | 0.90 | 0.61 | n.d.                | n.d. | n.d. | 4.6  | n.d. | 14            |
|          | 2016 | n.d.                  | 0.37 | n.d. | 1.1  | 1.9  | 3.7  | 15   | 3.1  | 4.6  | 1.0  | n.d.                | n.d. | n.d. | 3.5  | n.d. | 34            |
| Fukuoka  | 2015 | 0.40                  | 0.19 | n.d. | 0.87 | 0.46 | 0.48 | 0.58 | n.d. | n.d. | 0.17 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.06 | 0.01 | 0.57          |
|          | 2016 | 0.46                  | 0.30 | n.d. | 1.8  | 0.44 | 1.1  | 0.94 | 0.52 | 0.74 | 0.13 | n.d.                | n.d. | n.d. | 0.06 | n.d. | 0.67          |

n.d. : when all triplicate test results were below LOD



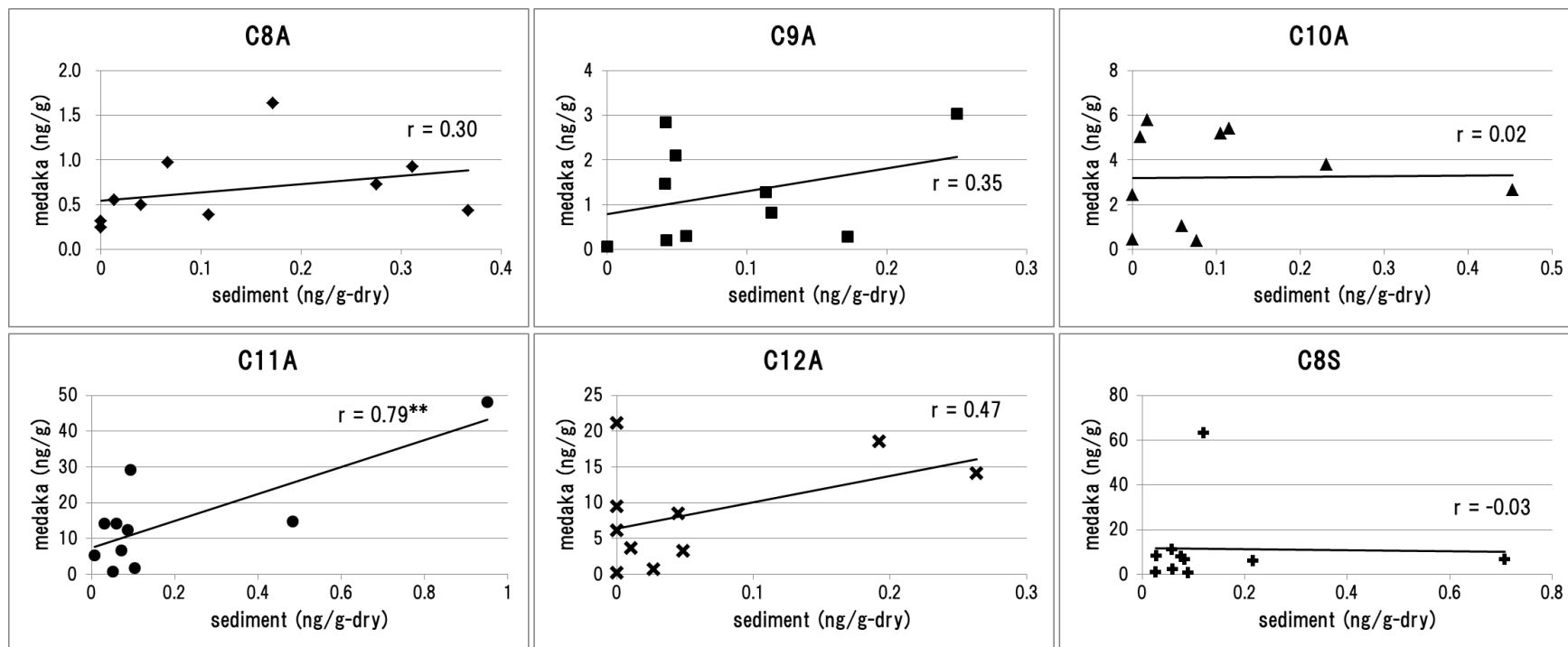
\*\* :  $p < 0.01$

**Fig. III-16a.** 環境水と底質（乾燥重量あたり）から検出された PFAS 濃度の相関  
(2015、2016 年サンプル)



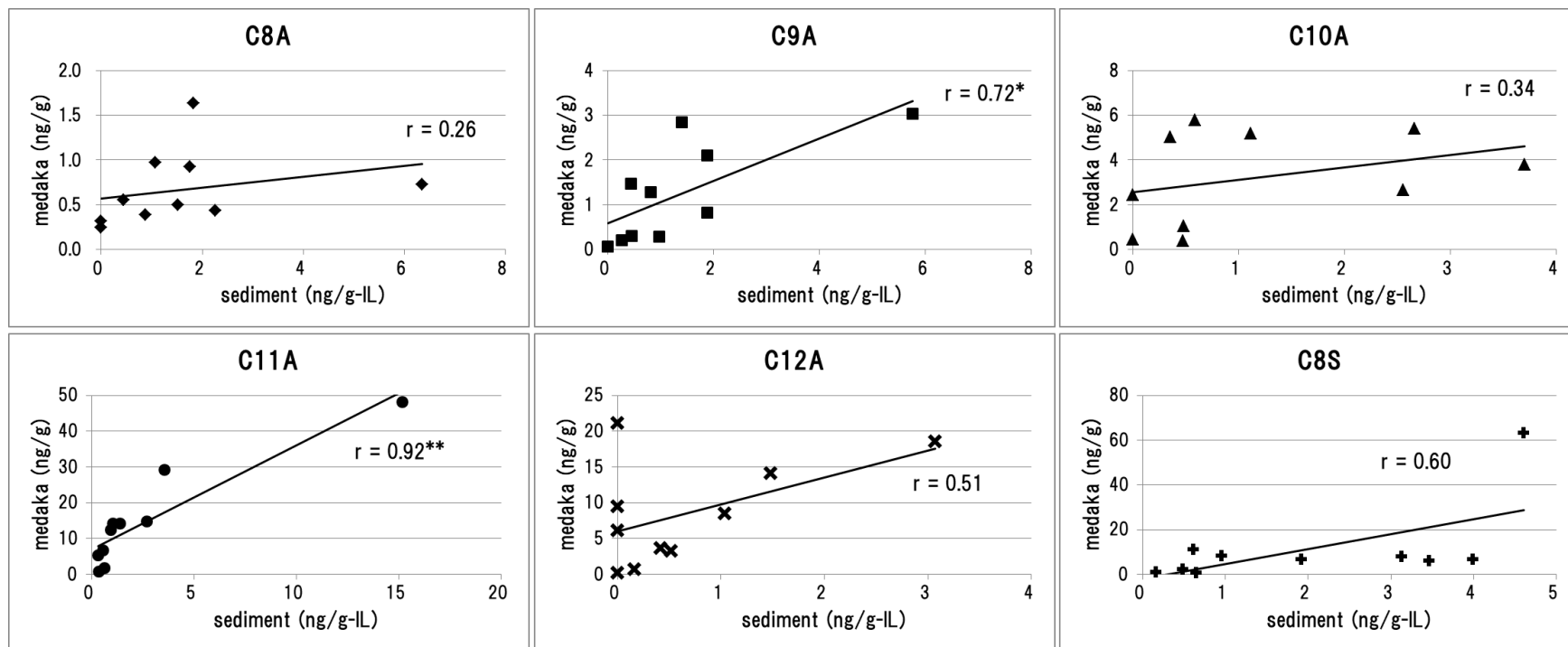
\*\* :  $p < 0.01$

**Fig. III-16b.** 環境水と底質（IL あたり）から検出された PFAS 濃度の相関  
(2015、2016 年サンプル)



\*\* :  $p < 0.01$

**Fig. III-17a.** 底質（乾燥重量あたり）とメダカから検出された PFAS 濃度の相関  
(2015、2016 年サンプル)



\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$

**Fig. III-17b.** 底質（ILあたり）とメダカから検出された PFAS 濃度の相関  
（2015、2016 年サンプル）



(7) メダカに蓄積する PFAA 量の推定

III-3 (3) で述べたとおり、メダカに蓄積する PFAA には性差や体長に影響を受けるものがあること、また III-4 (5) で考慮したとおり、底質の IL あたりの濃度とメダカから検出される濃度との間にはある程度相関があることなどから、これらをパラメータとしてメダカから検出される PFAA の推定を行った。カテゴリ変数に性別（オス：1、メス：0）、説明変数に体長（mm）、底質の IL あたりの濃度（ng/g-IL）を設定し、メダカからの検出量を目的変数として重回帰分析を行った。対象の PFAA は、III-4 (5) と同様に C8A～C12A と C8S とした。また、対象としたメダカは、2015 年と 2016 年に採取したもので、性別を確実に判別できたオス 116 匹とメス 101 匹とした。それぞれのパラメータの偏回帰係数、及び回帰式の決定係数を Table III-10. に示す。

**Table III-10.** メダカから検出される PFAA 濃度を説明するパラメータ（性別、体長、底質の IL あたりの濃度）の偏回帰係数と回帰式の決定係数

|                              |  | C8A      | C9A    | C10A   | C11A   | C12A  | C8S   |
|------------------------------|--|----------|--------|--------|--------|-------|-------|
| $\beta_0$                    | intercept                                      | 2.3      | 0.57   | 4.5    | 11     | 6.3   | 9.6   |
| $\beta_1$                    | X <sub>1</sub> : gender (male = 1, female = 0) | -0.082   | -0.16  | -1.1** | -0.030 | 1.8   | -2.4  |
| $\beta_2$                    | X <sub>2</sub> : body length (mm)              | -0.076** | 0.0043 | -0.075 | -0.21  | -0.14 | -0.25 |
| $\beta_3$                    | X <sub>3</sub> : sediment (ng/g-IL)            | 0.14**   | 0.48** | 0.71** | 2.9**  | 4.8** | 2.7** |
| coefficient of determination |  | 0.21     | 0.37   | 0.17   | 0.47   | 0.28  | 0.14  |

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 \quad (Y: \text{PFAA concentration in medaka})$$

\*\* :  $p < 0.01$

決定係数は 0.14～0.47 であったが、底質の IL あたりの濃度の偏回帰係数は、C8A 0.14、C9A 0.48、C10A 0.71、C11A 2.9、C12A 4.8、C8S 2.7 となり、すべてが有意（1%）で、底質の IL あたりの濃度が高いほどメダカから検出される量が多くなるという結果となった。このことは、III-4 (5) で考察した、底質に含まれる PFAA を測定することでメダカに蓄積している PFAA の濃度を推定できる可能性があるということをさらに支持するものである。また PFCA では、鎖長が長くなるほど偏回帰係数が大きくなっており、鎖長が長くなるほどメダカに蓄積される傾向が大きくなることを示唆する結果となった。性差の影響については、C10A で有意であり、偏回帰係数が負になっていることから、オスよりもメスのほうが蓄積しやすい傾向にあることが推定された。C10A 以外の PFAA については、C8A、C9A、C11A、C8S ではメスのほうにより蓄積されやすい傾向が、C12A ではオスのほうにより蓄積されやすい傾向があるように見て取れるが、どの PFAA も有意ではないことから、性差の影響はあまり大きくないものと考えられた。体長の影響については C8A で有意であった。係数が負になっており、このことは体長が大きくなると体重 g あたりの検出量が小さくなることを意味する。これはメダカの C8A の代謝に依存するものなのか、蓄積量の飽和性に依存するものなのか、又は別の要因なのか、本研究で明らかにすることはできなかった。

C8A 以外の PFAA については有意ではないことから、体長の影響はあまり大きくないものと推定された。

本研究により、底質のサンプリング及び PFAA の測定により、そこに生息するメダカへの PFAA の蓄積量を推定することが可能であると考えられた。



## 第IV章 ラット体内における PFAA 動態の把握

### IV-1 試験目的

第I章で述べたとおり、環境中には多種かつ多量の PFAA が排出・拡散している事実があり、その先にはヒト生体への曝露が懸念される。生体への影響を考慮する場合、PFAA の体内における動態が非常に重要であることから、生体内の臓器・組織への蓄積及び排出等の動態を解明していく必要がある。本章では、環境中から比較的高濃度で検出されることの多い PFAA をラットに投与し、臓器特異的・PFAA 特異的な動態を把握することを目的として、単回投与試験、及び長期投与試験を行った。単回投与試験からは、投与後の各臓器における濃度変化を追うことで、各臓器の生物学的半減期や排出速度定数などの、生体内における薬物動態を考慮するうえで、非常に重要な様々なパラメータを推定することが可能である。また、長期投与試験からは、複数の濃度段階で一定期間投与することで、各臓器における PFAA 蓄積の傾向を把握したり、単回投与試験であられる結果も同時に利用することで、定常状態における各臓器への蓄積状況を推定したりすることが可能となる。これらの投与試験の内容について、以下に示す。

### IV-2 試験方法の詳細

動物生体内における PFAA の動態を詳細に把握するためには、環境中から検出される確率の高い PFAA に関して、実際に曝露し得るような環境中における濃度域での曝露試験を行うことが不可欠である。そこで、以下のとおりラットを使用した PFAA 曝露試験を行い、ラットの各臓器に PFAA がどのような濃度で分布するかなどを検討した。

#### (1) 実験動物及び飼育条件

動物実験には、日本クレア株式会社から購入した 6 週齢の Wistar 系ラット（オス）を使用した。ラットの飼育にはポリカーボネート製ケージを用いた。動物室は定温（ $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ ）に保ち、照明は蛍光灯で 12 時間ごとの明暗サイクルとした。飼料は、市販の粉末飼料（MF、オリエンタル酵母工業株式会社製）と水道水もしくは PFAA 混合液を自由に摂取させた。

飼育環境、実験操作及び器具類からの非意図的な PFAA の混入を防ぐため、ケージや給水瓶、実験器具等は、使用前にメタノールで洗浄したものを使用した。

なお、本動物実験は岩手大学で実施し、岩手大学動物実験等管理規則に従った。

#### (2) 試薬及び標準品

動物実験に使用した試薬は、すべて市販品を使用した。C6A 及び C9A は和光純薬工業社製を、C8A と C8S は Fluka chemie GmbH 社製を使用した。

抽出操作及び LC-MS/MS による機器分析で使用した試薬類はすべて市販品であり、炭酸ナトリウム（特級）、t-ブチルメチルエーテル（MTBE；HPLC 用）、25 %アンモニア水（精密分析用）、ギ酸（LC/MS 用）、酢酸アンモニウム（特級）、メタノール（LC/MS 用）、アセトニトリル（LC/MS 用）は和光純薬工業社製を、硫酸水素テトラブチルアンモニウム 99 %（TBAHS；HPLC 用）は ACROS ORGANICS 社製を使用した。標準品には、WELLINGTON LABORATORIES 社製の PFC-MXA（PFCA11 種の混合品、各成分 2 µg/mL メタノール溶液）及び PFS-MXA（PFSA5 種の混合品、各成分 2 µg/mL メタノール溶液）を使用した。サロゲートには、同社製の MPFAC-MXA（PFCA、PFSA のマスラベル化体（MCXA、MCXS（X は炭素数））の 9 種混合品、各成分 2 µg/mL メタノール溶液）を使用した。

### （3）曝露試験

本研究では単回投与試験と長期投与試験を行った。ラットは単回投与試験では 1～3 週間、長期投与試験では 1 週間馴致したうえで試験に用いた。

#### （3）－1 単回投与試験

4 種の PFAA（C6A、C8A、C9A、C8S）を超純水に溶解し、C6A、C8A、C8S は 100 mg/L、C9A は 50 mg/L となるように混合して投与液を調製した。個体ごとに体重を測定した後、調製した投与液を、経口ゾンデを利用して 1 mL/kg BW ずつ経口投与した。投与量（bolus dose；BD）は、C6A、C8A、C8S で 100 µg/kg BW、C9A で 50 µg/kg BW である。

投与後 0 分、5 分、15 分、30 分、1 時間、3 時間、6 時間、12 時間、24 時間、3 日、7 日、14 日、21 日、28 日時点で、ラットをジエチルエーテルで麻酔し、心採血を行った。投与後 5 分、3 日、7 日の時点ではラット 3 頭を、その他の時点ではラット 2 頭を使用した。採取した血液は一部を取り分けて速やかに -20℃にて冷凍保存し、残りの血液は遠心分離で血清を分けてから冷凍保存した。心採血後のラットを安楽死させてから解剖し、肝臓、腎臓、脾臓、心臓、脳を採取した。採取したこれらの臓器の重量をそれぞれ測定し、直ちに -20℃にて冷凍保存した。

#### （3）－2 長期投与試験

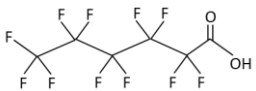
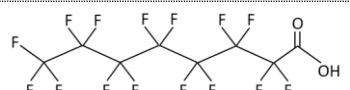
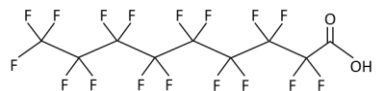
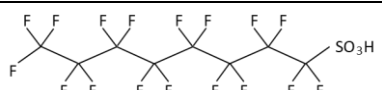
超純水に C6A、C8A、C9A、C8S を溶解し、すべての PFAA が 25 mg/L となるように混合液原液を調製した。これを水道水で 1000 倍、5000 倍及び 25000 倍に希釈し、各 PFAA が 1、5、25 µg/L の混合液とした。この混合液を高用量飲用水（25 µg/L）、中用量飲用水（5 µg/L）、低用量飲用水（1 µg/L）とした。1 群 4 頭のラットを低用量群、中用量群、高用量群とし、各群のラットにこの混合液を 1、3 か月間自由摂取させた。試験期間中は、ラットの摂水量を 2～3 日ごとに、体重、摂食量を 1 週間ごとに測定した。1 か月間、又は 3 か月間の曝露の後に、単回投与試験の方法と同様に心採血し、安楽死させた後解剖を行って、目的組織を採取した。採取した血液及び臓器は、単回投与試験の方法と同様に重量測定し、

保存した。

#### (4) 分析対象 PFAA

分析対象 PFAA は、各投与試験で使用した PFAA (C6A、C8A、C9A、C8S) とした。サロゲートは、MC6A、MC8A、MC9A、MC8S である。構造式及びイオンの質量を電荷数で割った値 (m/z) を Table IV-1a., b. に示す。

**Table IV-1a.** 曝露試験の分析対象 PFAA

| compound                 | abbreviation | structure  |
|--------------------------|--------------|--|
| Perfluorohexanoic acid   | PFHxA (C6A)  |    |
| Perfluorooctanoic acid   | PFOA (C8A)   |    |
| Perfluorononanoic acid   | PFNA (C9A)   |    |
| Perfluorooctanesulfonate | PFOS (C8S)   |  |

**Table IV-1b.** 曝露試験の分析対象 PFAA 及びサロゲート物質

| compound                 | abbreviation | m/z       | surrogate compound (I.S.)   | abbreviation  | m/z       |
|--------------------------|--------------|-----------|---|---------------|-----------|
| Perfluorohexanoic acid   | PFHxA (C6A)  | 313 → 269 | Perfluoro-n-[1, 2- <sup>13</sup> C <sub>2</sub> ]hexanoic acid          | MPFHxA (MC6A) | 315 → 270 |
| Perfluorooctanoic acid   | PFOA (C8A)   | 413 → 369 | Perfluoro-n-[1, 2, 3, 4- <sup>13</sup> C <sub>4</sub> ]octanoic acid    | MPFOA (MC8A)  | 417 → 372 |
| Perfluorononanoic acid   | PFNA (C9A)   | 463 → 419 | Perfluoro-n-[1, 2, 3, 4, 5- <sup>13</sup> C <sub>5</sub> ]nonanoic acid | MPFNA (MC9A)  | 468 → 423 |
| Perfluorooctanesulfonate | PFOS (C8S)   | 499 → 80  | Perfluoro-1-[1, 2, 3, 4- <sup>13</sup> C <sub>4</sub> ]octane sulfonate | MPFOS (MC8S)  | 503 → 99  |

#### (5) 分析方法

サンプル前処理に使用した器具類、及びサンプル容器については、環境試料の前処理操作と同様に、すべてメタノールで3回洗浄したものを使用した。

分析方法については、II-2 に詳述したとおりである。

#### (6) 統計解析

IV-2 の試験における統計解析には、すべて Excel 2010 を利用した。

### IV-3 生体試料等の分析結果

#### (1) ラット飼料と飲用水への PFAA の非意図的混入量

飼育期間中に給餌した飼料及び飲用水について、非意図的に混入していた PFAA 量を Table IV-2. に示す。飼料は 6 連で分析した測定値（平均値±標準誤差）、飲用水は 1 検体の測定値である。飼料中の C6A、C9A、C8S は LOD 未満であり、C8A は ppb レベルで検出された。飲用水からは各 PFAA が検出されたが、濃度は非常に低かった。

**Table IV-2.** ラット飼料と飲用水から検出された PFAA (μg/kg、μg/L)

|       |       | C6A    | C8A      | C9A    | C8S     |
|-------|-------|--------|----------|--------|---------|
| feed  | (n=6) | n.d.   | 1.2±0.41 | n.d.   | n.d.    |
| water | (n=1) | 0.0001 | 0.0003   | 0.0002 | 0.00007 |

#### (2) ヘマトクリット値測定結果

測定値は、41.8 ± 0.86 (%) (45 サンプルの平均±標準誤差) であった (Table IV-3.)。

**Table IV-3.** ヘマトクリット値 (%)

| max  | min  | mean | SE   |
|------|------|------|------|
| 52.0 | 23.0 | 41.8 | 0.86 |

#### (3) 単回投与試験結果

単回投与試験を実施している間、いずれのラットにも異常行動は観察されなかった。投与直前 (0 時間) には、いくつかの臓器で、対象とした PFAA すべてがごく微量検出されたが、投与試験の結果に影響を与えるほどではなかった。単回投与試験結果から、PFAA の体内動態を検討するうえで重要なパラメータを、以下のとおり求めた。

##### (3) -1 各臓器における PFAA 濃度とその経時変化

単回投与後の各臓器の初期段階における PFAA 濃度の経時変化を Fig. IV-1. に示す。グラフは 2~3 サンプルの平均値±標準誤差である。投与後 15 分に、ほぼすべての臓器で小さなピークが見られた。これは、胃からの吸収によるものと考えられた。C6A の最高濃度への到達時間 ( $T_{max}$ ) は、各臓器とも投与後 1 時間であった。その他の PFAA では、 $T_{max}$  は、脳と全血以外で投与後 12 時間であった。脳における  $T_{max}$  は 72 時間、全血では 24 時間であった。このことから、血液から脳および血球への PFAA の移行速度は、他の組織への移行速度よりも低いものと考えられた。

### (3) -2 消失速度定数と半減期

$T_{\max}$  以降の各臓器における濃度の経時変化を Fig. IV-2. に示す。グラフは 2~3 サンプルの平均値±標準誤差である。グラフは片対数プロットで、PFAA 濃度の経時変化はほぼ直線に近似できたことから、見かけ上の消失速度定数 ( $k_e$ ) (/day) 及び半減期 ( $t_{1/2}$ ) (day) を、次の式により計算した。

$$k_e = -(\text{slope}) / \log e \quad (e : \text{自然対数の底})$$

$$t_{1/2} = 0.693 / k_e$$

見かけ上の初期濃度 ( $C_0$ ) ( $\mu\text{g/kg tissue volume}$ ) は、回帰直線の y 切片に相当することから、 $t = 0$  を外挿することで得られた。 $C_0$ 、最高濃度 ( $C_{\max}$ ) ( $\mu\text{g/kg tissue volume}$ )、 $k_e$ 、 $t_{1/2}$  を Table IV-4. に示す。 $C_6A$  の  $t_{1/2}$  は、それぞれの臓器の間ではほぼ同じであり、他の PFAA よりもかなり短かった。他の PFAA については、肝臓と全血の  $t_{1/2}$  は他の臓器と異なり長く、肝臓においては、他の臓器との差は 2.5~8.5 倍、全血においては、1.5~2.2 倍であった。 $C_6A$  単回投与後の各臓器からの排出曲線からその排出の状況を考慮すると、各臓器でグラフの傾きがほぼ平行になっており、 $C_6A$  については 1-コンパートメントモデルが適用可能であるように考えられた。一方、他の PFAA については、生体は、構成している各臓器が独立したコンパートメントであり、その集合体である体内での授受により、複雑な挙動を示した。

$C_0$  は、すべての PFAA においてそれぞれの  $C_{\max}$  に近い値となっていた。 $C_6A$  の初期濃度 ( $C_0$  又は  $C_{\max}$ ) は血清中で最も高く、肝臓では血清中の濃度の約 40 %、脳では約 1.5 % となっていた。他の PFAA の初期濃度 ( $C_0$  又は  $C_{\max}$ ) は、肝臓において最も濃度が高く、次いで腎臓、血清となっていた。脳、心臓、脾臓については、血清中よりも濃度が低く、脳における濃度が最も低かった。



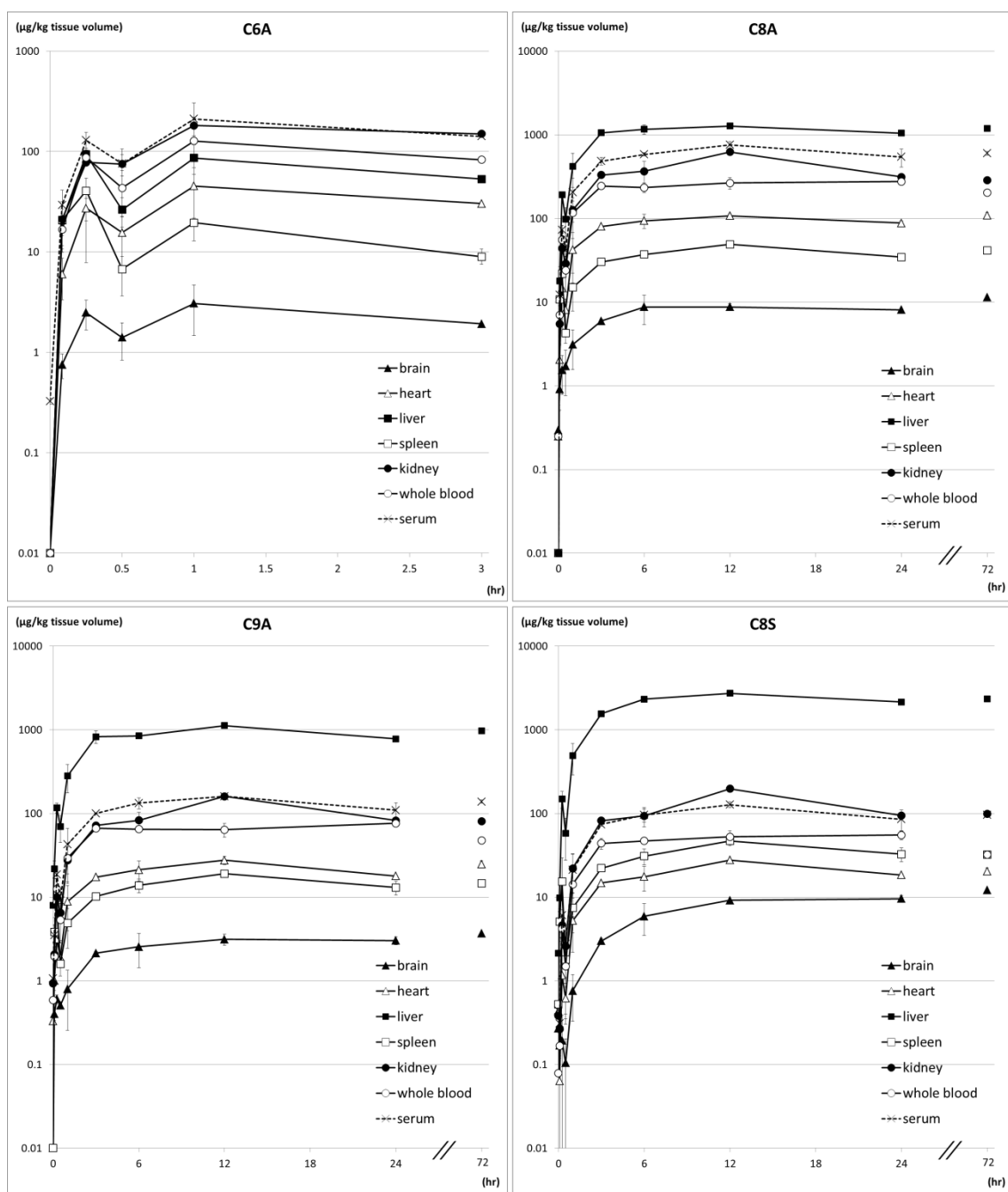


Fig. IV-1. 単回投与後の初期段階における各臓器中の PFAA 濃度変化

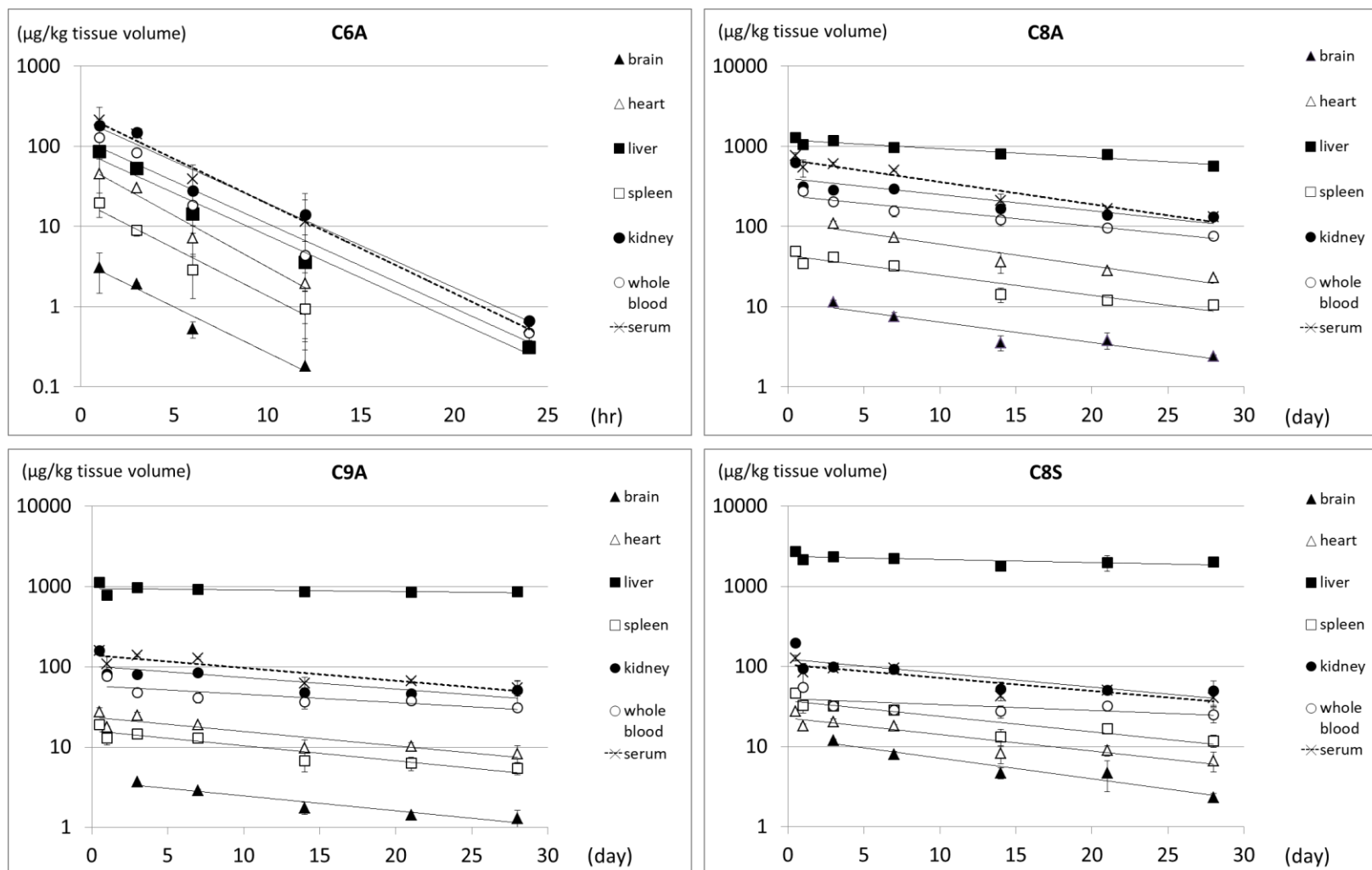


Fig. IV-2. 単回投与後 ( $T_{\max}$  以降) の各臓器における PFAA 濃度の経時変化

**Table IV-4.** 単回投与試験から求めた動態パラメータ

|   |             | $C_0$<br>( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume) |             | $C_{\text{tmax}}$<br>( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume) | $k_e$<br>(/day) | $t_{1/2}$<br>(day) |                 | ratio<br>to serum |
|---|-------------|--|-------------|--|-----------------|--------------------|-----------------|-------------------|
| C6A<br>(BD: 100 ( $\mu\text{g/kg}$ BW)) | brain       | 3.68                                       | (1.20-6.98) | 3.08   | 6.3             | 0.11               | (0.081-0.54)    | 0.98              |
|   | heart       | 59.9                                       | (19.6-188)  | 45.3   | 7.1             | 0.10               | (0.058-0.17)    | 0.87              |
|   | liver       | 88.3                                       | (30.5-189)  | 86.4   | 5.8             | 0.12               | (0.091-0.17)    | 1.1               |
|   | spleen      | 20.8                                       | (7.62-57.0) | 19.6   | 6.5             | 0.11               | (0.065-0.19)    | 0.94              |
|   | kidney      | 218  | (94.8-428)  | 182  | 5.8             | 0.12               | (0.094-0.16)    | 1.1               |
|   | whole blood | 124  | (36.3-288)  | 127  | 5.8             | 0.12               | (0.088-0.18)    | 1.1               |
|   | serum       | 253  | (84.9-535)  | 211  | 6.2             | 0.11               | (0.086-0.16)    | 1.0               |
| C8A<br>(BD: 100 ( $\mu\text{g/kg}$ BW)) | brain       | 11.5                                       | (8.77-15.8) | 8.77   | 0.058           | 12                 | (8.8-17)        | 1.1               |
|   | heart       | 113  | (88.9-150)  | 108  | 0.063           | 11                 | (8.6-14)        | 1.0               |
|   | liver       | 1200                                       | (1100-1330) | 1270   | 0.025           | 28                 | (21-37)         | 2.5               |
|   | spleen      | 43.3                                       | (37.4-52.3) | 49.2   | 0.057           | 12                 | (9.8-15)        | 1.1               |
|   | kidney      | 397  | (313-479)   | 624  | 0.046           | 15                 | (11-23)         | 1.4               |
|   | whole blood | 241  | (208-280)   | 265  | 0.044           | 16                 | (13-21)         | 1.5               |
|   | serum       | 680  | (580-812)   | 759  | 0.064           | 11                 | (9.1-13)        | 1.0               |
| C9A<br>(BD: 50 ( $\mu\text{g/kg}$ BW))  | brain       | 3.80                                       | (3.17-4.82) | 3.13   | 0.043           | 16                 | (12-22)         | 0.86              |
|   | heart       | 23.6                                       | (19.8-29.4) | 27.6   | 0.041           | 17                 | (12-24)         | 0.90              |
|   | liver       | 947  | (865-1040)  | 1120   | 0.004           | 160                | (62- $\infty$ ) | 8.5               |
|   | spleen      | 16.0                                       | (13.4-19.3) | 19.0   | 0.043           | 16                 | (12-22)         | 0.86              |
|   | kidney      | 102  | (80.3-127)  | 160  | 0.033           | 21                 | (14-41)         | 1.1               |
|   | whole blood | 58.1                                       | (47.6-68.8) | 63.9   | 0.024           | 29                 | (18-64)         | 1.5               |
|   | serum       | 141  | (119-172)   | 160  | 0.037           | 19                 | (13-28)         | 1.0               |
| C8S<br>(BD: 100 ( $\mu\text{g/kg}$ BW)) | brain       | 13.0                                       | (9.72-17.7) | 9.17   | 0.059           | 12                 | (8.6-16)        | 0.63              |
|   | heart       | 22.8                                       | (18.9-28.1) | 27.7   | 0.047           | 15                 | (11-20)         | 0.79              |
|   | liver       | 2360                                       | (2090-2650) | 2730   | 0.009           | 81                 | (39-3600)       | 4.4               |
|   | spleen      | 37.4                                       | (30.3-45.6) | 46.9   | 0.045           | 16                 | (12-32)         | 0.84              |
|   | kidney      | 124  | (97.2-155)  | 197  | 0.040           | 17                 | (12-29)         | 0.94              |
|   | whole blood | 39.6                                       | (32.8-50.7) | 52.6   | 0.017           | 41                 | (20-180)        | 2.2               |
|   | serum       | 105  | (87.3-129)  | 127  | 0.038           | 18                 | (13-29)         | 1.0               |

$C_0$  と  $t_{1/2}$  の括弧書きは、95%信頼区間を表す。

相対臓器重量 (Tissue weight ;  $T_w$ ) (g/kg BW) : 脳 7.4±0.22、心臓 3.6±0.068、肝臓 50±0.81、脾臓 3.0±0.10、腎臓 7.9±0.13、全血 54、血清 31 ((3)－4 参照)

### (3) -3 見かけの分布容積

見かけの分布容積 (volume of distribution ;  $V_d$  (kg tissue volume/kg BW) ) は、薬物動態を考慮するうえで非常に重要なパラメータである。投与された PFAA は、血液、間質液、臓器など様々な組織に分散するものと考えられる。 $V_d$  は、PFAA が見かけ上、臓器中濃度と等しい濃度で均一に分布するものとして換算したときの容積であり、PFAA がどれだけの体積に分散したかを示している。この  $V_d$  を次の 2 つの方法で算出した。

$$V_{d_{ext}} = \frac{BD}{C_0} \quad \dots \textcircled{1}$$

$$V_{d_{area}} = \frac{BD}{k_e \cdot AUC} \quad \dots \textcircled{2}$$

①は、単回投与試験における投与量 ( $BD$  ( $\mu\text{g/kg BW}$ )) を回帰式への外挿 (extrapolation) から求めた初期濃度  $C_0$  ( $\mu\text{g/kg tissue volume}$ ) で割ることで算出した  $V_d$  であり、②は、 $BD$  を  $k_e$  (/day) と濃度-時間曲線下面積 (the area under concentration versus time curve ;  $AUC$  ( $\text{day} \cdot \mu\text{g/kg tissue volume}$ )) で割ることで算出した  $V_d$  である。それぞれで単回投与試験から得られた異なるデータを使用した。 $AUC$  は、各 PFAA 濃度の経時変化のグラフの投与直後 ( $t = 0$ ) からすべての PFAA が体外に排出されるまでの時間 (つまり臓器中の濃度が 0 になるまでの時間 ;  $t = \infty$ ) を積分した面積として表されるため、実測データのある  $t = 0$  から 28 day までは区分求積法で算出し、濃度データのない 28 day 以降は、回帰式を利用し、次のとおり算出した。時間  $t$  における臓器中の PFAA 濃度 ( $C$  ( $\mu\text{g/kg tissue volume}$ )) は、

$$C = C_0 \cdot e^{-k_e \cdot t}$$

と表され、この式は単回投与試験から得られているため (パラメータは Table IV-4. のとおり)、求める  $AUC$  は、

$$AUC = \int_t^{\infty} C dt = \int_t^{\infty} C_0 \cdot e^{-k_e \cdot t} dt = C_0 \left[ -\frac{1}{k_e} e^{-k_e \cdot t} \right]_t^{\infty} = C_0 \cdot \frac{1}{k_e} e^{-k_e \cdot t}$$

となる。これに各 PFAA の  $C_0$ 、 $k_e$ 、及び  $t = 28$  を代入した。算出した  $AUC$ 、 $V_{d_{ext}}$ 、 $V_{d_{area}}$  は、Table IV-5. のとおりである。すべての PFAA 及び臓器で、 $V_{d_{ext}}/V_{d_{area}}$  の値はほぼ 1 となっており、精度の高い分析結果が得られていることが明らかとなった。血清の  $V_d$  (kg tissue volume/kg BW) は、C6A で 0.40、C8A で 0.15、C9A で 0.36、C8S で 0.96 であった。

(3) -4 各臓器への送達

投与した PFAA の各臓器への送達量 (%) を以下の式から計算した。

$$\frac{AUC \cdot T_w \cdot k_e}{BD} \cdot 100$$

$T_w$  は相対臓器重量 (kg tissue weight/kg BW) で、脳  $7.4 \pm 0.22$ 、心臓  $3.6 \pm 0.068$ 、肝臓  $50 \pm 0.81$ 、脾臓  $3.0 \pm 0.10$ 、腎臓  $7.9 \pm 0.13$ 、全血 54、血清 31 であった。脳、心臓、肝臓、脾臓、腎臓の  $T_w$  は単回投与試験で使用したラット 29 頭の平均  $\pm$  標準誤差である。全血と血清の  $T_w$  は実測が不可能なため、先行研究 (Davies and Morris, 1993) で報告されているラットの血液量と測定したヘマトクリット値 (Table IV-3.) から求めた。この式は、 $V_d$  を使えば、 $T_w/V_d \cdot 100$  となる。各臓器への送達は、Table IV-5. のとおりである。投与されたほぼすべての C8S は肝臓に配分され、続いて C9A が 87 %、C8A が 44 % であった。一方 C6A は 4.6 % だけであった。PFAA の脳への送達は非常に少なく、C6A では 0.027 % であった。

**Table IV-5.** 単回投与試験の  $C_0$  と AUC から求めた  $V_d$ 、及び各臓器への PFAA の送達

|  |             | AUC<br>( $\mu\text{g/kg tissue volume} \cdot \text{day}$ ) | $V_{d_{\text{ext}}}$ (a)<br>(kg tissue volume/kg BW) | $V_{d_{\text{area}}}$ (b)<br>(kg tissue volume/kg BW) | (a)/(b) | PFAA delivery<br>(%) |
|--|-------------|--|--|---|---------|----------------------|
| C6A<br>(BD: 100 ( $\mu\text{g/kg BW}$ )) | brain       | 0.58   | 27   | 28  | 0.99    | 0.027                |
|  | heart       | 8.1  | 1.7  | 1.7   | 0.96    | 0.21                 |
|  | liver       | 16   | 1.1  | 1.1   | 1.0     | 4.6                  |
|  | spleen      | 3.4  | 4.8  | 4.5   | 1.1     | 0.067                |
|  | kidney      | 38   | 0.46   | 0.45  | 1.0     | 1.8                  |
|  | whole blood | 22   | 0.81   | 0.76  | 1.1     | 7.1                  |
|  | serum       | 41   | 0.40   | 0.40  | 0.99    | 7.9                  |
| C8A<br>(BD: 100 ( $\mu\text{g/kg BW}$ )) | brain       | 160  | 8.7  | 9.0   | 0.97    | 0.069                |
|  | heart       | 1,500  | 0.89   | 0.91  | 0.97    | 0.34                 |
|  | liver       | 35,000   | 0.083  | 0.083   | 1.0     | 44                   |
|  | spleen      | 630  | 2.3  | 2.3   | 0.99    | 0.11                 |
|  | kidney      | 6,600  | 0.25   | 0.27  | 0.95    | 2.4                  |
|  | whole blood | 4,300  | 0.42   | 0.42  | 0.98    | 10                   |
|  | serum       | 9,200  | 0.15   | 0.15  | 1.0     | 18                   |
| C9A<br>(BD: 50 ( $\mu\text{g/kg BW}$ ))  | brain       | 69   | 13   | 14  | 0.97    | 0.044                |
|  | heart       | 450  | 2.1  | 2.1   | 0.99    | 0.31                 |
|  | liver       | 200,000  | 0.053  | 0.053   | 1.0     | 87                   |
|  | spleen      | 290  | 3.1  | 3.2   | 0.98    | 0.076                |
|  | kidney      | 2,300  | 0.49   | 0.51  | 0.95    | 1.2                  |
|  | whole blood | 1,800  | 0.86   | 0.88  | 0.98    | 4.7                  |
|  | serum       | 3,000  | 0.36   | 0.36  | 1.0     | 6.9                  |
| C8S<br>(BD: 100 ( $\mu\text{g/kg BW}$ )) | brain       | 180  | 7.7  | 7.9   | 0.97    | 0.079                |
|  | heart       | 380  | 4.4  | 4.5   | 0.98    | 0.065                |
|  | liver       | 240,000  | 0.042  | 0.043   | 0.99    | 100                  |
|  | spleen      | 650  | 2.7  | 2.8   | 0.97    | 0.087                |
|  | kidney      | 2,300  | 0.81   | 0.85  | 0.95    | 0.73                 |
|  | whole blood | 1,800  | 2.5  | 2.5   | 0.99    | 1.6                  |
|  | serum       | 2,200  | 0.95   | 0.96  | 0.99    | 2.6                  |

