

テトラメチルチウラムジスルフィド
測定・分析手法に関する検討結果報告書

目次

1. はじめに.....	1
2. 文献調査.....	1
3. 捕集及び分析条件.....	2
3-1 試薬及び器具.....	2
3-2 捕集方法と前処理方法.....	2
3-3 波長の選定、HPLC 測定条件.....	3
4. ブランク.....	3
5. 脱着率.....	3
6. クロマトグラム.....	4
7. 検量線.....	4
8. 検出下限及び定量下限.....	5
9. 添加回収試験.....	5
10. 保存性試験.....	6
11. まとめ.....	6
12. 参考文献.....	6

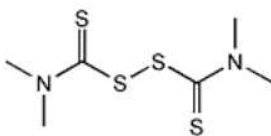
1. はじめに

テトラメチルチウラムジスルフィド（以後チウラムと記す）は主に、病害予防を目的とした播種前の種子消毒、あるいは土壌処理用の殺菌剤として用いられる。また、製造業におけるゴムの加硫剤、加硫促進剤として利用されている¹⁾。表1にチウラムの物理化学的性状を示した²⁾。

許容濃度においては、ACGIH（2017年版）でTWA 0.05 mg/m³(IFV)と指定されていることから、この許容濃度 0.05 mg/m³を暫定2次評価値（E）に設定し、本研究を行った。

なお、労働者の個人ばく露濃度を評価するために、6時間にわたる大気の採取（吸引速度 2.0 L/min、通気量 720 L）を行った。

表1 テトラメチルチウラムジスルフィドの物理化学的性状

CAS No.	137-26-8	
別名	チラム、チウラム	
用途	農薬（麦類、タバコ、リンゴ、芝生の病害の殺菌剤） ゴム製造の加硫促進剤	
構造式	 C ₆ H ₁₂ N ₂ S ₄	
分子量	240.43	
物性	比重	1.29
	沸点	242°C
	融点	155-156°C
	蒸気圧	0.0023 Pa (25°C)
	形状	無色の結晶
許容濃度等	日本産業衛生学会	0.1 mg/m ³
	OSHA PEL	—
	NIOSH REL	—
	ACGIH	TWA 0.05 mg/m ³ (IFV)

2. 文献調査

チウラムの分析方法は、NIOSH Method No.5005³⁾に、PTFEろ紙での捕集、メタノールでの抽出、高速液体クロマトグラフ（HPLC）を使用し測定できると掲載されている。この文献を基本に研究を進めた。

3. 捕集及び分析条件

3-1 試薬及び器具

【試薬】

テトラメチルチウラムジスルフィド (特級) : 和光純薬工業株式会社

アセトニトリル (残留農薬試験用) : 和光純薬工業株式会社

メタノール 5000 (残留農薬試験用) : 和光純薬工業株式会社

【器具】

ろ紙 : PTFE PF040 φ37 (株式会社アドバンテック)

ポンプ : MP-Σ500N (柴田科学株式会社)

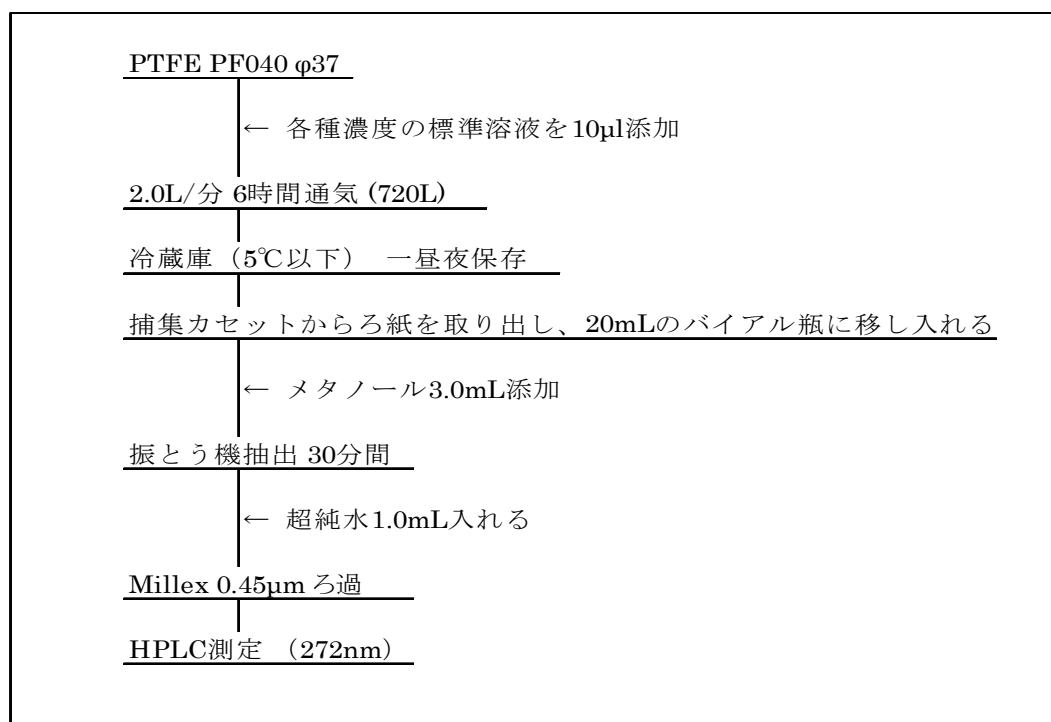
振とう機 : ロータリーシェイカー NX-25D (株式会社日伸理化)

ろ過フィルター : Millex 0.45 μm ナイロン 33 mm (有機溶媒用) (メルク株式会社)

3-2 捕集方法と前処理方法

チウラムの暫定2次評価値 (E: 0.05 mg/m³) の4倍~1/1000倍濃度 (0.2~0.00005 mg/m³) となるように、表2の方法で添加し、通気、保存、脱着を試みた。

表2 添加回収試験操作手順



3-3 波長の選定、HPLC 測定条件

分光光度計で、チウラムの最大吸収波長を検出することにした。結果、270～290 nm の間になだらかなピークが確認できた（図 1）。チウラムの波長は水質汚濁に係る環境基準⁴⁾では測定波長 272 nm と記されていることより、本研究では、272 nm を検出波長として採用した。また、チウラムの測定条件を表 3 に記す。