#### (4) 長期投与試験結果

長期投与試験は1群4頭のラットで行った。4種のPFAAを1、5、25 µg/L 含んだ飲用水を各群に1、3か月間自由投与し、それぞれ低用量群 (L)、中用量群 (M)、高用量群 (H) とした。長期投与試験を実施している間、いずれのラットにも異常行動は観察されなかった。摂水量、飼料の摂食量、体重、PFAA 摂取量 (dose rate) を Table IV-6 (1), (2) に示す。各用量群の平均摂食量は、1~25 µg/L の用量範囲でほぼ同じであった。摂食量の全平均値は 0.058 kg/kg BW/day であった。飼料中に C8A が 1.2 µg/kg 非意図的に混入していたことを考慮すると、飼料からの C8A 摂取量は  $1.2 \times 0.057 \approx 0.07$  µg/kg BW/day であったと考えられる。摂水量及び体重は、1~25 µg/L の用量範囲でほぼ同じであった。Table IV-6 (1), (2) に示すように、摂水量は、L 群で 0.077 L/kg BW/day、M 群で 0.076 L/kg BW/day、H 群で 0.072 L/kg BW/day であり、平均摂水量は 0.075 L/kg BW/day であった。飲用水に非意図的に混入していた PFAA はほぼ無視できる量であったため、長期投与試験における PFAA 摂取量は、L 群で 0.077 µg/kg BW/day、M 群で 0.38 µg/kg BW/day、H 群で 1.8 µg/kg BW/day であった。

1 µg/L の飲用水による PFAA 摂取量 (dose rate) で、平均摂水量 0.075 L/kg BW/day を毎日摂取したと仮定すると、本試験の長期基準用量 (Chronic Reference Dose ; CRD) は、0.075 µg/kg BW/day となる。

#### (4) -1 各臓器における PFAA 濃度

各臓器における PFAA 濃度 (4 頭の平均±標準誤差) を Table IV-7. に示す。コントロール群 (C) において、いくつかの臓器から PFAA が検出された。検出された PFAA は、飼料中又は飲用水中から検出された非意図的に混入していた PFAA に由来するものとは考えられなかった。これは、もし飼料中に非意図的に混入していた C8A に由来していたものとする、検出された C8A 濃度では低すぎ、IV-3 (4) で算出した 0.07 µg/kg BW/day という比較的高濃度の非意図的混入が原因であるとは考えられなかった。また、もし飲用水中に非意図的に混入していた PFAA に由来していたものとする、検出された PFAA 濃度では高すぎ、0.0003 µg/L 未満の非意図的混入が原因であるとは考えられなかった。

C6A は、単回投与試験の結果から求められた  $k_e$  の値が他の PFAA よりもかなり大きかったことから、非常に迅速に排出されることが予測されたが、実際そのとおりであり、ほとんど蓄積されていなかった。他の PFAA は、多くが肝臓に蓄積されており、続いて血清又は腎臓に蓄積されていた。PFAA の中では、血清中の濃度に対する肝臓中の濃度の比は、C8S で最も高かった。この傾向は、すべての用量群で同じであった。すべての PFAA について、濃度は PFAA 摂取量に比例して大きくなっているようであった。各臓器における PFAA 濃度は、C 群における PFAA 濃度レベルが無視できるほど小さいものとはなっていないため、コントロール値を差し引き、正味の濃度として算出した (Fig. IV-3.)。

**Table IV-6 (1).** 長期投与試験における摂水量、摂食量、体重、PFAA 摂取量 (dose rate) (コントロール群 (C)、低用量群 (L))

| C (0 µg/L) |                              |              |            |               |                | L (1 µg/L)                       |              |            |               |                |       |
|------------|------------------------------|--------------|------------|---------------|----------------|----------------------------------|--------------|------------|---------------|----------------|-------|
| (day)      | water intake                 | feed intake  | mean BW    | water intake  | feed intake    | water intake                     | feed intake  | mean BW    | water intake  | feed intake    |       |
|            | (L/rat/day)                  | (kg/rat/day) | (g BW/rat) | (L/kg BW/day) | (kg/kg BW/day) | (L/rat/day)                      | (kg/rat/day) | (g BW/rat) | (L/kg BW/day) | (kg/kg BW/day) |       |
| 1 month    | 0~6                          | 0.025        | 0.020      | 246           | 0.102          | 0.082                            | 0.024        | 0.019      | 244           | 0.099          | 0.079 |
|            | 6~13                         | 0.028        | 0.022      | 293           | 0.095          | 0.075                            | 0.027        | 0.021      | 288           | 0.095          | 0.074 |
|            | 13~20                        | 0.030        | 0.023      | 335           | 0.090          | 0.068                            | 0.030        | 0.022      | 328           | 0.092          | 0.068 |
|            | 20~26                        | 0.030        | 0.023      | 369           | 0.082          | 0.061                            | 0.031        | 0.022      | 361           | 0.085          | 0.061 |
|            | 26~30                        | 0.026        | 0.019      | 387           | 0.068          | 0.049                            | 0.028        | 0.019      | 380           | 0.074          | 0.051 |
| 3 months   | 0~6                          | 0.029        | 0.019      | 226           | 0.130          | 0.085                            | 0.027        | 0.020      | 225           | 0.119          | 0.089 |
|            | 6~13                         | 0.025        | 0.020      | 270           | 0.092          | 0.072                            | 0.025        | 0.020      | 272           | 0.090          | 0.073 |
|            | 13~20                        | 0.028        | 0.021      | 309           | 0.092          | 0.068                            | 0.029        | 0.020      | 312           | 0.091          | 0.065 |
|            | 20~27                        | 0.026        | 0.019      | 339           | 0.078          | 0.056                            | 0.027        | 0.019      | 342           | 0.080          | 0.057 |
|            | 27~34                        | 0.028        | 0.021      | 363           | 0.077          | 0.058                            | 0.029        | 0.021      | 367           | 0.079          | 0.057 |
|            | 34~41                        | 0.028        | 0.020      | 385           | 0.072          | 0.051                            | 0.030        | 0.020      | 390           | 0.078          | 0.052 |
|            | 41~47                        | 0.027        | 0.020      | 403           | 0.068          | 0.049                            | 0.029        | 0.021      | 410           | 0.071          | 0.050 |
|            | 47~55                        | 0.026        | 0.020      | 421           | 0.062          | 0.047                            | 0.029        | 0.020      | 426           | 0.069          | 0.046 |
|            | 55~62                        | 0.023        | 0.019      | 437           | 0.053          | 0.044                            | 0.024        | 0.020      | 441           | 0.054          | 0.046 |
|            | 62~69                        | 0.023        | 0.020      | 452           | 0.052          | 0.045                            | 0.024        | 0.021      | 456           | 0.054          | 0.046 |
|            | 69~76                        | 0.023        | 0.020      | 465           | 0.049          | 0.042                            | 0.025        | 0.021      | 472           | 0.053          | 0.045 |
|            | 76~83                        | 0.022        | 0.019      | 474           | 0.046          | 0.040                            | 0.024        | 0.020      | 483           | 0.050          | 0.041 |
|            | 83~90                        | 0.021        | 0.019      | 481           | 0.044          | 0.039                            | 0.023        | 0.019      | 491           | 0.047          | 0.040 |
| mean       | 0.026                        | 0.020        | 370        | <b>0.075</b>  | 0.057          | 0.027                            | 0.020        | 372        | <b>0.077</b>  | 0.058          |       |
| dose rate  | 0.075 × 0 = 0 (µg/kg BW/day) |              |            |               |                | 0.077 × 1 = 0.077 (µg/kg BW/day) |              |            |               |                |       |



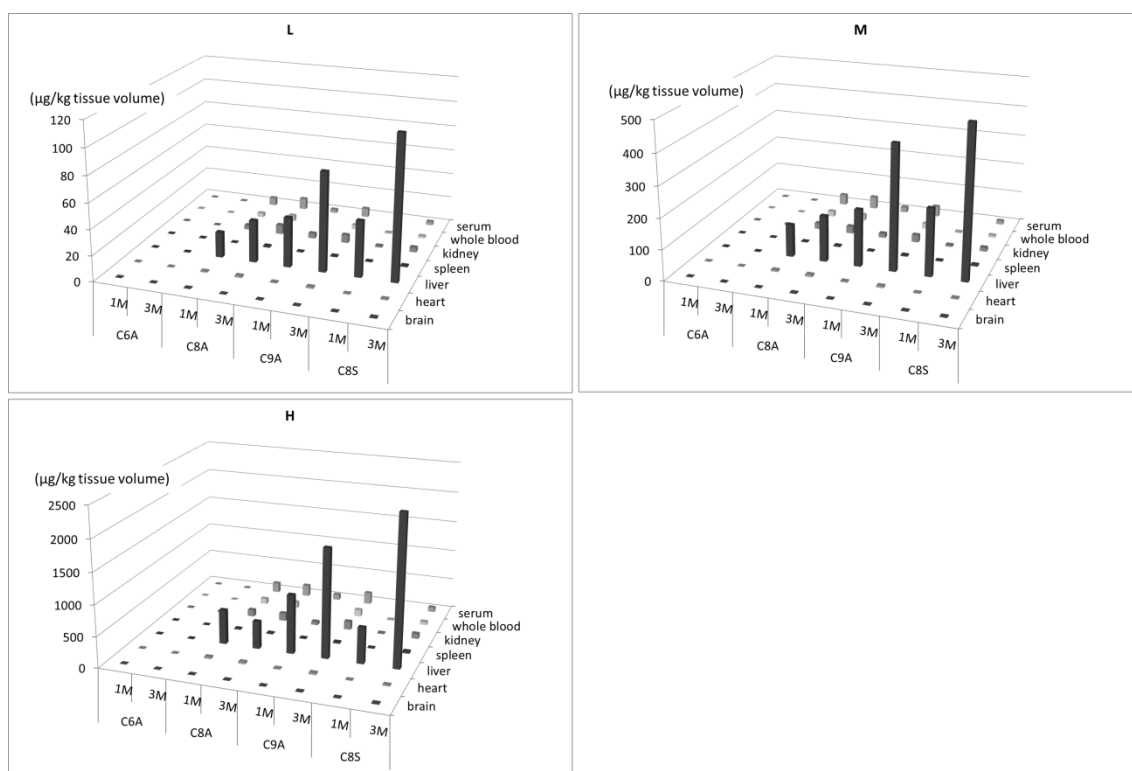
**Table IV-6 (2).** 長期投与試験における摂水量、摂食量、体重、PFAA 摂取量 (dose rate) (中用量群 (M)、高用量群 (H))

| M (5 µg/L) |                                 |                             |                             |                       |                               | H (25 µg/L)                     |                             |                             |                       |                               |                               |
|------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|            | (day)                           | water intake<br>(L/rat/day) | feed intake<br>(kg/rat/day) | mean BW<br>(g BW/rat) | water intake<br>(L/kg BW/day) | feed intake<br>(kg/kg BW/day)   | water intake<br>(L/rat/day) | feed intake<br>(kg/rat/day) | mean BW<br>(g BW/rat) | water intake<br>(L/kg BW/day) | feed intake<br>(kg/kg BW/day) |
| 1 month    | 0~6                             | 0.025                       | 0.021                       | 247                   | 0.102                         | 0.083                           | 0.024                       | 0.020                       | 240                   | 0.099                         | 0.081                         |
|            | 6~13                            | 0.028                       | 0.022                       | 294                   | 0.094                         | 0.075                           | 0.027                       | 0.022                       | 289                   | 0.095                         | 0.076                         |
|            | 13~20                           | 0.030                       | 0.023                       | 334                   | 0.091                         | 0.068                           | 0.031                       | 0.023                       | 334                   | 0.093                         | 0.069                         |
|            | 20~26                           | 0.030                       | 0.022                       | 365                   | 0.082                         | 0.061                           | 0.031                       | 0.023                       | 367                   | 0.084                         | 0.062                         |
|            | 26~30                           | 0.028                       | 0.020                       | 382                   | 0.074                         | 0.052                           | 0.028                       | 0.020                       | 383                   | 0.074                         | 0.053                         |
| 3 months   | 0~6                             | 0.029                       | 0.020                       | 228                   | 0.127                         | 0.087                           | 0.026                       | 0.020                       | 223                   | 0.117                         | 0.088                         |
|            | 6~13                            | 0.026                       | 0.020                       | 276                   | 0.094                         | 0.073                           | 0.023                       | 0.019                       | 266                   | 0.087                         | 0.072                         |
|            | 13~20                           | 0.030                       | 0.021                       | 317                   | 0.094                         | 0.067                           | 0.027                       | 0.020                       | 305                   | 0.087                         | 0.067                         |
|            | 20~27                           | 0.028                       | 0.020                       | 350                   | 0.081                         | 0.058                           | 0.025                       | 0.020                       | 337                   | 0.075                         | 0.058                         |
|            | 27~34                           | 0.030                       | 0.022                       | 378                   | 0.080                         | 0.058                           | 0.026                       | 0.021                       | 362                   | 0.072                         | 0.057                         |
|            | 34~41                           | 0.030                       | 0.021                       | 402                   | 0.074                         | 0.052                           | 0.026                       | 0.020                       | 384                   | 0.068                         | 0.052                         |
|            | 41~47                           | 0.029                       | 0.021                       | 424                   | 0.067                         | 0.049                           | 0.025                       | 0.020                       | 403                   | 0.061                         | 0.049                         |
|            | 47~55                           | 0.028                       | 0.020                       | 441                   | 0.064                         | 0.046                           | 0.025                       | 0.019                       | 419                   | 0.060                         | 0.046                         |
|            | 55~62                           | 0.024                       | 0.021                       | 458                   | 0.051                         | 0.045                           | 0.019                       | 0.020                       | 436                   | 0.045                         | 0.045                         |
|            | 62~69                           | 0.023                       | 0.021                       | 473                   | 0.049                         | 0.044                           | 0.021                       | 0.021                       | 452                   | 0.047                         | 0.046                         |
|            | 69~76                           | 0.024                       | 0.022                       | 486                   | 0.050                         | 0.044                           | 0.021                       | 0.020                       | 465                   | 0.045                         | 0.043                         |
|            | 76~83                           | 0.023                       | 0.021                       | 498                   | 0.046                         | 0.042                           | 0.020                       | 0.020                       | 475                   | 0.043                         | 0.041                         |
|            | 83~90                           | 0.022                       | 0.020                       | 507                   | 0.044                         | 0.040                           | 0.021                       | 0.020                       | 487                   | 0.043                         | 0.041                         |
| mean       | 0.027                           | 0.021                       | 381                         | <b>0.076</b>          | 0.058                         | 0.025                           | 0.020                       | 368                         | <b>0.072</b>          | 0.058                         |                               |
| dose rate  | 0.076 × 5 = 0.38 (µg/kg BW/day) |                             |                             |                       |                               | 0.072 × 25 = 1.8 (µg/kg BW/day) |                             |                             |                       |                               |                               |

**Table IV-7.** 1 か月及び3 か月における各臓器中の PFAA 濃度 (µg/kg tissue volume)

|   | tissue      | C6A           |               | C8A          |               | C9A           |               | C8S           |               |
|---|-------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|   |             | 1 month       | 3 months      | 1 month      | 3 months      | 1 month       | 3 months      | 1 month       | 3 months      |
| C | brain       | 0.049 ± 0.049 | n.d.          | 0.161 ± 0.16 | 0.207 ± 0.21  | 0.287 ± 0.052 | 0.333 ± 0.045 | n.d.          | n.d.          |
|   | heart       | 0.050 ± 0.050 | n.d.          | 0.286 ± 0.29 | 0.277 ± 0.28  | 0.454 ± 0.036 | 0.498 ± 0.012 | n.d.          | n.d.          |
|   | liver       | n.d.          | n.d.          | 0.238 ± 0.24 | 0.392 ± 0.043 | 15.2 ± 0.78   | 16.6 ± 1.2    | 2.57 ± 0.14   | 4.35 ± 0.053  |
|   | spleen      | n.d.          | n.d.          | 0.235 ± 0.23 | 0.266 ± 0.089 | 0.315 ± 0.015 | 0.411 ± 0.058 | n.d.          | n.d.          |
|   | kidney      | n.d.          | n.d.          | 0.246 ± 0.25 | 0.443 ± 0.067 | 1.04 ± 0.048  | 1.20 ± 0.037  | n.d.          | n.d.          |
|   | whole blood | n.d.          | n.d.          | 0.190 ± 0.19 | n.d.          | 0.898 ± 0.052 | 0.938 ± 0.066 | n.d.          | n.d.          |
|   | serum       | 0.065 ± 0.065 | n.d.          | 0.354 ± 0.35 | 0.162 ± 0.16  | 1.87 ± 0.26   | 1.45 ± 0.048  | n.d.          | n.d.          |
| L | brain       | 0.043 ± 0.043 | n.d.          | 0.182 ± 0.18 | 0.064 ± 0.064 | 0.292 ± 0.027 | 0.409 ± 0.035 | 0.095 ± 0.055 | 0.347 ± 0.018 |
|   | heart       | n.d.          | n.d.          | 1.07 ± 0.41  | 1.65 ± 0.085  | 0.935 ± 0.078 | 1.68 ± 0.035  | 0.171 ± 0.057 | 0.603 ± 0.033 |
|   | liver       | n.d.          | n.d.          | 20.2 ± 0.78  | 33.3 ± 4.2    | 54.0 ± 2.8    | 94.1 ± 6.8    | 46.3 ± 2.8    | 116 ± 15      |
|   | spleen      | n.d.          | 0.147 ± 0.088 | 0.382 ± 0.38 | 1.41 ± 0.18   | 0.649 ± 0.088 | 1.17 ± 0.029  | 0.359 ± 0.049 | 0.958 ± 0.035 |
|   | kidney      | n.d.          | n.d.          | 3.61 ± 0.30  | 7.66 ± 0.37   | 4.95 ± 0.22   | 7.57 ± 0.33   | 1.13 ± 0.17   | 3.65 ± 0.35   |
|   | whole blood | 0.104 ± 0.062 | n.d.          | 3.24 ± 0.55  | 4.55 ± 0.48   | 2.49 ± 0.23   | 4.27 ± 0.36   | 0.688 ± 0.088 | 1.54 ± 0.18   |
|   | serum       | 0.077 ± 0.077 | 0.150 ± 0.087 | 6.51 ± 1.2   | 8.90 ± 0.25   | 4.57 ± 0.43   | 8.48 ± 0.57   | 1.09 ± 0.15   | 2.71 ± 0.17   |
| M | brain       | n.d.          | 0.078 ± 0.078 | 0.390 ± 0.31 | 1.31 ± 0.13   | 0.559 ± 0.061 | 1.32 ± 0.12   | 0.671 ± 0.18  | 1.48 ± 0.21   |
|   | heart       | n.d.          | n.d.          | 5.27 ± 0.79  | 7.59 ± 0.73   | 3.08 ± 0.21   | 6.04 ± 0.77   | 1.13 ± 0.13   | 2.80 ± 0.36   |
|   | liver       | 0.199 ± 0.13  | n.d.          | 106 ± 9.8    | 151 ± 19      | 202 ± 13      | 426 ± 22      | 223 ± 4.3     | 500 ± 31      |
|   | spleen      | n.d.          | n.d.          | 2.24 ± 0.50  | 3.75 ± 0.78   | 2.11 ± 0.24   | 4.02 ± 0.44   | 1.76 ± 0.24   | 4.52 ± 0.75   |
|   | kidney      | 0.252 ± 0.023 | 0.073 ± 0.073 | 19.6 ± 1.4   | 23.9 ± 4.6    | 15.0 ± 0.98   | 25.4 ± 3.0    | 5.46 ± 0.44   | 12.6 ± 1.6    |
|   | whole blood | 0.114 ± 0.068 | 0.118 ± 0.070 | 17.8 ± 1.7   | 20.0 ± 0.78   | 10.7 ± 0.65   | 17.9 ± 1.5    | 3.78 ± 0.13   | 6.96 ± 0.94   |
|   | serum       | 0.253 ± 0.085 | 0.196 ± 0.066 | 35.4 ± 2.2   | 40.8 ± 3.2    | 19.4 ± 1.2    | 36.3 ± 4.5    | 6.51 ± 0.60   | 12.4 ± 2.1    |
| H | brain       | 0.047 ± 0.047 | 0.062 ± 0.062 | 2.99 ± 0.33  | 3.92 ± 0.57   | 2.26 ± 0.21   | 5.20 ± 0.62   | 1.91 ± 0.26   | 9.97 ± 1.4    |
|   | heart       | 0.203 ± 0.072 | 0.196 ± 0.067 | 28.4 ± 2.4   | 30.8 ± 5.6    | 12.7 ± 0.90   | 30.2 ± 2.1    | 2.78 ± 0.25   | 16.4 ± 0.98   |
|   | liver       | 0.366 ± 0.047 | 0.357 ± 0.034 | 557 ± 11     | 447 ± 67      | 967 ± 59      | 1770 ± 76     | 585 ± 29      | 2410 ± 56     |
|   | spleen      | 0.060 ± 0.060 | n.d.          | 13.0 ± 0.57  | 15.7 ± 2.2    | 9.64 ± 0.47   | 22.4 ± 0.97   | 4.85 ± 0.55   | 29.6 ± 1.5    |
|   | kidney      | 0.637 ± 0.12  | 0.766 ± 0.12  | 109 ± 11     | 123 ± 21      | 54.2 ± 4.7    | 133 ± 7.8     | 13.3 ± 0.85   | 81.2 ± 6.6    |
|   | whole blood | 0.453 ± 0.054 | 0.452 ± 0.042 | 87.9 ± 5.1   | 97.6 ± 11     | 46.7 ± 2.7    | 107 ± 5.1     | 10.8 ± 0.76   | 50.2 ± 3.5    |
|   | serum       | 0.704 ± 0.083 | 0.831 ± 0.047 | 160 ± 9.9    | 184 ± 38      | 89.5 ± 5.7    | 189 ± 8.5     | 17.2 ± 1.4    | 73.7 ± 3.1    |

濃度は4頭の平均±標準誤差、n.d.は、LOD未満。



**Fig. IV-3.** 1、3 か月間の長期投与試験後の正味の PFAS 濃度

(縦軸は、Table IV-7. に示したデータからコントロール値を差し引いた正味の PFAS 濃度)

#### (4) ー2 用量標準化濃度 (Dose-normalized concentration)

各群における各臓器の PFAS 濃度の比較を行った。C6A 濃度は L、M 群で非常に低く、M 群や H 群で L 群を基準とした濃度比を計算できなかったため、用量で標準化した濃度を求めることとした。それぞれの群の PFAS 摂取量(dose rate)を比較すると、L 群は 0.077 µg/kg BW/day、M 群は 0.38 µg/kg BW/day、H 群は 1.8 µg/kg BW/day であった (Table IV-6 (1), (2).) ため、用量標準化濃度を計算するための係数は、L 群を基準とすると、M 群 4.9 (0.38/0.077)、H 群 23.4 (1.8/0.077) と算出された。各群、各臓器の正味の PFAS 濃度をこれらの係数で割って、用量標準化濃度を算出した。算出した結果を Table IV-8. に示す。C6A の L 群と M 群では、Table IV-7. のとおり 1 か月、3 か月ともに n.d. が多く、用量標準化して平均用量標準化濃度を算出できなかったため、C6A だけは確実に蓄積性を確認できた H 群の標準化濃度データだけを使用した。L に対する M、H の用量標準化濃度比 (dose ratio の mean ratio) は 0.65 から 2.3 の間にあり、dose rate が高くなると臓器へ取り込まれる割合も高くなるというような、濃度に依存している傾向は見られなかった。つまり、この結果からは、1~25 µg/L の用量範囲では、各臓器の PFAS 濃度は用量に比例する (取り込まれる割合は一定) と考えられた。なお、L、M、H 群における各臓器中の用量標準化平均 PFAS 濃度 ( $C_{(1M)}$ 、 $C_{(3M)}$ ) は、CRD (0.075 µg/kg BW/day) で投与したときの、各臓器の PFAS 濃度であると考えられる。

**Table IV-8.** 1 か月及び 3 か月における各臓器中の用量標準化平均 PFAA 濃度 (µg/kg tissue volume)

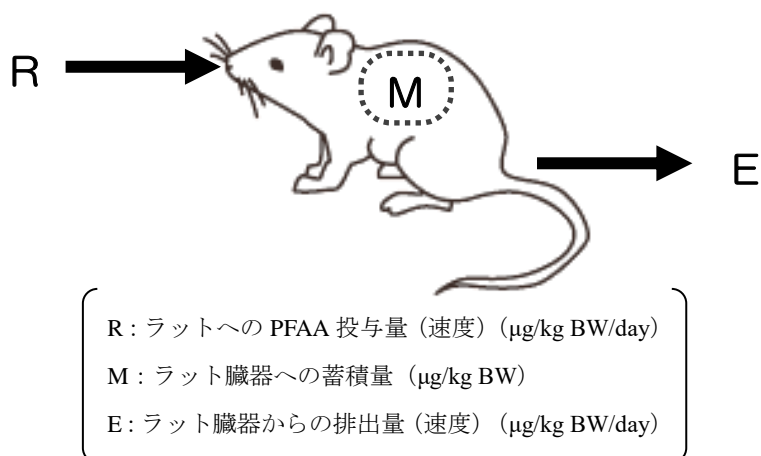
| tissue |             | 1 month  |       |       |            |      | 3 months   |  |      |       |            |      |  |
|--------|-------------|--|-------|-------|------------|------|--|--|------|-------|------------|------|--|
|        |             | dose-normalized concentration<br>(µg/kg tissue volume) |       |       | dose ratio |      | MEAN<br><br>concentration<br>( C <sub>(1M)</sub> ) | dose-normalized concentration<br>(µg/kg tissue volume) |      |       | dose ratio |      | MEAN<br><br>concentration<br>( C <sub>(3M)</sub> ) |
|        |             | L  | M     | H     | M/L        | H/L  |  | L  | M    | H     | M/L        | H/L  |  |
| C6A    | brain       | -  | -     | 0     | -          | -    | <b>0</b>   | -  | -    | 0.003 | -          | -    | <b>0.003</b>                                       |
|        | heart       | -  | -     | 0.007 | -          | -    | <b>0.007</b>                                       | -  | -    | 0.008 | -          | -    | <b>0.008</b>                                       |
|        | liver       | -  | -     | 0.016 | -          | -    | <b>0.016</b>                                       | -  | -    | 0.015 | -          | -    | <b>0.015</b>                                       |
|        | spleen      | -  | -     | 0.003 | -          | -    | <b>0.003</b>                                       | -  | -    | 0     | -          | -    | <b>0</b>   |
|        | kidney      | -  | -     | 0.027 | -          | -    | <b>0.027</b>                                       | -  | -    | 0.033 | -          | -    | <b>0.033</b>                                       |
|        | whole blood | -  | -     | 0.019 | -          | -    | <b>0.019</b>                                       | -  | -    | 0.019 | -          | -    | <b>0.019</b>                                       |
|        | serum       | -  | -     | 0.027 | -          | -    | <b>0.027</b>                                       | -  | -    | 0.035 | -          | -    | <b>0.035</b>                                       |
|        | mean ratio  |  |       |       | -          | -    |  |  |      |       | -          | -    |  |
| C8A    | brain       | 0.021  | 0.046 | 0.12  | 2.2        | 5.7  | <b>0.063</b>                                       | 0  | 0.22 | 0.16  | -          | -    | <b>0.13</b>  |
|        | heart       | 0.78   | 1.0   | 1.2   | 1.3        | 1.5  | <b>1.0</b>   | 1.4  | 1.5  | 1.3   | 1.1        | 0.95 | <b>1.4</b>   |
|        | liver       | 20   | 21    | 24    | 1.1        | 1.2  | <b>22</b>  | 33   | 30   | 19    | 0.92       | 0.58 | <b>27</b>  |
|        | spleen      | 0.15   | 0.41  | 0.54  | 2.8        | 3.7  | <b>0.37</b>  | 1.1  | 0.71 | 0.66  | 0.62       | 0.58 | <b>0.84</b>  |
|        | kidney      | 3.4  | 3.9   | 4.6   | 1.2        | 1.4  | <b>4.0</b>   | 7.2  | 4.7  | 5.2   | 0.66       | 0.72 | <b>5.7</b>   |
|        | whole blood | 3.0  | 3.6   | 3.7   | 1.2        | 1.2  | <b>3.4</b>   | 4.6  | 4.1  | 4.2   | 0.89       | 0.91 | <b>4.3</b>   |
|        | serum       | 6.2  | 7.1   | 6.8   | 1.2        | 1.1  | <b>6.7</b>   | 8.7  | 8.2  | 7.9   | 0.94       | 0.90 | <b>8.3</b>   |
|        | mean ratio  |  |       |       | 1.5        | 2.3  |  |  |      |       | 0.85       | 0.77 |  |
| C9A    | brain       | 0  | 0.055 | 0.084 | -          | -    | <b>0.046</b>                                       | 0.075  | 0.20 | 0.21  | 2.6        | 2.7  | <b>0.16</b>  |
|        | heart       | 0.48   | 0.53  | 0.52  | 1.1        | 1.1  | <b>0.51</b>  | 1.2  | 1.1  | 1.3   | 0.95       | 1.1  | <b>1.2</b>   |
|        | liver       | 39   | 38    | 41    | 0.97       | 1.0  | <b>39</b>  | 77   | 83   | 75    | 1.1        | 0.97 | <b>78</b>  |
|        | spleen      | 0.33   | 0.36  | 0.40  | 1.1        | 1.2  | <b>0.36</b>  | 0.76   | 0.73 | 0.94  | 0.96       | 1.2  | <b>0.81</b>  |
|        | kidney      | 3.9  | 2.8   | 2.3   | 0.72       | 0.58 | <b>3.0</b>   | 6.4  | 4.9  | 5.6   | 0.77       | 0.88 | <b>5.6</b>   |
|        | whole blood | 1.6  | 2.0   | 2.0   | 1.2        | 1.2  | <b>1.8</b>   | 3.3  | 3.4  | 4.5   | 1.0        | 1.4  | <b>3.8</b>   |
|        | serum       | 2.7  | 3.6   | 3.7   | 1.3        | 1.4  | <b>3.3</b>   | 7.0  | 7.0  | 8.0   | 1.0        | 1.1  | <b>7.4</b>   |
|        | mean ratio  |  |       |       | 1.1        | 1.1  |  |  |      |       | 1.2        | 1.3  |  |
| C8S    | brain       | 0.095  | 0.14  | 0.081 | 1.4        | 0.86 | <b>0.10</b>  | 0.35   | 0.30 | 0.43  | 0.86       | 1.2  | <b>0.36</b>  |
|        | heart       | 0.17   | 0.23  | 0.12  | 1.3        | 0.69 | <b>0.17</b>  | 0.60   | 0.57 | 0.70  | 0.94       | 1.2  | <b>0.62</b>  |
|        | liver       | 44   | 45    | 25    | 1.0        | 0.57 | <b>38</b>  | 110  | 100  | 100   | 0.90       | 0.92 | <b>100</b>   |
|        | spleen      | 0.36   | 0.36  | 0.21  | 0.99       | 0.58 | <b>0.31</b>  | 0.96   | 0.91 | 1.3   | 0.95       | 1.3  | <b>1.0</b>   |
|        | kidney      | 1.1  | 1.1   | 0.57  | 0.98       | 0.50 | <b>0.93</b>  | 3.6  | 2.6  | 3.5   | 0.70       | 0.95 | <b>3.2</b>   |
|        | whole blood | 0.69   | 0.77  | 0.46  | 1.1        | 0.67 | <b>0.64</b>  | 1.5  | 1.4  | 2.1   | 0.92       | 1.4  | <b>1.7</b>   |
|        | serum       | 1.1  | 1.3   | 0.73  | 1.2        | 0.67 | <b>1.0</b>   | 2.7  | 2.5  | 3.1   | 0.92       | 1.2  | <b>2.8</b>   |
|        | mean ratio  |  |       |       | 1.2        | 0.65 |  |  |      |       | 0.88       | 1.2  |  |

C6A の平均用量標準化濃度は、H 群の正味の PFAA 濃度を 23.4 (1.8/0.077) で割って算出したものだけを用いた。

その他の PFAA の用量標準化平均濃度 (C<sub>(1M)</sub>、C<sub>(3M)</sub>) は、M 及び H の正味の PFAA 濃度を 4.9 (0.38/0.077) 又は 23.4 (1.8/0.077) で割り、L、M、H を平均したもの。

(4) ー3 単回投与試験の結果に基づく各臓器への蓄積量の推定方法の検討

単回投与試験の結果から、それぞれの臓器については1-コンパートメントとして考えることができるため、各臓器への蓄積量は、Fig. IV-4.の模式図のとおりとなる。



**Fig. IV-4.** ラット臓器への PFSA 蓄積 (1-コンパートメントモデル)

ラットへの1日あたりの投与量を  $R$ 、ラット臓器からの1日あたりの排出量を  $E$  としてモデルを考えると、1日あたりの蓄積量(増加量)  $M$  は投与量と排出量の差になるので、

$$\frac{dM}{dt} = R - E$$

となる。また、消失速度定数を  $k_e$  とすると、

$$E = k_e \cdot M$$

であるため、この2式より、

$$\frac{dM}{dt} = R - k_e \cdot M$$

となる。この微分方程式を以下のとおり解いた。

$$\frac{dM}{R - k_e \cdot M} = dt$$

ここで、仮に  $A = R - k_e \cdot M$  とおいて微分(合成関数の微分として扱う;置換微分)すると、

$$dA = 0 - k_e \cdot dM$$

$$dA = -k_e \cdot dM$$

$$dM = -\frac{dA}{k_e}$$

これをもとの式に戻して、

$$\begin{aligned}\frac{1}{A} \left( -\frac{dA}{k_e} \right) &= dt \\ \frac{dA}{A} &= -k_e \cdot dt \\ \ln A &= -k_e \cdot t + \text{const.} \\ A &= e^{-k_e \cdot t + \text{const.}} \\ A &= e^{\text{const.}} \cdot e^{-k_e \cdot t}\end{aligned}$$

A を戻して

$$R - k_e \cdot M = e^{\text{const.}} \cdot e^{-k_e \cdot t}$$

初期条件：t=0 のとき、M=0 なので、

$$\begin{aligned}R - k_e \cdot 0 &= e^{\text{const.}} \cdot e^{-k_e \cdot 0} \\ R &= e^{\text{const.}}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}R - k_e \cdot M &= R \cdot e^{-k_e \cdot t} \\ k_e \cdot M &= R - R \cdot e^{-k_e \cdot t}\end{aligned}$$

よって、Fig. IV-4. のモデルから導かれる蓄積量 M は、

$$M = \frac{R}{k_e} (1 - e^{-k_e \cdot t})$$

と表される。

これを各臓器に適用すると、臓器への蓄積量 M は、見かけの体積 Vd (kg tissue volume/kg BW) と臓器中の濃度 (C') (μg/kg tissue volume) の積；M = Vd · C' なので、

$$C' = \frac{R}{k_e \cdot Vd} (1 - e^{-k_e \cdot t})$$

となる。ここで、単回投与試験のデータから各臓器の Vd (= Vd<sub>area</sub> とする) と k<sub>e</sub> がわかっているのです、CRD の用量で 1 か月又は 3 か月間摂取した場合の臓器中の PF<sub>AA</sub> 濃度は、

$$C' = \frac{CRD}{k_e \cdot Vd} (1 - e^{-k_e \cdot t}) \quad \cdot \cdot \cdot \textcircled{3}$$

から算出可能である。投与期間 t の単位は day であるため、1 か月：t = 30、3 か月：t = 90 として計算することで、長期投与試験後の臓器中の PF<sub>AA</sub> 濃度の推定が可能である。

(4) -4 1、3 か月後の臓器中の PFAA 濃度の推定及び試験結果との照合

(4) -3 で導いた③式と単回投与試験の結果から、1、3 か月における臓器中の PFAA 濃度 ( $C'_{(1M)}$ 、 $C'_{(3M)}$ ) を計算した。計算値は CRD での投与に基づく臓器中の推定濃度なので、長期投与試験における測定値から算出した 1、3 か月の平均用量標準化 PFAA 濃度 ( $C_{(1M)}$ 、 $C_{(3M)}$ ) と比較した (Table IV-9.)。C6A は、 $t_{1/2}$  が 0.12 (day) かそれ以下であり、1 日以内にほぼ定常状態に達していたと考えられる。Table IV-9. に示すように、C6A の 1 か月と 3 か月の臓器中の濃度は、非常に近い値となっており、同様に、LOD 程度の低濃度であった脳を除いて、単回投与試験から求めた動態パラメータを用いて算出した推定濃度にも近かった。その他の PFAA では、 $C'/C$  比が 2.0 や 0.45 という極端な値のあった脳を除いては、推定濃度は測定値とほぼ同値であった。また、推定濃度 ( $C'_{(1M)}$ 、 $C'_{(3M)}$ ) の平均は、1 か月と 3 か月の測定値の間に入っていた。これらのことから、単回投与試験結果からの推定濃度と 1 か月及び 3 か月のすべての臓器濃度は、非常に近似する結果となっていた。

(4) -5 定常状態における臓器中の PFAA 濃度の推定

定常状態における濃度 ( $C'_{(ss)}$ ) を 1、3 か月の測定値から推定した (Table IV-10.)。③式から、 $t = \infty$  とすることで定常状態の濃度は計算できる。③式中の  $(1 - e^{-k_e \cdot t})$  は、 $t = \infty$  のとき 1 になるため、定常状態における濃度は  $CRD/(k_e \cdot Vd)$  となる。つまり、1 か月時点では、定常状態の  $(1 - e^{-k_e \cdot 30})$  倍、3 か月時点では  $(1 - e^{-k_e \cdot 90})$  倍の濃度になっていることになるので、1、3 か月の測定値を  $(1 - e^{-k_e \cdot t})$  で割ることで定常状態の濃度を推定することが可能である。1、3 か月の 2 つの測定値を用いて推定することから、それぞれ異なる値が算出されるため、定常状態における濃度 ( $C'_{(ss)}$ ) を次のように算出した。初めに、1 か月の測定値 (1 か月の平均用量標準化 PFAA 濃度;  $C_{(1M)}$ ) から定常状態の濃度 ( $C'_{(ss1M)}$ ) を、3 か月の測定値 (3 か月の平均用量標準化 PFAA 濃度;  $C_{(3M)}$ ) から定常状態の濃度 ( $C'_{(ss3M)}$ ) を求め、次にこれらの 2 つの値を平均して定常状態における濃度 ( $C'_{(ss)}$ ) とした。計算式は以下のとおりである。

$$C'_{(ss1M)} = \frac{C_{(1M)}}{1 - e^{-k_e \cdot 30}} \quad , \quad C'_{(ss3M)} = \frac{C_{(3M)}}{1 - e^{-k_e \cdot 90}} \quad \rightarrow \quad C'_{(ss)} = \frac{C'_{(ss1M)} + C'_{(ss3M)}}{2}$$

Table IV-10. に示すとおり、定常状態における C6A 濃度は低く、1、3 か月時点の濃度とほぼ同じであった。他の PFAA については、3 か月時点のデータから算出した定常状態における濃度は、各臓器の平均で、1 か月時点のデータから算出した濃度よりも 1.2~2.2 倍ほど高かった。臓器への蓄積は肝臓が最も多く、次いで血清又は腎臓であった。脾臓における PFAA 濃度はあまり高くなく、血清との濃度比は、C8A で 0.08 (0.65/8.06)、C9A で 0.11 (0.67/6.30)、C8S で 0.33 (0.74/2.22) 程度となっていた。

**Table IV-9.** 1 か月及び 3 か月における各臓器中の推定 PFAA 濃度と測定値の比較

|                  | tissue      | $k_e$<br>(/day) | Vd<br>(kg tissue volume/kg BW) | 1 month  |   |                      | 3 months   |   |                      |
|------------------|-------------|-----------------|--------------------------------|--|---|----------------------|--|---|----------------------|
|                  |             |                 |                                | $C'_{(1M)}$<br>( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume) | $C_{(1M)}$<br>( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume) | $C'_{(1M)}/C_{(1M)}$ | $C'_{(3M)}$<br>( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume) | $C_{(3M)}$<br>( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume) | $C'_{(3M)}/C_{(3M)}$ |
| C6A              | brain       | 6.3             | 28                             | 0.0004   | 0   | -                    | 0.0004   | 0.003   | 0.16                 |
|                  | heart       | 7.1             | 1.7                            | 0.006  | 0.007   | 0.93                 | 0.006  | 0.008   | 0.72                 |
|                  | liver       | 5.8             | 1.1                            | 0.012  | 0.016   | 0.76                 | 0.012  | 0.015   | 0.78                 |
|                  | spleen      | 6.5             | 4.5                            | 0.003  | 0.003   | 1.0                  | 0.003  | 0   | -                    |
|                  | kidney      | 5.8             | 0.45                           | 0.029  | 0.027   | 1.1                  | 0.029  | 0.033   | 0.88                 |
|                  | whole blood | 5.8             | 0.76                           | 0.017  | 0.019   | 0.87                 | 0.017  | 0.019   | 0.87                 |
|                  | serum       | 6.2             | 0.40                           | 0.030  | 0.027   | 1.1                  | 0.030  | 0.035   | 0.85                 |
|                  | mean ratio  |                 |                                |  |   | 0.95                 |  |   | 0.71                 |
| C8A              | brain       | 0.058           | 9.0                            | 0.12   | 0.063   | 1.9                  | 0.14   | 0.13  | 1.1                  |
|                  | heart       | 0.063           | 0.91                           | 1.1  | 1.0   | 1.1                  | 1.3  | 1.4   | 0.94                 |
|                  | liver       | 0.025           | 0.083                          | 19   | 22  | 0.87                 | 32   | 27  | 1.2                  |
|                  | spleen      | 0.057           | 2.3                            | 0.46   | 0.37  | 1.2                  | 0.56   | 0.84  | 0.67                 |
|                  | kidney      | 0.046           | 0.27                           | 4.6  | 4.0   | 1.2                  | 6.0  | 5.7   | 1.1                  |
|                  | whole blood | 0.044           | 0.42                           | 2.9  | 3.4   | 0.85                 | 3.9  | 4.3   | 0.92                 |
|                  | serum       | 0.064           | 0.15                           | 6.8  | 6.7   | 1.0                  | 7.9  | 8.3   | 0.95                 |
|                  | mean ratio  |                 |                                |  |   | 1.2                  |  |   | 0.98                 |
| C9A              | brain       | 0.043           | 14                             | 0.093  | 0.046   | 2.0                  | 0.13   | 0.16  | 0.78                 |
|                  | heart       | 0.041           | 2.1                            | 0.60   | 0.51  | 1.2                  | 0.83   | 1.2   | 0.70                 |
|                  | liver       | 0.004           | 0.05                           | 40   | 39  | 1.0                  | 110  | 78  | 1.4                  |
|                  | spleen      | 0.043           | 3.2                            | 0.40   | 0.37  | 1.1                  | 0.53   | 0.81  | 0.66                 |
|                  | kidney      | 0.033           | 0.51                           | 2.8  | 3.0   | 0.93                 | 4.2  | 5.6   | 0.75                 |
|                  | whole blood | 0.024           | 0.88                           | 1.8  | 1.8   | 0.99                 | 3.1  | 3.8   | 0.84                 |
|                  | serum       | 0.037           | 0.36                           | 3.8  | 3.3   | 1.1                  | 5.5  | 7.4   | 0.74                 |
|                  | mean ratio  |                 |                                |  |   | 1.2                  |  |   | 0.83                 |
| C8S              | brain       | 0.059           | 7.9                            | 0.13   | 0.10  | 1.3                  | 0.16   | 0.36  | 0.45                 |
|                  | heart       | 0.047           | 4.5                            | 0.27   | 0.17  | 1.6                  | 0.35   | 0.62  | 0.56                 |
|                  | liver       | 0.009           | 0.04                           | 46   | 38  | 1.2                  | 110  | 100   | 1.0                  |
|                  | spleen      | 0.045           | 2.8                            | 0.45   | 0.31  | 1.5                  | 0.59   | 1.0   | 0.57                 |
|                  | kidney      | 0.04            | 0.85                           | 1.5  | 0.93  | 1.6                  | 2.1  | 3.2   | 0.66                 |
|                  | whole blood | 0.017           | 2.5                            | 0.69   | 0.64  | 1.1                  | 1.4  | 1.7   | 0.80                 |
|                  | serum       | 0.038           | 0.96                           | 1.4  | 1.0   | 1.3                  | 2.0  | 2.8   | 0.71                 |
|                  | mean ratio  |                 |                                |  |   | 1.4                  |  |   | 0.68                 |
| total mean ratio |             |                 |                                |  |   | 1.2                  |  |   | 0.80                 |

$k_e$  及び Vd (= Vd<sub>area</sub>) は、Table IV-4. 及び Table IV-5. に記載した数値 (再掲)。

$C'_{(1M)}$ 、 $C'_{(3M)}$  は (4) -3 で導いた③式  $C' = \text{CRD}/k_e \cdot (1 - e^{-k_e \cdot t})/Vd$  から算出した推定濃度。 $C_{(1M)}$ 、 $C_{(3M)}$  は、Table IV-8. の平均用量標準化濃度 (再掲)。



**Table IV-10.** 1,3 か月の測定値から算出した定常状態における各臓器中の推定 PFAA 濃度

|     | tissue      | steady state concentration                           |   |                  | MEAN  |
|-----|-------------|--|---|------------------|---|
|     |             | from 1 month<br>(C' (ss1M))<br>(µg/kg tissue volume) | from 3 months<br>(C' (ss3M))<br>(µg/kg tissue volume) | ratio<br>(b)/(a) | concentration<br>(C' (ss))<br>(µg/kg tissue volume) |
|     |             | (a)  | (b)   |                  |   |
| C6A | brain       | 0  | 0.003   | -                | 0.001   |
|     | heart       | 0.007  | 0.008   | 1.3              | 0.007   |
|     | liver       | 0.016  | 0.015   | 0.97             | 0.015   |
|     | spleen      | 0.003  | 0   | -                | 0.001   |
|     | kidney      | 0.027  | 0.033   | 1.2              | 0.030   |
|     | whole blood | 0.019  | 0.019   | 1.0              | 0.019   |
|     | serum       | 0.027  | 0.035   | 1.3              | 0.031   |
|     | mean ratio  |  |   | 1.2              |   |
| C8A | brain       | 0.076  | 0.13  | 1.7              | 0.10  |
|     | heart       | 1.2  | 1.39  | 1.2              | 1.28  |
|     | liver       | 41.0   | 30.7  | 0.75             | 35.8  |
|     | spleen      | 0.45   | 0.84  | 1.9              | 0.65  |
|     | kidney      | 5.28   | 5.81  | 1.1              | 5.55  |
|     | whole blood | 4.72   | 4.34  | 0.92             | 4.53  |
|     | serum       | 7.83   | 8.29  | 1.1              | 8.06  |
|     | mean ratio  |  |   | 1.2              |   |
| C9A | brain       | 0.064  | 0.16  | 2.6              | 0.11  |
|     | heart       | 0.72   | 1.22  | 1.7              | 0.97  |
|     | liver       | 318  | 241   | 0.76             | 279   |
|     | spleen      | 0.51   | 0.83  | 1.6              | 0.67  |
|     | kidney      | 4.79   | 5.94  | 1.2              | 5.36  |
|     | whole blood | 3.59   | 4.25  | 1.2              | 3.92  |
|     | serum       | 4.97   | 7.63  | 1.5              | 6.30  |
|     | mean ratio  |  |   | 1.5              |   |
| C8S | brain       | 0.13   | 0.36  | 2.9              | 0.24  |
|     | heart       | 0.23   | 0.63  | 2.8              | 0.43  |
|     | liver       | 166  | 195   | 1.2              | 180   |
|     | spleen      | 0.42   | 1.06  | 2.6              | 0.74  |
|     | kidney      | 1.34   | 3.31  | 2.5              | 2.32  |
|     | whole blood | 1.61   | 2.18  | 1.4              | 1.89  |
|     | serum       | 1.55   | 2.89  | 1.9              | 2.22  |
|     | mean ratio  |  |   | 2.2              |   |

#### (4) -6 各臓器への送達の時間依存性

血清 PFAA 濃度に対する臓器 PFAA 濃度比の経時変化を確認した。Table IV-11. に示すとおり、C6A の各臓器への送達は、時間に依存してはいなかった。他の PFAA については、血清 PFAA 濃度対肝臓 PFAA 濃度比を見ると、C<sub>0</sub> から定常状態に向かって徐々に増加していく傾向にあった。C8A で 1.8 から 4.4 へ、C9A で 6.7 から 44 へ、C8S で 22 から 81 へ増加していた。肝臓以外では、全血についても同様の傾向が見られたが、他の臓器については、この傾向は見られなかった。

**Table IV-11.** 血清 PFAA 濃度対臓器 PFAA 濃度比の経時変化

|     | tissue      | single dose study |                  | chronic dose study |          |                                       |
|-----|-------------|-------------------|------------------|--------------------|----------|---------------------------------------|
|     |             | C <sub>0</sub>    | C <sub>max</sub> | 1 month            | 3 months | steady state<br>(C' <sub>(ss)</sub> ) |
| C6A | brain       | 0.015             | 0.015            | -                  | 0.074    | 0.042                                 |
|     | heart       | 0.24              | 0.21             | 0.24               | 0.24     | 0.24                                  |
|     | liver       | 0.35              | 0.41             | 0.57               | 0.43     | 0.49                                  |
|     | spleen      | 0.082             | 0.093            | 0.094              | -        | 0.041                                 |
|     | kidney      | 0.86              | 0.86             | 1.0                | 0.92     | 0.95                                  |
|     | whole blood | 0.49              | 0.60             | 0.71               | 0.54     | 0.62                                  |
|     | serum       | 1.0               | 1.0              | 1.0                | 1.0      | 1.0                                   |
| C8A | brain       | 0.017             | 0.012            | 0.009              | 0.015    | 0.013                                 |
|     | heart       | 0.17              | 0.14             | 0.15               | 0.17     | 0.16                                  |
|     | liver       | 1.8               | 1.7              | 3.2                | 3.3      | 4.4                                   |
|     | spleen      | 0.064             | 0.065            | 0.055              | 0.10     | 0.080                                 |
|     | kidney      | 0.58              | 0.82             | 0.59               | 0.69     | 0.69                                  |
|     | whole blood | 0.35              | 0.35             | 0.52               | 0.51     | 0.56                                  |
|     | serum       | 1.0               | 1.0              | 1.0                | 1.0      | 1.0                                   |
| C9A | brain       | 0.027             | 0.020            | 0.014              | 0.022    | 0.018                                 |
|     | heart       | 0.17              | 0.17             | 0.15               | 0.16     | 0.15                                  |
|     | liver       | 6.7               | 7.0              | 12                 | 11       | 44                                    |
|     | spleen      | 0.11              | 0.12             | 0.11               | 0.11     | 0.11                                  |
|     | kidney      | 0.73              | 1.0              | 0.90               | 0.76     | 0.85                                  |
|     | whole blood | 0.41              | 0.40             | 0.55               | 0.51     | 0.62                                  |
|     | serum       | 1.0               | 1.0              | 1.0                | 1.0      | 1.0                                   |
| C8S | brain       | 0.12              | 0.072            | 0.10               | 0.13     | 0.11                                  |
|     | heart       | 0.22              | 0.22             | 0.17               | 0.22     | 0.19                                  |
|     | liver       | 22                | 21               | 36                 | 38       | 81                                    |
|     | spleen      | 0.35              | 0.37             | 0.29               | 0.37     | 0.33                                  |
|     | kidney      | 1.2               | 1.6              | 0.89               | 1.2      | 1.0                                   |
|     | whole blood | 0.38              | 0.41             | 0.61               | 0.61     | 0.85                                  |
|     | serum       | 1.0               | 1.0              | 1.0                | 1.0      | 1.0                                   |

(4) -7 1、3 か月における平均臓器 PFAA 濃度の推定

1、3 か月における各臓器中の平均 PFAA 濃度(C'<sub>avr</sub>)を算出した。(4) -3 に記載の③式は、各臓器の PFAA 濃度と経過時間の関数であることから、この式を時間で積分することにより AUC を算出する数式となる。それを経過時間で割ることで、各臓器中の平均 PFAA 濃度を求めることができる。AUC を算出するための数式を求めるため、以下のとおり積分計算を行った。

$$C' = \frac{CRD}{k_e \cdot Vd} (1 - e^{-k_e \cdot t}) \quad \cdot \cdot \cdot \textcircled{3}$$

$$\begin{aligned}
AUC &= \int C' dt \\
&= \int \frac{CRD}{k_e \cdot Vd} (1 - e^{-k_e \cdot t}) dt \\
&= \frac{CRD}{k_e \cdot Vd} \left( t + \frac{1}{k_e} \cdot e^{-k_e \cdot t} + const. \right)
\end{aligned}$$

初期条件：t=0 のとき、AUC=0 なので、

$$\begin{aligned}
0 &= \frac{CRD}{k_e \cdot Vd} \left( 0 + \frac{1}{k_e} \cdot e^{-k_e \cdot 0} + const. \right) \\
const. &= -\frac{1}{k_e}
\end{aligned}$$

よって

$$\begin{aligned}
AUC &= \frac{CRD}{k_e \cdot Vd} \left( t + \frac{1}{k_e} \cdot e^{-k_e \cdot t} - \frac{1}{k_e} \right) \\
&= \frac{CRD}{k_e \cdot Vd} \left[ t - \frac{1}{k_e} (1 - e^{-k_e \cdot t}) \right]
\end{aligned}$$

1、3 か月における各臓器中の平均 PFAA 濃度( $C'_{avr}$ )は、この AUC を t で割ったものであるため、

$$C'_{avr} = \frac{CRD}{k_e \cdot Vd \cdot t} \left[ t - \frac{1}{k_e} (1 - e^{-k_e \cdot t}) \right]$$

となる。この t に、1 か月：t=30、3 か月：t=90 を代入して、各臓器中の平均 PFAA 濃度を推定した (Table IV-12.)。Table IV-12. に示す結果は、組織のヒト等価用量 (human equivalent dose ; HED) の計算及び PFAA 毒性のリスク評価等に有用である。

**Table IV-12.** 1、3 か月における各臓器中の推定平均 PFAA 濃度

|        |             | average concentration  |                                 |  |                                 |
|--------|-------------|--|---------------------------------|--|---------------------------------|
| tissue |             | 1 month  |                                 | 3 months   |                                 |
|        |             | average concentration<br>( $C'_{avr}$ )<br>( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume) | concentration<br>ratio to serum | average concentration<br>( $C'_{avr}$ )<br>( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume) | concentration<br>ratio to serum |
| C6A    | brain       | 0.0004   | 0.014                           | 0.0004   | 0.014                           |
|        | heart       | 0.006  | 0.20                            | 0.006  | 0.20                            |
|        | liver       | 0.012  | 0.39                            | 0.012  | 0.39                            |
|        | spleen      | 0.003  | 0.084                           | 0.003  | 0.084                           |
|        | kidney      | 0.029  | 0.95                            | 0.029  | 0.95                            |
|        | whole blood | 0.017  | 0.55                            | 0.017  | 0.55                            |
|        | serum       | 0.030  | 1.0                             | 0.030  | 1.0                             |
| C8A    | brain       | 0.075  | 0.017                           | 0.12   | 0.018                           |
|        | heart       | 0.72   | 0.16                            | 1.1  | 0.16                            |
|        | liver       | 11   | 2.4                             | 22   | 3.3                             |
|        | spleen      | 0.29   | 0.066                           | 0.45   | 0.069                           |
|        | kidney      | 2.8  | 0.64                            | 4.7  | 0.71                            |
|        | whole blood | 1.8  | 0.41                            | 3.0  | 0.46                            |
|        | serum       | 4.4  | 1.0                             | 6.5  | 1.0                             |
| C9A    | brain       | 0.056  | 0.025                           | 0.10   | 0.024                           |
|        | heart       | 0.36   | 0.16                            | 0.63   | 0.16                            |
|        | liver       | 20   | 9.1                             | 57   | 14                              |
|        | spleen      | 0.24   | 0.11                            | 0.41   | 0.10                            |
|        | kidney      | 1.6  | 0.72                            | 3.0  | 0.75                            |
|        | whole blood | 1.0  | 0.45                            | 2.1  | 0.52                            |
|        | serum       | 2.2  | 1.0                             | 4.0  | 1.0                             |
| C8S    | brain       | 0.085  | 0.10                            | 0.13   | 0.088                           |
|        | heart       | 0.16   | 0.20                            | 0.27   | 0.19                            |
|        | liver       | 24   | 29                              | 61   | 42                              |
|        | spleen      | 0.27   | 0.33                            | 0.46   | 0.31                            |
|        | kidney      | 0.92   | 1.1                             | 1.6  | 1.1                             |
|        | whole blood | 0.37   | 0.45                            | 0.84   | 0.57                            |
|        | serum       | 0.83   | 1.0                             | 1.5  | 1.0                             |

#### IV-4 PFAA の生体中の動態に関する考察

##### (1) コントロール群の PFAA レベル

単回投与試験及び長期投与試験のコントロールのラットからは、すべての PFAA が検出された。PFAA のコントロールのラット臓器への分布パターンは、各用量群のものに若干類似してはいたものの、データは非常に低値であり、定量的に扱うことはできなかった。

##### (2) PFAA の動態

###### 【C6A】

C6A は、非常に迅速に吸収、分散し、臓器からの排出速度についてはどの臓器においてもほぼ同じで、 $t_{1/2}$  は 2～3 時間程度であった。C6A の単回投与後の各臓器における排出曲線からその排出の状況を考慮すると、1-コンパートメントモデルが適用可能と考えられた。血清の Vd (0.40 kg serum volume/kg BW) と血清への送達を考慮すると、C6A は主に血清及び間質液中にあり、脳への送達は臓器中で最も低かった。長期投与試験では臓器への蓄積は見られなく、1 日以内に定常状態になると考えられた。本研究における C6A の血清 AUC は、0.1 mg/kg BW の用量で 41  $\mu\text{g/kg serum volume}\cdot\text{day}$  であった (つまり、1 mg/kg BW の用量に換算すると 410  $\mu\text{g/kg serum volume}\cdot\text{day}$  となる)。この量は、先行研究により報告されている、100 % の吸収の場合の数値、2 mg/kg BW の用量で 16  $\mu\text{g/g serum volume}\cdot\text{hr}$  (1 mg/kg BW の用量で 333  $\mu\text{g/kg serum volume}\cdot\text{day}$  となる) (Gannon *et al.*, 2011) よりも若干大きかった。

###### 【C6A 以外の PFAA】

C6A 以外の PFAA については、血液から脳への配分と血液からの移行率は、他の臓器へのそれらよりも小さかった。臓器からの排出の過程では、 $t_{1/2}$  は血清よりも肝臓の方が長くなっており、生体は、そのような特徴を有する独立した 1-コンパートメントの集合体のように考えられた。従って、従来のコンパートメントモデルは適用することができなかった。

肝臓と血清における濃度比は、 $C_0$  から定常状態に向かって徐々に増加していた。C8A で 1.8 から 4.4、C9A で 6.7 から 44、C8S で 22 から 81 となっていた。このことから、腸肝循環が肝臓における PFAA の蓄積に関与している可能性が考えられる。Johnson らは、オスのラットに単回静脈注射で  $^{14}\text{C}$  でラベルした C8S と C8A を投与し、胆汁酸封鎖剤であるコレステラミンを飼料に 4 % 混合して C8S では 21 日間、C8A では 14 日間飼育したところ、糞便からの排出は C8S で約 9.5 倍、C8A で約 9.8 倍増加し、肝臓における濃度はこの処置によって C8S で 78 %、C8A で 47 % 減少したと報告している (Johnson *et al.*, 1984)。

Kudo らは、胆汁中に排泄された C8A と肝臓 C8A の比が用量依存的に増加したことを報告した (Kudo *et al.*, 2007)。16.56 mg/kg BW の単回静脈内投与後の比は、0.041 mg/kg BW で単回静脈内投与したときの 3.6 倍となっていた。この実験において低用量の C8A の方が高い蓄積性を示していることは、胆汁へ排出される C8A の割合が高用量のときよりも減少

していることに関連していると考えられる。

Han らは、新しく単離されたオスのラットの肝細胞を用いて、飽和可能な能動的取り込みプロセス、及び C8A が細胞へ非特異的に分配されることを確認した。ラット肝細胞における C8A の能動的取り込みは、250  $\mu\text{M}$  スルホブプロモフタレインによって強く阻害され、OAT3 や OATP1a1 によって調節されていることが示唆された。また、ラット肝細胞における C8A の取り込みは、血清アルブミンを Krebs-Henseleit 緩衝液に添加した際に、非結合フラクションから起こった (Han *et al.*, 2008)。従って、肝細胞における飽和可能な能動的取り込みは、この実験において C8A が高濃度で肝臓に蓄積することに関連していると考えられる。

Zhao らは、ラットの Na<sup>+</sup>/taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) 及びラットの apical sodium-dependent bile salt transporter (ASBT) を一時的に発現するヒト胎児の腎臓 (HEK) 293 細胞における C8S の輸送を調べた。その結果、ラットの NTCP は C8S を輸送することができるが、ラットの ASBT は C8S を輸送できない、ということを示した (Zhao *et al.*, 2015)。PFAA を肝臓へ取り込む明確な分子メカニズムは完全には解明されていないが、肝細胞には、OAT1、2、7 などの organic anion transporter (OATs)、OATP 1a1、1a4、1b2、及び 2B1 などの organic anion transporting polypeptides (OATP) など、多くのトランスポーターが存在している (Klaassen and Aleksunes, 2010)。従って、これらのトランスポーターのいくつかは、PFAA のラット肝臓への取り込みに関連していると考えられる。

ラットにおいては、ほぼすべての C8S (99.0~100 %) 及び C8A (97~100 %) は、血漿タンパク質と結合している (USEPA, 2016c, 2016d)。ウシ血清アルブミン (bovine serum albumin ; BSA) 又はヒト血清アルブミンへの C9A 結合は、99.9 % より大きい (Bischel *et al.*, 2010)。C8S 及び C8A のフリーのフラクションは、それぞれオスのラットについてわずかに 0.00193 及び 0.08 % しかないと報告されている (Wambaugh *et al.*, 2013)。C8A、C8S 及び C9A は、血漿タンパク質への結合能力が高いため、これが特殊な動態を示している要因となっている可能性がある。上述の肝臓への取り込みに関連する種々のトランスポーターによって調節されながら、そして、ラットの肝臓中で C8A よりも C8S により高い親和性を持つ肝臓脂肪酸結合タンパク質 (liver-fatty acid binding protein ; L-FABP) のような肝臓タンパク質へ強く結合することによって、微量の血清中のフリーの (血清タンパク質と結合していない) PFAA は、徐々に肝臓へ移動する (Luebker *et al.*, 2002)。

本研究において、C6A 以外の PFAA の肝臓と血清における濃度比が  $C_0$  から定常状態に向かって徐々に増加しているという結果が得られたのは、これらの先行研究で明らかになっている腸肝循環の影響、いくつかのトランスポーターの関与、また、血中に存在する様々なタンパク質との親和性などの、非常に複雑なメカニズムが働いた結果により、各臓器に蓄積していった結果であると推測される。

各臓器への分布は、ある程度時間に依存していたが、 $V_d$  及び  $k_e$  は、本研究での試験を通して一定であると考えられた。

血清の Vd は、C8A で 0.15 kg serum volume/kg BW、C9A で 0.36 kg serum volume/kg BW、C8S で 0.96 kg serum volume/kg BW であった。C8A の血清 Vd は、先行研究で報告されている Vd とほぼ同じであった (Wambaugh *et al.*, 2013)。本研究の血清 Vd データと先行研究のデータが一致していることを考慮すると、PFAA の経口投与による吸収は、本研究においては 100 % であると考えられ、これは報告されているものと同様である (USEPA, 2016c, 2016d)。投与されたほぼすべての C8S が肝臓に送達され、続いて C9A、C8A の順に多く送達された。脳への送達は、どの PFAA についても最も低かった。臓器への血流が PFAA 投与により影響を受けなかったと想定すると、C8S の血液から肝臓への移行は、各 PFAA の中で最も高いものと考えられた。

### (3) 用量と臓器における濃度の関係

#### 【C6A】

本研究においては、臓器の C6A 濃度が非常に低く、用量依存性を確認することができなかった。そのため、C6A の用量標準化濃度は、L 及び M 群は考慮せず H 群の数値を 23.4 (1.8/0.077) で割ることで算出した。一方、Gannon らは、C6A について、100 mg/kg BW の単回経口投与（この濃度は、本研究の単回投与試験の 1,000 倍の濃度）後の各臓器への分布について報告している (Gannon *et al.*, 2011)。最も高濃度が血清で、次いで腎臓、肝臓、心臓、脾臓、脳の順となっていたこの報告と、本研究における各臓器への C6A の分布は、かなり類似していた。本研究における血清中 C6A の消失半減期は 2.6 時間であり、Gannon らの報告値 (2 mg/kg BW で 1.7 時間、100 mg/kg BW で 1.5 時間) よりも少し長かったが、本研究の  $C_{max}$  ( $\mu\text{g/kg serum volume}$ )/BD ( $\mu\text{g/kg BW}$ ) 比は 2.1 (211/100) と算出されており、Gannon らの報告値 (2 mg/kg BW では 3.0、100 mg/kg BW では 2.5) とほぼ一致した。このことから、用量と臓器中濃度の関係は、用量が 100 mg/kg BW までは比例しているものと考えられる。1、3 か月における脳の C6A 濃度は、最高用量の 1.8  $\mu\text{g/kg BW/day}$  で投与してもコントロールとほぼ同レベルであった。0.075  $\mu\text{g/kg BW/day}$  の用量 (最高用量の 1/24) で投与したときの 1 か月と 3 か月の測定値から計算した定常状態における脳の推定 C6A 濃度 ( $C'_{ss}$ ) は、0.001  $\mu\text{g/kg brain volume}$  (Table IV-10. に記載) であったが、これは概算値としか言えない。単回投与試験のデータから推定した、脳における平均濃度 ( $C'_{avr}$ ) は、同じ用量 (0.075  $\mu\text{g/kg BW/day}$ ) で投与したときは 0.0004  $\mu\text{g/kg brain volume}$  であった。つまり、C6A については、定常状態における濃度 ( $C'_{ss}$ ) と平均濃度 ( $C'_{avr}$ ) はほぼ同じと考えられることから、0.075  $\mu\text{g/kg BW/day}$  の用量で投与したときの実際の値は、0.001  $\mu\text{g/kg brain volume}$  未満であると考えられる。

#### 【C8S と C8A】

血清中の平均 C8S 濃度は、USEPA が Wambaugh らのモデル (Wambaugh *et al.*, 2013) を利用して算出している (USEPA, 2016a)。0.34 mg/kg BW/day の NOAEL (no observed adverse effect level ; 無毒性量) 濃度の摂取量、オスのラット 98 日間の試験で、血清中の平均 C8S

濃度は 16.5 µg/g serum volume であった。よって、血清中の濃度 (µg/g serum volume) と NOAEL (mg/kg BW/day) の比は、48.5 (16.5/0.34) となる。

本研究における試験結果とこの Wambaugh らのモデルを利用して算出した USEPA の結果を比較するため、IV-3 (4) -7 で示した次の式と、本研究で得られたデータを利用して 98 日間の血清中の平均濃度を算出した。

$$C'_{avr} = \frac{CRD}{k_e \cdot Vd \cdot t} \left[ t - \frac{1}{k_e} (1 - e^{-k_e \cdot t}) \right]$$

CRD : 0.075 µg/kg BW/day、C8S の血清の  $k_e$  : 0.038 /day、C8S の血清の Vd : 0.96 kg serum volume/kg BW、t = 98 より、 $C'_{avr}$  は 1.51 µg/kg serum volume と算出された。USEPA の報告と単位を合わせると、血清中の平均濃度は 0.00151 µg/g serum volume、CRD は 0.000075 mg/kg BW/day となる。よって、血清中の平均濃度と CRD の比は、20.1 (0.00151/0.000075 (= 1.51/0.075) ) と算出された。0.34 mg/kg BW/day の摂取量 (NOAEL) から求めた濃度/用量比 (48.5) は、0.075 µg/kg BW/day の摂取量から求めた濃度/用量比 (20.1) と比較すると、摂取量で 4,500 倍 (0.34/0.000075) もの開きがあるのにもかかわらず、わずか 2.4 (48.5/20.1) 倍大きいだけで、非常に近い値であった。従って、オスのラットにおける血清の C8S 濃度は、0.34 mg/kg BW/day (NOAEL) までは、ほぼ用量に比例するものと考えられる。

血清中の平均 C8A 濃度についても、USEPA が Wambaugh らのモデル (Wambaugh *et al.*, 2013) を利用して算出している (USEPA, 2016d)。0.64 mg/kg BW/day の NOAEL 濃度の摂取量、オスのラット 91 日間の試験で、血清中の平均 C8A 濃度は 31.6 µg/g serum volume であった。血清中の濃度 (µg/g serum volume) と NOAEL (mg/kg BW/day) の比は、49.4 (31.6/0.64) となる。C8S と同様に、上記の式と本研究でデータ (C8A の血清の  $k_e$  : 0.064 /day、C8A の血清の Vd : 0.15 kg serum volume/kg BW、t = 91) から  $C'_{avr}$  を求めたところ、CRD : 0.075 µg/kg BW/day のときの  $C'_{avr}$  は、6.56 µg/kg serum volume であった。USEPA の報告と単位を合わせると、0.00656 µg/g serum volume となる。よって、血清中の濃度と CRD の比は、87.5 (= 0.00656/0.000075 (= 6.56/0.075) ) と算出された。C8A についても C8S と同様に濃度/用量比を比較すると、NOAEL : 0.64 mg/kg BW/day の摂取量から求めた濃度/用量比の方が、0.075 µg/kg BW/day の摂取量から求めた濃度/用量比よりも、摂取量で 8,500 倍 (0.64/0.000075) もの開きがあるのにもかかわらず、0.56 倍 (49.4/87.5) であり、非常に近い値であった。従って、C8A も C8S と同様に、オスのラットにおける血清の C8A 濃度は、0.64 mg/kg BW/day までは、ほぼ用量に比例するものと考えられる。

#### (4) ヒトのデータとの比較

Pérez らは、2008 年、スペインのカタロニア地方のタラゴナの様々な地域に住んでいた 20 人の被験者 (故人) からヒトの脳及び肝臓のサンプルを収集し、これらに高濃度の C6A が含まれていたことを報告した (Pérez *et al.*, 2013)。脳における C6A 濃度は 180 ng/g brain



weight、肝臓においては 115 ng/g liver weight であった。そこで、Pérez らによる報告値と、本研究の定常状態における濃度を比較した。結果を Table IV-13. に示す。

ラットの臓器における濃度は、CRD で C6A を投与したときの濃度である。もし、ラットの臓器がこの Table Table IV-13.に示しているヒトの臓器における濃度と同じであったと仮定すると、ラットへの用量は、脳で 14,000 ( $180 \times 0.075 / 0.001$ )  $\mu\text{g/kg BW/day}$ 、肝臓で 580 ( $115 \times 0.075 / 0.015$ )  $\mu\text{g/kg BW/day}$ 、腎臓で 14 ( $5.6 \times 0.075 / 0.030$ )  $\mu\text{g/kg BW/day}$  ということになる。普通のラットの脳の C6A 濃度は、Table IV-13. に示す濃度（用量が 0.075  $\mu\text{g/kg BW/day}$  のときの濃度；0.001  $\mu\text{g/kg brain weight}$ ）よりも低いと考えられるので、脳に対するラットへの用量は、14,000  $\mu\text{g/kg BW/day}$  よりもさらに高くなるものと考えられる。

**Table IV-13.** ヒト臓器中及びラット臓器中の C6A 濃度から算出した HED

| tissue | rat   |                              |  | human  |                              |                                       |
|--------|---|------------------------------|--|--|------------------------------|---------------------------------------|
|        | steady state concentration $C'_{(ss)}$ a*<br>( $\mu\text{g/kg tissue volume}$ ) | concentration ratio to brain | rat dose b*<br>( $\mu\text{g/kg BW/day}$ ) | concentration c*<br>( $\mu\text{g/kg tissue volume}$ ) | concentration ratio to brain | HED d*<br>( $\mu\text{g/kg BW/day}$ ) |
| C6A    | brain   | 0.001                        | 1.0  | 180  | 1.0                          | 48                                    |
|        | liver   | 0.015                        | 15   | 115  | 0.64                         | 2.0                                   |
|        | kidney  | 0.030                        | 30   | 5.6  | 0.031                        | 0.048                                 |

a\* ラットの定常状態における濃度：用量が 0.075  $\mu\text{g/kg BW/day}$  の場合 ( $C'_{(ss)}$ 、Table IV-10. の再掲)

b\* ラット臓器が c\*の濃度となるためのラットへの用量： $c* \cdot 0.075/a*$ からの計算値 ( $\mu\text{g/kg BW/day}$ )

c\* ヒト臓器のデータは、Pérez らの報告値 (Pérez *et al.*, 2013)

d\* HED： $b*/290$  からの計算値（血清中 C6A 濃度が同じであるときのラット/ヒトの摂取量比）

いずれの臓器へも同じ C6A 濃度の血液が流れ込んでいること考えると、脳と腎臓の間で用量が 1,000 倍またはそれ以上の差となることは、まず考えられない。Russel らは、C6A に高濃度に曝露されたヒト（スキーのワックスの専門技術者）の平均消失半減期は、32 日 ( $k_e = 0.022/\text{day}$ ) であったと報告しており、また、マウス、ラット、サル及びヒトにおける C6A の消失半減期は、体重に比例し、同程度の Vd を示すと結論づけている (Russel *et al.*, 2013)。定常状態における濃度が同じであるとする、ヒトとラットの Vd がそれぞれ同じで、血清の消失半減期がヒトで 32 日及びラットで 0.11 日 (Table IV-4. 参照) とした場合、1 日の用量はラットの方が 290 倍 ( $32/0.11$ ) 大きくなければならないことになる。よって、ここから、ヒトの脳における臓器 HED は、48 ( $14,000/290$ )  $\mu\text{g/kg BW/day}$ 、肝臓における臓器 HED は 2.0 ( $580/290$ )  $\mu\text{g/kg BW/day}$  と算出された。USEPA が示す (USEPA, 2016a, 2016b) ように、体重あたりの飲料水摂取量 (DWI) 0.054 L/kg BW/day と供給源の相対寄与率 (relative source contribution ; RSC) に 20 %を適用した場合、ヒトの飲料水の C6A 濃度は、脳の場合は 178 ( $48 \times 0.2/0.054$ )  $\mu\text{g/L}$ 、肝臓の場合は 7.4 ( $2.0 \times 0.2/0.054$ )  $\mu\text{g/L}$  でなければならない。

この濃度が、実際の環境中においてどのくらいのレベルであるのかを考慮してみた。

Tsuda らは、2007 年に近畿地方で採水した河川水のサンプルについて、C6A 濃度は全国平均より 15 倍も高濃度であり、有機フッ素化合物を使用している工場の下流で採水した 2 つのサンプルは極めて高濃度で、それぞれ 46 µg/L 及び 24 µg/L であったと報告した (Tsuda *et al.*, 2012)。Saito らは、前述の Tsuda ら報告と同じ場所で 2011 年に採水し、C6A 濃度がそれぞれ 49 µg/L 及び 43 µg/L に増加していたこと、及び 2011 年に近畿地方で採水した水道水で、C6A は 2.85 ng/L が最も高濃度であり、2007 年の 1.51 ng/L よりも高濃度であったことを報告した (Saito *et al.*, 2013)。このことから考慮すると、スペインの一般市民が、日本の水道水で最も高い水準と考えられる 2.85 ng/L と比較して 62,000 (178/0.00285) 倍～2,600 (7.4/0.00285) 倍もの C6A を含んだ水を飲んでいたとは、とても考えられない。別の曝露経路を考慮したとしても、もし食事としての曝露であれば、高濃度に汚染された食材を常時口にしていることになる。しかし、本研究の結果から明らかなように、C6A は排出速度が速いため動物の臓器には蓄積しにくいと考えられること、魚類についても C6A が高濃度に蓄積されるとは考えにくいこと、また、野菜や果樹等の植物については、環境水レベルの C6A 濃度の水が根から吸い上げられて、植物体内で数千～数万倍も濃縮されることは考えにくいこと、などから、常時食材から曝露されることも考えにくい。呼吸による曝露も、空気中の C6A が高濃度な空間に一般市民が常時曝されることは、まず考えられない。これらのことを考慮すると、飲用水以外からの曝露経路は非常に考えにくい。

Pérez らによる報告に適合するような、ヒト血清または飲料水中の C6A 濃度は、とても現実的ではなく、データや参考値として利用できるものではない。また一方、近年、一般市民を対象に行われた大規模なバイオモニタリング調査においては、血清中の C6A 濃度は低く、大部分の人の血漿又は血清中の濃度は、LOD の 0.05～0.10 ng/g plasma (or serum) volume 付近かそれ以下であったという研究報告が出されている (Gannon *et al.*, 2011、Olsen *et al.*, 2012、Russel *et al.*, 2013)。もし、この 0.1 ng/g serum volume という血清中濃度を採用したとすると、C6A は、ヒトの脳に血清中濃度の 1,800 倍 (180/0.1)、肝臓に 1,150 倍 (115/0.1) も蓄積することになる。このことは、ヒトの脳及び肝臓において、C6A は極めて高い蓄積性がある可能性を示唆するものである。

ヒトの死体から採取した血清サンプル中の PFAA 濃度を測定することは、ボランティアの人たちから集めたサンプルを測定するよりも、かなり困難である。Liu らは、C8S と C9A について、ヒトの爪と血清との間に良好な相関関係があり、28 人の研究協力者の爪と血清における C8S 及び C9A の平均濃度比は、C8S で 6.0 倍、C9A で 27.4 倍であったと報告している (Liu *et al.*, 2011)。ヒトの脳に血清中濃度の 1,800 倍、肝臓に 1,150 倍も C6A が蓄積することになる Pérez らによる報告とは、血清と対象組織の間での濃度比が大きく異なっている。Liu らの研究では、C6A が検出されたとの報告はされていなかったが、ヒトの死体の臓器中の C6A 濃度と、同じ人の血清中の濃度又は生前に飲んでいた飲料水中の C6A 濃度と関連づける研究ができれば、より定量的な評価に役立つものと考えられる。C6A はヒト L-FABP には結合しないとされており (Sheng *et al.*, 2016)、このことは本研究の結果

と照らし合わせても、速やかに体外に排出されると考えられるのにもかかわらず、Pérez らによる報告ほどヒトの臓器に高濃度に蓄積する理由は、現段階では明らかにはなっていない。臓器からの排出速度について、一般的には、炭素鎖が短くなるにつれて大きくなるとされている (Lau *et al.*, 2007、Takahashi *et al.*, 2014) が、ヒトにおける C6S (perfluoro hexane sulfonate) の消失半減期については、逆に C8S よりも長いとも報告されている (Olsen *et al.*, 2007)。Pérez らによる報告も考慮すると、炭素数が 6 つの PFAA のヒト体内における動態は、臓器への分布に関して非常に特異的なものかもしれない。

PFAA の毒性は、PFAA が生体内に蓄積され、徐々に高濃度になっていくことで出現するものと考えられる。PFAA を NOAEL で摂取した時の定常状態における臓器中濃度と、LOAEL (lowest observed adverse effect level ; 最小毒性量) で摂取した時の定常状態における臓器中濃度にどの程度の差があるかなどを分析することにより、閾値などを明らかにできることも考えられ、PFAA の生体への毒性に関する研究はさらに進むものと思われる。本研究により、PFAA の生体内における挙動について、蓄積と排出の動態の一部が明らかとなったことから、PFAA の生体における毒性出現のメカニズムの解明に大いに役立つことが期待される。PFAA の毒性を考慮するうえで、毒性発現に関する基本的メカニズムの 1 つに、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (peroxisome proliferator activated receptor ; PPAR)  $\alpha$  (USEPA, 2016c, 2016d) の存在が挙げられる。ヒトの PPAR $\alpha$  は、C8S よりも C6A に対して感受性が高く、C6A 及び C8S の全最大反応の 20 %を生み出すと予測される濃度は、C6A で 16  $\mu$ M、C8S で 262  $\mu$ M であると報告されている (Wolf *et al.*, 2008)。また、Nakamura らは、TK6 ヒトリンパ芽球細胞株の TK<sup>+/+</sup>ヘテロ接合体を用いて、C6A 及び C8A がアルカリ性コメットアッセイにおいて DNA 損傷を誘導することを報告した (Nakamura *et al.*, 2016)。Tsuda らは、C8A がアポトーシスを適切に誘導しない場合には、PPAR $\alpha$  が活性化することで発生する酸化ストレスに続いて引き起こされる C8A による DNA 損傷が、ヒトのがんに発展していく可能性を示唆した (Tsuda, 2016)。

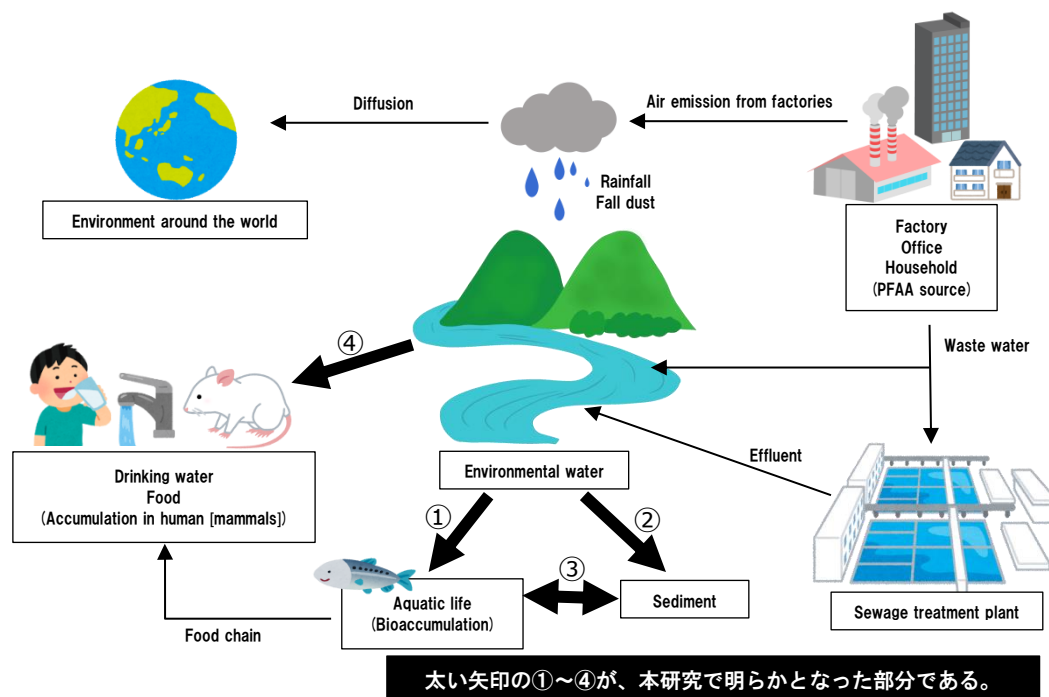
このように、C6A をはじめ PFAA によるヒトへの影響が少しずつ明らかになってきていることから、今後、ヒトへの PFAA の毒性、特に C6A の毒性等に関して、さらに研究を進めていくことは必須である。また、同様に炭素数が 6 である C6S についても、ヒトへの影響の詳細を検討していくことが必要である。このことについては、今後の研究課題としたい。

## 第V章 結論及び今後の展望

PFAA は、大変有用な界面活性剤である。今後は、ヒトを含む生物にとってより安全で、さらに効果の高い、新しいタイプの PFAA が開発されていくものと考えられる。一方、これまで大量に使用され、環境中に拡散してしまっている従来の PFAA について、その生物蓄積性や生物毒性をより詳細に明らかにしていくことは、これから先も非常に重要な課題であることに変わりはない。化学物質の毒性を確認するための試験では、一般に、高濃度の化学物質を実験動物等に投与し、その代謝性、臓器等への蓄積性、及び投与された動物の行動の変化などを、詳細に分析したり観察したりして確認し、NOAEL や LOAEL などを推定する。これは、その化学物質の性質を把握するうえで非常に重要な試験である。しかし、環境中に一旦拡散してしまった化学物質が環境中で生物に与える影響を見るということが、実際に環境中で起こりうる危害の把握には必要なことであり、その危害を評価するには、上述のような高濃度の化学物質を実験動物に投与して、その性質を明らかにする試験だけでは十分ではない。つまり、極低濃度域の環境中で長期間曝露された際の蓄積性や毒性を考慮することが極めて重要なのである。本研究では、このことに重点を置いて、試験、調査、分析、解析等を行ってきた。野生のメダカに蓄積している PFAA 及び環境水、底質を分析することで、それぞれのサンプル間における PFAA 濃度の相関性や、実験室中で行われる OECD テストガイドラインに基づく曝露試験により蓄積した個体とは生物蓄積性に差がある可能性があることなどが見出され、PFAA の動態を把握する上では、実験室中における様々な試験と併せて環境試料を調査・分析することが、極めて重要であることを明らかにできた。また、PFAA は環境中で底質の IL に蓄積していると考えられたこと、及び底質の IL に含まれる PFAA 濃度とそこに生息するメダカ中の PFAA 濃度に相関があることから、野生の魚類を採取しなくても底質の IL あたりの濃度から当該魚類に蓄積している濃度を推定できる可能性があることも確認でき、非常に有意義な結果が得られた。さらに、実験室中で環境中における濃度に近い濃度でラットに PFAA の投与試験を行ったことで、低濃度域の環境で曝露されても、それぞれの PFAA により、ある一定の濃度までは、臓器への蓄積は用量（曝露量）に比例していることが確認された。こちらの試験において得られた結果も、今後 PFAA の生体毒性などを解明していくうえで非常に有意義である。本研究結果から、一般に広く使用されている実験動物を用いて、環境中に存在している PFAA 等の化学物質の濃度域（極低濃度域）における生体内の動態を明らかにすることで、ヒトへの曝露量を推定することが可能となり、そしてこのことは、ヒトへの健康影響をより正確に評価するのに非常に有効である。

本研究では、環境中における PFAA の実態を詳細に把握することを目標の 1 つとして研究を進めてきた。本研究によって明らかとなった、環境中における PFAA の循環や曝露の動態は、Fig. V-1.のとおりである。本研究によって明らかにできた部分は、環境中の PFAA の循環経路のうちの一部であり、環境中における PFAA の実態を把握するには、さらに多くの経

路について詳細に明らかにしていく必要がある。特に、PFAA 発生源からどの程度の量が発生しており、下水処理施設等を経由して、又は直接環境中に排出される経路から、どの程度の量が環境中に排出されているかを明らかにすることは、環境中の PFAA の循環経路を解析するうえで非常に重要である。



**Fig. V-1.** 本研究によって明らかにできた PFAA の環境動態の一部

Fig. V-1.の①～③における動態を明らかにするために使用した環境試料は、環境水、底質、メダカであり、2013 年～2016 年にかけて採取したものを用いた。この 4 年間で採取したこれらの試料を分析・解析したことで様々な知見が得られた。環境水は、採取した地点により PFAA 濃度にかんがりのばらつきが見られたが、PFAA の組成比を見ると、どの地点においてもおおむね同様であることが明らかとなった。

底質については、従来の ASE 法による分析方法では精度の高い分析が難しいことから、独自に改良した分析方法を開発した。この改良した方法で分析することで、精度の高い分析が可能となった。底質は、環境水と同様に、採取した地点により PFAA 濃度にはかなりばらつきが見られたが、PFAA の組成比を見ると、どの地点においてもおおむね同様であることが明らかとなった。また、Fig. V-1.の②の部分について、底質はサンプルの性状（砂質、泥質）により大きく濃度が異なることから、IL あたりの濃度で比較することで、環境水中の濃度やメダカからの検出濃度と一部の PFAA について相関が見られることも確認された。

メダカ (Fig. V-1.の①の部分) についても、環境水、底質と同様に、採取した地点により PFAA 濃度にはかなりばらつきが見られたが、PFAA の組成比を見ると、どの地点において

もおおむね同様であることが明らかとなった。環境試料を採取した地点付近や上流域の土地利用状況を考慮すると、環境中へ排出される PFAA は、PFAA を製造等に使用している事業場等の明らかな発生源がある場合を除き、都市部からの面源負荷のような発生源と、大気に由来するものが考えられた。なお、都市部では、下水処理施設からの放流水が主要な発生源となっていることが示唆された。またその他には、メダカに蓄積する PFAA は、PFAA の  $\text{Log } K_{ow}$  と相関していることも確認され、 $\text{Log } K_{ow}$  が大きくなるほど、蓄積される PFAA 量も指数的に増加することが明らかとなった。なお、底質の IL あたりの濃度とメダカから検出される濃度との間にある程度相関があること (Fig. V-1.の③の部分) が明らかとなったことで、メダカの性別、体長、底質の IL あたりの濃度をパラメータとして、メダカから検出される PFAA 濃度を推定することのできるモデルも構築できた。

しかし、環境中における PFAA の実態をさらに明らかにしていくには、これだけではまだ不足しており、経年的に試料を採取し、分析・解析を行っていくことが非常に重要であり、また必須である。今後 10 年、20 年と経過していくにつれて、環境中における PFAA 濃度がどのように変化していくか、また、生物への蓄積がどのように変化していくかを明らかにしていくことが必要である。今回サンプルとして使用したメダカは、野外での寿命が 2 年程度と短いことから、経年の蓄積性を確認することはできないが、寿命の長いもっと別な魚種 (又は別の生物) を利用することで、さらに詳細な PFAA の環境中における動態を明らかにすることが可能と考えられる。そのためには、魚種 (生物) の選定も重要であるが、さらに環境水中の PFAA 濃度の経時変化や経年変化、また平均濃度などを把握することも同様に重要である。年に 1 回のスポットの採水で平均濃度とするのでは正確な解析が非常に困難なため、少なくとも年に数回の採水を行い、可能であれば 1 日の経時変化も調査し、平均濃度を算出することが必要である。ここから得られた環境水中の PFAA 濃度から、環境水が生物や底質への蓄積にどのような影響を与えているか、重要な知見が得られると考えられる。また、底質への蓄積は、一定期間環境水に曝露された結果であり、その期間の環境水中の濃度変動までも反映している。そのため、よりその地点における環境の実態を反映していることになる。本研究で得られた知見をさらに応用し、経年的な環境中の変化を追っていくことは、今後の研究課題としたい。また、メダカに蓄積する PFAA は PFAA の  $\text{Log } K_{ow}$  と相関していることが明らかとはなったが、これがどのようなメカニズムに由来するものなのかなど、本研究では明らかにできなかった点も多いことから、QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship ; 定量的構造活性相関) を活用した解析手法など、新たなアプローチについて検討することも、今後の課題としたい。

本研究ではまた、Fig. V-1.の④の動態について明らかにするために、これまで得られていなかった、環境中における濃度域で複数の PFAA をラットに同時に曝露し、これらの PFAA がどのように各臓器に蓄積 (分布) し、排出されるのかを詳細に把握することも目標の 1 つとして研究を進めてきた。今回行った投与試験では、各臓器における各 PFAA の動態に関するパラメータや、1 か月又は 3 か月の期間での蓄積状況を明らかにすることができた。

単回投与試験からは、各臓器における PFAA 濃度の経時変化を追うことで、臓器特異的・PFAA 特異的な見かけの初期濃度  $C_0$ 、最高濃度  $C_{\max}$ 、消失速度定数  $k_e$ 、生物学的半減期  $t_{1/2}$ 、見かけの分布容積  $V_d$  など、薬物動態を検討するうえで必要な詳細なパラメータを明らかにすることができた。また、濃度-時間曲線下面積 AUC を計算することで、各臓器への送達量なども明らかにすることができた。

長期投与試験からは、1 か月間、3 か月間投与後の各臓器における PFAA 濃度を分析することで、生体内における蓄積状況及び挙動を把握することができた。また、各臓器を 1-コンパートメントとして考えることでモデルを構築することができ、任意の時間における臓器中の PFAA 濃度の推定が可能となった。このモデルから推定した蓄積量は、各臓器の詳細な分析結果と非常によく合っており、精度の高い分析ができていることも確認された。さらには、定常状態における各臓器への蓄積量を推定すること、及び 1 か月、3 か月における各臓器中の平均 PFAA 濃度も算出することができた。

環境中の濃度レベル程度の低濃度域で長期間曝露した際に、PFAA が生体へどのような影響を与えるかを確認することは非常に重要である。第 I 章序論で述べたとおり、PFAA には蓄積性や様々な毒性があることは既によく知られているが、長期間にわたり環境中のレベルの極低濃度で曝露された際の毒性については、まだ明らかになっていない部分が多い。これを達成するためには、細胞・DNA レベルでの毒性の研究や、また他方、臓器等から極低濃度でもこれまで以上に感度よく検出できるような、分析技術の向上も必要である。これらについては本研究では取り組めなかった部分であり、今後の研究課題としたい。

本研究は、環境中の PFAA 存在実態を把握することで、日本における環境水中の濃度レベルを確認できたことから、水生生物への曝露濃度の一端を明らかにすることができた。これは、水生生物だけでなく、その水を摂取する生物全体における PFAA 曝露濃度であると言っても過言ではない。この環境中レベルの濃度で哺乳類、とりわけヒトが曝露されたら、いったい生体にはどのような影響が起こるのか。このことは、これから先の PFAA の毒性研究を行っていくうえでの究極の目標であり、これまでの PFAA の毒性を確認するための投与試験では、明らかにできていなかった部分である。

本研究は、環境中における PFAA 濃度レベルを確認し、それを生体に曝露させて影響を見るという、包括的な試験を行ってきた。研究結果からは、解明できた点は必ずしも多くはないが、これまで報告されていなかった多くの新しい知見が得られ、この最大の目標に一歩近づくことができたものと考えている。しかし、PFAA の環境中における動態に関する研究や生体毒性に関する研究は、まだまだ道半ばである。今後の取り組むべき課題も様々見えているため、1 つ 1 つ検討を重ね、今後も研究を深めていきたい。

## ■略語及び用語

| 略語・用語                | 説明   | 単位                                    |
|----------------------|--|---------------------------------------|
| ASE                  | accelerated solvent extraction<br>高速溶媒抽出法  |                                       |
| AUC                  | the area under concentration versus time curve<br>濃度-時間曲線下面積   | (day・ $\mu\text{g/kg}$ tissue volume) |
| BCF                  | bioconcentration factor<br>生物濃縮係数  |                                       |
| BD                   | bolus dose<br>ボーラス投与（単回投与試験における投与方法）   | ( $\mu\text{g/kg}$ BW)                |
| BW                   | body weight<br>体重  |                                       |
| C                    | tissue PFAA concentration<br>（時間 t における）臓器中の PFAA 濃度   | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| C'                   | estimated tissue PFAA concentration<br>（時間 t における）臓器中の PFAA 推定濃度   | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| C <sub>0</sub>       | initial concentration<br>初期濃度（t = 0 の外挿から算出した、見かけ上の濃度）   | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| C <sub>(1M)</sub>    | dose-normalized measured PFAA concentration at 1 month<br>1 か月時点における各臓器中の用量標準化平均 PFAA 濃度   | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| C' <sub>(1M)</sub>   | estimated dose-normalized PFAA concentration at 1 month<br>1 か月時点における各臓器中の用量標準化平均 PFAA 推定濃度                                      | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| C <sub>(3M)</sub>    | dose-normalized measured PFAA concentration at 3 month<br>3 か月時点における各臓器中の用量標準化平均 PFAA 濃度   | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| C' <sub>(3M)</sub>   | estimated dose-normalized PFAA concentration at 3 month<br>3 か月時点における各臓器中の用量標準化平均 PFAA 推定濃度                                      | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| C' <sub>avr</sub>    | average estimated tissue PFAA concentration<br>（時間 t における）臓器中の平均 PFAA 推定濃度   | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| C <sub>max</sub>     | maximum concentration<br>最高濃度  | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| CRD                  | chronic reference dose<br>長期投与試験における基準用量   | ( $\mu\text{g/kg}$ BW/day)            |
| C' <sub>(ss)</sub>   | estimated PFAA concentration at steady state<br>定常状態における臓器中の PFAA 推定濃度   | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| C' <sub>(ss1M)</sub> | estimated PFAA concentration at steady state calculated from C <sub>(1M)</sub><br>C <sub>(1M)</sub> から算出した定常状態における臓器中の PFAA 推定濃度 | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| C' <sub>(ss3M)</sub> | estimated PFAA concentration at steady state calculated from C <sub>(3M)</sub><br>C <sub>(3M)</sub> から算出した定常状態における臓器中の PFAA 推定濃度 | ( $\mu\text{g/kg}$ tissue volume)     |
| E                    | excretion rate from rat's tissue<br>ラット臓器からの（1 日あたりの）排出量（速度）   | ( $\mu\text{g/kg}$ BW/day)            |
| HED                  | human equivalent dose<br>ヒト等価用量  |                                       |
| HPLC                 | high performance liquid chromatography<br>高速液体クロマトグラフィー  |                                       |
| IARC                 | International Agency for Research on Cancer<br>国際がん研究機関  |                                       |



|                  |   |            |
|------------------|---|------------|
| IDL              | instrument detection limit<br>装置検出下限  |            |
| IL               | ignition loss<br>強熱減量   |            |
| IQL              | instrument quantification limit<br>装置定量下限   |            |
| I.S.             | internal standard<br>内標準  |            |
| $k_e$            | elimination rate constant<br>消失速度定数   | (/day)     |
| LC-MS            | liquid chromatograph (LC) - mass spectrometer (MS)<br>(高速) 液体クロマトグラフ質量分析計         |            |
| LC-MS/MS         | liquid chromatograph (LC) - mass spectrometer (MS/MS)<br>(高速) 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 |            |
| LD <sub>50</sub> | lethal dose 50<br>50 % (半数) 致死量   |            |
| LOD              | limit of detection<br>検出下限  |            |
| Log $K_{ow}$     | octanol / water coefficient<br>オクタノール/水 分配係数                                      |            |
| LOQ              | limit of quantification<br>定量下限   |            |
| M                | PFAA amount in rat tissue<br>ラット臓器中の PFAA 量                                       | (µg/kg BW) |
| MeOH             | methanol<br>メタノール   |            |
| MS               | mass spectrometer<br>質量分析計  |            |
| MTBE             | methyl tert - butyl ether<br>t-ブチルメチルエーテル   |            |
| m/z              | (m over z)<br>イオンの質量を電荷数で割った値   |            |
| n.d.             | not detected<br>不検出   |            |
| NOAEL            | no observed adverse effect level<br>無毒性量  |            |
| OECD             | Organisation for Economic Co-operation and Development<br>経済協力開発機構                |            |
| PFAA             | perfluoroalkyl acid<br>有機フッ素化合物、ペルフルオロアルキル酸                                       |            |
| PFCA             | perfluorocarboxylic acid<br>ペルフルオロカルボン酸   |            |
| PFHxA (C6A)      | perfluorohexanoic acid<br>ペルフルオロヘキサン酸   |            |
| PFHxS (C6S)      | perfluorohexane sulfonic acid<br>ペルフルオロヘキサンスルホン酸                                  |            |
| PFNA (C9A)       | perfluorononanoic acid<br>ペルフルオロノナン酸  |            |
| PFOA (C8A)       | perfluorooctanoic acid<br>ペルフルオロオクタン酸   |            |

|                              |   |                             |
|------------------------------|---|-----------------------------|
| PFOS (C8S)                   | perfluorooctanesulfonic acid<br>ペルフルオロオクタンスルホン酸   |                             |
| PFSA                         | perfluorosulfonic acid<br>ペルフルオロスルホン酸   |                             |
| POPRC                        | Persistent Organic Pollutants Review Committee<br>ストックホルム条約残留性有機汚染物質検討委員会                         |                             |
| POPs                         | persistent organic pollutants<br>残留性有機汚染物質  |                             |
| QSAR                         | quantitative structure-activity relationship<br>定量的構造活性相関   |                             |
| R                            | dosing rate to rat's tissue<br>ラット臓器への (1 日あたりの) 投与量 (速度)   | ( $\mu\text{g/kg BW/day}$ ) |
| SD                           | standard deviation<br>標準偏差  |                             |
| SE                           | standard error<br>標準誤差  |                             |
| S/N                          | signal - noise ratio<br>信号雑音比   |                             |
| $t_{1/2}$                    | half-life<br>生物学的半減期  | (day)                       |
| TBAHS                        | tetrabutylammonium hydrogen sulfate<br>硫酸水素テトラブチルアンモニウム   |                             |
| $T_{\text{max}}$             | time of maximum (peak) concentration<br>最高濃度到達時間  | (hr), (day)                 |
| $T_w$                        | tissue weight<br>相対臓器重量   | (g/kg BW)                   |
| USEPA                        | United States Environmental Protection Agency<br>アメリカ合衆国環境保護庁                                     |                             |
| $V_{\text{d}_{\text{area}}}$ | apparent volume of distributions calculated from AUC and $k_e$<br>見かけの分布容積 (AUC, $K_e$ から算出したもの)  | (kg tissue volume/kg BW)    |
| $V_{\text{d}_{\text{ext}}}$  | apparent volume of distributions calculated from extrapolated $C_0$<br>見かけの分布容積 ( $C_0$ から算出したもの) | (kg tissue volume/kg BW)    |



## ■引用文献、参考文献

### 【引用文献】

- Ahrens, L., Norström, K., Viktor, T., Cousins, A. P. and Josefsson, S. (2015): Stockholm Arlanda Airport as a source of per- and polyfluoroalkyl substances to water, sediment and fish. *Chemosphere*, **129**, 33-38.
- Apelberg, B.J., Witter, F.R., Herbstman, J.B., Calafat, A. M., Halden, R. U., Needham, L. L., and Goldman, L. R. (2007): Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environ. Health Perspect.*, **115**, 1670-1676.
- Arp, H. P. H., Niederer, C., and Goss, K. U. (2006): Predicting the partitioning behavior of various highly fluorinated compounds, *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 7298-7304.
- Biegel, L. B., Hurtt, M. E., Frame, S. R., O'Connor, J. C., and Cook, J. C. (2001): Mechanisms of extrahepatic tumor induction by peroxisome proliferators in male CD rats. *Toxicol. Sci.*, **60**, 44-55.
- Bischel, H.N., Macmanus-Spencer, L.A., Luthy, R.G. (2010): Noncovalent interactions of long-chain perfluoroalkyl acids with serum albumin. *Environ. Sci Technol.*, **44**, 5263-5269.
- Butenhoff, J. L., Chang, S. C., Olsen, G. W., and Thomford, P. J. (2012): Chronic dietary toxicity and carcinogenicity study with potassium perfluorooctanesulfonate in Sprague Dawley rats. *Toxicology*, **293**, 1-15.
- Butenhoff, J., Costa, G., Elcombe, C., Farrar, D., Hansen, K., Iwai, H., Jung, R., Kennedy, G. Jr., Lieder, P., Olsen, G., and Thomford, P. (2002): Toxicity of ammonium perfluorooctanoate in male cynomolgus monkeys after oral dosing for 6 months. *Toxicol Sci.*, **69**, 244-257.
- ダイキン工業株式会社 (2016): フッ素化学製品における PFOA PFOA 及び関連化合物の製造、使用全廃について. (2018 年 7 月時点).  
[http://www.daikin.co.jp/press/2016/20160331\\_01/](http://www.daikin.co.jp/press/2016/20160331_01/)
- Davies, B. and Morris, T. (1993): Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans. *Pharm. Res.*, **10**, 1093-1095.
- De Solla, S.R., De Silva, A.O. and Letcher, R.J. (2012): Highly elevated levels of perfluorooctane sulfonate and other perfluorinated acids found in biota and surface water downstream of an international airport, Hamilton, Ontario, Canada. *Environ. Int.*, **39**, 19-26.
- Fei, C., McLaughlin, J. K., Tarone, R. E., and Olsen, J. (2007): Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environ. Health Perspect.*, **115**, 1677-1682.

- Furdui, V. I., Stock, N. L., Ellis, D. A., Butt, C. M., Whittle, D. M., Crozier, P. W., Reiner, E. J., Muir, D. C., and Mabury, S. A. (2007): Spatial distribution of perfluoroalkyl contaminants in lake trout from the Great Lakes. *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 1554-1559.
- Gannon, S. A., Johnson, T., Nabb, D. L., Serex, T. L., Buck, R. C., and Loveless, S. E. (2011): Absorption, distribution, metabolism, and excretion of [1-<sup>14</sup>C]-perfluorohexanoate ([<sup>14</sup>C]-PFHx) in rats and mice. *Toxicology*, **283**, 55-62.
- Giesy, J. P., and Kannan, K. (2001): Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 1339-1342.
- Han, X., Yang, C. H., Snajdr, S. I., Nabb, D. L., and Mingoia, R. T. (2008): Uptake of perfluorooctanoate in freshly isolated hepatocytes from male and female rats. *Toxicol. Lett.*, **181**, 81-86.
- Hansen, K. J., Clemen, L. A., Ellefson, M. E., and Johnson, H. O. (2001): Compound-specific, quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices. *Environ. Sci. Technol.* **35**, 766-770.
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2016): Perfluorooctanoic acid. IARC Monographs – **110**. Accessed November 2017. Available at <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono110-01.pdf>
- Inoue, Y., Hashizume, N., Yakata, N., Murakami, H., Suzuki, Y., Kikushima, E., and Otsuka, M. (2012): Unique physicochemical properties of perfluorinated compounds and their bioconcentration in common carp *Cyprinus carpio* L. *Arch Environ. Contam. Toxicol.*, **62**, 672-680.
- 岩渕勝己, 千崎則正, 鑑迫典久. (2017): 底質・土壌からの有機フッ素化合物の効率的な抽出法の検討. *全国環境研会誌*, **42**, 65-70.
- Iwabuchi, K., Nagahora, S., Tahara, R., Orihara, T., Iida, H., Suzuki, T., Kosugi, Y., Watanabe, K., Konishi, H., Takagi, S., Adachi, F., Miyawaki, T., and Kadokami, K. (2018): Discharge scenario of perfluoroalkyl acids into the environment via sewage treatment plants. SETAC North America 39<sup>th</sup> Annual Meeting., Abstract No. MP116.
- Iwabuchi, K., Senzaki, N., Tsuda, S., Watanabe, H., Tamura, I., Takanobu H. and Tatarazako, N. (2015): Bioconcentration of perfluorinated compounds in wild medaka is related to octanol/water partition coefficient. *Fundam. Toxicol. Sci.*, **2**, 201-208.
- Johnson, J. D., Gibson, S. J., and Ober, R. E. (1984): Cholestyramine enhanced fecal elimination of carbon-14 in rats after administration of ammonium [<sup>14</sup>C] perfluorooctanoate or potassium [<sup>14</sup>C] perfluorooctanesulfonate. *Fundam. Appl. Toxicol.*, **4**, 972-976.
- Jones, P. D., Hu, W., De Coen, W., Newsted, J. L., and Giesy, J. P. (2003): Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environ. Toxicol. Chem.*, **22**, 2639-2649.

- 環境省 環境政策における予防的方策・予防原則のあり方に関する研究会. (2004): 環境政策における予防的方策・予防原則のあり方に関する研究会報告書.
- 環境省 環境保健部環境安全課. (2003): 化学物質と環境 平成 14 年度 化学物質分析法開発調査報告書.
- 環境省 環境保健部環境安全課. (2004): 化学物質と環境 平成 15 年度 化学物質分析法開発調査報告書.
- 環境省 環境保健部環境リスク評価室. (2008): 化学物質の環境リスク評価 第 6 巻, (2019 年 3 月時点).
- <https://www.env.go.jp/chemi/report/h19-03/index.html>
- 環境省 中央環境審議会 水環境部会 環境基準健康項目専門委員会 (第 16 回) 議事次第・資料\_資料 5「パーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) 及びその塩について」, (2019 年 3 月時点).
- <https://www.env.go.jp/council/09water/y095-16b.html>
- 環境省 総合環境政策局環境保健部環境安全課. (2016): 化学物質環境実態調査実施の手引き (平成 27 年度版).
- 環境省 水・大気環境局. (2012): 底質調査方法, (2017 年 9 月時点).
- [https://www.env.go.jp/water/teishitsu-chousa/00\\_full.pdf](https://www.env.go.jp/water/teishitsu-chousa/00_full.pdf)
- 環境庁水質保全局水質管理課編 (1988): 改訂版底質調査方法とその解説. 丸善, 東京.
- Kannan, K., Koistinen, J., Beckmen, K., Evans, T., Gorzelany, J. F., Hansen, K. J., Jones, P. D., Helle, E., Nyman, M., and Giesy, J. P. (2001): Accumulation of Perfluorooctane Sulfonate in Marine Mammals. *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 1593-1598.
- Klaassen, C. D., and Aleksunes, L. M. (2010): Xenobiotic, bile acid, and cholesterol transporters: Function and regulation. *Pharmacol. Rev.*, **62**, 1-96.
- Kudo, N., Sasaki, A., Mitsumoto, A., Hibino, Y., Tsuda, T., and Kawashima, Y. (2007): Tissue Distribution and Hepatic Subcellular Distribution of Perfluorooctanoic Acid at Low Dose Are Different from Those at HighDose in Rats. *Biol. Pharm. Bull.*, **30**, 1535-1540.
- Lam, N. H., Cho, C. R., Lee, J. S., Soh, H. Y., Lee, B. C., Lee, J. A., Tatarozako, N., Sasaki, K., Saito, N., Iwabuchi, K., Kannan, K., and Cho, H. S. (2014): Perfluorinated alkyl substances in water, sediment, plankton and fish from Korean rivers and lakes: a nationwide survey. *Sci. Total Environ.*, **491-492**, 154-162.
- Lau, C., Anitole, K., Hodes, C., Lai, D., Pfahles-Hutchens, A. and Seed, J. (2007): Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings. *Toxicol. Sci.*, **99**, 366-394.
- Luebker, D. J., Hansen, K. J., Bass, N. M., Butenhoff, J. L., and Seacat, A. M. (2002): Interactions of fluorochemicals with rat liver fatty acid-binding protein. *Toxicology*, **176**, 175-185.

- Liu, W., Xu, L., Li, X., Jin, Y. H., Sasaki, K., Saito, N., Sato, I. and Tsuda, S. (2011): Human nails analysis as biomarker of exposure to perfluoroalkyl compounds. *Environ. Sci. Technol.*, **45**, 8144-8150.
- Lu, Z., Song, L., Zhao, Z., Ma, Y., Wang, J., Yang, H., Ma, H., Cai, M., Codling, G., Ebinghaus, R., Xie, Z., and Giesy, J. P. (2015): Occurrence and trends in concentrations of perfluoroalkyl substances (PFASs) in surface waters of eastern China. *Chemosphere*, **119**, 820-827.
- Meghan, C. W. W., and Candy S. S. (2016): Perfluorinated compounds (PFCs) in fish from Wisconsin's major rivers and Great Lakes. Fisheries management administrative report, **83**.
- Meng, J., Wang, T., Wang, P., Giesy, J. P., and Lu, Y. (2013): Perfluorinated compounds and organochlorine pesticides in soils around Huaihe River: a heavily contaminated watershed in Central China. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **20**, 3965-3974.
- 村上道夫, 滝沢智 (2010): フッ素系界面活性剤の水環境汚染の現況と今後の展望. *日本水環境学会誌*, **33**, 103-114.
- Murphy, M. B., Loi, E. I., Kwok, K. Y., and Lam, P. K. (2012): Ecotoxicology of organofluorous compounds. *Top. Curr. Chem.*, **308**, 339-363.
- Naile, J. E., Khim, J. S., Wang, T., Chen, C., Luo, W., Kwon, B. O., Park, J., Koh, C. H., Jones, P. D., Lu, Y., and Giesy, J. P. (2010): Perfluorinated compounds in water, sediment, soil and biota from estuarine and coastal areas of Korea. *Environ. Pollut.*, **158**, 1237-1244.
- Nakamura, M., Takahashi, T., Izumi, T., Miura, M., Kawaguchi, S., Yamamoto, A., Tsuda, S., Nakamura, T., Tanaka, S., Shimizu, N. and Sasaki, Y. F. (2016): Peroxisome proliferator activated receptor-mediated genotoxicity of perfluoroalkyl acids using human lymphoblastoid cells. *Fundam. Toxicol. Sci.*, **3**, 143-150.
- Nakayama, S., Harada, K., Inoue, K., Sasaki, K., Seery, B., Saito, N., and Koizumi, A. (2005) : Distributions of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) in Japan and their toxicities. *Environ. Sci.*, **12**, 293-313.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). (2002): Hazard assessment of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its salts. Accessed August 2015. Available at <http://www.oecd.org/env/ehs/risk-assessment/2382880.pdf>
- Olsen, G. W., Burris, J. M., Ehresman, D. J., Froehlich, J. W., Seacat, A. M., Butenhoff, J. L., and Zobel, L. R. (2007): Half-Life of Serum Elimination of Perfluorooctanesulfonate, Perfluorohexanesulfonate, and Perfluorooctanoate in Retired Fluorochemical Production Workers. *Environ. Health Perspect.*, **115**, 1298-1305.
- Olsen, G. W., Burris, J. M., Mandel, J. H., and Zobel, L. R. (1999): Serum perfluorooctane sulfonate and hepatic and lipid clinical chemistry tests in fluorochemical production employees. *J. Occup. Environ. Medicine*, **41**, 799-806

- Olsen, G. W., Lange, C. C., Ellefson, M. E., Mair, D. C., Church, T. R., Goldberg, C. L., Herron, R. M., Medhdizadehkashi, Z., Nobiletti, J. B., Rios, J. A., Reagen, W. K., and Zobel, L. R. (2012): Temporal trends of perfluoroalkyl concentrations in American Red Cross adult blood donors, 2000-2010. *Environ. Sci., Technol.*, **46**, 6330-6338.
- Paul, A. G., Jones, K. C., and Sweetman, A. J. (2009): A first global production, emission, and environmental inventory for perfluorooctane sulfonate. *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 386-392.
- Pérez, F., Nadal, M., Navarro-Ortega, A., Fàbrega, F., Domingo, J. L., Barceló, D. and Farré, M. (2013): Accumulation of perfluoroalkyl substances in human tissues. *Environ Int.*, **59**, 354-362.
- Prevedouros, K., Cousins, I. T., Buck, R. C., and Korzeniowski, S. H. (2006): Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 32-44.
- Russell, M. H., Nilsson, H., and Buck, R. C. (2013): Elimination kinetics of perfluorohexanoic acid in humans and comparison with mouse, rat and monkey. *Chemosphere*, **93**, 2419-2425.
- Saito, N., Sasaki, K., and Tsuda, S. (2013): Recent emergence of perfluorohexanoate in tap, river and sea water in Japan. In: *The Toxicologist: Supplement to Toxicological Sciences*, **132**, Society of Toxicology 2013. Abstract No. 280. Available at <https://www.toxicology.org/pubs/docs/Tox/2013Tox.pdf>
- Seacat, A. M., Thomford, P. J., Hansen, K. J., Olsen, G. W., Case, M. T., and Butenhoff, J. L. (2002): Subchronic toxicity studies on perfluorooctanesulfonate potassium salt in cynomolgus monkeys. *Toxicol Sci.*, **68**, 249-264.
- Sheng, N., Li, J., Liu, H., Zhang, A. and Dai, J. (2016): Interaction of perfluoroalkyl acid with human live fatty acid-binding protein. *Arch. Toxicol.*, **90**, 217-227.
- 白坂華子, 門上希和夫 (2014): 日本の淡水域に生息するギンブナ (*Carassius auratus (gibelio) langsdorfii*) 中の有機フッ素化合物蓄積量調査. *環境化学*, **24**, 67-76.
- Stahl, L. L., Snyder, B. D., Olsen, A. R., Kincaid, T. M., Wathen, J. B., and McCarty, H. B. (2014): Perfluorinated compounds in fish from U.S. urban rivers and the Great Lakes. *Sci. Total Environ.*, **499**, 185-195.
- Takahashi, M., Ishida, S., Hirata-Koizumi, M., Ono, A., and Hirose, A. (2014): Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluoroundecanoic acid in rats. *J. Toxicol. Sci.*, **39**, 97-108.
- 竹峰秀祐, 吉田光方子, 松村千里, 鈴木元治, 鶴川正寛, 中野武 (2009): 兵庫県内の河川および海域の有機フッ素化合物の汚染実態について. 財団法人ひょうご環境創造協会兵庫県環境研究センター紀要, **1**, 12-19.
- Tsuda, S., Sasaki, K., Suzuki, Y., Tanaka, S., Fujii, S., and Saito, N. (2012): Detection of perfluoroalkyl acids in rivers and tap water from all over Japan. In: *The Toxicologist: Supplement to Toxicological Sciences*, **126**, Society of Toxicology 2012. Abstract No. 2504. Available at <https://www.toxicology.org/pubs/docs/Tox/2012Tox.pdf>



- Tsuda, S. (2016): Differential Toxicity between Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoic acid (PFOA). *J. Toxicol. Sci.*, **41**, Special issue, SP27-SP36.
- 津田泰三, 居川俊弘 (2012): 世界河川および湖沼の水質および魚類中の有機フッ素化合物. *環境化学*, **22**, 149-173.
- 内山善基, 谷口省吾, 尾崎博明 (2011): 土壌等の有機フッ素化合物の抽出方法の検討について. 土木学会第 66 回年次学術講演会 (平成 23 年度) 講演概要集, 387-388.
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). (2016a): Drinking Water Health Advisory for Perfluorooctane Sulfonate (PFOS). EPA 822-R-16-004. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. Accessed November 2016. Available at <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/drinking-water-health-advisories-pfoa-and-pfos>
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). (2016b): Drinking Water Health Advisory for Perfluorooctanoic Acid (PFOA). EPA 822-R-16-005. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. Accessed November 2016. Available at <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/drinking-water-health-advisories-pfoa-and-pfos>
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). (2016c): Health Effects Support Document for Perfluorooctane Sulfonate (PFOS). EPA 822-R-16-002. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. Accessed November 2016. Available at <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/drinking-water-health-advisories-pfoa-and-pfos>
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). (2016d): Health Effects Support Document for Perfluorooctanoic Acid (PFOA). EPA 822-R-16-003. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. Accessed November 2016. Available at <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/drinking-water-health-advisories-pfoa-and-pfos>
- Wambaugh, J. F., Setzer, R. W., Pitruzzello, A. M., Liu, J., Reif, D. M., Kleinstreuer, N. C., Wang, N. C., Sipes, N., Martin, M., Das, K., DeWitt, J. C., Strynar, M., Judson, R., Houck, K. A. and Lau, C. (2013): Dosimetric anchoring of *in vivo* and *in vitro* studies for perfluorooctanoate and perfluorooctanesulfonate. *Toxicol. Sci.*, **136**, 308-327.
- Wolf, C. J., Takacs, M. L., Schmid, J. E., Lau, C. and Abbott, B. D. (2008): Activation of mouse and human peroxisome proliferator-activated receptor alpha by perfluoroalkyl acids of different functional groups and chain lengths. *Toxicol. Sci.*, **106**, 162-171.
- 八木正博, 山路章, 渋谷一郎 (2009): 神戸沿岸海域における有機フッ素化合物濃度及び組成の経年変化. 第 12 回日本水環境学会シンポジウム講演集, 106-107.
- Zhao, W., Zitzow, J. D., Ehresman, D. J., Chang, S. C., Butenhoff, J. L., Forster, J., and Hagenbuch,

B. (2015): Na<sup>+</sup>/Taurocholate cotransporting polypeptide and apical sodium-dependent bile acid transporter are involved in the disposition of perfluoroalkyl sulfonates in humans and rats. *Toxicol. Sci.*, **146**, 363-373.

【参考文献】

- Allsopp, M., Santillo, D., Walters, A., and Johnston, P. (2005): Perfluorinated chemicals: an emerging concern. Greenpeace Research Laboratories Technical Note. Department of Biological Sciences, University of Exeter, Exeter EX4 4PS, UK, 1-45.
- Andersen, M. E., Clewell, H. J. 3rd., Tan, Y. M., Butenhoff, J. L., and Olsen, G. W. (2006): Pharmacokinetic modeling of saturable, renal resorption of perfluoroalkylacids in monkeys--probing the determinants of long plasma half-lives. *Toxicology.*, **227**, 156-164.
- 浅田陽治, 川島利兵衛, 田中昌一, 塚原博, 豊水正道, 野村稔. (1981): 新水産ハンドブック. 講談社, 東京.
- Buck, R. C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J. M., Cousins, I. T., De Voogt, P., Jensen, A. A., Kannan, K., Mabury, S. A., and Van Leeuwen, S. P. J. (2011): Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances in the Environment: Terminology, Classification, and Origins. *Integr. Environ. Assess. Manag.*, **7**, 513-541.
- Butenhoff, J., Costa, G., Elcombe, C., Farrar, D., Hansen, K., Iwai, H., Jung, R., Kennedy, G. Jr., Lieder, P., Olsen, G., and Thomford, P. (2002): Toxicity of ammonium perfluorooctanoate in male cynomolgus monkeys after oral dosing for 6 months. *Toxicol. Sci.*, **69**, 244-57.
- Chang, S. C., Noker, P. E., Gorman, G. S., Gibson, S. J., Hart, J. A., Ehresman, D. J., and Butenhoff, J. L. (2012): Comparative pharmacokinetics of perfluorooctanesulfonate (PFOS) in rats, mice, and monkeys. *Reprod. Toxicol.*, **33**, 428-440.
- Chengelis, C. P., Kirkpatrick, J. B., Myers, N. R., Shinohara, M., Stetson, P. L., and Sved, D. W. (2009): Comparison of the toxicokinetic behavior of perfluorohexanoic acid (PFHxA) and nonafluorobutane-1-sulfonic acid (PFBS) in cynomolgus monkeys and rats. *Reprod. Toxicol.*, **27**, 400-406.
- Cui, L., Zhou, Q. F., Liao, C. Y., Fu, J. J., and Jiang, G. B. (2008): Studies on the toxicological effects of PFOA and PFOS on rats using histological observation and chemical analysis. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **56**, 338-349.
- Environmental Agency. (2011): Estimation of fish bioconcentration factor (BCF) from depuration data. Environment Agency, Horizon House, Deanery Road, Bristol, BS1 5AH., Accessed February 2016. Available at <https://www.gov.uk/government/publications/estimation-of-fish-bioconcentration-factor-bcf-from-depuration-data>
- Falk, S., Failing, K., Georgii, S., Brunn, H., and Stahl, T. (2015): Tissue specific uptake and

- elimination of perfluoroalkyl acids (PFAAs) in adult rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after dietary exposure. *Chemosphere*, **129**, 150-156.
- Fujii, S., Polprasert, C. Tanaka, S., Lien, N. P. H., and Oiu, Y. (2007): New POPs in the water environment: distribution, bioaccumulation and treatment of perfluorinated compounds - a review paper. *J. Water Supply Res. T.*, **56**, 313-326.
- Gao, B., He, X., Liu, W., Zhang, H., Saito, N., and Tsuda, S. (2015): Distribution of perfluoroalkyl compounds in rats: Indication for using hair as bioindicator of exposure. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.*, **25**, 632-638.
- Gewurtz, S. B., Backus, S. M., De Silva, A. O., Ahrens, L., Armellin, A., Evans, M., Fraser, S., Gledhill, M., Guerra, P., Harner, T., Helm, P. A., Hung, H., Khera, N., Kim, M. G., King, M., Lee, S. C., Letcher, R. J., Martin, P., Marvin, C., McGoldrick, D. J., Myers, A. L., Pelletier, M., Pomeroy, J., Reiner, E. J., Rondeau, M., Sauve, M. C., Sekela, M., Shoeib, M., Smith, D. W., Smyth, S. A., Struger, J., Spry, D., Syrgiannis, J., and Waltho, J. (2013): Perfluoroalkyl acids in the Canadian environment: multi-media assessment of current status and trends. *Environ. Int.*, **59**, 183-200.
- Higgins, C. P., Field, J. A., Criddle, C. S., and Luthy, R. G. (2005): Quantitative determination of perfluorochemicals in sediments and domestic sludge. *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 3946-3956.
- 一般財団法人 化学物質評価研究機構. (2013): CERI NEWS No.76, (2017 年 5 月時点).  
[http://www.cerij.or.jp/cerinews/cn\\_pdf/cerinews\\_076.pdf](http://www.cerij.or.jp/cerinews/cn_pdf/cerinews_076.pdf)
- Jeon, J., Kannan, K., Lim, H. K., Moon, H. B., and Kim, S. D. (2010): Bioconcentration of perfluorinated compounds in blackrock fish, *Sebastes schlegeli*, at different salinity levels. *Environ. Toxicol. Chem.*, **29**, 2529-2535.
- Kannan, K. (2011): Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances: current and future perspectives. *Environ. Chem.*, **8**, 333-338.
- Key, B. D., Howell, R. D., and Criddle, C. S. (1997): Fluorinated organics in the biosphere. *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 2445-2454.
- 小林直彦, 小林公也, 高野幸一, 赤羽知之, 益田俊英, 堀中繁夫, 八木繁 (1994): ラットの血行動態ならびに臓器組織血流量測定のための colored microsphere の応用. *心臓*, **26**, 103-110.
- 小林尚. (2002): 長野県北部の水田地帯におけるメダカ *Oryzias latipes* の成長と移動様式. 長野県自然保護研究所紀要, **5**, 9-14.
- Koike, H., Ito, K., Miyamoto, M., and Nishino, H. (1980): Effects of long-term blockade of angiotensin converting enzyme with captopril (SQ14,225) on hemodynamics and circulating blood volume in SHR. *Hypertension.*, **2**, 299-303.
- 甲佐貴光, 渡邊博志, 小田切優樹. (1998): 薬物と血清アルブミンの相互作用. *熱測定*, **25**, 126-131.

- 久保伊津男, 櫻井裕. (1951): メダカの計測. 魚類学雑誌, **1**, 339-346.
- Kudo, N., Suzuki, E., Katakura, M., Ohmori, K., Noshiro, R., and Kawashima, Y. (2001): Comparison of the elimination between perfluorinated fatty acids with different carbon chain length in rats. *Chem. Biol. Interact.*, **134**, 203-216.
- Loccisano, A. E., Campbell, J. L. Jr., Butenhoff, J. L., Andersen, M. E., and Clewell, H. J. 3rd. (2012): Comparison and evaluation of pharmacokinetics of PFOA and PFOS in the adult rat using a physiologically based pharmacokinetic model. *Reprod. Toxicol.*, **33**, 452-467.
- Lou, I., Wambaugh, J. F., Lau, C., Hanson, R. G., Lindstrom, A. B., Strynar, M. J., Zehr, R. D., Setzer, R. W., and Barton, H. A. (2009): Modeling single and repeated dose pharmacokinetics of PFOA in mice. *Toxicol. Sci.*, **107**, 331-341.
- 間澤大地. (2015): ラットにおける有機フッ素化合物の動態に関する研究. 岩手大学農学部 獣医学課程 卒業論文 (2015 年 3 月).
- Minata, M., Harada, K. H., Kärman, A., Hitomi, T., Hirose, M., Murata, M., Gonzalez, F. J., and Koizumi, A. (2010): Role of peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  in hepatobiliary injury induced by ammonium perfluorooctanoate in mouse liver. *Ind. Health*, **48**, 96-107.
- 森淳. (2017): 水田生態系に生息する魚類の生物多様性と保全. 農村計画学会誌, **35**, 482-487.
- 内閣府食品安全委員会事務局. (2012): 平成 23 年度食品安全確保総合調査 食品中に含まれる物質等の安全性評価等科学的知見の収集に関する調査報告書, (2016 年 9 月時点).  
[http://www.fsc.go.jp/chousa/sougouchousa/chousa\\_kadai.html](http://www.fsc.go.jp/chousa/sougouchousa/chousa_kadai.html)
- Naile, J. E., Khim, J. S., Hong, S., Park, J., Kwon, B. O., Ryu, J. S., Hwang, J. H., Jones, P. D., and Giesy, J. P. (2013): Distributions and bioconcentration characteristics of perfluorinated compounds in environmental samples collected from the west coast of Korea. *Chemosphere*, **90**, 387-394.
- 中島純夫, 南部佳弘, 水嶋好清, 三賢雄. (2011): 下水処理プロセスにおける有機フッ素化合物 (PFCs) について. 札幌市衛研年報, **38**, 48-51.
- 仲谷達也, 坂本亘, 岸本武利, 前川正信. (1984): グリセロール誘発急性腎不全ラットにおける全身循環動態. 日本腎臓学会誌, **26**, 1119-1129.
- 西野貴裕, 加藤みか, 下間志正, 北野大. (2015): 東京都内地下水における有機フッ素化合物の汚染実態と土壌浸透実験における挙動の考察. 環境化学, **25**, 149-160.
- 日本トキシコロジー学会教育委員会. (2009): 新版トキシコロジー. 朝倉書店, 東京.
- 野添宗裕, 藤井滋穂, 田中周平, 田中宏明, 山下尚之. (2006): 残留性有機フッ素化合物 PFOS、PFOA の下水処理場における挙動調査. 環境工学研究論文集, **43**, 105-111.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). (2012): OECD guidelines for testing of chemicals, Bioaccumulation in Fish: Aqueous and Dietary Exposure. Accessed August 2015. Available at  
<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264185296-en.pdf?expires=1534330476&id=id&>

accname=guest&checksum=07BF5ADA9CD2D7423C821DBC226D8FFA

- 小田切優樹. (2009): 薬物の血清タンパク結合に関する研究. 薬学雑誌, **129**, 413-425.
- Prevedouros, K., Cousins, I. T., Buck, R. C., and Korzeniowski, S. H. (2006): Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 32-44.
- Qian, J., Shen, M., Wang, P., Wang, C., Hou, J., Ao, Y., Liu, J., and Li, K. (2017): Adsorption of perfluorooctane sulfonate on soils: Effects of soil characteristics and phosphate competition. *Chemosphere*, **168**, 1383-1388.
- Rayne, S., Forest, K., and Frissen, K. J. (2009): Estimated bioconcentration factors (BCFs) for the C4 through C8 perfluorinated alkylsulfonic acid (PFSA) and alkylcarboxylic acid (PFCA) congeners. *J. Environ. Sci. Heal. A.*, **44**, 598-604.
- Sato, S., Sakuratani, Y., Ikenaga, Y., Nakajima, M., and Yamada, J. (2008): Structure-activity relationships of perfluoro alkane acids for bioconcentration. 第36回構造活性相関シンポジウム要旨, (2016年2月時点).  
[http://bukai.pharm.or.jp/bukai\\_kozo/yousi/KP212.pdf](http://bukai.pharm.or.jp/bukai_kozo/yousi/KP212.pdf)
- 佐藤哲男, 上野芳夫, 遠藤仁. (1989): 毒性試験講座 6 毒性生化学 (下). 地人書館. 東京.
- Schultz, M. M., Barofsky, D. F., and Field, J. A. (2006): Quantitative determination of fluorinated alkyl substances by large-volume-injection liquid chromatography tandem mass spectrometry-characterization of municipal wastewaters. *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 289-295.
- Seacat, A. M., Thomford, P. J., Hansen, K. J., Clemen, L. A., Eldridge, S. R., Elcombe, C. R., and Butenhoff, J. L. (2003): Sub-chronic dietary toxicity of potassium perfluorooctanesulfonate in rats. *Toxicology*, **183**, 117-131.
- 島崎晃成, 本田匡人, 赤坂泰輝, 牟田朱美, 鶴木 (加藤) 陽子, 沖野望, 島崎洋平, 大嶋雄治 (2014): ラット血漿におけるペルフルオロオクタンスルホン酸結合タンパク質の探索. 環境毒性学会誌, **17**, 11 - 17.
- Suja, F., Pramanik, B. K., and Zain, S. M. (2009): Contamination, bioaccumulation and toxic effects of perfluorinated chemicals (PFCs) in the water environment: a review paper. *Water Sci. Technol.*, **60**, 1533-1544.
- 竹花佑介. (2010): メダカ : 人為的な放流による遺伝的攪乱. 魚類学雑誌, **57**, 76-79.
- Tan, Y. M., Clewell, H. J. 3rd., Andersen, M. E. (2008): Time dependencies in perfluorooctylacids disposition in rat and monkeys: a kinetic analysis. *Toxicol. Lett.*, **28**, 38-47.
- 津田泰三, 瀧野昭彦, 居川俊弘, 河原晶, 北川典孝, 佐貫典子, 卯田隆. (2015): 琵琶湖とその周辺河川水質および琵琶湖底質における有機フッ素化合物. 環境化学, **25**, 139-148.
- 鶴浩幸. (1999): 鍼刺激が麻酔下ラットの各種臓器血流に与える影響. 明治鍼灸医学, **25**, 21-36.
- Wan, Y., Wang, S., Cao, X., Cao, Y., Zhang, L., Wang, H., and Liu, J. (2017): Perfluoroalkyl acids (PFAAs) in water and sediment from the coastal regions of Shandong peninsula, China.

Environ. Monit. Assess., **189**, 100.

Yoo, H., Guruge, K. S., Yamanaka, N., Sato, C., Mikami, O., Miyazaki, S., Yamashita, N., and Giesy J. P. (2009): Depuration kinetics and tissue disposition of PFOA and PFOS in white leghorn chickens (*Gallus gallus*) administered by subcutaneous implantation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **72**, 26-36.

Zhao, S., Zhu, L., Liu, L., Liu, Z., and Zhang, Y. (2013): Bioaccumulation of perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs) and perfluoroalkane sulfonates (PFSAAs) by earthworms (*Eisenia fetida*) in soil. *Environ. Pollut.*, **179**, 45-52.

Zhou, Z., Liang, Y., Shi, Y., Xu, L., and Cai, Y. (2013): Occurrence and transport of perfluoroalkyl acids (PFAAs), including short-chain PFAAs in Tangxun Lake, China. *Environ. Sci. Technol.*, **47**, 9249-9257.



## ■謝辞

本研究を行い、本論文を取りまとめるのにあたり、非常にたくさんの方々から御指導、御協力をいただきました。ここに感謝の意を表します。

まず、本論文の作成にあたり、岩手県立大学総合政策学部准教授の辻盛生先生には、数々の相談に乗っていただくとともに、非常に多くの有益な御助言をいただき、主査として終始丁寧に御指導、御審査してくださいました。ここに心より感謝申し上げます。また、岩手県立大学名誉教授の平塚明先生、東北工業大学工学部教授の山田一裕先生には、様々な御助言をいただくとともに、副査として本論文の細部にわたり御指導、御審査してくださいました。心より感謝申し上げます。

環境中の PFAA 汚染実態の把握を行った研究については、環境水、底質、そしてメダカのサンプルを全国様々な地点から集める必要がありました。このことに関し、愛媛大学大学院農学研究科教授（前 国立環境研究所）の鎌迫典久先生には、サンプル採取の段取りから実際の採取まで、また試験結果の確認、学術誌に投稿した論文の共著者として御助言をくださるなど、終始様々な形で御協力、御指導をいただきました。ここに厚く御礼申し上げます。また、フィールドにおけるサンプル採取、サンプルの形体データ計測、当方への送付作業などにあたっては、国立環境研究所環境リスク・健康研究センターの渡部春奈氏、田村生弥氏（現 岡山大学大学院環境生命科学研究科助教）、高信ひとみ氏（現 株式会社イワキ）、小塩正朗氏、堀江好文氏（現 秋田県立大学生物資源科学部助教）に多大なる御協力をいただきました。深く感謝申し上げます。なお、この研究は、国立環境研究所から岩手県環境保健研究センターへの委託業務である「POPs 及び関連物質等に関する日韓共同研究業務」の一環として行われました。本業務の関係各位に感謝申し上げます。

ラット体内における PFAA 動態の把握を行った研究については、前岩手県環境保健研究センター環境保健研究アドバイザーで岩手大学農学部名誉教授の津田修治先生より、ラットへの投与試験の計画から実施、分析結果の解析、学術誌に投稿した論文に係る詳細な御指導など、終始様々な形で御指導をいただきました。また、学位を取得することに関して御助言をくださるなど、様々な形で後押ししてくださいました。ここに厚く御礼申し上げます。ラットへの投与試験については、岩手大学農学部で行っていただきました。獣医環境衛生学研究室教授の佐藤至先生には、投与試験、サンプルの採取、及び学術誌に投稿した論文などに関して、様々な御指導、御協力をいただきました。試験当時獣医環境衛生学研究室に在籍していた間澤大地氏（現 岩手県沿岸広域振興局保健福祉環境部大船渡保健福祉環境センター獣医師）には、投与試験及びサンプルの分析前処理に関して多大なる御協力をいただきました。両氏に心より感謝申し上げます。それから、岩手大学農学部名誉教授の原道宏先生には、測定データの解析及び反応速度論に関して様々な御指導をいただきました。中国大連理工大学副教授の劉薇先生、日本獣医生命科学大学教授の植田富貴子先生には、投与試験結果の解析や学術誌に投稿した論文に関して様々な御指導、御協力をいた



できました。皆様に深く感謝申し上げます。

本研究の実施及び学位取得のために本論文をまとめるのにあたっては、通常の業務と並行して行うことが不可欠であったことから、私の職場である岩手県環境保健研究センターの皆様には多大なる御協力をいただきました。特に、学位取得に関し、業務面で多くの御助言、御理解をいただいた、歴代所長及び副所長に深く感謝申し上げます。また、環境科学部の歴代部長、部員、及び臨時職員の皆様には、分析前処理の作業補助、結果解析に係る議論などに関し、様々な面で御協力をいただきました。このような、職場における理解があったからこそ、この研究をここまで遂行することができました。すべての皆様に心より御礼申し上げます。

最後に、毎日主に終業後にデータの取りまとめや論文の執筆を行っていたため帰宅時間が遅くなっていたのにもかかわらず、生活面で様々サポートしてくれた家族に、心より感謝いたします。

【付録】 本研究における測定データ（生データ）

(1) 環境水

Table III-2. 参照

(2) 底質

Table III-3. 参照

(3) メダカ（カダヤシを含む）

(ng/g)

| year | site  | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A | C6A | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S  | C10S | total |
|------|-------|-----|--------|----------------|------------------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 2013 | Iwate | 1   | M      | 0.3260         | 30.4             | 0   | 0   | 0   | 0.30 | 0.24 | 0.34 | 1.1  | 0.80 | 0.73 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 4.8   |
| 2013 |       | 2   | M      | 0.1190         | 18.9             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.46 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.67 | 0    | 1.1   |
| 2013 |       | 3   | M      | 0.1220         | 18.2             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.63 | 0.46 | 0.66 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0    | 2.9   |
| 2013 |       | 4   | M      | 0.1370         | 19.4             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 1.1  | 0.42 | 0.57 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 2.1   |
| 2013 |       | 5   | M      | 0.1100         | 17.7             | 0   | 0   | 0   | 0.48 | 0    | 0    | 0.52 | 0    | 0.58 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.88 | 0    | 2.5   |
| 2013 |       | 6   | M      | 0.1500         | 19.4             | 0   | 0   | 0   | 0.68 | 0.83 | 0.54 | 1.5  | 0.82 | 0.91 | 0    | 0   | 0   | 0   | 3.6  | 0    | 8.9   |
| 2013 |       | 7   | M      | 0.1510         | 19.5             | 0   | 0   | 0   | 0.47 | 0.88 | 0.57 | 1.0  | 0.53 | 0.75 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.94 | 0    | 5.2   |
| 2013 |       | 8   | M      | 0.1220         | 19.1             | 0   | 0   | 0   | 0.59 | 0    | 0.42 | 0.97 | 0.44 | 0.61 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 4.5   |
| 2013 |       | 9   | M      | 0.0830         | 16.9             | 0   | 0   | 0   | 1.5  | 0.77 | 0.82 | 1.4  | 0    | 0.72 | 0    | 0   | 0   | 0   | 2.3  | 0    | 7.5   |
| 2013 |       | 10  | M      | 0.1320         | 18.4             | 0   | 0   | 0   | 0.64 | 0.38 | 0.40 | 0.77 | 0.41 | 0.65 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 0    | 5.0   |
| 2013 |       | 11  | M      | 0.1300         | 18.0             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.44 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.44  |
| 2013 |       | 12  | M      | 0.0730         | 15.5             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0     |
| 2013 |       | 13  | M      | 0.0560         | 15.3             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.96 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 2.4  | 0    | 3.4   |
| 2013 |       | 14  | M      | 0.0720         | 15.7             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0     |
| 2013 |       | 15  | M      | 0.0740         | 15.8             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.69 | 0    | 0.69  |
| 2013 |       | 16  | F      | 0.6570         | 32.9             | 0   | 0   | 0   | 0.11 | 0.76 | 0.45 | 1.1  | 0.62 | 0.81 | 0    | 0   | 0   | 0   | 2.1  | 0    | 5.9   |
| 2013 |       | 17  | F      | 0.1560         | 19.6             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.40 | 0    | 0.87 | 0.47 | 0.61 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 3.6   |
| 2013 |       | 18  | F      | 0.1530         | 20.3             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.53 | 0    | 0.77 | 0.37 | 0.48 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.9  | 0    | 4.1   |
| 2013 |       | 19  | F      | 0.1100         | 18.1             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.65 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 0    | 2.3   |
| 2013 |       | 20  | F      | 0.0830         | 16.7             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.74 | 0    | 0.74  |
| 2013 |       | 21  | F      | 0.1500         | 19.2             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.77 | 1.2  | 0    | 0.37 | 0    | 0   | 0   | 0   | 3.2  | 0    | 5.6   |
| 2013 |       | 22  | F      | 0.1450         | 19.9             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.41 | 0    | 0.75 | 0    | 0.43 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.5  | 0    | 3.1   |
| 2013 |       | 23  | F      | 0.1300         | 18.6             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 1.0  | 0.55 | 0.77 | 0    | 0   | 0   | 0   | 2.0  | 0    | 4.4   |
| 2013 |       | 24  | F      | 0.1220         | 19.5             | 0   | 0   | 0   | 0.69 | 0    | 0.43 | 0.54 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 3.0   |
| 2013 |       | 25  | F      | 0.1800         | 20.5             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.40 | 0    | 0.75 | 0    | 0.35 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.5  | 0    | 3.0   |
| 2013 |       | 26  | F      | 0.1500         | 18.4             | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.63 | 0    | 0.51 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 2.5   |

| year | site    | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A  | C6A | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S  | C8S  | C10S | total |
|------|---------|-----|--------|----------------|------------------|------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|------|------|------|-------|
| 2013 |         | 27  | F      | 0.1070         | 17.2             | 0    | 0   | 0   | 0    | 0.74 | 0    | 1.5  | 0    | 0.77 | 0    | 0   | 0   | 0    | 1.7  | 0    | 4.7   |
| 2013 |         | 28  | F      | 0.0960         | 16.8             | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0    | 0.90 | 0    | 0.90  |
| 2013 |         | 29  | F      | 0.0950         | 17.5             | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.65 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.65  |
| 2013 |         | 30  | F      | 0.1270         | 17.5             | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.53 | 1.1  | 0.71 | 0.87 | 0    | 0   | 0   | 0    | 3.4  | 0    | 6.7   |
| 2013 | Ibaraki | 1   | M      | 0.4555         | 32.29            | 0    | 0   | 0   | 0.27 | 0.29 | 0.98 | 5.2  | 11   | 14   | 1.8  | 0   | 0   | 0.28 | 1.5  | 0    | 36    |
| 2013 |         | 2   | M      | 0.408          | 29.94            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0.15 | 0.50 | 5.4  | 9.1  | 7.7  | 0.99 | 0   | 0   | 0    | 0.71 | 0    | 25    |
| 2013 |         | 3   | M      | 0.3211         | 28.16            | 0    | 0   | 0   | 0.26 | 0.31 | 0.47 | 2.1  | 4.0  | 5.3  | 0.84 | 0   | 0   | 0    | 0.57 | 0    | 14    |
| 2013 |         | 4   | M      | 0.2259         | 25.06            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0.24 | 1.2  | 11   | 13   | 8.5  | 1.1  | 0   | 0   | 0    | 0.90 | 0    | 36    |
| 2013 |         | 5   | M      | 0.2509         | 24.31            | 0    | 0   | 0   | 0.63 | 0    | 0.55 | 4.6  | 6.8  | 5.7  | 0.75 | 0   | 0   | 0    | 0.26 | 0    | 19    |
| 2013 |         | 6   | M      | 0.2618         | 25.10            | 0    | 0   | 0   | 0.39 | 0.47 | 2.0  | 14   | 18   | 12   | 1.7  | 0   | 0   | 0    | 2.0  | 0    | 52    |
| 2013 |         | 7   | M      | 0.1727         | 22.02            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.64 | 5.5  | 9.9  | 14   | 2.5  | 0   | 0   | 0    | 0.60 | 0    | 33    |
| 2013 |         | 8   | M      | 0.2733         | 25.17            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.26 | 2.0  | 3.5  | 3.7  | 0.45 | 0   | 0   | 0    | 0.20 | 0    | 10    |
| 2013 |         | 9   | F      | 0.1885         | 23.48            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 1.3  | 2.9  | 3.5  | 0.78 | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 8.4   |
| 2013 |         | 10  | F      | 0.2481         | 24.65            | 0    | 0   | 0   | 1.2  | 0.52 | 1.4  | 8.1  | 7.3  | 4.2  | 0.43 | 0   | 0   | 0    | 1.2  | 0    | 24    |
| 2013 |         | 11  | F      | 0.4252         | 31.90            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0.28 | 1.2  | 8.2  | 9.6  | 6.3  | 0.79 | 0   | 0   | 0    | 1.4  | 0    | 28    |
| 2013 |         | 12  | F      | 0.1662         | 22.37            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.48 | 1.6  | 2.1  | 2.4  | 0.41 | 0   | 0   | 0    | 0.69 | 0    | 7.8   |
| 2013 |         | 13  | F      | 0.1415         | 21.83            | 0    | 0   | 0   | 0.60 | 0.80 | 3.4  | 13   | 14   | 12   | 1.3  | 0   | 0   | 0.46 | 4.1  | 0    | 50    |
| 2013 |         | 14  | F      | 0.14           | 21.81            | 0    | 0   | 0   | 2.3  | 0    | 0    | 1.0  | 2.4  | 3.0  | 0.60 | 0   | 0   | 0    | 0.47 | 0    | 9.8   |
| 2013 |         | 15  | F      | 0.4487         | 31.27            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0.25 | 0.45 | 1.3  | 1.5  | 1.9  | 0.23 | 0   | 0   | 0.12 | 1.1  | 0    | 6.9   |
| 2013 |         | 16  | M      | 0.2002         | 23.70            | 0    | 0   | 0   | 0.47 | 0    | 0.62 | 3.6  | 4.7  | 5.2  | 0.83 | 0   | 0   | 0    | 1.1  | 0    | 17    |
| 2013 |         | 17  | F      | 0.0985         | 18.19            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.83 | 1.6  | 2.1  | 0    | 0   | 0   | 0    | 0.59 | 0    | 5.1   |
| 2013 |         | 18  | F      | 0.21           | 24.60            | 0    | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 0.62 | 2.4  | 3.4  | 3.4  | 0.47 | 0   | 0   | 0    | 0.46 | 0    | 12    |
| 2013 |         | 19  | F      | 0.1577         | 23.44            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.81 | 1.9  | 2.7  | 0.47 | 0   | 0   | 0    | 0.50 | 0    | 6.3   |
| 2013 |         | 20  | F      | 0.089          | 19.19            | 0    | 0   | 0   | 0.70 | 0    | 0    | 2.5  | 4.9  | 6.0  | 0.68 | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 15    |
| 2013 |         | 21  | F      | 0.1539         | 21.58            | 0    | 0   | 0   | 0.65 | 0.40 | 1.0  | 4.1  | 5.3  | 5.9  | 0.57 | 0   | 0   | 0    | 1.7  | 0    | 20    |
| 2013 |         | 22  | F      | 0.129          | 20.27            | 0    | 0   | 0   | 3.0  | 0    | 1.3  | 7.2  | 5.3  | 4.5  | 0.62 | 0   | 0   | 0    | 3.3  | 0    | 25    |
| 2013 | Niigata | 1   | F      | 0.0750         | 23.16            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 1.8  | 13   | 5.0  | 3.5  | 1.1  | 0   | 0   | 0    | 1.7  | 0    | 26    |
| 2013 |         | 2   | M      | 0.1126         | 24.46            | 0    | 0   | 0   | 0.51 | 0    | 0.48 | 3.9  | 1.6  | 4.7  | 0.81 | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 12    |
| 2013 |         | 3   | F      | 0.1048         | 23.83            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 1.6  | 8.9  | 4.5  | 4.4  | 0.93 | 0   | 0   | 0    | 0.73 | 0    | 21    |
| 2013 |         | 4   | F      | 0.0855         | 23.35            | 0    | 0   | 0   | 0.79 | 0    | 0    | 3.6  | 4.4  | 5.7  | 1.0  | 0   | 0   | 0    | 0.83 | 0    | 16    |
| 2013 |         | 5   | F      | 0.0846         | 22.30            | 0    | 0   | 0   | 4.2  | 0    | 0    | 5.3  | 6.3  | 5.5  | 0.80 | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 22    |
| 2013 |         | 6   | M      | 0.0901         | 22.98            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 2.6  | 3.4  | 3.7  | 0.57 | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 10    |
| 2013 |         | 7   | F      | 0.0883         | 22.62            | 0.83 | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 2.0  | 2.1  | 2.9  | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 7.9   |
| 2013 |         | 8   | F      | 0.0683         | 22.60            | 2.7  | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 1.8  | 14   | 11   | 8.7  | 1.2  | 0   | 0   | 0    | 1.3  | 0    | 42    |
| 2013 |         | 9   | F      | 0.0826         | 23.75            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.65 | 5.1  | 4.1  | 3.7  | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 14    |
| 2013 |         | 10  | M      | 0.0611         | 22.57            | 2.9  | 0   | 0   | 8.4  | 0    | 0    | 5.2  | 6.0  | 6.9  | 1.3  | 0   | 0   | 0    | 0.93 | 0    | 32    |
| 2013 |         | 11  | F      | 0.0719         | 21.34            | 1.6  | 0   | 0   | 1.7  | 0    | 1.2  | 5.3  | 5.0  | 5.5  | 0.91 | 0   | 0   | 0    | 1.3  | 0    | 22    |
| 2013 |         | 12  | F      | 0.0523         | 21.89            | 1.6  | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 0    | 9.1  | 8.1  | 5.9  | 0    | 0   | 0   | 0    | 1.1  | 0    | 27    |
| 2013 |         | 13  | F      | 0.0803         | 22.62            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 1.3  | 8.4  | 6.5  | 5.5  | 0.84 | 0   | 0   | 0    | 0.90 | 0    | 23    |

| year | site      | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A | C6A | C7A  | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S  | C10S | total |
|------|-----------|-----|--------|----------------|------------------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 2013 |           | 14  | M      | 0.0562         | 20.39            | 1.0 | 0   | 1.0  | 1.7  | 0    | 1.5  | 13   | 10   | 9.4  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 2.4  | 0    | 42    |
| 2013 |           | 15  | M      | 0.0589         | 21.17            | 1.6 | 0   | 0    | 3.7  | 0    | 0    | 4.7  | 4.8  | 5.7  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 20    |
| 2013 |           | 16  | M      | 0.0866         | 24.12            | 0   | 0   | 0    | 2.1  | 0    | 1.7  | 15   | 11   | 11   | 1.3  | 0   | 0   | 1.1 | 3.6  | 0    | 47    |
| 2013 |           | 17  | M      | 0.0882         | 23.59            | 0   | 0   | 0    | 0.74 | 0    | 3.0  | 45   | 37   | 22   | 2.3  | 0   | 0   | 0   | 1.9  | 0    | 112   |
| 2013 |           | 18  | M      | 0.0675         | 22.30            | 0   | 0   | 0    | 1.0  | 0    | 1.5  | 20   | 16   | 12   | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 54    |
| 2013 |           | 19  | F      | 0.1121         | 24.65            | 0   | 0   | 3.0  | 0    | 0    | 2.5  | 14   | 10   | 5.2  | 0.48 | 0   | 0   | 0   | 2.1  | 0    | 37    |
| 2013 |           | 20  | M      | 0.0631         | 22.59            | 0   | 0   | 0    | 3.5  | 0    | 0    | 3.9  | 4.1  | 4.1  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.93 | 0    | 17    |
| 2013 |           | 21  | F      | 0.0823         | 23.35            | 0   | 0   | 0.88 | 3.3  | 0.72 | 2.2  | 8.4  | 6.7  | 5.4  | 0    | 0   | 0   | 4.8 | 5.4  | 0    | 38    |
| 2013 |           | 22  | M      | 0.0899         | 22.95            | 0   | 0   | 0    | 0.73 | 0    | 0    | 3.9  | 4.8  | 5.3  | 0.78 | 0   | 0   | 0   | 0.61 | 0    | 16    |
| 2013 |           | 23  | F      | 0.0685         | 20.80            | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.9  | 2.8  | 3.1  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 8.8   |
| 2013 |           | 24  | M      | 0.0809         | 22.23            | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 2.1  | 19   | 15   | 10   | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 0.91 | 0    | 48    |
| 2013 |           | 25  | M      | 0.1717         | 28.53            | 0   | 0   | 0    | 0.68 | 0    | 0.51 | 16   | 24   | 20   | 2.8  | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 65    |
| 2013 |           | 26  | M      | 0.0846         | 22.46            | 0   | 0   | 0    | 0.88 | 0    | 0    | 5.5  | 6.0  | 5.3  | 0.90 | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 19    |
| 2013 |           | 27  | M      | 0.0942         | 23.13            | 0   | 0   | 0    | 0.79 | 0    | 0    | 8.2  | 7.2  | 6.1  | 0.71 | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 23    |
| 2013 |           | 28  | M      | 0.0917         | 23.39            | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.59 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.59  |
| 2013 |           | 29  | F      | 0.0670         | 22.69            | 0   | 0   | 0    | 1.5  | 0    | 0    | 2.4  | 2.2  | 3.0  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 9.1   |
| 2013 | Hyogo     | 1   | F      | 0.4302         | 36.20            | 0   | 0   | 0    | 0.63 | 2.2  | 4.5  | 6.1  | 3.9  | 5.0  | 0.85 | 0   | 0   | 0   | 10   | 0    | 33    |
| 2013 |           | 2   | F      | 0.0999         | 25.88            | 0   | 0   | 0    | 1.2  | 2.5  | 9.1  | 19   | 16   | 22   | 3.5  | 0   | 0   | 0   | 11   | 0    | 84    |
| 2013 |           | 3   | F      | 0.3501         | 35.41            | 0   | 0   | 0    | 0.99 | 3.0  | 5.8  | 12   | 8.1  | 10   | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 10   | 0    | 52    |
| 2013 |           | 4   | F      | 0.0992         | 25.61            | 0   | 0   | 0    | 4.1  | 2.1  | 9.0  | 16   | 13   | 18   | 3.2  | 0   | 0   | 0   | 13   | 0    | 80    |
| 2013 |           | 5   | F      | 0.0835         | 25.12            | 0   | 0   | 0    | 1.9  | 3.6  | 12   | 21   | 16   | 19   | 3.5  | 0   | 0   | 0   | 19   | 0    | 96    |
| 2013 |           | 6   | M      | 0.0612         | 23.36            | 0   | 0   | 0    | 0    | 2.4  | 7.7  | 16   | 14   | 17   | 3.2  | 0   | 0   | 0   | 7.8  | 0    | 68    |
| 2013 |           | 7   | F      | 0.3132         | 33.69            | 0   | 0   | 0    | 1.3  | 5.4  | 9.6  | 19   | 11   | 12   | 2.1  | 0   | 0   | 0   | 21   | 0    | 81    |
| 2013 |           | 8   | M      | 0.2052         | 31.14            | 0   | 0   | 0    | 0.35 | 0.72 | 4.7  | 24   | 36   | 40   | 4.8  | 0   | 0   | 0   | 5.3  | 0    | 117   |
| 2013 |           | 9   | M      | 0.0906         | 24.77            | 0   | 0   | 0    | 3.3  | 1.4  | 6.8  | 16   | 12   | 15   | 2.8  | 0   | 0   | 0   | 8.4  | 0    | 66    |
| 2013 |           | 10  | M      | 0.0815         | 25.03            | 0   | 0   | 0    | 2.0  | 2.6  | 11   | 24   | 23   | 29   | 6.1  | 0   | 0   | 0   | 30   | 0    | 128   |
| 2013 |           | 11  | M      | 0.0622         | 23.12            | 0   | 0   | 0    | 0    | 1.9  | 7.7  | 17   | 15   | 21   | 3.9  | 0   | 0   | 0   | 8.5  | 0    | 76    |
| 2013 |           | 12  | F      | 0.0576         | 22.73            | 0   | 0   | 0    | 1.9  | 2.8  | 7.8  | 15   | 13   | 17   | 3.1  | 0   | 0   | 0   | 16   | 0    | 76    |
| 2013 |           | 13  | F      | 0.0787         | 22.54            | 0   | 0   | 0    | 1.1  | 4.4  | 11   | 23   | 18   | 26   | 5.0  | 0   | 0   | 0   | 9.6  | 0    | 98    |
| 2013 |           | 14  | F      | 0.054          | 22.26            | 0   | 0   | 0    | 5.1  | 2.0  | 5.7  | 13   | 10   | 16   | 2.5  | 0   | 0   | 0   | 4.3  | 0    | 59    |
| 2013 |           | 15  | M      | 0.0527         | 21.72            | 0   | 0   | 0    | 1.4  | 0    | 4.5  | 9.0  | 7.4  | 6.3  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 9.5  | 0    | 39    |
| 2013 |           | 16  | F      | 0.0871         | 24.95            | 0   | 0   | 0    | 1.4  | 2.5  | 11   | 20   | 15   | 22   | 3.6  | 0   | 0   | 0   | 21   | 0    | 96    |
| 2013 |           | 17  | M      | 0.0388         | 20.06            | 0   | 0   | 0    | 2.6  | 1.8  | 6.8  | 16   | 13   | 19   | 3.1  | 0   | 0   | 0   | 11   | 0    | 73    |
| 2013 |           | 18  | M      | 0.0665         | 22.89            | 0   | 0   | 0    | 5.4  | 3.3  | 10   | 20   | 14   | 22   | 3.9  | 0   | 0   | 0   | 15   | 0    | 93    |
| 2013 |           | 19  | ?      | 0.0318         | 17.95            | 0   | 0   | 0    | 2.8  | 2.2  | 5.4  | 13   | 11   | 16   | 2.2  | 0   | 0   | 0   | 13   | 0    | 66    |
| 2013 |           | 20  | ?      | 0.0392         | 19.94            | 0   | 0   | 0    | 1.4  | 1.9  | 6.1  | 13   | 10   | 13   | 2.4  | 0   | 0   | 0   | 13   | 0    | 61    |
| 2013 |           | 21  | F      | 0.0832         | 25.29            | 0   | 0   | 0    | 3.1  | 1.1  | 4.5  | 8.6  | 7.7  | 9.3  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 5.2  | 0    | 41    |
| 2013 | Yamaguchi | 1   | F      | 0.0482         | 19.03            | 2.3 | 0   | 0    | 5.0  | 0    | 1.9  | 4.9  | 2.6  | 4.6  | 0    | 0   | 0   | 0   | 4.2  | 0    | 25    |
| 2013 |           | 2   | F      | 0.0865         | 22.17            | 0   | 0   | 0    | 1.4  | 0    | 1.0  | 5.2  | 3.0  | 3.8  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.86 | 0    | 15    |

| year | site | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A  | C6A | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S  | C10S | total |
|------|------|-----|--------|----------------|------------------|------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 2013 |      | 3   | F      | 0.0704         | 19.59            | 0    | 0   | 0   | 1.5  | 0    | 0.95 | 6.8  | 4.8  | 6.1  | 0.85 | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0    | 22    |
| 2013 |      | 4   | M      | 0.0554         | 20.11            | 0    | 0   | 0   | 2.1  | 0    | 0    | 2.6  | 1.4  | 2.1  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 8.2   |
| 2013 |      | 5   | F      | 0.0743         | 20.17            | 0    | 0   | 0   | 7.7  | 0.73 | 2.5  | 2.1  | 1.2  | 1.6  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 16    |
| 2013 |      | 6   | F      | 0.0581         | 18.22            | 0    | 0   | 0   | 1.6  | 0    | 0    | 1.9  | 1.1  | 2.1  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 6.7   |
| 2013 |      | 7   | M      | 0.0540         | 18.91            | 0    | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 0    | 1.9  | 1.2  | 2.1  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 6.5   |
| 2013 |      | 8   | M      | 0.2360         | 26.61            | 0    | 0   | 0   | 0.34 | 0    | 0    | 1.5  | 1.1  | 1.7  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 4.6   |
| 2013 |      | 9   | M      | 0.2993         | 27.62            | 0    | 0   | 0   | 0.35 | 0    | 0.17 | 1.8  | 1.5  | 2.4  | 0.35 | 0   | 0   | 0   | 0.29 | 0    | 6.9   |
| 2013 |      | 10  | M      | 0.1100         | 21.87            | 1.4  | 0   | 0   | 3.1  | 0    | 0    | 1.4  | 0.78 | 1.4  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 8.1   |
| 2013 |      | 11  | M      | 0.1135         | 22.47            | 1.4  | 0   | 0   | 0.83 | 0    | 1.3  | 12   | 6.6  | 6.3  | 0.65 | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 0    | 30    |
| 2013 |      | 12  | F      | 0.1825         | 29.65            | 0    | 0   | 0   | 0.58 | 0    | 1.2  | 8.4  | 4.5  | 4.7  | 0.48 | 0   | 0   | 0   | 1.9  | 0    | 22    |
| 2013 |      | 13  | F      | 0.1932         | 30.44            | 0.68 | 0   | 0   | 0.42 | 0    | 0.28 | 1.8  | 0.90 | 0.98 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.36 | 0    | 5.4   |
| 2013 |      | 14  | F      | 0.0887         | 22.35            | 0    | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 1.0  | 7.1  | 3.9  | 4.0  | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 0    | 19    |
| 2013 |      | 15  | F      | 0.3324         | 29.25            | 0.72 | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 0    | 0.52 | 0.38 | 0.74 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.33 | 0    | 3.9   |
| 2013 |      | 16  | F      | 0.3276         | 29.64            | 0.81 | 0   | 0   | 0.20 | 0    | 0.24 | 1.2  | 0.68 | 0.73 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.34 | 0    | 4.2   |
| 2013 |      | 17  | M      | 0.1814         | 27.94            | 1.1  | 0   | 0   | 0.46 | 0    | 0.34 | 2.8  | 1.9  | 2.7  | 0.34 | 0   | 0   | 0   | 0.59 | 0    | 10    |
| 2013 |      | 18  | F      | 0.0970         | 21.22            | 0    | 0   | 0   | 0.72 | 0    | 0    | 3.7  | 2.0  | 2.6  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.60 | 0    | 9.6   |
| 2013 |      | 19  | F      | 0.0895         | 22.66            | 0    | 0   | 0   | 0.99 | 0    | 0    | 2.6  | 1.3  | 1.6  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 6.5   |
| 2013 |      | 20  | M      | 0.1246         | 22.57            | 1.0  | 0   | 0   | 0.89 | 0    | 0    | 0.79 | 0.42 | 1.0  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 4.2   |
| 2013 |      | 21  | F      | 0.0825         | 20.78            | 1.7  | 0   | 0   | 5.4  | 0    | 0    | 1.7  | 0.94 | 1.3  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.66 | 0    | 12    |
| 2013 |      | 22  | M      | 0.1141         | 24.20            | 0    | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 0.76 | 6.8  | 4.5  | 5.0  | 0.58 | 0   | 0   | 0   | 0.93 | 0    | 20    |
| 2013 |      | 23  | M      | 0.1108         | 22.29            | 0    | 0   | 0   | 0.49 | 0    | 0.66 | 6.9  | 3.9  | 4.4  | 0.51 | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 0    | 19    |
| 2013 |      | 24  | F      | 0.0811         | 19.79            | 0    | 0   | 0   | 0.66 | 0    | 0    | 1.7  | 1.1  | 1.4  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 4.8   |
| 2013 |      | 25  | M      | 0.0970         | 22.76            | 0    | 0   | 0   | 0.79 | 0    | 0.84 | 7.9  | 4.8  | 5.8  | 0.73 | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 22    |
| 2013 |      | 26  | F      | 0.1002         | 22.25            | 0    | 0   | 0   | 5.9  | 0    | 1.6  | 4.2  | 1.7  | 2.2  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.90 | 0    | 17    |
| 2013 |      | 27  | M      | 0.1365         | 24.82            | 0    | 0   | 0   | 0.82 | 0    | 1.3  | 8.7  | 4.7  | 5.3  | 0.66 | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 23    |
| 2013 |      | 28  | M      | 0.1290         | 23.61            | 0    | 0   | 0   | 0.62 | 0    | 0.64 | 4.6  | 3.3  | 4.3  | 0.59 | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 15    |
| 2013 |      | 29  | M      | 0.0789         | 21.61            | 0    | 0   | 0   | 0.86 | 0    | 0.72 | 4.7  | 3.4  | 5.0  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.74 | 0    | 15    |
| 2013 |      | 30  | F      | 0.1219         | 22.97            | 0    | 0   | 0   | 0.64 | 0    | 0.57 | 4.3  | 1.9  | 2.5  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.58 | 0    | 10    |
| 2013 |      | 31  | M      | 0.1397         | 23.70            | 0    | 0   | 0   | 2.8  | 0    | 0.97 | 8.5  | 4.5  | 5.0  | 0.67 | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 24    |
| 2013 |      | 32  | M      | 0.1518         | 24.71            | 0    | 0   | 0   | 0.74 | 0    | 0.86 | 8.3  | 4.2  | 3.8  | 0.49 | 0   | 0   | 0   | 2.2  | 0    | 21    |
| 2013 |      | 33  | M      | 0.1638         | 27.79            | 0    | 0   | 0   | 0.35 | 0    | 0.35 | 3.4  | 2.3  | 3.0  | 0.44 | 0   | 0   | 0   | 0.59 | 0    | 10    |
| 2013 |      | 34  | M      | 0.1461         | 25.53            | 0    | 0   | 0   | 0.45 | 0    | 0.76 | 7.5  | 4.9  | 6.1  | 0.76 | 0   | 0   | 0   | 0.74 | 0    | 21    |
| 2013 |      | 35  | M      | 0.0871         | 23.89            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 1.2  | 14   | 7.3  | 8.1  | 0.75 | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 32    |
| 2013 |      | 36  | F      | 0.0895         | 21.44            | 0    | 0   | 0   | 3.2  | 0    | 0.76 | 4.6  | 2.6  | 2.9  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.75 | 0    | 15    |
| 2013 |      | 37  | F      | 0.1071         | 22.99            | 0    | 0   | 0   | 0.92 | 0    | 0.91 | 4.4  | 2.3  | 2.9  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.86 | 0    | 12    |
| 2013 |      | 38  | M      | 0.1032         | 22.91            | 0    | 0   | 0   | 0.87 | 0    | 0    | 1.4  | 0.79 | 1.6  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.86 | 0    | 5.5   |
| 2013 |      | 39  | F      | 0.1125         | 21.97            | 0    | 0   | 0   | 0.55 | 0    | 0.46 | 3.4  | 1.8  | 2.6  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.73 | 0    | 9.5   |
| 2013 |      | 40  | F      | 0.0892         | 20.46            | 0    | 0   | 0   | 0.85 | 0    | 0    | 1.7  | 1.3  | 2.2  | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 7.2   |
| 2013 |      | 41  | F      | 0.0506         | 18.57            | 0    | 0   | 0   | 1.6  | 0    | 1.2  | 8.4  | 4.9  | 6.1  | 0    | 0   | 0   | 0   | 2.2  | 0    | 24    |
| 2013 |      | 42  | F      | 0.1491         | 27.62            | 0    | 0   | 0   | 2.7  | 0    | 0.62 | 3.7  | 2.3  | 2.7  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.85 | 0    | 13    |

| year | site     | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A  | C6A | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S  | C8S  | C10S | total |
|------|----------|-----|--------|----------------|------------------|------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|------|------|------|-------|
| 2013 | Ehime    | 1   | M      | 0.0820         | 23.97            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.89 | 1.9  | 1.8  | 1.3  | 0    | 0   | 0   | 0    | 7.4  | 0    | 13    |
| 2013 |          | 2   | F      | 0.2579         | 33.22            | 0.87 | 0   | 0   | 0.46 | 0.25 | 1.0  | 3.1  | 2.3  | 1.2  | 0    | 0   | 0   | 0    | 6.9  | 0    | 16    |
| 2013 |          | 3   | M      | 0.0724         | 22.44            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.83 | 4.1  | 2.1  | 1.2  | 0    | 0   | 0   | 0    | 5.4  | 0    | 14    |
| 2013 |          | 4   | M      | 0.2219         | 31.96            | 0.99 | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.37 | 1.4  | 2.5  | 3.2  | 0.88 | 0   | 0   | 0    | 3.2  | 0    | 13    |
| 2013 |          | 5   | F      | 0.2431         | 32.60            | 0    | 0   | 0   | 0.99 | 0.72 | 3.8  | 10   | 5.0  | 2.9  | 0.30 | 0   | 0   | 0    | 33   | 0    | 57    |
| 2013 |          | 6   | F      | 0.2622         | 32.55            | 0.36 | 0   | 0   | 0.45 | 0.58 | 2.9  | 12   | 4.4  | 2.2  | 0.30 | 0   | 0   | 0    | 23   | 0.33 | 46    |
| 2013 |          | 7   | F      | 0.3146         | 33.63            | 0    | 0   | 0   | 0.26 | 0.34 | 1.0  | 3.2  | 1.5  | 0.89 | 0    | 0   | 0   | 0    | 7.9  | 0    | 15    |
| 2013 |          | 8   | F      | 0.3202         | 32.85            | 0.18 | 0   | 0   | 0    | 0.36 | 1.2  | 4.3  | 1.8  | 1.2  | 0.25 | 0   | 0   | 0    | 4.7  | 0    | 14    |
| 2013 |          | 9   | F      | 0.3894         | 37.32            | 0.33 | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.32 | 1.2  | 0.69 | 0.47 | 0    | 0   | 0   | 0    | 1.2  | 0    | 4.2   |
| 2013 |          | 10  | F      | 0.3346         | 34.89            | 0.39 | 0   | 0   | 0.29 | 0.16 | 0.51 | 2.5  | 1.6  | 0.66 | 0    | 0   | 0   | 0    | 1.2  | 0    | 7.2   |
| 2013 |          | 11  | F      | 0.2793         | 33.80            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0.22 | 0.72 | 2.7  | 1.6  | 0.86 | 0    | 0   | 0   | 0    | 2.9  | 0    | 8.9   |
| 2013 |          | 12  | F      | 0.2750         | 33.17            | 0.36 | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.65 | 2.3  | 1.8  | 1.5  | 0.34 | 0   | 0   | 0    | 1.9  | 0    | 8.9   |
| 2013 |          | 13  | M      | 0.2281         | 30.45            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.72 | 7.0  | 9.5  | 6.0  | 1.1  | 0   | 0   | 0    | 3.6  | 0    | 28    |
| 2013 |          | 14  | M      | 0.1203         | 23.64            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.99 | 0.87 | 0.84 | 0    | 0   | 0   | 0    | 1.4  | 0    | 4.1   |
| 2013 |          | 15  | M      | 0.1930         | 27.56            | 0.91 | 0   | 0   | 0.63 | 0    | 0.42 | 3.8  | 4.8  | 3.1  | 0.52 | 0   | 0   | 0    | 1.9  | 0    | 16    |
| 2013 |          | 16  | F      | 0.2982         | 31.43            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0.19 | 0.38 | 0.87 | 0.68 | 0.46 | 0    | 0   | 0   | 0    | 2.2  | 0    | 4.8   |
| 2013 |          | 17  | F      | 0.3120         | 33.31            | 0.50 | 0   | 0   | 0    | 0.22 | 0.72 | 1.9  | 0.88 | 0.49 | 0    | 0   | 0   | 0    | 2.9  | 0    | 7.7   |
| 2013 |          | 18  | F      | 0.3751         | 34.63            | 0    | 0   | 0   | 0.21 | 0.20 | 0.78 | 2.7  | 1.7  | 0.95 | 0.16 | 0   | 0   | 0    | 4.9  | 0    | 12    |
| 2013 |          | 19  | F      | 0.1153         | 25.37            | 0.50 | 0   | 0   | 0    | 0.44 | 2.0  | 7.4  | 3.2  | 1.9  | 0    | 0   | 0   | 0    | 12   | 0    | 27    |
| 2013 |          | 20  | F      | 0.2869         | 34.13            | 0    | 0   | 0   | 0.36 | 0.20 | 0.55 | 1.8  | 1.3  | 0.66 | 0    | 0   | 0   | 0    | 2.7  | 0    | 7.5   |
| 2013 |          | 21  | F      | 0.3808         | 35.60            | 0    | 0   | 0   | 0.20 | 0.46 | 1.0  | 1.4  | 0.64 | 0.50 | 0    | 0   | 0   | 0.19 | 9.1  | 0    | 14    |
| 2013 |          | 22  | F      | 0.3026         | 34.75            | 0    | 0   | 0   | 0.22 | 0.34 | 0.89 | 1.5  | 0.93 | 0.73 | 0    | 0   | 0   | 0    | 7.2  | 0    | 12    |
| 2013 |          | 23  | F      | 0.3174         | 33.83            | 0    | 0   | 0   | 0.29 | 0.37 | 1.2  | 5.4  | 2.7  | 1.2  | 0.22 | 0   | 0   | 0    | 11   | 0.17 | 22    |
| 2013 |          | 24  | F      | 0.1075         | 27.31            | 0    | 0   | 0   | 0.47 | 0.50 | 1.2  | 1.8  | 0.84 | 0.69 | 0    | 0   | 0   | 0    | 8.1  | 0    | 14    |
| 2013 |          | 25  | M      | 0.0924         | 25.41            | 0    | 0   | 0   | 2    | 0    | 0.84 | 5.5  | 4.2  | 3.0  | 0    | 0   | 0   | 0    | 4.4  | 0    | 20    |
| 2013 |          | 26  | M      | 0.2105         | 29.56            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.60 | 6.1  | 9.1  | 6.2  | 1.0  | 0   | 0   | 0    | 4.6  | 0    | 28    |
| 2013 |          | 27  | M      | 0.1786         | 28.51            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 1.3  | 11   | 9.4  | 5.3  | 1.1  | 0   | 0   | 0    | 7.6  | 0    | 35    |
| 2013 |          | 28  | F      | 0.1085         | 26.65            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 1.3  | 2.9  | 1.2  | 0.70 | 0    | 0   | 0   | 0    | 10   | 0    | 16    |
| 2013 |          | 29  | M      | 0.1417         | 28.63            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 2.0  | 3.2  | 2.4  | 0.47 | 0   | 0   | 0    | 0.96 | 0    | 9.0   |
| 2013 |          | 30  | F      | 0.3662         | 34.25            | 0    | 0   | 0   | 0.63 | 0.28 | 1.3  | 3.0  | 1.2  | 0.50 | 0    | 0   | 0   | 0    | 10   | 0    | 17    |
| 2013 |          | 31  | M      | 0.2134         | 28.93            | 0    | 0   | 0   | 0.29 | 0    | 0.60 | 6.2  | 11   | 6.7  | 1.4  | 0   | 0   | 0    | 5.1  | 0    | 31    |
| 2013 |          | 32  | M      | 0.2780         | 30.68            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.67 | 6.0  | 5.4  | 3.6  | 1.1  | 0   | 0   | 0    | 5.5  | 0    | 22    |
| 2013 |          | 33  | M      | 0.2033         | 28.97            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.64 | 3.9  | 6.0  | 4.6  | 0.95 | 0   | 0   | 0    | 4.0  | 0    | 20    |
| 2013 |          | 34  | M      | 0.0952         | 25.00            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.94 | 2.2  | 1.9  | 2.2  | 0    | 0   | 0   | 0    | 5.3  | 0    | 13    |
| 2013 |          | 35  | M      | 0.1754         | 28.35            | 0    | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 0.50 | 3.7  | 4.0  | 3.6  | 1    | 0   | 0   | 0    | 5.3  | 0    | 19    |
| 2013 | Nagasaki | 1   | F      | 0.2088         | 22.65            | 0    | 0   | 0   | 0.58 | 1.4  | 12   | 73   | 51   | 64   | 6.2  | 0   | 0   | 0    | 8.0  | 0.49 | 217   |
| 2013 |          | 2   | F      | 0.1859         | 22.64            | 0    | 0   | 0   | 0.36 | 0.28 | 1.0  | 3.2  | 2.4  | 3.8  | 1.4  | 0   | 0   | 0    | 0.85 | 0    | 13    |
| 2013 |          | 3   | F      | 0.1174         | 19.46            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.88 | 1.8  | 1.1  | 1.9  | 0.53 | 0   | 0   | 0    | 0    | 0    | 6.2   |
| 2013 |          | 4   | M      | 0.2411         | 24.52            | 0    | 0   | 0   | 0    | 0.41 | 1.6  | 6.6  | 4.5  | 7.5  | 1.6  | 0   | 0   | 0    | 1.0  | 0    | 23    |

| year | site    | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A | C6A  | C7A  | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S  | C10S | total |
|------|---------|-----|--------|----------------|------------------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 2013 |         | 5   | M      | 0.3370         | 27.16            | 0   | 0    | 0    | 0.41 | 0.49 | 1.3  | 3.1  | 2.1  | 2.7  | 0.89 | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 0    | 13    |
| 2013 |         | 6   | F      | 0.3206         | 26.41            | 0   | 0    | 0    | 0.18 | 0.89 | 2.7  | 6.2  | 3.0  | 2.6  | 0.67 | 0   | 0   | 0   | 2.6  | 0    | 19    |
| 2013 |         | 7   | M      | 0.1831         | 21.83            | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.80 | 6.4  | 5.6  | 7.5  | 0.83 | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 21    |
| 2013 |         | 8   | M      | 0.3385         | 27.09            | 0   | 0    | 0    | 0.16 | 0.86 | 7.3  | 60   | 61   | 63   | 7.5  | 0   | 0   | 0   | 3.6  | 0.51 | 204   |
| 2013 |         | 9   | F      | 0.2137         | 23.18            | 0   | 0    | 0    | 1.4  | 0.28 | 1.2  | 1.6  | 1.3  | 1.4  | 0.47 | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 9.1   |
| 2013 |         | 10  | M      | 0.3890         | 27.36            | 0   | 0    | 0    | 0.54 | 0.69 | 5.7  | 52   | 51   | 55   | 5.5  | 0   | 0   | 0   | 4.0  | 0.67 | 175   |
| 2013 |         | 11  | F      | 0.3153         | 25.36            | 0   | 0    | 0    | 0.51 | 0.79 | 5.3  | 22   | 13   | 19   | 2.5  | 0   | 0   | 1.1 | 4.5  | 0.18 | 68    |
| 2013 |         | 12  | M      | 0.3200         | 26.09            | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.58 | 3.2  | 26   | 21   | 31   | 4.3  | 0   | 0   | 0   | 0.68 | 0    | 87    |
| 2013 |         | 14  | F      | 0.1435         | 20.05            | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.62 | 4.0  | 32   | 26   | 35   | 3.4  | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 0    | 102   |
| 2013 |         | 15  | M      | 0.1591         | 20.94            | 0   | 0    | 0    | 1.1  | 0.74 | 7.6  | 39   | 30   | 36   | 3.8  | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 0    | 119   |
| 2013 |         | 16  | F      | 0.2109         | 23.15            | 0   | 0    | 0    | 0.32 | 1.2  | 6.0  | 40   | 30   | 36   | 4.0  | 0   | 0   | 0   | 2.0  | 0    | 120   |
| 2013 |         | 17  | M      | 0.1623         | 21.30            | 0   | 0    | 0    | 0    | 1.1  | 5.4  | 28   | 18   | 24   | 3.0  | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 80    |
| 2013 |         | 18  | ?      | 0.1348         | 19.68            | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.97 | 3.9  | 14   | 6.1  | 7.5  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 0.84 | 0    | 34    |
| 2013 |         | 19  | M      | 0.2550         | 23.41            | 0   | 0    | 0    | 0.63 | 1.1  | 4.5  | 21   | 13   | 18   | 2.4  | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 0    | 62    |
| 2013 |         | 20  | M      | 0.4010         | 27.00            | 0   | 0    | 0    | 0.19 | 0.84 | 8.9  | 68   | 71   | 70   | 8.6  | 0   | 0   | 0   | 6.9  | 0.66 | 234   |
| 2014 | Iwate   | 1   | M      | 0.253          | 23.7             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.94 | 0.69 | 1.4  | 0.90 | 1.4  | 0.38 | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 6.9   |
| 2014 |         | 2   | M      | 0.279          | 23.3             | 0   | 0.23 | 0    | 0    | 0.36 | 0.34 | 0.95 | 0.51 | 0.79 | 0.24 | 0   | 0   | 0   | 0.62 | 0    | 4.0   |
| 2014 |         | 3   | M      | 0.157          | 19.3             | 0   | 7.8  | 0    | 0.68 | 0.90 | 0.94 | 1.8  | 1.1  | 2.2  | 0.39 | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 17    |
| 2014 |         | 4   | M      | 0.269          | 21.5             | 0   | 2.6  | 0.24 | 0.33 | 0.25 | 0.38 | 1.1  | 0.42 | 1.2  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.45 | 0    | 6.9   |
| 2014 |         | 5   | M      | 0.203          | 23.6             | 0   | 0.39 | 0.44 | 0    | 1.3  | 1.1  | 2.9  | 1.7  | 2.8  | 0.82 | 0   | 0   | 0   | 3.7  | 0    | 15    |
| 2014 |         | 6   | M      | 0.218          | 22.7             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.28 | 1.1  | 0.33 | 0.81 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.66 | 0    | 3.1   |
| 2014 |         | 7   | M      | 0.150          | 17.9             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.40 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.45 | 0    | 0.84  |
| 2014 |         | 8   | M      | 0.159          | 19.5             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.36 | 0    | 1.1  | 0    | 0.66 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.48 | 0    | 2.6   |
| 2014 |         | 9   | M      | 0.116          | 20.5             | 0   | 0    | 0    | 0.86 | 0.90 | 0.87 | 1.4  | 0.53 | 0.62 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 6.3   |
| 2014 |         | 10  | M      | 0.140          | 18.7             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.43 | 0.37 | 0.74 | 0    | 0.47 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 2.0   |
| 2014 |         | 11  | M      | 0.204          | 21.3             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.38 | 0.52 | 2.3  | 0.31 | 1.5  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.36 | 0    | 5.3   |
| 2014 |         | 12  | F      | 0.163          | 21.4             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.63 | 0.36 | 0.73 | 0.47 | 0.38 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.67 | 0    | 3.2   |
| 2014 |         | 13  | F      | 0.226          | 22.9             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.32 | 0.53 | 0.32 | 0.30 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.33 | 0    | 1.8   |
| 2014 |         | 14  | F      | 0.155          | 18.1             | 0   | 0    | 0    | 0.39 | 0.66 | 0    | 0.68 | 0.33 | 0.35 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.54 | 0    | 2.9   |
| 2014 |         | 15  | F      | 0.212          | 22.2             | 0   | 0    | 0    | 0.48 | 0    | 0.37 | 0.60 | 0.48 | 0.50 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.45 | 0    | 2.9   |
| 2014 |         | 16  | F      | 0.211          | 23.0             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.34 | 0    | 1.8  | 0.35 | 1.5  | 0.28 | 0   | 0   | 0   | 0.43 | 0    | 4.7   |
| 2014 |         | 17  | F      | 0.219          | 22.5             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.27 | 0.39 | 0.78 | 0.45 | 0.49 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.58 | 0    | 3.0   |
| 2014 |         | 18  | F      | 0.250          | 24.5             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.49 | 0.32 | 0.70 | 0.27 | 0.64 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.55 | 0    | 3.0   |
| 2014 |         | 19  | F      | 0.191          | 20.7             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.42 | 0.32 | 2.1  | 0.41 | 1.5  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.56 | 0    | 5.3   |
| 2014 |         | 20  | F      | 0.151          | 19.5             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.46 | 0    | 0.48 | 0.34 | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.43 | 0    | 1.7   |
| 2014 |         | 21  | F      | 0.178          | 20.1             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.37 | 0    | 0.44 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.32 | 0    | 1.1   |
| 2014 |         | 22  | F      | 0.121          | 17.3             | 0   | 0    | 0    | 0    | 0.47 | 0    | 0.90 | 0    | 0.83 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.46 | 0    | 2.7   |
| 2014 |         | 23  | F      | 0.239          | 23.1             | 0   | 0    | 0    | 0.32 | 0    | 0.21 | 0.46 | 0.23 | 0.35 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.28 | 0    | 1.9   |
| 2014 | Ibaraki | 1   | F      | 0.264          | 25.66            | 0   | 0    | 0    | 0.64 | 0.87 | 2.2  | 6.3  | 4.7  | 2.5  | 0.65 | 0   | 0   | 0   | 3.5  | 0.56 | 22    |

| year | site    | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A | C6A  | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S  | C10S | total |
|------|---------|-----|--------|----------------|------------------|-----|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 2014 |         | 2   | M      | 0.286          | 25.07            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.71 | 2.1  | 7.3  | 6.4  | 3.8  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 2.6  | 0.55 | 25    |
| 2014 |         | 3   | M      | 0.205          | 25.88            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.87 | 2.5  | 10   | 10   | 6.4  | 2.4  | 0   | 0   | 0   | 3.8  | 1.0  | 38    |
| 2014 |         | 4   | M      | 0.377          | 29.27            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.40 | 1.1  | 6.1  | 6.3  | 4.3  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0.62 | 22    |
| 2014 |         | 5   | M      | 0.233          | 23.61            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.5  | 4.6  | 12   | 7.7  | 4.8  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 5.3  | 0.70 | 38    |
| 2014 |         | 6   | M      | 0.250          | 24.74            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.55 | 1.2  | 5.2  | 4.6  | 2.9  | 0.84 | 0   | 0   | 0   | 2.1  | 0.52 | 18    |
| 2014 |         | 7   | M      | 0.210          | 22.85            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.90 | 2.1  | 5.9  | 4.9  | 2.8  | 0.92 | 0   | 0   | 0   | 3.0  | 0.57 | 21    |
| 2014 |         | 8   | M      | 0.359          | 27.51            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.41 | 1.0  | 5.5  | 6.3  | 4.6  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 0.58 | 21    |
| 2014 |         | 9   | M      | 0.217          | 23.54            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.56 | 1.2  | 7.0  | 6.5  | 4.1  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 1.5  | 0.58 | 23    |
| 2014 |         | 10  | F      | 0.263          | 26.78            | 0   | 0    | 0   | 0.38 | 1.0  | 3.1  | 9.4  | 6.2  | 3.5  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 4.1  | 0.75 | 30    |
| 2014 |         | 11  | M      | 0.239          | 24.52            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.72 | 2.7  | 9.7  | 6.3  | 4.1  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 3.3  | 0.57 | 29    |
| 2014 |         | 12  | M      | 0.299          | 27.49            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.69 | 1.8  | 9.1  | 7.3  | 4.5  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 3.0  | 0.58 | 28    |
| 2014 |         | 13  | F      | 0.286          | 25.39            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.85 | 2.4  | 5.8  | 4.4  | 2.1  | 0.67 | 0   | 0   | 0   | 3.3  | 0.53 | 20    |
| 2014 |         | 14  | F      | 0.250          | 25.22            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.1  | 2.9  | 6.9  | 5.1  | 2.8  | 0.87 | 0   | 0   | 0   | 4.7  | 0.66 | 25    |
| 2014 |         | 15  | M      | 0.339          | 27.47            | 0   | 0    | 0   | 0.40 | 0.53 | 1.5  | 7.1  | 6.8  | 4.4  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 3.2  | 0.55 | 26    |
| 2014 |         | 16  | F      | 0.300          | 26.20            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.57 | 2.8  | 10   | 6.5  | 3.6  | 0.80 | 0   | 0   | 0   | 4.1  | 0.69 | 29    |
| 2014 |         | 17  | M      | 0.190          | 24.30            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.0  | 2.2  | 6.1  | 4.5  | 4.0  | 0.88 | 0   | 0   | 0   | 3.3  | 0.41 | 22    |
| 2014 |         | 18  | M      | 0.192          | 23.38            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.72 | 1.5  | 7.1  | 4.4  | 3.0  | 0.85 | 0   | 0   | 0   | 2.5  | 0.46 | 21    |
| 2014 |         | 19  | F      | 0.291          | 23.83            | 0   | 0    | 0   | 0.42 | 0.81 | 2.2  | 5.9  | 4.3  | 2.3  | 0.56 | 0   | 0   | 0   | 4.1  | 0.59 | 21    |
| 2014 |         | 20  | F      | 0.271          | 26.14            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.94 | 2.4  | 11   | 8.6  | 4.8  | 0.90 | 0   | 0   | 0   | 3.3  | 1.1  | 33    |
| 2014 |         | 21  | M      | 0.253          | 24.59            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.1  | 3.4  | 12   | 8.6  | 5.2  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 5.6  | 0.57 | 38    |
| 2014 |         | 22  | F      | 0.249          | 25.92            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.97 | 3.5  | 10   | 6.3  | 3.7  | 0.98 | 0   | 0   | 0   | 4.2  | 0.76 | 31    |
| 2014 |         | 23  | M      | 0.219          | 24.57            | 0   | 0    | 0   | 0.69 | 0.92 | 2.2  | 14   | 12   | 8.0  | 1.9  | 0   | 0   | 0   | 4.0  | 1.2  | 45    |
| 2014 |         | 24  | F      | 0.236          | 22.49            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.47 | 1.8  | 5.0  | 3.8  | 2.3  | 0.82 | 0   | 0   | 0   | 2.7  | 0.51 | 17    |
| 2014 |         | 25  | F      | 0.226          | 23.96            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.4  | 4.3  | 13   | 8.9  | 4.6  | 0.96 | 0   | 0   | 0   | 6.5  | 1.1  | 41    |
| 2014 |         | 26  | F      | 0.290          | 26.47            | 0   | 0    | 0   | 0.19 | 0.58 | 2.3  | 10   | 5.1  | 3.7  | 0.94 | 0   | 0   | 0   | 3.5  | 0.52 | 27    |
| 2014 |         | 27  | F      | 0.206          | 21.61            | 0   | 0    | 0   | 0.68 | 1.1  | 2.3  | 5.2  | 3.8  | 2.3  | 0.67 | 0   | 0   | 0   | 3.8  | 0.49 | 20    |
| 2014 | Niigata | 1   | F      | 0.118          | 16.01            | 0   | 0    | 0   | 1.3  | 0.58 | 0.62 | 1.9  | 1.9  | 1.0  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.58 | 0    | 7.9   |
| 2014 |         | 2   | M      | 0.098          | 16.80            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.88 | 1.4  | 3.2  | 1.9  | 0.86 | 0.54 | 0   | 0   | 0   | 1.5  | 0    | 10    |
| 2014 |         | 3   | F      | 0.207          | 22.11            | 0   | 0.41 | 0   | 0    | 0.89 | 2.9  | 11   | 6.5  | 3.2  | 0.82 | 0   | 0   | 0   | 2.2  | 0    | 28    |
| 2014 |         | 4   | F      | 0.156          | 18.65            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.67 | 1.3  | 3.2  | 2.1  | 1.1  | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.95 | 0    | 9.3   |
| 2014 |         | 5   | M      | 0.186          | 18.29            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.35 | 0.69 | 2.7  | 1.4  | 0.83 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.65 | 0    | 6.7   |
| 2014 |         | 6   | M      | 0.169          | 17.06            | 0   | 0    | 0   | 0.32 | 0.44 | 0.39 | 1.1  | 0.85 | 0.41 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.51 | 0    | 4.0   |
| 2014 |         | 7   | M      | 0.115          | 17.37            | 0   | 0.47 | 0   | 0    | 0.46 | 1.4  | 4.5  | 2.3  | 1.1  | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 12    |
| 2014 |         | 8   | F      | 0.241          | 16.29            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.33 | 0.57 | 1.1  | 0.66 | 0.34 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.47 | 0    | 3.4   |
| 2014 |         | 9   | M      | 0.262          | 20.26            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.37 | 1.0  | 4.6  | 2.5  | 1.3  | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 11    |
| 2014 |         | 10  | M      | 0.239          | 18.01            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.48 | 1.6  | 5.3  | 3.0  | 1.3  | 0.31 | 0   | 0   | 0   | 1.5  | 0    | 13    |
| 2014 |         | 11  | F      | 0.487          | 15.85            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.14 | 0.13 | 0.25 | 0.21 | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.13 | 0    | 0.86  |
| 2014 |         | 12  | F      | 0.239          | 17.25            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.27 | 0.50 | 1.0  | 0.66 | 0.24 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.42 | 0    | 3.1   |
| 2014 |         | 13  | F      | 0.186          | 16.69            | 0   | 0    | 0   | 0.53 | 0.32 | 0.40 | 1.2  | 0.73 | 0.33 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.56 | 0    | 4.0   |



| year | site     | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A  | C6A  | C7A  | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S  | C10S | total |
|------|----------|-----|--------|----------------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 2014 |          | 14  | F      | 0.278          | 19.72            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.40 | 0.99 | 2.9  | 1.6  | 0.81 | 0.30 | 0   | 0   | 0   | 2.5  | 0    | 9.6   |
| 2014 |          | 15  | M      | 0.167          | 17.32            | 0    | 0    | 0    | 0.71 | 0.58 | 0.78 | 1.8  | 1.5  | 0.68 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.83 | 0    | 6.9   |
| 2014 |          | 16  | M      | 0.188          | 16.13            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.31 | 1.0  | 4.6  | 2.7  | 1.1  | 0.38 | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 11    |
| 2014 |          | 17  | F      | 0.168          | 21.38            | 0    | 0    | 0    | 0    | 1.8  | 4.4  | 13   | 6.7  | 2.8  | 0.64 | 0   | 0   | 0   | 3.8  | 0    | 33    |
| 2014 | Ishikawa | 1   | M      | 0.529          | 30.00            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.55 | 5.3  | 45   | 28   | 49   | 5.5  | 0   | 0   | 0   | 9.4  | 0.15 | 142   |
| 2014 |          | 2   | F      | 0.617          | 30.67            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.62 | 5.8  | 96   | 73   | 117  | 6.5  | 0   | 0   | 0   | 8.3  | 0.14 | 308   |
| 2014 |          | 3   | F      | 0.531          | 29.59            | 0    | 0    | 0.15 | 0.11 | 1.3  | 8.2  | 56   | 11   | 13   | 1.7  | 0   | 0   | 0   | 13   | 0.11 | 104   |
| 2014 |          | 4   | F      | 0.757          | 32.05            | 0    | 0.16 | 0.18 | 0.11 | 0.90 | 7.2  | 56   | 9.7  | 9.5  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 10   | 0.08 | 96    |
| 2014 |          | 5   | M      | 0.613          | 30.49            | 0    | 0.26 | 0.11 | 0.24 | 0.39 | 2.3  | 22   | 20   | 23   | 4.4  | 0   | 0   | 0   | 4.3  | 0.25 | 78    |
| 2014 |          | 6   | F      | 0.568          | 29.91            | 0    | 0    | 0.29 | 0    | 0.90 | 5.1  | 35   | 14   | 21   | 2.0  | 0   | 0   | 0   | 8.5  | 0.10 | 86    |
| 2014 |          | 7   | F      | 0.587          | 30.37            | 0    | 0    | 0.09 | 0    | 0.60 | 5.7  | 81   | 30   | 45   | 3.5  | 0   | 0   | 0   | 9.1  | 0.11 | 174   |
| 2014 |          | 8   | F      | 0.570          | 29.39            | 0    | 0    | 0.13 | 0    | 0.70 | 5.1  | 36   | 8.1  | 7.4  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 11   | 0    | 69    |
| 2014 |          | 9   | F      | 0.374          | 26.25            | 0    | 0    | 0.30 | 0    | 0.65 | 5.3  | 32   | 7.6  | 9.3  | 1.8  | 0   | 0   | 0   | 7.4  | 0    | 64    |
| 2014 |          | 10  | F      | 0.460          | 27.29            | 0    | 0    | 0.15 | 0    | 1.3  | 9.6  | 53   | 11   | 16   | 2.1  | 0   | 0   | 0   | 12   | 0    | 105   |
| 2014 |          | 11  | F      | 0.477          | 26.10            | 0    | 0    | 0.31 | 0    | 0.41 | 3.3  | 43   | 19   | 34   | 3.1  | 0   | 0   | 0   | 5.7  | 0    | 109   |
| 2014 |          | 12  | M      | 0.506          | 25.25            | 0    | 0    | 0    | 0.29 | 0.34 | 1.8  | 13   | 5.3  | 5.1  | 1.6  | 0   | 0   | 0   | 2.8  | 0    | 30    |
| 2014 |          | 13  | F      | 0.346          | 25.74            | 0.20 | 0    | 0    | 0    | 0.70 | 4.6  | 49   | 22   | 43   | 3.8  | 0   | 0   | 0   | 8.7  | 0    | 132   |
| 2014 |          | 14  | F      | 0.402          | 24.52            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.59 | 4.3  | 29   | 6.9  | 11   | 1.9  | 0   | 0   | 0   | 5.2  | 0    | 59    |
| 2014 |          | 15  | F      | 0.355          | 23.96            | 0    | 0    | 0.39 | 0.37 | 0.80 | 6.7  | 55   | 12   | 19   | 2.7  | 0   | 0   | 0   | 10   | 0    | 106   |
| 2014 |          | 16  | M      | 0.573          | 29.70            | 0    | 0    | 0.15 | 0    | 0.34 | 5.2  | 57   | 26   | 50   | 8.5  | 0   | 0   | 0   | 5.7  | 0.17 | 153   |
| 2014 |          | 17  | F      | 0.511          | 29.77            | 0.11 | 0    | 0.29 | 0.28 | 0.66 | 4.7  | 37   | 6.8  | 5.6  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 5.6  | 0    | 62    |
| 2014 |          | 18  | M      | 0.524          | 26.23            | 0.10 | 0    | 0.16 | 0    | 0.28 | 5.2  | 51   | 18   | 36   | 6.2  | 0   | 0   | 0   | 9.8  | 0.11 | 128   |
| 2014 |          | 19  | F      | 0.407          | 25.48            | 0.14 | 0    | 0.39 | 0    | 0.74 | 5.1  | 70   | 47   | 85   | 5.6  | 0   | 0   | 0   | 6.6  | 0    | 220   |
| 2014 |          | 20  | F      | 0.429          | 26.52            | 0    | 0    | 0.14 | 0    | 0.85 | 5.5  | 54   | 33   | 73   | 4.8  | 0   | 0   | 0   | 7.2  | 0    | 179   |
| 2014 |          | 21  | M      | 0.347          | 23.94            | 0.18 | 0    | 0.29 | 0    | 0.27 | 2.7  | 46   | 31   | 75   | 9.6  | 0   | 0   | 0   | 5.3  | 0    | 171   |
| 2014 | Shizuoka | 1   | M      | 0.311          | 23.11            | 0    | 0.73 | 0    | 0    | 0.34 | 0.63 | 1.9  | 1.6  | 2.6  | 0.85 | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0    | 9.7   |
| 2014 |          | 2   | F      | 0.467          | 28.67            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.20 | 0.58 | 2.9  | 1.7  | 2.4  | 0.55 | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0    | 9.5   |
| 2014 |          | 3   | F      | 0.476          | 27.45            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.28 | 0.59 | 2.8  | 2.1  | 3.9  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 1.0  | 0    | 12    |
| 2014 |          | 4   | F      | 0.435          | 26.68            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.26 | 0.47 | 1.9  | 1.1  | 2.0  | 0.55 | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0    | 7.5   |
| 2014 |          | 5   | F      | 0.391          | 26.83            | 0    | 0.18 | 0    | 0.30 | 0.19 | 0.39 | 1.8  | 1.1  | 1.8  | 0.59 | 0   | 0   | 0   | 0.92 | 0    | 7.2   |
| 2014 |          | 6   | M      | 0.390          | 25.83            | 0    | 0    | 0    | 0.39 | 0.26 | 0.41 | 2.1  | 1.9  | 3.2  | 0.88 | 0   | 0   | 0   | 0.82 | 0    | 9.9   |
| 2014 |          | 7   | F      | 0.465          | 28.53            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.35 | 0.64 | 2.4  | 1.8  | 2.6  | 0.62 | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 9.8   |
| 2014 |          | 8   | M      | 0.414          | 26.42            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.20 | 0.32 | 1.7  | 1.4  | 2.8  | 0.83 | 0   | 0   | 0   | 0.68 | 0    | 8.0   |
| 2014 |          | 9   | F      | 0.488          | 27.81            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.24 | 0.49 | 2.7  | 1.5  | 2.1  | 0.56 | 0   | 0   | 0   | 1.0  | 0    | 8.6   |
| 2014 |          | 10  | F      | 0.499          | 28.80            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.24 | 0.59 | 2.5  | 1.7  | 2.7  | 0.58 | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0    | 9.5   |
| 2014 |          | 11  | F      | 0.563          | 30.04            | 0    | 0    | 0    | 0.34 | 0.19 | 0.52 | 2.3  | 1.7  | 2.4  | 0.61 | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 9.4   |
| 2014 |          | 12  | M      | 0.338          | 24.91            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.26 | 0.51 | 2.5  | 2.1  | 3.9  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 12    |
| 2014 |          | 13  | F      | 0.477          | 27.80            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.22 | 0.53 | 1.5  | 0.83 | 1.4  | 0.33 | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 6.0   |
| 2014 |          | 14  | F      | 0.506          | 28.46            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.21 | 0.40 | 1.3  | 0.89 | 1.4  | 0.41 | 0   | 0   | 0   | 0.74 | 0    | 5.3   |

| year | site      | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A | C6A  | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S  | C10S | total |
|------|-----------|-----|--------|----------------|------------------|-----|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 2014 |           | 15  | F      | 0.463          | 28.02            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.16 | 0.41 | 1.4  | 0.93 | 1.2  | 0.32 | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 5.6   |
| 2014 |           | 16  | F      | 0.410          | 26.24            | 0   | 0    | 0   | 0.39 | 0.20 | 0.60 | 2.5  | 1.6  | 2.6  | 0.65 | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 10    |
| 2014 |           | 17  | F      | 0.372          | 27.50            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.27 | 0.54 | 2.1  | 1.4  | 2.3  | 0.74 | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0    | 8.5   |
| 2014 |           | 18  | F      | 0.421          | 27.46            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.44 | 0.81 | 2.6  | 1.4  | 2.2  | 0.62 | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 0    | 9.7   |
| 2014 |           | 19  | F      | 0.405          | 27.50            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.31 | 0.49 | 1.9  | 1.3  | 1.9  | 0.59 | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 7.7   |
| 2014 |           | 20  | F      | 0.373          | 26.27            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.29 | 0.53 | 1.8  | 1.3  | 2.0  | 0.59 | 0   | 0   | 0   | 0.99 | 0    | 7.4   |
| 2014 |           | 21  | F      | 0.545          | 27.66            | 0   | 0    | 0   | 0.32 | 0.20 | 0.34 | 0.90 | 0.52 | 0.69 | 0.17 | 0   | 0   | 0   | 0.64 | 0    | 3.8   |
| 2014 |           | 22  | F      | 0.300          | 25.52            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.40 | 0.64 | 2.3  | 2.0  | 3.4  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 1.0  | 0    | 11    |
| 2014 |           | 23  | M      | 0.280          | 22.91            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.34 | 0.52 | 2.2  | 1.9  | 2.9  | 0.83 | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0    | 9.7   |
| 2014 |           | 24  | M      | 0.314          | 24.94            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.34 | 0.86 | 2.1  | 1.7  | 2.7  | 0.80 | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 9.9   |
| 2014 |           | 25  | F      | 0.441          | 27.00            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0    | 0.48 | 1.7  | 1.2  | 1.6  | 0.47 | 0   | 0   | 0   | 0.88 | 0    | 6.4   |
| 2014 | Hyogo     | 1   | M      | 0.187          | 19.46            | 0   | 0    | 0   | 0.91 | 1.8  | 4.9  | 8.2  | 4.4  | 5.5  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 7.7  | 0.27 | 35    |
| 2014 |           | 2   | F      | 0.337          | 23.03            | 0   | 0    | 0   | 0    | 3.6  | 7.1  | 7.8  | 4.6  | 5.1  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 8.9  | 0.25 | 39    |
| 2014 |           | 3   | M      | 0.238          | 23.22            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.2  | 6.1  | 13   | 6.8  | 6.4  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 9.7  | 0.41 | 45    |
| 2014 |           | 4   | M      | 0.219          | 22.14            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.3  | 5.1  | 8.1  | 5.1  | 5.1  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 9.7  | 0.36 | 36    |
| 2014 |           | 5   | M      | 0.154          | 19.32            | 0   | 0.39 | 0   | 0    | 1.9  | 4.7  | 8.7  | 4.8  | 5.8  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 7.0  | 0    | 34    |
| 2014 |           | 6   | F      | 0.110          | 16.69            | 0   | 0    | 0   | 0    | 3.0  | 5.7  | 7.3  | 4.5  | 5.1  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 10   | 0    | 37    |
| 2014 |           | 7   | F      | 0.356          | 25.33            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.7  | 7.6  | 17   | 7.7  | 7.7  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 9.8  | 0.52 | 53    |
| 2014 |           | 8   | F      | 0.276          | 22.55            | 0   | 0    | 0   | 0.21 | 4.4  | 8.2  | 10   | 5.8  | 7.5  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 12   | 0.36 | 50    |
| 2014 |           | 9   | F      | 0.366          | 24.40            | 0   | 0    | 0   | 0.66 | 2.1  | 5.9  | 9.2  | 5.5  | 6.0  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 8.4  | 0.28 | 39    |
| 2014 |           | 10  | F      | 0.174          | 18.90            | 0   | 0    | 0   | 0.63 | 2.5  | 5.0  | 6.2  | 3.9  | 4.6  | 1.6  | 0   | 0   | 0   | 7.7  | 0.31 | 32    |
| 2014 |           | 11  | M      | 0.160          | 18.21            | 0   | 0    | 0   | 0    | 2.1  | 5.4  | 6.4  | 4.0  | 4.3  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 9.1  | 0    | 32    |
| 2014 |           | 12  | M      | 0.187          | 18.55            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.9  | 4.4  | 6.2  | 4.4  | 5.8  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 7.6  | 0.30 | 32    |
| 2014 |           | 13  | M      | 0.200          | 19.86            | 0   | 0    | 0   | 0.49 | 1.3  | 3.8  | 7.0  | 3.7  | 4.1  | 0.94 | 0   | 0   | 0   | 7.4  | 0.27 | 29    |
| 2014 |           | 14  | M      | 0.197          | 20.94            | 0   | 0    | 0   | 1.0  | 2.1  | 5.2  | 8.7  | 4.6  | 4.5  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 7.2  | 0    | 34    |
| 2014 |           | 15  | M      | 0.245          | 21.05            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.5  | 6.0  | 7.4  | 4.2  | 4.6  | 0.92 | 0   | 0   | 0   | 8.8  | 0.28 | 34    |
| 2014 |           | 16  | F      | 0.406          | 26.05            | 0   | 0    | 0   | 0.28 | 3.1  | 8.6  | 11   | 4.9  | 4.6  | 0.88 | 0   | 0   | 0   | 12   | 0.30 | 46    |
| 2014 |           | 17  | F      | 0.332          | 22.79            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.6  | 4.0  | 6.4  | 3.7  | 4.0  | 0.94 | 0   | 0   | 0   | 7.4  | 0.23 | 28    |
| 2014 |           | 18  | F      | 0.275          | 21.78            | 0   | 0    | 0   | 0.53 | 1.8  | 7.0  | 8.5  | 4.8  | 5.5  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 9.7  | 0.23 | 39    |
| 2014 |           | 19  | M      | 0.581          | 31.00            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.5  | 9.0  | 17   | 11   | 13   | 2.9  | 0   | 0   | 0   | 16   | 0.53 | 70    |
| 2014 |           | 20  | M      | 0.235          | 21.70            | 0   | 0    | 0   | 4.9  | 1.1  | 4.2  | 7.5  | 4.2  | 4.6  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 6.4  | 0.25 | 34    |
| 2014 |           | 21  | M      | 0.241          | 20.73            | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.1  | 4.0  | 7.1  | 4.3  | 3.9  | 0.84 | 0   | 0   | 0   | 6.3  | 0.23 | 28    |
| 2014 |           | 22  | F      | 0.320          | 24.25            | 0   | 0    | 0   | 0.50 | 1.8  | 5.4  | 7.0  | 3.5  | 3.8  | 0.81 | 0   | 0   | 0   | 7.3  | 0.23 | 30    |
| 2014 |           | 23  | M      | 0.225          | 21.53            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.96 | 4.4  | 7.6  | 4.4  | 4.9  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 7.3  | 0.37 | 31    |
| 2014 | Yamaguchi | 1   | F      | 0.179          | 18.58            | 0   | 0    | 0   | 0.48 | 0.39 | 0.63 | 1.4  | 0.39 | 0.59 | 0.65 | 0   | 0   | 0   | 1.9  | 0    | 6.4   |
| 2014 |           | 2   | F      | 0.238          | 20.75            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.62 | 0.75 | 1.2  | 0.26 | 0.66 | 0.52 | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 0    | 5.7   |
| 2014 |           | 3   | F      | 0.646          | 31.43            | 0   | 0.09 | 0   | 0    | 0.43 | 0.50 | 1.3  | 0.20 | 0.78 | 0.69 | 0   | 0   | 0   | 4.5  | 0    | 8.5   |
| 2014 |           | 4   | M      | 0.225          | 21.95            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.66 | 0.67 | 2.3  | 0.89 | 1.8  | 0.86 | 0   | 0   | 0   | 2.2  | 0    | 9.4   |
| 2014 |           | 5   | M      | 0.164          | 18.82            | 0   | 0    | 0   | 0    | 0.94 | 0.32 | 1.9  | 0    | 0.88 | 0.96 | 0   | 0   | 0   | 2.1  | 0    | 7.1   |

| year | site                       | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A | C6A | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S  | C10S | total |
|------|----------------------------|-----|--------|----------------|------------------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 2014 |                            | 6   | M      | 0.241          | 20.47            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.68 | 0.50 | 1.5  | 0.31 | 0.48 | 0.66 | 0   | 0   | 0   | 1.9  | 0    | 6.0   |
| 2014 |                            | 7   | F      | 0.388          | 24.68            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.27 | 0.46 | 2.0  | 0.21 | 0.43 | 0.56 | 0   | 0   | 0   | 3.0  | 0    | 7.0   |
| 2014 |                            | 8   | F      | 0.350          | 25.49            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.63 | 1.8  | 5.4  | 2.5  | 3.4  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 4.0  | 0    | 19    |
| 2014 |                            | 9   | M      | 0.311          | 22.91            | 0   | 0   | 0   | 0.22 | 0.40 | 0.47 | 1.0  | 0.67 | 1.2  | 0.51 | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 5.7   |
| 2014 |                            | 10  | F      | 0.281          | 23.03            | 0   | 0   | 0   | 0.34 | 0.72 | 0.93 | 1.9  | 1.3  | 2.1  | 0.54 | 0   | 0   | 0   | 2.3  | 0    | 10    |
| 2014 |                            | 11  | F      | 0.251          | 20.80            | 0   | 0   | 0   | 0.67 | 0.65 | 0.42 | 1.0  | 0.47 | 0.80 | 0.54 | 0   | 0   | 0   | 1.9  | 0    | 6.4   |
| 2014 |                            | 12  | M      | 0.242          | 19.08            | 0   | 0   | 0   | 0.26 | 0.68 | 0.42 | 0.92 | 0.67 | 1.3  | 0.65 | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 0    | 6.5   |
| 2014 |                            | 13  | M      | 0.183          | 19.72            | 0   | 0   | 0   | 0.55 | 0.64 | 0.68 | 1.3  | 0.78 | 1.3  | 0.56 | 0   | 0   | 0   | 2.3  | 0    | 8.1   |
| 2014 |                            | 14  | F      | 0.216          | 18.36            | 0   | 0   | 0   | 0.37 | 0.44 | 0.39 | 1.2  | 0.75 | 1.1  | 0.43 | 0   | 0   | 0   | 2.4  | 0    | 7.0   |
| 2014 |                            | 15  | F      | 0.172          | 17.32            | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 0.70 | 0.34 | 0.95 | 0.47 | 0.96 | 0.51 | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 0    | 6.9   |
| 2014 |                            | 16  | M      | 0.306          | 25.13            | 0   | 0   | 0   | 0.24 | 0.30 | 0.51 | 1.7  | 0.93 | 1.6  | 0.83 | 0   | 0   | 0   | 2.5  | 0    | 8.6   |
| 2014 |                            | 17  | F      | 0.157          | 17.52            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.68 | 0    | 1.0  | 0.44 | 0.84 | 0.45 | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 0    | 5.0   |
| 2014 |                            | 18  | F      | 0.182          | 20.45            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.37 | 0.43 | 1.7  | 0.71 | 1.4  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 2.5  | 0    | 8.2   |
| 2014 |                            | 19  | F      | 0.174          | 16.65            | 0   | 0   | 0   | 0.85 | 0.68 | 0.50 | 1.0  | 0.45 | 0.86 | 0.41 | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0    | 5.9   |
| 2014 |                            | 20  | M      | 0.254          | 18.54            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.44 | 0.39 | 0.58 | 0.36 | 0.46 | 0.25 | 0   | 0   | 0   | 0.92 | 0    | 3.4   |
| 2014 |                            | 21  | F      | 0.192          | 17.46            | 0   | 0   | 0   | 0.38 | 0.71 | 0.50 | 1.1  | 0.90 | 1.4  | 0.50 | 0   | 0   | 0   | 2.4  | 0    | 7.9   |
| 2014 |                            | 22  | F      | 0.185          | 18.94            | 0   | 0   | 0   | 0.39 | 0.48 | 0    | 0.93 | 0.66 | 1.3  | 0.35 | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 5.4   |
| 2014 |                            | 23  | F      | 0.188          | 18.97            | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0.64 | 0.50 | 1.1  | 1.0  | 1.2  | 0.49 | 0   | 0   | 0   | 1.9  | 0    | 8.2   |
| 2014 |                            | 24  | M      | 0.190          | 19.89            | 0   | 0   | 0   | 0.55 | 0.80 | 0.43 | 1.4  | 1.2  | 2.0  | 0.67 | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 0    | 8.7   |
| 2014 |                            | 25  | M      | 0.194          | 18.37            | 0   | 0   | 0   | 0.78 | 0.77 | 0.33 | 1.1  | 1.1  | 2.3  | 0.62 | 0   | 0   | 0   | 1.8  | 0    | 8.9   |
| 2014 |                            | 26  | M      | 0.155          | 16.18            | 0   | 0   | 0   | 0.90 | 0.69 | 0.43 | 0.83 | 0.70 | 1.2  | 0.41 | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0    | 6.2   |
| 2014 | Fukuoka<br>(A)<br>(medaka) | 1   | F      | 0.269          | 22.77            | 0   | 0   | 0   | 0.49 | 0.39 | 1.3  | 4.6  | 1.6  | 3.1  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 4.1  | 0    | 17    |
| 2014 |                            | 2   | F      | 0.258          | 23.08            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.57 | 0.87 | 4.0  | 1.5  | 2.0  | 0.42 | 0   | 0   | 0   | 2.3  | 0    | 12    |
| 2014 |                            | 3   | M      | 0.158          | 28.04            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.45 | 1.9  | 13   | 7.4  | 9.1  | 2.1  | 0   | 0   | 0   | 2.0  | 0.63 | 36    |
| 2014 |                            | 4   | M      | 0.393          | 28.22            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.54 | 2.5  | 20   | 8.2  | 10   | 2.6  | 0   | 0   | 0   | 3.8  | 0.91 | 48    |
| 2014 |                            | 5   | M      | 0.215          | 22.28            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.61 | 0.74 | 4.8  | 2.3  | 4.9  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 3.7  | 0    | 18    |
| 2014 |                            | 6   | M      | 0.208          | 22.43            | 0   | 0   | 0   | 0.54 | 0.68 | 2.5  | 23   | 9.1  | 10   | 1.8  | 0   | 0   | 0   | 3.7  | 0.86 | 53    |
| 2014 |                            | 7   | M      | 0.403          | 27.06            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.39 | 1.3  | 8.2  | 4.8  | 6.0  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 1.9  | 0.56 | 24    |
| 2014 |                            | 8   | M      | 0.205          | 20.94            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.41 | 1.0  | 6.8  | 2.8  | 4.8  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 2.4  | 0    | 19    |
| 2014 |                            | 9   | F      | 0.280          | 22.37            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.33 | 1.9  | 25   | 12   | 18   | 3.0  | 0   | 0   | 0   | 4.8  | 0.89 | 67    |
| 2014 |                            | 10  | F      | 0.209          | 21.00            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.60 | 3.7  | 31   | 11   | 12   | 2.3  | 0   | 0   | 0   | 5.4  | 1.1  | 67    |
| 2014 |                            | 11  | M      | 0.207          | 20.42            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.42 | 1.7  | 12   | 4.3  | 5.9  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 3.0  | 0.34 | 29    |
| 2014 |                            | 12  | M      | 0.284          | 20.97            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.52 | 3.1  | 24   | 7.5  | 8.1  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 4.2  | 0.62 | 49    |
| 2014 |                            | 13  | F      | 0.224          | 21.61            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.48 | 0.65 | 3.9  | 2.2  | 3.8  | 0.81 | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 13    |
| 2014 |                            | 14  | F      | 0.201          | 21.09            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.30 | 1.3  | 8.4  | 3.6  | 4.1  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 2.1  | 0.35 | 21    |
| 2014 |                            | 15  | F      | 0.223          | 20.17            | 0   | 0   | 0   | 0.51 | 0.66 | 2.0  | 14   | 5.0  | 6.0  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 2.7  | 0.38 | 32    |
| 2014 |                            | 16  | M      | 0.207          | 22.47            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.36 | 0.51 | 3.3  | 1.6  | 3.1  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 11    |
| 2014 |                            | 17  | M      | 0.228          | 21.94            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.46 | 1.2  | 8.1  | 4.2  | 6.8  | 1.6  | 0   | 0   | 0   | 2.7  | 0.23 | 25    |
| 2014 |                            | 18  | F      | 0.221          | 21.66            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.36 | 1.9  | 11   | 4.0  | 6.7  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 4.7  | 0    | 30    |

| year | site                          | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A | C6A  | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S  | C10S | total |
|------|-------------------------------|-----|--------|----------------|------------------|-----|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 2014 |                               | 19  | F      | 0.158          | 17.24            | 0   | 0    | 0   | 0.73 | 0.75 | 1.4  | 11   | 6.0  | 6.9  | 1.6  | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 0.53 | 30    |
| 2014 | Fukuoka<br>(B)<br>(kadayashi) | 1   | F      | 0.453          | 25.36            | 0   | 0    | 0   | 0.83 | 0.54 | 0.61 | 2.7  | 2.0  | 5.3  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 2.1  | 0.98 | 16    |
| 2014 |                               | 2   | M      | 0.179          | 19.46            | 0   | 0    | 0   | 1.5  | 0.90 | 0.64 | 2.0  | 1.8  | 3.1  | 0.85 | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0.87 | 13    |
| 2014 |                               | 3   | M      | 0.220          | 22.46            | 0   | 0    | 0   | 0.86 | 0.71 | 0.74 | 2.1  | 1.9  | 4.3  | 1.8  | 0   | 0   | 0   | 2.1  | 1.0  | 16    |
| 2014 |                               | 4   | M      | 0.176          | 21.84            | 0   | 0    | 0   | 1.1  | 0.65 | 0.71 | 2.2  | 2.3  | 3.9  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 2.0  | 1.1  | 15    |
| 2014 |                               | 5   | F      | 0.520          | 27.89            | 0   | 0    | 0   | 0.74 | 0.40 | 0.55 | 2.3  | 2.0  | 4.4  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 2.1  | 1.1  | 15    |
| 2014 |                               | 6   | F      | 1.075          | 33.66            | 0   | 0    | 0   | 0.25 | 0.38 | 0.42 | 2.2  | 1.7  | 4.9  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 1.9  | 0.97 | 14    |
| 2014 |                               | 7   | M      | 0.190          | 20.56            | 0   | 0    | 0   | 1.0  | 0.65 | 0.35 | 1.7  | 1.9  | 3.7  | 1.6  | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 1.1  | 14    |
| 2014 |                               | 8   | M      | 0.248          | 23.15            | 0   | 0    | 0   | 0.77 | 0.48 | 0.41 | 1.7  | 1.7  | 4.3  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 2.4  | 1.2  | 14    |
| 2014 |                               | 9   | F      | 0.419          | 25.05            | 0   | 0    | 0   | 0.91 | 0.49 | 0.48 | 1.8  | 1.5  | 4.1  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 2.3  | 1.2  | 14    |
| 2014 |                               | 10  | F      | 0.874          | 31.55            | 0   | 0    | 0   | 0.30 | 0.35 | 0.48 | 1.9  | 1.4  | 3.0  | 0.97 | 0   | 0   | 0   | 2.6  | 0.97 | 12    |
| 2014 |                               | 11  | M      | 0.331          | 24.98            | 0   | 0    | 0   | 0.65 | 0.27 | 0.40 | 2.1  | 1.4  | 3.5  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 0.97 | 0.75 | 11    |
| 2014 |                               | 12  | F      | 0.363          | 26.53            | 0   | 0    | 0   | 0.54 | 0.43 | 0.46 | 1.9  | 1.2  | 2.4  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 0.97 | 11    |
| 2015 | Iwate                         | 1   | M      | 0.486          | 29.4             | 0   | 0.61 | 0   | 0.12 | 0.16 | 0.27 | 1.4  | 0.21 | 0.70 | 0.13 | 0   | 0   | 0   | 0.45 | 0    | 4.0   |
| 2015 |                               | 2   | M      | 0.307          | 27.0             | 0   | 0    | 0   | 0    | 2.1  | 0.54 | 1.5  | 0.24 | 0.55 | 0.25 | 0   | 0   | 0   | 0.90 | 0    | 6.0   |
| 2015 |                               | 3   | M      | 0.285          | 26.8             | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.8  | 0.40 | 0.43 | 0.38 | 0.21 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.49 | 0    | 3.7   |
| 2015 |                               | 4   | M      | 0.290          | 24.9             | 0   | 0    | 0   | 0.29 | 1.8  | 0    | 0.71 | 0    | 0.21 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.62 | 0    | 3.6   |
| 2015 |                               | 5   | M      | 0.320          | 26.4             | 0   | 0    | 0   | 0.96 | 1.8  | 0.57 | 0.79 | 0.36 | 0.27 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.0  | 0    | 5.8   |
| 2015 |                               | 6   | M      | 0.338          | 27.1             | 0   | 0.23 | 0   | 0.29 | 1.3  | 0.40 | 1.6  | 0.27 | 0.46 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.0  | 0    | 5.5   |
| 2015 |                               | 7   | M      | 0.274          | 24.8             | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.3  | 0.34 | 0.98 | 0    | 0.19 | 0    | 0   | 0   | 0   | 2.1  | 0    | 5.0   |
| 2015 |                               | 8   | M      | 0.222          | 25.0             | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.9  | 0.23 | 0.58 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.96 | 0    | 3.6   |
| 2015 |                               | 9   | M      | 0.299          | 24.8             | 0   | 0    | 0   | 0.24 | 1.2  | 0.38 | 0.84 | 0.22 | 0.21 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.60 | 0    | 3.7   |
| 2015 |                               | 10  | M      | 0.282          | 25.7             | 0   | 0    | 0   | 0.84 | 1.3  | 0.43 | 0.62 | 0.19 | 0.21 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.77 | 0    | 4.4   |
| 2015 |                               | 11  | F      | 0.326          | 26.8             | 0   | 0    | 0   | 0.16 | 0.63 | 0.25 | 0.72 | 0.26 | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.42 | 0    | 2.4   |
| 2015 |                               | 12  | F      | 0.434          | 28.4             | 0   | 0    | 0   | 0.14 | 0.81 | 0.63 | 1.1  | 0.23 | 0.38 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.80 | 0    | 4.1   |
| 2015 |                               | 13  | F      | 0.418          | 28.3             | 0   | 0    | 0   | 0.12 | 0.91 | 0.91 | 1.4  | 0.29 | 0.49 | 0.17 | 0   | 0   | 0   | 0.90 | 0    | 5.2   |
| 2015 |                               | 14  | F      | 0.413          | 30.1             | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.4  | 0.59 | 0.69 | 0.23 | 0.25 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.56 | 0    | 3.7   |
| 2015 |                               | 15  | F      | 0.244          | 22.1             | 0   | 0    | 0   | 1.2  | 1.5  | 0.22 | 0.44 | 0.28 | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.48 | 0    | 4.1   |
| 2015 |                               | 16  | F      | 0.363          | 28.7             | 0   | 0    | 0   | 0.23 | 0.49 | 0.25 | 0.56 | 0.22 | 0.15 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.58 | 0    | 2.5   |
| 2015 |                               | 17  | F      | 0.383          | 27.5             | 0   | 0    | 0   | 0.34 | 0.74 | 0.49 | 1.0  | 0.44 | 0.30 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.80 | 0    | 4.1   |
| 2015 |                               | 18  | F      | 0.344          | 27.0             | 0   | 0    | 0   | 0.19 | 0.99 | 0.71 | 0.94 | 0    | 0.25 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.68 | 0    | 3.8   |
| 2015 |                               | 19  | F      | 0.280          | 26.3             | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.6  | 0.79 | 0.67 | 0.20 | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.72 | 0    | 3.9   |
| 2015 |                               | 20  | F      | 0.299          | 26.0             | 0   | 0    | 0   | 1.0  | 1.5  | 0.50 | 0.67 | 0    | 0.18 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.58 | 0    | 4.4   |
| 2015 |                               | 21  | M      | 0.231          | 24.3             | 0   | 0.35 | 0   | 0    | 0.92 | 0    | 0.67 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.54 | 0    | 2.5   |
| 2015 |                               | 22  | M      | 0.277          | 26.2             | 0   | 0    | 0   | 0.28 | 1.6  | 0.28 | 0.69 | 0    | 0.24 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.71 | 0    | 3.8   |
| 2015 |                               | 23  | M      | 0.242          | 24.0             | 0   | 0    | 0   | 0.28 | 1.3  | 0.33 | 0.74 | 0.35 | 0.30 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.59 | 0    | 3.8   |
| 2015 |                               | 24  | M      | 0.202          | 23.9             | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.8  | 0.37 | 0.47 | 0.34 | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.44 | 0    | 3.4   |
| 2015 |                               | 25  | M      | 0.214          | 23.4             | 0   | 0    | 0   | 1.3  | 1.7  | 0.26 | 0.71 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.44 | 0    | 4.4   |
| 2015 |                               | 26  | F      | 0.345          | 27.4             | 0   | 0    | 0   | 0    | 1.1  | 0.43 | 0.75 | 0    | 0.18 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.51 | 0    | 3.0   |
| 2015 |                               | 27  | F      | 0.258          | 24.6             | 0   | 0    | 0   | 0.27 | 1.5  | 0.55 | 0.75 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.68 | 0    | 3.8   |

| year | site     | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A  | C6A  | C7A  | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S  | C10S | total |
|------|----------|-----|--------|----------------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 2015 |          | 28  | F      | 0.303          | 25.0             | 0    | 0    | 0    | 0.20 | 1.6  | 1.1  | 0.91 | 0    | 0.22 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.48 | 0    | 4.5   |
| 2015 |          | 29  | F      | 0.269          | 25.8             | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.89 | 0.59 | 0.69 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.73 | 0    | 2.9   |
| 2015 |          | 30  | F      | 0.281          | 24.3             | 0    | 0    | 0    | 0.96 | 1.1  | 0.35 | 0.80 | 0    | 0    | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.82 | 0    | 4.0   |
| 2015 | Ibaraki  | 1   | M      | 0.375          | 28.58            | 0.41 | 1.3  | 0    | 0.59 | 2.3  | 4.3  | 26   | 21   | 14   | 2.8  | 0   | 0   | 0   | 6.4  | 1.7  | 81    |
| 2015 |          | 2   | M      | 0.351          | 28.70            | 0    | 0    | 0    | 0.50 | 3.2  | 7.5  | 32   | 22   | 16   | 2.9  | 0   | 0   | 0   | 13   | 2.1  | 99    |
| 2015 |          | 3   | M      | 0.358          | 28.89            | 0    | 0    | 0    | 0.46 | 3.5  | 5.4  | 15   | 11   | 8.6  | 2.1  | 0   | 0   | 0   | 12   | 1.0  | 59    |
| 2015 |          | 4   | M      | 0.372          | 28.28            | 0    | 0    | 0    | 0.28 | 2.2  | 7.5  | 27   | 13   | 12   | 2.3  | 0   | 0   | 0   | 12   | 1.2  | 77    |
| 2015 |          | 5   | M      | 0.357          | 27.81            | 0    | 0    | 0    | 0.89 | 2.1  | 1.9  | 8.0  | 6.8  | 6.0  | 1.6  | 0   | 0   | 0   | 3.9  | 0.83 | 32    |
| 2015 |          | 6   | M      | 0.286          | 26.53            | 0.23 | 0.56 | 0    | 0.31 | 2.1  | 3.3  | 11   | 12   | 6.3  | 1.9  | 0   | 0   | 0   | 6.9  | 0.92 | 45    |
| 2015 |          | 7   | M      | 0.352          | 27.35            | 0    | 0    | 0    | 0.35 | 1.8  | 3.0  | 13   | 8.5  | 6.1  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 5.0  | 0.80 | 40    |
| 2015 |          | 8   | M      | 0.265          | 26.00            | 0    | 0    | 0    | 0.33 | 2.6  | 5.5  | 18   | 9.6  | 6.0  | 1.6  | 0   | 0   | 0   | 7.6  | 1.1  | 52    |
| 2015 |          | 9   | M      | 0.231          | 24.02            | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.8  | 5.6  | 12   | 8.4  | 5.0  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 7.6  | 0.88 | 43    |
| 2015 |          | 10  | M      | 0.227          | 24.48            | 0    | 0    | 0.49 | 0.95 | 3.3  | 6.1  | 15   | 8.1  | 4.9  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 9.6  | 0.83 | 51    |
| 2015 |          | 11  | M      | 0.225          | 24.26            | 0.62 | 1.3  | 0    | 0.43 | 3.2  | 5.7  | 13   | 10   | 3.7  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 10   | 0.68 | 50    |
| 2015 |          | 12  | F      | 0.280          | 26.06            | 0    | 0    | 0    | 0.35 | 3.1  | 6.3  | 12   | 6.2  | 3.8  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 7.0  | 0.59 | 40    |
| 2015 |          | 13  | F      | 0.310          | 25.54            | 0    | 0    | 0    | 0.29 | 3.5  | 8.7  | 28   | 17   | 11   | 2.0  | 0   | 0   | 0   | 13   | 1.9  | 85    |
| 2015 |          | 14  | F      | 0.197          | 23.80            | 0    | 0    | 0    | 0.42 | 3.4  | 9.7  | 12   | 6.5  | 4.3  | 0.99 | 0   | 0   | 0   | 11   | 0.74 | 49    |
| 2015 |          | 15  | F      | 0.234          | 23.93            | 0.27 | 0    | 0    | 1.7  | 2.3  | 6.3  | 11   | 7.4  | 4.6  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 8.3  | 0.76 | 44    |
| 2015 |          | 16  | F      | 0.216          | 24.20            | 0.57 | 1.4  | 0    | 0.69 | 3.3  | 5.6  | 9.9  | 8.1  | 3.4  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 9.9  | 0.88 | 45    |
| 2015 |          | 17  | F      | 0.230          | 24.13            | 0.22 | 0    | 0    | 0.35 | 3.5  | 8.4  | 12   | 9.2  | 6.2  | 1.7  | 0   | 0   | 0   | 8.7  | 0.96 | 51    |
| 2015 |          | 18  | F      | 0.198          | 24.52            | 0    | 0    | 0    | 0.35 | 3.0  | 7.1  | 8.4  | 6.5  | 3.3  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 8.2  | 0.69 | 39    |
| 2015 |          | 19  | F      | 0.213          | 23.73            | 0    | 0    | 0    | 0    | 3.1  | 5.2  | 9.3  | 6.4  | 4.1  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 7.6  | 0.67 | 37    |
| 2015 |          | 20  | F      | 0.173          | 22.00            | 0    | 0    | 0    | 1.5  | 3.3  | 9.0  | 8.0  | 6.8  | 4.2  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 6.5  | 0.62 | 41    |
| 2015 |          | 21  | M      | 0.190          | 23.23            | 0    | 0    | 0    | 0.59 | 3.2  | 7.7  | 13   | 7.5  | 4.7  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 8.0  | 0.93 | 47    |
| 2015 |          | 22  | M      | 0.225          | 24.21            | 0    | 0    | 0    | 0.46 | 3.1  | 5.6  | 11   | 5.9  | 3.9  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 5.5  | 0.63 | 37    |
| 2015 |          | 23  | M      | 0.224          | 23.27            | 0    | 0    | 0    | 0.28 | 2.4  | 3.9  | 18   | 10   | 7.5  | 1.7  | 0   | 0   | 0   | 5.5  | 1.2  | 51    |
| 2015 |          | 24  | M      | 0.191          | 22.57            | 0    | 0    | 0    | 1.9  | 3.1  | 4.0  | 7.6  | 5.0  | 3.0  | 0.97 | 0   | 0   | 0   | 5.9  | 0.58 | 32    |
| 2015 |          | 25  | M      | 0.219          | 23.55            | 0    | 0    | 0    | 0.45 | 2.9  | 5.3  | 11   | 7.4  | 5.1  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 6.6  | 0.80 | 41    |
| 2015 |          | 26  | M      | 0.366          | 29.13            | 0    | 0    | 0    | 0.20 | 2.0  | 3.9  | 8.2  | 6.3  | 2.7  | 0.75 | 0   | 0   | 0   | 8.1  | 0.71 | 33    |
| 2015 |          | 27  | M      | 0.227          | 24.72            | 0    | 0    | 0.29 | 0    | 3.0  | 3.8  | 11   | 7.4  | 4.6  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 5.4  | 0.74 | 37    |
| 2015 |          | 28  | F      | 0.429          | 30.51            | 0    | 0    | 0    | 0.83 | 2.1  | 5.8  | 20   | 10   | 6.1  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 7.9  | 1.3  | 55    |
| 2015 | Ishikawa | 1   | F      | 0.186          | 22.50            | 0    | 0    | 0    | 0.80 | 0.33 | 3.1  | 5.2  | 2.6  | 2.1  | 0.83 | 0   | 0   | 0   | 9.4  | 0    | 24    |
| 2015 |          | 2   | M      | 0.154          | 20.65            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 1.7  | 4.3  | 3.7  | 3.3  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 7.2  | 0    | 21    |
| 2015 |          | 3   | M      | 0.200          | 22.05            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.26 | 2.8  | 6.9  | 4.7  | 4.6  | 1.6  | 0   | 0   | 0   | 11   | 0.27 | 32    |
| 2015 |          | 4   | M      | 0.193          | 21.60            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.5  | 7.9  | 5.5  | 4.0  | 1.9  | 0   | 0   | 0   | 7.9  | 0.37 | 30    |
| 2015 |          | 5   | F      | 0.132          | 19.46            | 0    | 0.49 | 0    | 0    | 0    | 2.2  | 3.6  | 3.5  | 3.1  | 1.9  | 0   | 0   | 0   | 7.6  | 0    | 22    |
| 2015 |          | 6   | F      | 0.106          | 20.71            | 0    | 0    | 0    | 1.7  | 0    | 2.1  | 3.9  | 2.6  | 3.7  | 1.8  | 0   | 0   | 0   | 6.8  | 0    | 23    |
| 2015 |          | 7   | F      | 0.173          | 21.50            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.6  | 5.4  | 1.8  | 3.4  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 6.4  | 0    | 21    |
| 2015 |          | 8   | M      | 0.164          | 21.47            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 1.7  | 5.7  | 3.7  | 3.6  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 6.1  | 0    | 22    |

| year | site    | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A  | C6A  | C7A  | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S  | C7S  | C8S | C10S | total |
|------|---------|-----|--------|----------------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|-----|------|-------|
| 2015 |         | 9   | F      | 0.248          | 23.26            | 0    | 0    | 0    | 0.22 | 0.67 | 6.6  | 11   | 4.5  | 3.3  | 1.1  | 0   | 0    | 0    | 17  | 0.21 | 44    |
| 2015 |         | 10  | F      | 0.232          | 21.79            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 1.3  | 2.7  | 2.1  | 2.3  | 0.85 | 0   | 0    | 0    | 4.9 | 0    | 14    |
| 2015 |         | 11  | F      | 0.176          | 21.47            | 0    | 0    | 0    | 0.82 | 0    | 3.0  | 6.3  | 2.7  | 3.4  | 1.3  | 0   | 0    | 0    | 8.9 | 0    | 26    |
| 2015 |         | 12  | M      | 0.156          | 20.99            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.2  | 5.7  | 4.4  | 2.9  | 2.2  | 0   | 0    | 0    | 7.9 | 0    | 25    |
| 2015 |         | 13  | M      | 0.113          | 18.53            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.4  | 5.0  | 4.0  | 2.9  | 1.9  | 0   | 0    | 0    | 7.8 | 0    | 24    |
| 2015 |         | 14  | F      | 0.184          | 21.28            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.96 | 3.0  | 3.0  | 2.3  | 1.4  | 0   | 0    | 0    | 4.2 | 0    | 15    |
| 2015 |         | 15  | M      | 0.129          | 20.29            | 0    | 0    | 0    | 1.1  | 0    | 1.3  | 4.3  | 4.4  | 3.6  | 2.2  | 0   | 0    | 0    | 5.3 | 0    | 22    |
| 2015 |         | 16  | M      | 0.183          | 21.65            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 1.7  | 4.3  | 2.8  | 2.9  | 1.5  | 0   | 0    | 0    | 6.7 | 0.29 | 20    |
| 2015 |         | 17  | F      | 0.171          | 21.09            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 3.4  | 5.7  | 4.0  | 3.4  | 1.5  | 0   | 0    | 0    | 11  | 0    | 29    |
| 2015 |         | 18  | M      | 0.163          | 21.10            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.1  | 6.2  | 3.6  | 3.2  | 1.5  | 0   | 0    | 0    | 5.9 | 0    | 22    |
| 2015 |         | 19  | M      | 0.171          | 21.57            | 0    | 0    | 0    | 0.70 | 0    | 2.6  | 6.0  | 5.1  | 3.5  | 1.5  | 0   | 0    | 0    | 9.5 | 0    | 29    |
| 2015 |         | 20  | M      | 0.203          | 22.77            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.9  | 6.8  | 4.5  | 4.2  | 1.8  | 0   | 0    | 0    | 7.5 | 0.31 | 28    |
| 2015 |         | 21  | ?      | 0.091          | 18.06            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.5  | 3.5  | 4.2  | 1.8  | 1.4  | 0   | 0    | 0    | 8.9 | 0    | 22    |
| 2015 |         | 22  | F      | 0.111          | 19.59            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.1  | 3.3  | 3.1  | 2.6  | 1.5  | 0   | 0    | 0    | 6.5 | 0    | 19    |
| 2015 | Hyogo   | 1   | ?      | 0.094          | 19.25            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.88 | 4.2  | 25   | 24   | 26   | 6.8  | 0   | 0    | 0    | 42  | 1.3  | 131   |
| 2015 |         | 2   | ?      | 0.142          | 21.21            | 0    | 0    | 0    | 0    | 1.2  | 4.2  | 25   | 21   | 24   | 7.0  | 0   | 0.50 | 0    | 63  | 1.7  | 147   |
| 2015 |         | 3   | ?      | 0.093          | 16.82            | 0    | 0.90 | 0    | 0    | 1.4  | 2.9  | 18   | 14   | 13   | 3.5  | 0   | 0    | 0    | 39  | 0.92 | 94    |
| 2015 |         | 4   | ?      | 0.138          | 18.90            | 0    | 0    | 0    | 1.5  | 1.0  | 6.4  | 28   | 19   | 21   | 5.8  | 0   | 0.37 | 0    | 61  | 1.6  | 147   |
| 2015 |         | 5   | ?      | 0.111          | 18.80            | 0    | 3.7  | 0    | 0    | 0.77 | 4.0  | 23   | 8.5  | 15   | 3.1  | 0   | 0.46 | 0    | 57  | 1.1  | 116   |
| 2015 |         | 6   | ?      | 0.122          | 19.82            | 0    | 0    | 0    | 0    | 1.8  | 12   | 69   | 26   | 25   | 3.7  | 0   | 0.45 | 0    | 91  | 2.9  | 231   |
| 2015 |         | 7   | ?      | 0.083          | 18.11            | 1.0  | 0    | 0    | 0.66 | 1.6  | 3.8  | 20   | 20   | 22   | 7.7  | 0   | 0    | 0    | 44  | 1.3  | 122   |
| 2015 |         | 8   | ?      | 0.176          | 22.26            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.77 | 3.2  | 31   | 20   | 28   | 6.3  | 0   | 0.35 | 0    | 45  | 1.7  | 136   |
| 2015 |         | 9   | ?      | 0.126          | 20.74            | 0    | 0    | 0    | 1.4  | 0.94 | 3.7  | 27   | 22   | 27   | 7.4  | 0   | 0    | 0    | 48  | 1.5  | 139   |
| 2015 |         | 10  | F      | 0.135          | 21.82            | 0    | 0    | 0    | 0.43 | 4.6  | 9.0  | 43   | 33   | 57   | 17   | 0   | 1.0  | 0.47 | 145 | 4.3  | 315   |
| 2015 |         | 11  | ?      | 0.215          | 24.75            | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.0  | 6.0  | 42   | 20   | 25   | 5.0  | 0   | 0.41 | 0    | 62  | 2.1  | 165   |
| 2015 |         | 12  | F      | 0.098          | 19.14            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0.85 | 5.0  | 22   | 19   | 18   | 4.6  | 0   | 0    | 0    | 41  | 1.1  | 111   |
| 2015 |         | 13  | M      | 0.178          | 21.85            | 0    | 0    | 0.39 | 0.98 | 4.4  | 5.3  | 36   | 20   | 41   | 11   | 0   | 1.0  | 0    | 64  | 2.2  | 187   |
| 2015 |         | 14  | ?      | 0.096          | 17.19            | 0    | 0    | 0    | 1.8  | 2.3  | 4.1  | 20   | 14   | 23   | 8.0  | 0   | 0.57 | 0    | 52  | 1.4  | 126   |
| 2015 |         | 15  | ?      | 0.064          | 16.63            | 0    | 0    | 0    | 0    | 3.8  | 4.6  | 25   | 16   | 26   | 8.6  | 0   | 0    | 0    | 49  | 1.3  | 135   |
| 2015 |         | 16  | F      | 0.177          | 23.10            | 0    | 0    | 0    | 0    | 1.2  | 3.0  | 29   | 20   | 27   | 7.7  | 0   | 0.32 | 0    | 57  | 1.9  | 146   |
| 2015 |         | 17  | ?      | 0.111          | 20.96            | 4.5  | 0    | 0    | 0    | 1.4  | 4.1  | 20   | 17   | 20   | 5.0  | 0   | 0.62 | 0    | 61  | 1.2  | 134   |
| 2015 |         | 18  | ?      | 0.095          | 18.89            | 0    | 0    | 0    | 0.61 | 7.1  | 5.6  | 27   | 21   | 31   | 10   | 0   | 1.4  | 0    | 100 | 2.3  | 205   |
| 2015 |         | 19  | ?      | 0.045          | 不明               | 0    | 0    | 0    | 3.3  | 2.1  | 5.1  | 22   | 34   | 22   | 6.0  | 0   | 0    | 0    | 40  | 0    | 134   |
| 2015 |         | 20  | ?      | 0.121          | 21.48            | 0    | 0    | 0    | 0    | 2.3  | 3.9  | 25   | 24   | 36   | 7.7  | 0   | 0.45 | 0    | 53  | 1.7  | 154   |
| 2015 |         | 21  | ?      | 0.130          | 19.62            | 0.72 | 0    | 0    | 0    | 1.9  | 3.2  | 21   | 21   | 29   | 9.1  | 0   | 0.58 | 0    | 72  | 1.6  | 161   |
| 2015 |         | 22  | ?      | 0.095          | 20.59            | 0    | 0    | 0    | 0    | 1.0  | 5.9  | 34   | 23   | 38   | 9.5  | 0   | 0    | 0    | 71  | 2.3  | 186   |
| 2015 |         | 23  | ?      | 0.040          | 17.64            | 0    | 0    | 0    | 0    | 3.2  | 7.6  | 43   | 28   | 31   | 8.9  | 0   | 0    | 0    | 99  | 2.4  | 222   |
| 2015 |         | 24  | ?      | 0.131          | 21.57            | 0    | 0    | 0    | 1.3  | 2.1  | 4.4  | 26   | 20   | 31   | 7.5  | 0   | 0.46 | 0    | 57  | 1.6  | 152   |
| 2015 | Fukuoka | 1   | M      | 0.139          | 21.35            | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 1.4  | 2.0  | 0.58 | 1.0  | 0    | 0   | 0    | 0    | 1.4 | 0    | 6.4   |

| year | site  | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A | C6A | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S  | C6S | C7S  | C8S  | C10S | total |
|------|-------|-----|--------|----------------|------------------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|-------|
| 2015 |       | 2   | M      | 0.121          | 20.33            | 0   | 0   | 0   | 0.53 | 0    | 0.42 | 2.2  | 1.5  | 2.9  | 0.75 | 0    | 0   | 0    | 1.3  | 0    | 9.7   |
| 2015 |       | 3   | F      | 0.202          | 22.80            | 0   | 0   | 0   | 0.41 | 0.38 | 1.3  | 6.8  | 0    | 0.88 | 0    | 0    | 0   | 0    | 3.0  | 0    | 13    |
| 2015 |       | 4   | M      | 0.111          | 19.68            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.71 | 5.3  | 2.4  | 4.7  | 1.3  | 0    | 0   | 0    | 1.1  | 0    | 15    |
| 2015 |       | 5   | M      | 0.143          | 20.66            | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 0    | 0.80 | 12   | 13   | 18   | 3.1  | 0    | 0   | 0    | 1.6  | 0.87 | 52    |
| 2015 |       | 6   | F      | 0.197          | 24.52            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.73 | 2.7  | 3.7  | 3.3  | 0.89 | 0    | 0   | 0    | 1.5  | 0    | 13    |
| 2015 |       | 7   | M      | 0.169          | 22.16            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.34 | 0.90 | 6.4  | 4.2  | 5.1  | 1.1  | 0    | 0   | 0    | 1.6  | 0.44 | 20    |
| 2015 |       | 8   | F      | 0.208          | 22.72            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.30 | 2.1  | 3.5  | 3.6  | 1.0  | 0    | 0   | 0    | 0.83 | 0.30 | 12    |
| 2015 |       | 9   | M      | 0.138          | 20.80            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 1.3  | 5.9  | 5.4  | 4.3  | 0.88 | 0    | 0   | 0.37 | 2.2  | 0.79 | 21    |
| 2015 |       | 10  | M      | 0.178          | 22.71            | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 0    | 0.47 | 1.7  | 3.1  | 2.0  | 0.68 | 0    | 0   | 0    | 0.64 | 0    | 9.8   |
| 2015 |       | 11  | M      | 0.149          | 21.69            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.37 | 1.5  | 7.2  | 4.0  | 2.2  | 0.41 | 0.36 | 0   | 0    | 8.9  | 0    | 25    |
| 2015 |       | 12  | M      | 0.178          | 23.57            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.33 | 0.59 | 3.4  | 3.9  | 4.3  | 1.2  | 0    | 0   | 0    | 1.1  | 0    | 15    |
| 2015 |       | 13  | F      | 0.165          | 21.53            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 1.0  | 7.8  | 6.3  | 6.3  | 1.7  | 0    | 0   | 0    | 1.7  | 0.76 | 26    |
| 2015 |       | 14  | F      | 0.186          | 22.70            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.44 | 0.39 | 2.7  | 2.7  | 1.2  | 0    | 0    | 0   | 0    | 0.91 | 0    | 8.2   |
| 2015 |       | 15  | F      | 0.189          | 23.35            | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 0.47 | 2.2  | 5.5  | 2.7  | 0.42 | 0    | 0   | 0    | 1.0  | 0    | 14    |
| 2015 |       | 16  | M      | 0.150          | 21.26            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 1.8  | 13   | 9.0  | 11   | 2.2  | 0    | 0   | 0    | 2.4  | 1.2  | 40    |
| 2015 |       | 17  | M      | 0.183          | 22.43            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0    | 0.52 | 2.2  | 3.9  | 2.2  | 0.98 | 0    | 0   | 0    | 0.68 | 0    | 10    |
| 2015 |       | 18  | M      | 0.117          | 19.64            | 0   | 0   | 0   | 0.57 | 0    | 1.7  | 4.3  | 6.3  | 4.0  | 1.5  | 0    | 0   | 0    | 1.6  | 0.60 | 21    |
| 2015 |       | 19  | M      | 0.085          | 18.06            | 0   | 0   | 0   | 0.81 | 1.5  | 3.3  | 38   | 33   | 36   | 6.8  | 0    | 0   | 0    | 5.0  | 3.0  | 128   |
| 2015 |       | 20  | M      | 0.171          | 21.92            | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 0.80 | 2.7  | 4.2  | 2.2  | 0.75 | 0    | 0   | 0    | 1.6  | 0.31 | 14    |
| 2015 |       | 21  | F      | 0.189          | 20.99            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.40 | 0.50 | 2.4  | 2.9  | 2.6  | 0.50 | 0.51 | 0   | 0    | 1.4  | 0.30 | 11    |
| 2015 |       | 22  | M      | 0.156          | 21.39            | 0   | 0   | 0   | 0    | 0.71 | 0.73 | 1.6  | 4.0  | 3.6  | 0.90 | 0    | 0   | 0    | 1.3  | 0    | 13    |
| 2015 |       | 23  | F      | 0.273          | 25.68            | 0   | 0   | 0   | 0    | 1.8  | 2.3  | 11   | 3.5  | 1.6  | 0.24 | 0    | 0   | 0    | 6.1  | 0.20 | 26    |
| 2015 |       | 24  | M      | 0.124          | 20.21            | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 0.95 | 1.1  | 16   | 21   | 21   | 4.5  | 0    | 0   | 0    | 1.6  | 2.2  | 69    |
| 2016 | Iwate | 1   | M      | 0.709          | 32.7             | 0   | 0   | 0   | 0.59 | 0.13 | 0.25 | 1.2  | 0.40 | 0.53 | 0.10 | 0    | 0   | 0    | 0.59 | 0    | 3.7   |
| 2016 |       | 2   | M      | 0.507          | 30.0             | 0   | 0   | 0   | 0.17 | 0.11 | 0.21 | 1.0  | 0.37 | 0.60 | 0.11 | 0    | 0   | 0    | 0.47 | 0    | 3.1   |
| 2016 |       | 3   | M      | 0.432          | 27.8             | 0   | 0   | 0   | 0.24 | 0.19 | 0.50 | 3.1  | 1.0  | 1.1  | 0.21 | 0    | 0   | 0    | 0.88 | 0    | 7.2   |
| 2016 |       | 4   | M      | 0.475          | 29.0             | 0   | 0   | 0   | 0.33 | 0.15 | 0.17 | 1.7  | 0.57 | 0.77 | 0.15 | 0    | 0   | 0    | 0.67 | 0    | 4.5   |
| 2016 |       | 5   | M      | 0.460          | 26.1             | 0   | 0   | 0   | 0.27 | 0.26 | 0.57 | 2.5  | 0.92 | 1.4  | 0.28 | 0    | 0   | 0    | 1.8  | 0    | 7.9   |
| 2016 |       | 6   | M      | 0.472          | 28.7             | 0   | 0   | 0   | 0.88 | 0.11 | 0.18 | 1.2  | 0.60 | 0.79 | 0.18 | 0    | 0   | 0    | 0.71 | 0    | 4.7   |
| 2016 |       | 7   | M      | 0.455          | 28.7             | 0   | 0   | 0   | 0.32 | 0.17 | 0.19 | 1.7  | 0.78 | 1.0  | 0.18 | 0    | 0   | 0    | 0.45 | 0    | 4.8   |
| 2016 |       | 8   | M      | 0.353          | 26.5             | 0   | 0   | 0   | 0.36 | 0.23 | 0.27 | 0.60 | 0    | 0.23 | 0    | 0    | 0   | 0    | 0.59 | 0    | 2.3   |
| 2016 |       | 9   | M      | 0.461          | 25.5             | 0   | 0   | 0   | 0.30 | 0.13 | 0.21 | 1.4  | 0.57 | 0.81 | 0.21 | 0    | 0   | 0    | 0.68 | 0    | 4.3   |
| 2016 |       | 10  | M      | 0.546          | 28.6             | 0   | 0   | 0   | 0.20 | 0.10 | 0.25 | 3.5  | 1.9  | 1.8  | 0.30 | 0    | 0   | 0    | 0.78 | 0    | 8.9   |
| 2016 |       | 11  | M      | 0.324          | 24.3             | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0.16 | 0.24 | 0.47 | 0    | 0.19 | 0    | 0    | 0   | 0    | 0.56 | 0    | 2.9   |
| 2016 |       | 12  | M      | 0.414          | 27.3             | 0   | 0   | 0   | 0.37 | 0.12 | 0.15 | 2.5  | 1.5  | 1.9  | 0.37 | 0    | 0   | 0    | 0.97 | 0    | 7.9   |
| 2016 |       | 13  | M      | 0.482          | 27.3             | 0   | 0   | 0   | 0.32 | 0.13 | 0.20 | 1.9  | 0.94 | 1.2  | 0.20 | 0    | 0   | 0    | 0.58 | 0    | 5.5   |
| 2016 |       | 14  | M      | 0.439          | 28.6             | 0   | 0   | 0   | 0.37 | 0    | 0.28 | 1.5  | 0.68 | 0.88 | 0.14 | 0    | 0   | 0    | 0.58 | 0    | 4.5   |
| 2016 |       | 15  | M      | 0.396          | 27.7             | 0   | 0   | 0   | 0.47 | 0.16 | 0.31 | 1.4  | 0.48 | 0.69 | 0.18 | 0    | 0   | 0    | 0.52 | 0    | 4.2   |
| 2016 |       | 16  | F      | 0.279          | 23.2             | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 0.30 | 0.58 | 0    | 0.25 | 0    | 0    | 0   | 0    | 0.39 | 0    | 2.9   |

| year | site     | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A | C6A | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S  | C10S | total |
|------|----------|-----|--------|----------------|------------------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 2016 |          | 17  | F      | 0.379          | 26.0             | 0   | 0   | 0   | 0.41 | 0.14 | 0.27 | 0.57 | 0.17 | 0.23 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.56 | 0    | 2.3   |
| 2016 |          | 18  | F      | 0.323          | 25.8             | 0   | 0   | 0   | 0.46 | 0.21 | 0.21 | 0.49 | 0.20 | 0.19 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.44 | 0    | 2.2   |
| 2016 |          | 19  | F      | 0.966          | 35.7             | 0   | 0   | 0   | 0.11 | 0.16 | 0.32 | 0.62 | 0.19 | 0.23 | 0.06 | 0   | 0   | 0   | 0.75 | 0    | 2.4   |
| 2016 |          | 20  | F      | 0.523          | 30.1             | 0   | 0   | 0   | 0.22 | 0.32 | 0.80 | 2.6  | 0.94 | 1.1  | 0.23 | 0   | 0   | 0   | 2.6  | 0    | 8.8   |
| 2016 |          | 21  | F      | 0.471          | 30.4             | 0   | 0   | 0   | 0.87 | 0.10 | 0.21 | 2.5  | 1.3  | 1.6  | 0.27 | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 8.1   |
| 2016 |          | 22  | F      | 0.708          | 36.7             | 0   | 0   | 0   | 0.18 | 0.65 | 1.1  | 3.7  | 0.49 | 0.69 | 0.10 | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0    | 8.3   |
| 2016 |          | 23  | F      | 0.650          | 31.9             | 0   | 0   | 0   | 0.19 | 0.28 | 0.88 | 3.0  | 0.61 | 0.63 | 0.10 | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 6.9   |
| 2016 |          | 24  | F      | 0.838          | 36.6             | 0   | 0   | 0   | 0.15 | 0.62 | 0.71 | 1.1  | 0.22 | 0.35 | 0.06 | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 4.4   |
| 2016 |          | 25  | F      | 0.636          | 33.6             | 0   | 0   | 0   | 0.33 | 0.14 | 0.32 | 1.6  | 0.62 | 0.69 | 0.09 | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 5.0   |
| 2016 |          | 26  | F      | 0.440          | 29.0             | 0   | 0   | 0   | 0.81 | 0.19 | 0.45 | 4.9  | 2.7  | 3.0  | 0.43 | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 0    | 14    |
| 2016 |          | 27  | F      | 0.324          | 31.0             | 0   | 0   | 0   | 0.62 | 0.45 | 1.1  | 1.9  | 0.66 | 0.79 | 0.16 | 0   | 0   | 0   | 3.0  | 0    | 8.6   |
| 2016 |          | 28  | F      | 0.477          | 28.8             | 0   | 0   | 0   | 0.42 | 0.19 | 0.39 | 0.92 | 0.24 | 0.26 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.74 | 0    | 3.2   |
| 2016 |          | 29  | F      | 0.736          | 36.2             | 0   | 0   | 0   | 0.22 | 0.25 | 0.39 | 0.78 | 0.21 | 0.30 | 0    | 0   | 0   | 0   | 1.0  | 0    | 3.2   |
| 2016 |          | 30  | F      | 0.707          | 30.5             | 0   | 0   | 0   | 0.28 | 0.16 | 0.27 | 0.68 | 0.31 | 0.32 | 0    | 0   | 0   | 0   | 0.73 | 0    | 2.7   |
| 2016 | Ibaraki  | 1   | F      | 0.543          | 30.63            | 0   | 0   | 0   | 0.70 | 3.4  | 5.8  | 11   | 6.7  | 3.6  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 6.5  | 0.54 | 40    |
| 2016 |          | 2   | F      | 0.530          | 31.61            | 0   | 0   | 0   | 0.47 | 3.0  | 7.2  | 15   | 7.8  | 4.8  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 7.4  | 0.62 | 47    |
| 2016 |          | 3   | F      | 0.529          | 31.65            | 0   | 0   | 0   | 0.61 | 4.8  | 5.8  | 13   | 6.3  | 3.7  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 8.6  | 0.57 | 44    |
| 2016 |          | 4   | F      | 0.393          | 29.33            | 0   | 0   | 0   | 0.61 | 2.8  | 4.4  | 6.8  | 4.0  | 2.2  | 0.61 | 0   | 0   | 0   | 4.8  | 0.39 | 27    |
| 2016 |          | 5   | M      | 0.360          | 26.87            | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 2.0  | 4.4  | 12   | 5.4  | 4.4  | 1.5  | 0   | 0   | 0   | 7.5  | 0.32 | 39    |
| 2016 |          | 6   | F      | 0.607          | 33.12            | 0   | 0   | 0   | 0.51 | 4.9  | 10   | 24   | 11   | 5.6  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 9.6  | 1.1  | 68    |
| 2016 |          | 7   | M      | 0.503          | 29.87            | 0   | 0   | 0   | 0.50 | 2.3  | 3.1  | 8.8  | 6.3  | 5.0  | 1.6  | 0   | 0   | 0   | 4.3  | 0.33 | 32    |
| 2016 |          | 8   | M      | 0.388          | 27.54            | 0   | 0   | 0   | 0.57 | 1.4  | 2.9  | 13   | 8.5  | 6.4  | 2.0  | 0   | 0   | 0   | 3.5  | 0.40 | 39    |
| 2016 |          | 9   | F      | 0.616          | 33.16            | 0   | 0   | 0   | 0.62 | 4.7  | 8.4  | 18   | 12   | 7.7  | 1.7  | 0   | 0   | 0   | 7.9  | 0.70 | 62    |
| 2016 |          | 10  | F      | 0.451          | 28.81            | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 1.4  | 2.9  | 6.2  | 2.6  | 1.4  | 0.39 | 0   | 0   | 0   | 4.0  | 0.38 | 20    |
| 2016 |          | 11  | M      | 0.449          | 30.73            | 0   | 0   | 0   | 0.51 | 0.50 | 1.3  | 5.1  | 3.9  | 2.7  | 0.88 | 0   | 0   | 0   | 2.1  | 0.34 | 17    |
| 2016 |          | 12  | M      | 0.419          | 28.89            | 0   | 0   | 0   | 0.65 | 3.4  | 7.1  | 36   | 21   | 12   | 3.0  | 0   | 0   | 0   | 9.5  | 1.2  | 94    |
| 2016 |          | 13  | M      | 0.431          | 28.72            | 0   | 0   | 0   | 0.54 | 3.0  | 4.7  | 14   | 13   | 8.4  | 2.4  | 0   | 0   | 0   | 7.1  | 0.63 | 54    |
| 2016 |          | 14  | M      | 0.462          | 30.60            | 0   | 0   | 0   | 0.59 | 4.2  | 6.0  | 18   | 14   | 8.9  | 2.1  | 0   | 0   | 0   | 8.0  | 0.73 | 63    |
| 2016 |          | 15  | M      | 0.368          | 27.33            | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 2.7  | 5.7  | 22   | 12   | 7.6  | 2.1  | 0   | 0   | 0   | 6.4  | 0.85 | 62    |
| 2016 |          | 16  | M      | 0.263          | 24.65            | 0   | 0   | 0   | 0.89 | 2.1  | 3.3  | 9.2  | 5.7  | 4.1  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 3.8  | 0.29 | 31    |
| 2016 |          | 17  | M      | 0.329          | 26.76            | 0   | 0   | 0   | 0.61 | 2.5  | 4.8  | 13   | 7.3  | 4.8  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 5.4  | 0.48 | 40    |
| 2016 |          | 18  | F      | 0.536          | 31.23            | 0   | 0   | 0   | 0.41 | 2.7  | 5.6  | 9.0  | 5.1  | 2.7  | 0.64 | 0   | 0   | 0   | 6.1  | 0.49 | 33    |
| 2016 |          | 19  | F      | 0.464          | 28.84            | 0   | 0   | 0   | 0.54 | 4.3  | 5.9  | 10   | 5.1  | 3.1  | 0.82 | 0   | 0   | 0   | 7.2  | 0.45 | 38    |
| 2016 |          | 20  | F      | 0.505          | 30.28            | 0   | 0   | 0   | 0.94 | 4.4  | 8.6  | 22   | 12   | 6.8  | 1.7  | 0   | 0   | 0   | 10   | 0.81 | 67    |
| 2016 | Ishikawa | 1   | M      | 0.358          | 25.83            | 0   | 0   | 0   | 0.35 | 0    | 1.2  | 12   | 12   | 9.0  | 2.9  | 0   | 0   | 0   | 3.8  | 0.60 | 42    |
| 2016 |          | 2   | F      | 0.160          | 20.17            | 0   | 0   | 0   | 0.87 | 0.37 | 2.0  | 5.7  | 4.1  | 3.0  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 5.2  | 0    | 23    |
| 2016 |          | 3   | M      | 0.282          | 24.27            | 0   | 0   | 0   | 0.46 | 0.34 | 3.6  | 17   | 14   | 8.6  | 3.4  | 0   | 0   | 0   | 7.8  | 0.62 | 56    |
| 2016 |          | 4   | F      | 0.284          | 25.22            | 0   | 0   | 0   | 0.63 | 0.97 | 6.9  | 38   | 29   | 16   | 4.7  | 0   | 0   | 0   | 17   | 1.4  | 115   |
| 2016 |          | 5   | M      | 0.248          | 23.23            | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 0.21 | 2.8  | 34   | 42   | 29   | 8.1  | 0   | 0   | 0   | 6.3  | 2.1  | 126   |



| year | site    | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A | C6A | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S | C10S | total |
|------|---------|-----|--------|----------------|------------------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|------|-------|
| 2016 |         | 6   | F      | 0.253          | 24.46            | 0   | 0   | 0   | 0.48 | 0.63 | 6.0  | 29   | 24   | 14   | 3.6  | 0   | 0   | 0   | 14  | 1.0  | 92    |
| 2016 |         | 7   | M      | 0.404          | 27.63            | 0   | 0   | 0   | 0.33 | 0.13 | 1.5  | 20   | 26   | 20   | 6.1  | 0   | 0   | 0   | 4.2 | 1.1  | 80    |
| 2016 |         | 8   | F      | 0.117          | 18.85            | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0.57 | 3.0  | 10   | 7.6  | 5.4  | 1.9  | 0   | 0   | 0   | 7.4 | 0    | 37    |
| 2016 |         | 9   | M      | 0.192          | 21.74            | 0   | 0   | 0   | 0.73 | 0    | 2.4  | 13   | 10   | 7.1  | 2.4  | 0   | 0   | 0   | 5.5 | 0.38 | 42    |
| 2016 |         | 10  | F      | 0.211          | 22.07            | 0   | 0   | 0   | 2.3  | 0.35 | 2.0  | 7.7  | 5.1  | 3.0  | 1.1  | 0   | 0   | 0   | 6.1 | 0.44 | 28    |
| 2016 |         | 11  | M      | 0.206          | 22.09            | 0   | 0   | 0   | 0.65 | 0    | 0.92 | 11   | 14   | 12   | 3.8  | 0   | 0   | 0   | 2.6 | 0.77 | 45    |
| 2016 |         | 12  | F      | 0.142          | 18.76            | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0    | 1.9  | 5.7  | 4.4  | 3.1  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 4.5 | 0    | 22    |
| 2016 |         | 13  | M      | 0.262          | 23.55            | 0   | 0   | 0   | 0.51 | 0.19 | 1.8  | 20   | 26   | 19   | 5.9  | 0   | 0   | 0   | 5.7 | 1.3  | 80    |
| 2016 |         | 14  | F      | 0.227          | 22.21            | 0   | 0   | 0   | 0.62 | 0.46 | 3.9  | 11   | 5.7  | 3.6  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 6.7 | 0.33 | 34    |
| 2016 |         | 15  | M      | 0.321          | 24.23            | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 0.19 | 1.7  | 12   | 12   | 9.5  | 3.0  | 0   | 0   | 0   | 4.8 | 0.69 | 45    |
| 2016 |         | 16  | F      | 0.210          | 21.02            | 0   | 0   | 0   | 0.64 | 0    | 2.3  | 7.9  | 5.6  | 4.2  | 1.7  | 0   | 0   | 0   | 5.0 | 0.35 | 28    |
| 2016 |         | 17  | M      | 0.173          | 19.89            | 0   | 0   | 0   | 0.79 | 0.28 | 1.3  | 6.5  | 5.8  | 4.6  | 1.8  | 0   | 0   | 0   | 3.9 | 0.36 | 25    |
| 2016 |         | 18  | F      | 0.144          | 18.89            | 0   | 0   | 0   | 0.97 | 0.34 | 1.5  | 5.1  | 3.9  | 2.9  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 4.2 | 0    | 20    |
| 2016 |         | 19  | M      | 0.190          | 20.88            | 0   | 0   | 0   | 0.61 | 0.28 | 1.6  | 9.3  | 7.5  | 5.2  | 2.0  | 0   | 0   | 0   | 4.6 | 0.49 | 32    |
| 2016 |         | 20  | F      | 0.181          | 21.44            | 0   | 0   | 0   | 2.5  | 0.41 | 4.9  | 23   | 21   | 15   | 4.3  | 0   | 0   | 0   | 10  | 0.86 | 82    |
| 2016 | Hyogo   | 1   | F      | 0.323          | 24.11            | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 0.87 | 2.3  | 16   | 6.2  | 9.0  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 6.0 | 0    | 43    |
| 2016 |         | 2   | M      | 0.298          | 22.82            | 0   | 0   | 0   | 0.69 | 1.1  | 2.9  | 20   | 7.8  | 15   | 3.0  | 0   | 0   | 0   | 6.6 | 0    | 58    |
| 2016 |         | 3   | M      | 0.275          | 22.57            | 0   | 0   | 0   | 0.76 | 1.1  | 3.4  | 38   | 13   | 25   | 4.1  | 0   | 0   | 0   | 6.9 | 0    | 93    |
| 2016 |         | 4   | F      | 0.244          | 21.95            | 0   | 0   | 0   | 0.73 | 0.77 | 2.6  | 19   | 9.2  | 19   | 3.3  | 0   | 0   | 0   | 4.4 | 0    | 59    |
| 2016 |         | 5   | M      | 0.235          | 21.47            | 0   | 0   | 0   | 0.93 | 0.94 | 3.0  | 27   | 9.5  | 19   | 3.3  | 0   | 0   | 0   | 4.7 | 0    | 68    |
| 2016 |         | 6   | M      | 0.232          | 21.86            | 0   | 0   | 0   | 2.5  | 0.65 | 2.2  | 15   | 6.2  | 12   | 2.5  | 0   | 0   | 0   | 3.8 | 0    | 45    |
| 2016 |         | 7   | M      | 0.244          | 21.43            | 0   | 0   | 0   | 0.86 | 0.48 | 2.5  | 32   | 27   | 63   | 7.5  | 0   | 0   | 0   | 4.2 | 0    | 138   |
| 2016 |         | 8   | F      | 0.263          | 22.40            | 0   | 0   | 0   | 0.71 | 0.88 | 5.1  | 96   | 29   | 47   | 4.5  | 0   | 0   | 0   | 5.7 | 0    | 189   |
| 2016 |         | 9   | F      | 0.248          | 21.15            | 0   | 0   | 0   | 0.74 | 0.66 | 8.0  | 151  | 52   | 82   | 7.0  | 0   | 0   | 0   | 6.0 | 0    | 307   |
| 2016 |         | 10  | F      | 0.295          | 22.96            | 0   | 0   | 0   | 0.58 | 0.79 | 4.1  | 52   | 16   | 22   | 2.7  | 0   | 0   | 0   | 5.9 | 0    | 104   |
| 2016 |         | 11  | M      | 0.254          | 21.53            | 0   | 0   | 0   | 2.0  | 1.3  | 5.7  | 74   | 31   | 53   | 6.6  | 0   | 0   | 0   | 8.9 | 0    | 183   |
| 2016 |         | 12  | M      | 0.246          | 22.41            | 0   | 0   | 0   | 0.74 | 0.42 | 3.9  | 109  | 39   | 59   | 5.6  | 0   | 0   | 0   | 5.3 | 0    | 223   |
| 2016 |         | 13  | M      | 0.246          | 22.07            | 0   | 0   | 0   | 0.73 | 0.41 | 3.0  | 39   | 13   | 19   | 3.2  | 0   | 0   | 0   | 4.9 | 0    | 83    |
| 2016 |         | 14  | M      | 0.309          | 22.26            | 0   | 0   | 0   | 0.59 | 0.65 | 2.7  | 31   | 15   | 29   | 4.6  | 0   | 0   | 0   | 6.3 | 0    | 91    |
| 2016 |         | 15  | M      | 0.331          | 23.21            | 0   | 0   | 0   | 0.51 | 0.75 | 4.1  | 73   | 36   | 64   | 7.2  | 0   | 0   | 0   | 8.3 | 0.22 | 194   |
| 2016 |         | 16  | F      | 0.255          | 23.09            | 0   | 0   | 0   | 1.9  | 1.1  | 2.8  | 15   | 5.1  | 8.4  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 6.0 | 0    | 42    |
| 2016 |         | 17  | F      | 0.274          | 23.50            | 0   | 0   | 0   | 0.70 | 1.0  | 4.4  | 35   | 11   | 21   | 3.9  | 0   | 0   | 0   | 7.2 | 0    | 84    |
| 2016 |         | 18  | F      | 0.244          | 21.55            | 0   | 0   | 0   | 0.60 | 0.86 | 3.3  | 20   | 7.5  | 12   | 2.0  | 0   | 0   | 0   | 5.7 | 0    | 52    |
| 2016 |         | 19  | F      | 0.257          | 22.29            | 0   | 0   | 0   | 0.59 | 0.82 | 4.7  | 50   | 17   | 30   | 3.8  | 0   | 0   | 0   | 6.3 | 0    | 113   |
| 2016 |         | 20  | F      | 0.193          | 20.30            | 0   | 0   | 0   | 1.0  | 0.97 | 4.8  | 51   | 19   | 37   | 4.7  | 0   | 0   | 0   | 7.5 | 0    | 126   |
| 2016 | Fukuoka | 1   | F      | 0.172          | 21.62            | 0   | 0   | 0   | 0.86 | 1.1  | 9.0  | 26   | 4.7  | 4.0  | 0.81 | 0   | 0   | 0   | 19  | 0.73 | 67    |
| 2016 |         | 2   | F      | 0.148          | 20.97            | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 1.1  | 3.0  | 5.7  | 2.0  | 2.6  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 5.5 | 0    | 22    |
| 2016 |         | 3   | M      | 0.303          | 26.39            | 0   | 0   | 0   | 0.72 | 0.41 | 1.1  | 5.2  | 3.2  | 6.2  | 2.4  | 0   | 0   | 0   | 5.9 | 0.23 | 25    |
| 2016 |         | 4   | M      | 0.281          | 25.46            | 0   | 0   | 0   | 0.80 | 1.1  | 1.4  | 8.3  | 2.3  | 4.2  | 1.3  | 0   | 0   | 0   | 2.7 | 0    | 22    |

| year | site | No. | gender | wet weight (g) | body length (mm) | C5A | C6A | C7A | C8A  | C9A  | C10A | C11A | C12A | C13A | C14A | C4S | C6S | C7S | C8S | C10S | total |
|------|------|-----|--------|----------------|------------------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|------|-------|
| 2016 |      | 5   | M      | 0.207          | 21.83            | 0   | 0   | 0   | 2.4  | 1.4  | 5.5  | 11   | 3.0  | 5.1  | 2.0  | 0   | 0   | 0   | 16  | 0.36 | 46    |
| 2016 |      | 6   | M      | 0.173          | 21.47            | 0   | 0   | 0   | 1.1  | 0.96 | 2.3  | 5.8  | 2.7  | 5.0  | 2.1  | 0   | 0   | 0   | 7.6 | 0.30 | 28    |
| 2016 |      | 7   | M      | 0.205          | 21.87            | 0   | 0   | 0   | 0.97 | 0.73 | 1.7  | 6.0  | 3.5  | 6.3  | 2.6  | 0   | 0   | 0   | 7.7 | 0    | 29    |
| 2016 |      | 8   | F      | 0.121          | 18.98            | 0   | 0   | 0   | 1.5  | 2.2  | 4.7  | 7.3  | 1.6  | 3.0  | 1.0  | 0   | 0   | 0   | 9.8 | 0    | 31    |
| 2016 |      | 9   | M      | 0.150          | 20.60            | 0   | 0   | 0   | 0.99 | 0.99 | 2.3  | 8.1  | 3.0  | 4.4  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 8.5 | 0.44 | 30    |
| 2016 |      | 10  | M      | 0.157          | 21.05            | 0   | 0   | 0   | 3.7  | 1.9  | 6.7  | 19   | 3.9  | 5.6  | 1.6  | 0   | 0   | 0   | 15  | 0.65 | 58    |
| 2016 |      | 11  | M      | 0.150          | 20.82            | 0   | 0   | 0   | 1.2  | 1.5  | 4.8  | 11   | 3.1  | 4.9  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 8.6 | 0.35 | 37    |
| 2016 |      | 12  | M      | 0.122          | 18.75            | 0   | 0   | 0   | 2.0  | 0.56 | 1.4  | 4.8  | 2.0  | 4.8  | 1.9  | 0   | 0   | 0   | 7.8 | 0    | 25    |
| 2016 |      | 13  | M      | 0.106          | 18.14            | 0   | 0   | 0   | 1.6  | 1.3  | 6.4  | 21   | 3.8  | 4.7  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 14  | 0.48 | 55    |
| 2016 |      | 14  | F      | 0.115          | 19.07            | 0   | 0   | 0   | 1.7  | 1.2  | 4.6  | 9.6  | 2.9  | 5.8  | 2.0  | 0   | 0   | 0   | 9.5 | 0    | 37    |
| 2016 |      | 15  | F      | 0.142          | 19.44            | 0   | 0   | 0   | 3.4  | 1.3  | 6.0  | 12   | 2.7  | 5.2  | 1.4  | 0   | 0   | 0   | 10  | 0    | 42    |
| 2016 |      | 16  | F      | 0.132          | 19.25            | 0   | 0   | 0   | 1.4  | 3.9  | 8.6  | 18   | 4.1  | 6.6  | 1.9  | 0   | 0   | 0   | 18  | 0.54 | 64    |
| 2016 |      | 17  | F      | 0.124          | 18.93            | 0   | 0   | 0   | 1.3  | 0.67 | 3.7  | 8.4  | 2.5  | 5.2  | 1.9  | 0   | 0   | 0   | 7.7 | 0    | 31    |
| 2016 |      | 18  | F      | 0.088          | 17.80            | 0   | 0   | 0   | 1.9  | 2.0  | 7.9  | 16   | 4.2  | 4.7  | 1.2  | 0   | 0   | 0   | 13  | 0    | 50    |
| 2016 |      | 19  | F      | 0.156          | 20.28            | 0   | 0   | 0   | 0.95 | 3.2  | 13   | 26   | 5.2  | 8.0  | 2.2  | 0   | 0   | 0   | 20  | 0.51 | 78    |
| 2016 |      | 20  | F      | 0.158          | 19.26            | 0   | 0   | 0   | 2.9  | 1.9  | 9.7  | 19   | 4.6  | 5.8  | 1.6  | 0   | 0   | 0   | 17  | 0.55 | 63    |

0 : below LOD (n.d.)

|                                |                        |
|--------------------------------|------------------------|
| total number of medaka         | 617                    |
| M                              | 288 (except kadayashi) |
| F                              | 305 (except kadayashi) |
| gender unknown or unidentified | 24                     |
| total number of kadayashi      | 12                     |
| M                              | 6                      |
| F                              | 6                      |
| total sample number            | 629                    |

(4) ラット

(4) -1 体重、組織重量、ヘマトクリット値

■単回投与試験

| time   | rat No. | body weight<br>(g) | liver<br>(g) | kidney<br>(g) | spleen<br>(g) | heart<br>(g) | brain<br>(g) | hematocrit<br>(%) |
|--------|---------|--------------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|-------------------|
| 0 min  | No.1    | -                  | 15.11        | 2.27          | 0.81          | 0.94         | 1.67         | -                 |
|        | No.2    | -                  | 14.25        | 1.97          | 0.70          | 0.96         | 1.65         | -                 |
| 5 min  | No.1    | 224                | 11.44        | 1.74          | 0.60          | 1.02         | 1.70         | 40.0              |
|        | No.2    | 205                | 10.13        | 1.71          | 0.71          | 0.71         | 1.70         | 41.0              |
|        | No.3    | 212                | 10.75        | 1.67          | 0.71          | 0.75         | 1.74         | 37.5              |
| 15 min | No.1    | 210                | 10.29        | 1.65          | 0.62          | 0.77         | 1.70         | 40.0              |
|        | No.2    | 213                | 11.00        | 1.71          | 0.66          | 0.73         | 1.73         | 38.5              |
| 30 min | No.1    | 215                | 10.26        | 1.60          | 0.95          | 0.75         | 1.74         | -                 |
|        | No.2    | 218                | 10.34        | 1.65          | 0.68          | 0.77         | 1.77         | 41.0              |
| 1 h    | No.1    | 201                | 9.45         | 1.57          | 0.74          | 0.82         | 1.84         | 39.0              |
|        | No.2    | 198                | 9.77         | 1.52          | 0.68          | 0.73         | 1.69         | 40.0              |
| 3 h    | No.1    | 205                | 10.05        | 1.72          | 0.74          | 0.77         | 1.71         | 33.0              |
|        | No.2    | 200                | 9.95         | 1.59          | 0.71          | 0.70         | 1.80         | 31.0              |
| 6 h    | No.1    | 199                | 11.65        | 1.87          | 0.69          | 0.73         | 1.72         | 41.5              |
|        | No.2    | 190                | 10.00        | 1.56          | 0.64          | 0.75         | 1.71         | 38.5              |
| 12 h   | No.1    | 333                | 14.34        | 2.15          | 0.75          | 0.91         | 1.86         | 42.0              |
|        | No.2    | 310                | 15.07        | 2.08          | 0.85          | 0.96         | 1.90         | 23.0              |
| 24 h   | No.1    | 190                | 9.08         | 1.56          | 0.67          | 0.65         | 1.77         | -                 |
|        | No.2    | 198                | 9.82         | 1.54          | 0.69          | 0.72         | 1.64         | -                 |
| 3 d    | No.1    | 301                | 13.56        | 2.13          | 0.75          | 0.99         | 1.85         | -                 |
|        | No.2    | 302                | 12.94        | 2.04          | 0.75          | 0.99         | 1.87         | -                 |
|        | No.3    | 310                | 12.86        | 2.15          | 0.73          | 1.00         | 1.74         | -                 |
| 7 d    | No.1    | 283                | 13.69        | 1.92          | 0.64          | 1.02         | 1.73         | -                 |
|        | No.2    | 290                | 12.91        | 2.12          | 0.74          | 1.00         | 1.71         | -                 |
|        | No.3    | 280                | 13.67        | 2.23          | 0.74          | 0.97         | 1.81         | -                 |
| 14 d   | No.1    | 283                | 15.02        | 2.38          | 0.72          | 0.92         | 1.74         | -                 |
|        | No.2    | 264                | 14.50        | 2.26          | 0.78          | 1.01         | 1.91         | -                 |
| 21 d   | No.1    | 283                | 15.26        | 2.52          | 0.78          | 1.07         | 2.06         | -                 |
|        | No.2    | 283                | 16.52        | 2.47          | 0.83          | 1.22         | 1.90         | -                 |
| 28 d   | No.1    | 284                | 14.72        | 2.37          | 0.72          | 0.99         | 1.94         | -                 |
|        | No.2    | 283                | 16.39        | 2.49          | 0.88          | 1.15         | 1.96         | -                 |

■長期投与試験

| time<br>dose group | rat No. | body weight<br>(g) | liver<br>(g) | kidney<br>(g) | spleen<br>(g) | heart<br>(g) | brain<br>(g) | hematocrit<br>(%) |
|--------------------|---------|--------------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|-------------------|
| 1M<br>control      | No.1    | 398                | 16.13        | 2.47          | 0.87          | 1.23         | 1.83         | 44.5              |
|                    | No.2    | 391                | 15.87        | 2.44          | 0.94          | 1.19         | 1.91         | 44.0              |
|                    | No.3    | 371                | 15.40        | 2.21          | 0.87          | 1.05         | 1.82         | 47.5              |
|                    | No.4    | 403                | 15.94        | 2.45          | 0.84          | 1.17         | 1.86         | 35.0              |
| 1M<br>L (1 µg/L)   | No.1    | 388                | 16.23        | 2.42          | 0.96          | 1.22         | 1.85         | 45.5              |
|                    | No.2    | 389                | 16.33        | 2.24          | 0.74          | 1.10         | 2.06         | 44.0              |
|                    | No.3    | 377                | 15.39        | 2.29          | 0.81          | 1.11         | 1.90         | 44.0              |
|                    | No.4    | 384                | 16.00        | 2.43          | 0.82          | 1.17         | 1.84         | -                 |
| 1M<br>M (5 µg/L)   | No.1    | 367                | 14.85        | 2.48          | 0.82          | 1.08         | 1.94         | 38.0              |
|                    | No.2    | 436                | 18.39        | 2.76          | 0.90          | 1.24         | 1.93         | 42.0              |
|                    | No.3    | 379                | 14.24        | 2.43          | 0.83          | 1.16         | 2.00         | 48.0              |
|                    | No.4    | 369                | 15.05        | 2.39          | 0.83          | 1.09         | 1.98         | 43.5              |
| 1M<br>H (25 µg/L)  | No.1    | 398                | 16.96        | 2.77          | 0.78          | 1.09         | 1.83         | 42.0              |
|                    | No.2    | 403                | 16.21        | 2.49          | 0.78          | 1.13         | 2.00         | 46.0              |
|                    | No.3    | 376                | 14.93        | 2.41          | 0.76          | 1.09         | 1.98         | 33.0              |
|                    | No.4    | 370                | 14.57        | 2.26          | 0.92          | 1.13         | 1.94         | 44.5              |
| 3M<br>control      | No.1    | 484                | 15.26        | 2.54          | 0.85          | 1.18         | 1.89         | 32.0              |
|                    | No.2    | 475                | 15.84        | 2.67          | 0.79          | 1.32         | 2.08         | 48.5              |
|                    | No.3    | 504                | 15.93        | 2.70          | 0.80          | 1.33         | 2.03         | 45.0              |
|                    | No.4    | 473                | 16.52        | 2.96          | 0.83          | 1.51         | 1.52         | 41.5              |
| 3M<br>L (1 µg/L)   | No.1    | 444                | 14.35        | 2.35          | 0.76          | 1.10         | 2.05         | 47.5              |
|                    | No.2    | 473                | 17.12        | 2.53          | 0.84          | 1.29         | 1.86         | 44.0              |
|                    | No.3    | 522                | 16.99        | 2.91          | 0.99          | 1.33         | 1.87         | 44.0              |
|                    | No.4    | 539                | 19.00        | 3.01          | 0.86          | 1.50         | 1.96         | 46.5              |
| 3M<br>M (5 µg/L)   | No.1    | 541                | 18.36        | 2.77          | 0.88          | 1.45         | 1.93         | 32.0              |
|                    | No.2    | 497                | 17.99        | 2.81          | 0.83          | 1.43         | 1.94         | 48.0              |
|                    | No.3    | 494                | 17.34        | 2.94          | 0.85          | 1.37         | 1.93         | 52.0              |
|                    | No.4    | 508                | 16.31        | 2.77          | 0.94          | 1.31         | 1.92         | 48.5              |
| 3M<br>H (25 µg/L)  | No.1    | 499                | 16.78        | 2.65          | 0.93          | 1.27         | 1.86         | 47.5              |
|                    | No.2    | 493                | 15.90        | 2.46          | 0.82          | 1.19         | 1.85         | 46.0              |
|                    | No.3    | 502                | 16.88        | 2.72          | 0.89          | 1.35         | 1.96         | 42.0              |
|                    | No.4    | 476                | 14.47        | 2.52          | 0.81          | 1.18         | 1.91         | 49.0              |

(4) -2 各臓器の PFPA 濃度

■ 単回投与試験

(µg/kg tissue volume)

| time   | rat<br>No. | brain |      |      |      | heart |      |      |      | liver |      |      |      | spleen |     |     |      |
|--------|------------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|--------|-----|-----|------|
|        |            | C6A   | C8A  | C9A  | C8S  | C6A   | C8A  | C9A  | C8S  | C6A   | C8A  | C9A  | C9S  | C6A    | C8A | C9A | C8S  |
| 0 h    | No.1       | 0     | 0.59 | 0    | 0.54 | 0     | 0    | 0.32 | 0.46 | 0     | 0    | 7.3  | 2.2  | 0      | 0   | 0   | 0.60 |
|        | No.2       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0     | 0.50 | 0.34 | 0.40 | 0     | 0    | 8.7  | 2.0  | 0      | 0   | 0   | 0.45 |
| 5 min  | No.1       | 0.99  | 0.50 | 0.45 | 0    | 11    | 3.9  | 1.4  | 0.19 | 32    | 35   | 32   | 23   | 12     | 4.7 | 1.8 | 1.7  |
|        | No.2       | 0.94  | 0.53 | 0.48 | 0.50 | 2.5   | 0.52 | 0.56 | 0    | 17    | 8.5  | 14   | 1.9  | 42     | 24  | 7.5 | 9.0  |
|        | No.3       | 0.34  | 1.69 | 0.27 | 0    | 4.3   | 1.7  | 1.1  | 0    | 12    | 9.8  | 19   | 4.8  | 7.6    | 4.0 | 2.2 | 4.7  |
| 15 min | No.1       | 1.7   | 0.79 | 0.53 | 0    | 20    | 10   | 2.6  | 0.89 | 107   | 184  | 101  | 116  | 7.9    | 4.9 | 1.7 | 1.2  |
|        | No.2       | 3.3   | 2.3  | 0.68 | 0.39 | 34    | 19   | 3.8  | 1.4  | 80    | 200  | 133  | 183  | 73     | 39  | 17  | 30   |
| 30 min | No.1       | 0.84  | 0.76 | 0.47 | 0    | 9.0   | 5.4  | 1.6  | 0.30 | 18    | 61   | 45   | 28   | 3.7    | 3.2 | 1.1 | 0.35 |
|        | No.2       | 2.0   | 2.67 | 0.54 | 0.20 | 22    | 11   | 2.2  | 0.93 | 35    | 134  | 94   | 87   | 9.8    | 5.3 | 2.0 | 3.2  |
| 1 h    | No.1       | 1.5   | 1.6  | 0.26 | 0.33 | 22    | 17   | 4.0  | 2.2  | 46    | 236  | 176  | 289  | 13     | 7.8 | 2.4 | 3.7  |
|        | No.2       | 4.7   | 4.7  | 1.3  | 1.2  | 69    | 68   | 14   | 8.3  | 126   | 599  | 384  | 686  | 26     | 22  | 7.3 | 11   |
| 3 h    | No.1       | 2.0   | 6.2  | 2.0  | 3.2  | 30    | 80   | 18   | 15   | 55    | 1056 | 968  | 1626 | 7.6    | 30  | 10  | 22   |
|        | No.2       | 1.9   | 5.7  | 2.2  | 2.8  | 30    | 81   | 17   | 15   | 51    | 1061 | 681  | 1476 | 10     | 31  | 10  | 22   |
| 6 h    | No.1       | 0.65  | 5.4  | 1.4  | 3.5  | 10    | 76   | 16   | 12   | 20    | 1008 | 851  | 2373 | 4.5    | 34  | 11  | 24   |
|        | No.2       | 0.40  | 12   | 3.7  | 8.3  | 4.2   | 112  | 27   | 23   | 8.2   | 1318 | 840  | 2266 | 1.3    | 41  | 16  | 38   |
| 12 h   | No.1       | 0.36  | 8.0  | 2.7  | 9.0  | 3.5   | 101  | 24   | 27   | 6.5   | 1287 | 1188 | 2551 | 1.6    | 49  | 19  | 41   |
|        | No.2       | 0     | 9.6  | 3.6  | 9.4  | 0.40  | 114  | 31   | 28   | 0.61  | 1259 | 1056 | 2900 | 0.29   | 49  | 19  | 53   |
| 24 h   | No.1       | 0     | 8.2  | 3.3  | 8.7  | 0     | 84   | 18   | 19   | 0.27  | 1037 | 804  | 2241 | 0      | 35  | 15  | 39   |
|        | No.2       | 0     | 8.1  | 2.7  | 10   | 0     | 93   | 18   | 18   | 0.35  | 1054 | 752  | 2051 | 0      | 35  | 11  | 26   |
| 3 d    | No.1       | 0     | 12   | 3.7  | 13   | 0     | 116  | 27   | 20   | 0     | 1228 | 950  | 2248 | 0      | 42  | 14  | 30   |
|        | No.2       | 0     | 11   | 3.6  | 11   | 0     | 91   | 20   | 18   | 0     | 1129 | 887  | 2486 | 0      | 42  | 15  | 35   |
|        | No.3       | 0     | 11   | 3.7  | 12   | 0     | 119  | 27   | 24   | 0     | 1210 | 1083 | 2291 | 0      | 40  | 15  | 32   |
| 7 d    | No.1       | 0     | 6.7  | 2.7  | 6.5  | 0     | 77   | 20   | 17   | 0     | 1037 | 1008 | 2789 | 0      | 33  | 14  | 28   |
|        | No.2       | 0     | 6.7  | 3.0  | 8.7  | 0     | 72   | 19   | 20   | 0     | 1030 | 900  | 1998 | 0      | 28  | 11  | 25   |
|        | No.3       | 0     | 9.2  | 2.9  | 8.8  | 0     | 72   | 19   | 17   | 0     | 848  | 849  | 1872 | 0      | 35  | 14  | 32   |
| 14 d   | No.1       | 0     | 2.8  | 1.4  | 5.5  | 0     | 26   | 7.3  | 6.1  | 0     | 711  | 806  | 1749 | 0      | 11  | 4.9 | 9.9  |
|        | No.2       | 0     | 4.3  | 2.1  | 3.9  | 0     | 47   | 12   | 10   | 0     | 891  | 919  | 1836 | 0      | 17  | 8.6 | 16   |
| 21 d   | No.1       | 0     | 4.7  | 1.5  | 6.6  | 0     | 31   | 11   | 10   | 0     | 887  | 850  | 2403 | 0      | 14  | 7.5 | 19   |
|        | No.2       | 0     | 2.9  | 1.3  | 2.7  | 0     | 25   | 8.9  | 7.6  | 0     | 702  | 852  | 1532 | 0      | 11  | 5.1 | 15   |
| 28 d   | No.1       | 0     | 2.5  | 0.95 | 2.0  | 0     | 22   | 6.1  | 4.8  | 0     | 635  | 892  | 1957 | 0      | 11  | 4.5 | 9.8  |
|        | No.2       | 0     | 2.3  | 1.6  | 2.6  | 0     | 24   | 10   | 8.6  | 0     | 486  | 829  | 2052 | 0      | 9.9 | 6.4 | 14   |

0 : below LOD (n.d.)

(µg/kg tissue volume)

| time   | rat<br>No. | kidney |     |      |      | whole blood |      |      |      | serum |     |      |      |
|--------|------------|--------|-----|------|------|-------------|------|------|------|-------|-----|------|------|
|        |            | C6A    | C8A | C9A  | C8S  | C6A         | C8A  | C9A  | C8S  | C6A   | C8A | C9A  | C8S  |
| 0 h    | No.1       | 0      | 0   | 0.83 | 0.36 | 0           | 0    | 0.52 | 0    | 0.30  | 0   | 0.66 | 0.88 |
|        | No.2       | 0      | 0   | 1.0  | 0.40 | 0           | 0.50 | 0.65 | 0.16 | 0.35  | 0   | 1.5  | 0    |
| 5 min  | No.1       | 42     | 12  | 2.9  | 0.50 | 27          | 15   | 3.0  | 0.50 | 53    | 25  | 5.6  | 0.93 |
|        | No.2       | 12     | 1.3 | 1.3  | 0    | 10          | 2.1  | 1.1  | 0    | 16    | 5.0 | 1.8  | 0    |
|        | No.3       | 9.7    | 2.8 | 2.1  | 0.29 | 13          | 4.4  | 1.7  | 0    | 19    | 7.0 | 3.1  | 0    |
| 15 min | No.1       | 74     | 41  | 8.6  | 3.2  | 79          | 53   | 12   | 4.0  | 103   | 63  | 18   | 5.2  |
|        | No.2       | 82     | 47  | 11   | 6.0  | 95          | 57   | 13   | 4.4  | 156   | 83  | 20   | 7.0  |
| 30 min | No.1       | 57     | 23  | 5.1  | 1.1  | 23          | 13   | 3.0  | 0.40 | 46    | 25  | 5.6  | 0.83 |
|        | No.2       | 93     | 35  | 7.9  | 4.1  | 64          | 35   | 7.7  | 2.6  | 106   | 58  | 13   | 4.7  |
| 1 h    | No.1       | 143    | 90  | 15   | 11   | 69          | 58   | 14   | 5.8  | 117   | 109 | 19   | 9.8  |
|        | No.2       | 221    | 162 | 40   | 33   | 186         | 176  | 44   | 23   | 305   | 304 | 66   | 33   |
| 3 h    | No.1       | 159    | 319 | 67   | 81   | 83          | 258  | 73   | 50   | 142   | 534 | 100  | 78   |
|        | No.2       | 140    | 343 | 76   | 82   | 83          | 231  | 60   | 37   | 142   | 437 | 100  | 70   |
| 6 h    | No.1       | 31     | 256 | 62   | 69   | 30          | 265  | 70   | 45   | 58    | 611 | 113  | 79   |
|        | No.2       | 25     | 479 | 103  | 118  | 6.5         | 203  | 60   | 49   | 19    | 556 | 153  | 113  |
| 12 h   | No.1       | 26     | 637 | 166  | 197  | 7.9         | 223  | 52   | 43   | 21    | 687 | 152  | 117  |
|        | No.2       | 2.7    | 610 | 153  | 198  | 0.83        | 307  | 76   | 62   | 1.6   | 830 | 168  | 137  |
| 24 h   | No.1       | 0.60   | 289 | 89   | 101  | 0.38        | 302  | 82   | 62   | 0.45  | 675 | 134  | 110  |
|        | No.2       | 0.74   | 337 | 76   | 88   | 0.57        | 251  | 70   | 48   | 0.65  | 411 | 84   | 61   |
| 3 d    | No.1       | 0      | 254 | 67   | 85   | 0           | 226  | 56   | 37   | 0     | 541 | 126  | 93   |
|        | No.2       | 0      | 289 | 89   | 101  | 0           | 176  | 41   | 27   | 0     | 613 | 143  | 91   |
|        | No.3       | 0      | 316 | 85   | 111  | 0           | 206  | 47   | 33   | 0     | 647 | 146  | 103  |
| 7 d    | No.1       | 0      | 359 | 99   | 93   | 0           | 195  | 50   | 33   | 0     | 541 | 119  | 90   |
|        | No.2       | 0      | 247 | 80   | 87   | 0           | 161  | 45   | 31   | 0     | 480 | 133  | 98   |
|        | No.3       | 0      | 271 | 74   | 99   | 0           | 111  | 30   | 22   | 0     | 491 | 132  | 97   |
| 14 d   | No.1       | 0      | 134 | 41   | 41   | 0           | 101  | 30   | 23   | 0     | 171 | 50   | 38   |
|        | No.2       | 0      | 200 | 55   | 64   | 0           | 139  | 43   | 32   | 0     | 253 | 74   | 49   |
| 21 d   | No.1       | 0      | 127 | 50   | 52   | 0           | 91   | 41   | 34   | 0     | 161 | 71   | 52   |
|        | No.2       | 0      | 147 | 43   | 48   | 0           | 102  | 35   | 30   | 0     | 170 | 62   | 50   |
| 28 d   | No.1       | 0      | 118 | 35   | 33   | 0           | 81   | 27   | 20   | 0     | 138 | 43   | 32   |
|        | No.2       | 0      | 143 | 67   | 66   | 0           | 71   | 35   | 31   | 0     | 125 | 66   | 49   |

0 : below LOD (n.d.)

■長期投与試験

(µg/kg tissue volume)

| time<br>dose group   | rat No. | brain |      |      |      | heart |      |      |      | liver |      |      |      | spleen |      |      |      |
|----------------------|---------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|--------|------|------|------|
|                      |         | C6A   | C8A  | C9A  | C8S  | C6A   | C8A  | C9A  | C8S  | C6A   | C8A  | C9A  | C9S  | C6A    | C8A  | C9A  | C8S  |
| 1M<br>control        | No.1    | 0.20  | 0    | 0.42 | 0    | 0     | 0    | 0.47 | 0    | 0     | 0    | 14   | 3.0  | 0      | 0    | 0.27 | 0    |
|                      | No.2    | 0     | 0    | 0.24 | 0    | 0.20  | 0    | 0.35 | 0    | 0     | 0    | 17   | 2.3  | 0      | 0    | 0.34 | 0    |
|                      | No.3    | 0     | 0    | 0.18 | 0    | 0     | 0    | 0.47 | 0    | 0     | 0    | 16   | 2.6  | 0      | 0    | 0.33 | 0    |
|                      | No.4    | 0     | 0.64 | 0.30 | 0    | 0     | 1.1  | 0.52 | 0    | 0     | 0.95 | 14   | 2.4  | 0      | 0.94 | 0.32 | 0    |
| 1M<br>L<br>(1 µg/L)  | No.1    | 0     | 0    | 0.37 | 0    | 0     | 0.54 | 0.77 | 0    | 0     | 20   | 49   | 47   | 0      | 0    | 0.42 | 0.21 |
|                      | No.2    | 0.17  | 0    | 0.26 | 0.21 | 0     | 0.80 | 1.1  | 0.23 | 0     | 21   | 62   | 51   | 0      | 0    | 0.85 | 0.41 |
|                      | No.3    | 0     | 0    | 0.25 | 0    | 0     | 0.65 | 0.87 | 0.22 | 0     | 18   | 53   | 39   | 0      | 0    | 0.65 | 0.41 |
|                      | No.4    | 0     | 0.73 | 0.29 | 0.17 | 0     | 2.3  | 0.95 | 0.23 | 0     | 21   | 51   | 49   | 0      | 1.5  | 0.67 | 0.40 |
| 1M<br>M<br>(5 µg/L)  | No.1    | 0     | 0.26 | 0.53 | 0.51 | 0     | 5.1  | 2.9  | 1.0  | 0     | 119  | 189  | 225  | 0      | 1.9  | 2.2  | 1.7  |
|                      | No.2    | 0     | 0    | 0.40 | 0.34 | 0     | 3.9  | 2.7  | 0.81 | 0     | 115  | 195  | 211  | 0      | 1.3  | 1.4  | 1.1  |
|                      | No.3    | 0     | 0    | 0.64 | 0.68 | 0     | 4.6  | 3.1  | 1.3  | 0.52  | 77   | 181  | 226  | 0      | 2.1  | 2.5  | 2.3  |
|                      | No.4    | 0     | 1.3  | 0.66 | 1.2  | 0     | 7.5  | 3.6  | 1.4  | 0.27  | 114  | 241  | 230  | 0      | 3.6  | 2.3  | 2.0  |
| 1M<br>H<br>(25 µg/L) | No.1    | 0     | 2.8  | 2.3  | 1.7  | 0     | 23   | 11   | 3.0  | 0.28  | 577  | 1106 | 539  | 0      | 13   | 9.5  | 5.4  |
|                      | No.2    | 0     | 3.7  | 2.8  | 2.7  | 0.24  | 34   | 15   | 3.4  | 0.37  | 529  | 946  | 617  | 0      | 14   | 11   | 6.1  |
|                      | No.3    | 0.19  | 2.2  | 1.9  | 1.5  | 0.34  | 27   | 12   | 2.3  | 0.50  | 571  | 820  | 535  | 0.24   | 12   | 9.4  | 4.2  |
|                      | No.4    | 0     | 3.3  | 1.9  | 1.7  | 0.23  | 29   | 12   | 2.5  | 0.31  | 550  | 995  | 651  | 0      | 13   | 8.8  | 3.7  |
| 3M<br>control        | No.1    | 0     | 0    | 0.39 | 0    | 0     | 0    | 0.49 | 0    | 0     | 0.27 | 17   | 4.5  | 0      | 0.34 | 0.25 | 0    |
|                      | No.2    | 0     | 0    | 0.43 | 0    | 0     | 0    | 0.51 | 0    | 0     | 0.41 | 14   | 4.4  | 0      | 0    | 0.52 | 0    |
|                      | No.3    | 0     | 0    | 0.26 | 0    | 0     | 0    | 0.47 | 0    | 0     | 0.43 | 15   | 4.3  | 0      | 0.35 | 0.41 | 0    |
|                      | No.4    | 0     | 0.83 | 0.25 | 0    | 0     | 1.1  | 0.52 | 0    | 0     | 0.46 | 20   | 4.3  | 0      | 0.37 | 0.46 | 0    |
| 3M<br>L<br>(1 µg/L)  | No.1    | 0     | 0.26 | 0.43 | 0.37 | 0     | 1.9  | 1.7  | 0.59 | 0     | 36   | 95   | 153  | 0      | 1.9  | 1.2  | 0.97 |
|                      | No.2    | 0     | 0    | 0.40 | 0.39 | 0     | 1.6  | 1.7  | 0.61 | 0     | 43   | 109  | 87   | 0      | 1.3  | 1.2  | 0.86 |
|                      | No.3    | 0     | 0    | 0.49 | 0.33 | 0     | 1.7  | 1.8  | 0.69 | 0     | 32   | 95   | 127  | 0.35   | 1.3  | 1.2  | 1.0  |
|                      | No.4    | 0     | 0    | 0.32 | 0.31 | 0     | 1.4  | 1.6  | 0.53 | 0     | 23   | 76   | 97   | 0.24   | 1.1  | 1.1  | 0.98 |
| 3M<br>M<br>(5 µg/L)  | No.1    | 0.31  | 1.7  | 1.2  | 1.2  | 0     | 7.0  | 4.2  | 2.2  | 0     | 137  | 434  | 514  | 0      | 2.6  | 3.2  | 3.7  |
|                      | No.2    | 0     | 1.0  | 1.2  | 1.5  | 0     | 9.7  | 7.3  | 3.2  | 0     | 203  | 486  | 579  | 0      | 6.1  | 4.4  | 4.1  |
|                      | No.3    | 0     | 1.3  | 1.7  | 2.0  | 0     | 6.5  | 7.3  | 3.6  | 0     | 111  | 398  | 431  | 0      | 3.2  | 5.1  | 6.7  |
|                      | No.4    | 0     | 1.2  | 1.2  | 1.2  | 0     | 7.1  | 5.3  | 2.2  | 0     | 153  | 387  | 476  | 0      | 3.1  | 3.4  | 3.5  |
| 3M<br>H<br>(25 µg/L) | No.1    | 0     | 5.1  | 5.6  | 13   | 0.28  | 46   | 32   | 17   | 0.39  | 613  | 1916 | 2342 | 0      | 22   | 22   | 29   |
|                      | No.2    | 0     | 3.7  | 5.1  | 9.6  | 0     | 21   | 27   | 16   | 0.37  | 285  | 1893 | 2553 | 0      | 11   | 25   | 34   |
|                      | No.3    | 0.25  | 4.4  | 6.5  | 11   | 0.28  | 32   | 35   | 19   | 0.41  | 430  | 1658 | 2306 | 0      | 15   | 21   | 29   |
|                      | No.4    | 0     | 2.5  | 3.6  | 6.3  | 0.23  | 24   | 26   | 14   | 0.26  | 459  | 1626 | 2458 | 0      | 15   | 21   | 27   |

0 : below LOD (n.d.)

| (µg/kg tissue volume) |         |        |      |      |      |             |      |      |      |       |      |     |      |
|-----------------------|---------|--------|------|------|------|-------------|------|------|------|-------|------|-----|------|
| time                  | rat No. | kidney |      |      |      | whole blood |      |      |      | serum |      |     |      |
| dose group            |         | C6A    | C8A  | C9A  | C8S  | C6A         | C8A  | C9A  | C8S  | C6A   | C8A  | C9A | C9S  |
| 1M<br>control         | No.1    | 0      | 0    | 0.92 | 0    | 0           | 0    | 0.81 | 0    | 0     | 0    | 1.4 | 0    |
|                       | No.2    | 0      | 0    | 1.1  | 0    | 0           | 0    | 0.90 | 0    | 0     | 0    | 2.4 | 0    |
|                       | No.3    | 0      | 0    | 1.0  | 0    | 0           | 0    | 0.83 | 0    | 0.26  | 0    | 1.5 | 0    |
|                       | No.4    | 0      | 0.99 | 1.1  | 0    | 0           | 0.76 | 1.0  | 0    | 0     | 1.4  | 2.2 | 0    |
| 1M<br>L<br>(1 µg/L)   | No.1    | 0      | 2.8  | 4.8  | 0.77 | 0           | 2.0  | 1.8  | 0.45 | 0     | 4.1  | 3.3 | 0.67 |
|                       | No.2    | 0      | 4.2  | 5.3  | 1.5  | 0           | 2.8  | 2.7  | 0.86 | 0     | 5.8  | 4.8 | 1.3  |
|                       | No.3    | 0      | 3.9  | 5.3  | 1.3  | 0.25        | 3.5  | 2.7  | 0.74 | 0     | 6.4  | 4.9 | 1.3  |
|                       | No.4    | 0      | 3.5  | 4.4  | 0.94 | 0.17        | 4.6  | 2.8  | 0.70 | 0.31  | 9.8  | 5.2 | 1.1  |
| 1M<br>M<br>(5 µg/L)   | No.1    | 0.29   | 20   | 18   | 5.2  | 0.19        | 19   | 11   | 3.8  | 0     | 35   | 21  | 6.0  |
|                       | No.2    | 0.26   | 16   | 14   | 4.8  | 0.27        | 14   | 8.8  | 3.4  | 0.34  | 30   | 16  | 5.2  |
|                       | No.3    | 0.27   | 21   | 15   | 5.1  | 0           | 16   | 12   | 4.1  | 0.32  | 36   | 21  | 8.0  |
|                       | No.4    | 0.18   | 22   | 14   | 6.7  | 0           | 22   | 11   | 3.9  | 0.35  | 41   | 20  | 6.8  |
| 1M<br>H<br>(25 µg/L)  | No.1    | 0.38   | 85   | 48   | 13   | 0.37        | 76   | 44   | 11   | 0.65  | 147  | 88  | 17   |
|                       | No.2    | 0.70   | 134  | 67   | 15   | 0.41        | 97   | 51   | 12   | 0.71  | 189  | 106 | 21   |
|                       | No.3    | 0.93   | 96   | 56   | 11   | 0.61        | 95   | 51   | 11   | 0.92  | 156  | 85  | 16   |
|                       | No.4    | 0.54   | 120  | 46   | 14   | 0.42        | 83   | 40   | 8.8  | 0.52  | 147  | 80  | 14   |
| 3M<br>control         | No.1    | 0      | 0.54 | 1.2  | 0    | 0           | 0    | 0.97 | 0    | 0     | 0    | 1.5 | 0    |
|                       | No.2    | 0      | 0.44 | 1.1  | 0    | 0           | 0    | 0.76 | 0    | 0     | 0    | 1.5 | 0    |
|                       | No.3    | 0      | 0.54 | 1.3  | 0    | 0           | 0    | 0.95 | 0    | 0     | 0    | 1.3 | 0    |
|                       | No.4    | 0      | 0.26 | 1.2  | 0    | 0           | 0    | 1.1  | 0    | 0     | 0.65 | 1.6 | 0    |
| 3M<br>L<br>(1 µg/L)   | No.1    | 0      | 7.5  | 8.4  | 4.6  | 0           | 5.2  | 4.3  | 2.0  | 0     | 8.6  | 9.3 | 3.1  |
|                       | No.2    | 0      | 7.6  | 7.8  | 3.2  | 0           | 4.1  | 3.6  | 1.2  | 0.31  | 9.6  | 7.8 | 2.6  |
|                       | No.3    | 0      | 8.7  | 7.2  | 3.8  | 0           | 5.5  | 5.3  | 1.7  | 0     | 9.0  | 9.6 | 2.8  |
|                       | No.4    | 0      | 6.9  | 6.9  | 3.0  | 0           | 3.4  | 4.0  | 1.2  | 0.29  | 8.5  | 7.2 | 2.3  |
| 3M<br>M<br>(5 µg/L)   | No.1    | 0      | 14   | 18   | 9.5  | 0.27        | 20   | 16   | 5.8  | 0.27  | 33   | 28  | 8.9  |
|                       | No.2    | 0.29   | 36   | 32   | 11   | 0.20        | 22   | 15   | 5.6  | 0.26  | 49   | 34  | 11   |
|                       | No.3    | 0      | 23   | 28   | 17   | 0           | 18   | 22   | 9.6  | 0     | 42   | 49  | 18   |
|                       | No.4    | 0      | 22   | 24   | 14   | 0           | 20   | 18   | 6.8  | 0.25  | 39   | 34  | 12   |
| 3M<br>H<br>(25 µg/L)  | No.1    | 0.65   | 173  | 146  | 77   | 0.40        | 128  | 105  | 43   | 0.89  | 291  | 203 | 74   |
|                       | No.2    | 0.82   | 83   | 133  | 91   | 0.56        | 82   | 122  | 60   | 0.78  | 120  | 180 | 74   |
|                       | No.3    | 0.52   | 92   | 111  | 93   | 0.38        | 83   | 100  | 49   | 0.93  | 180  | 204 | 81   |
|                       | No.4    | 1.1    | 144  | 142  | 64   | 0.47        | 98   | 101  | 49   | 0.72  | 146  | 170 | 66   |

0 : below LOD (n.d.)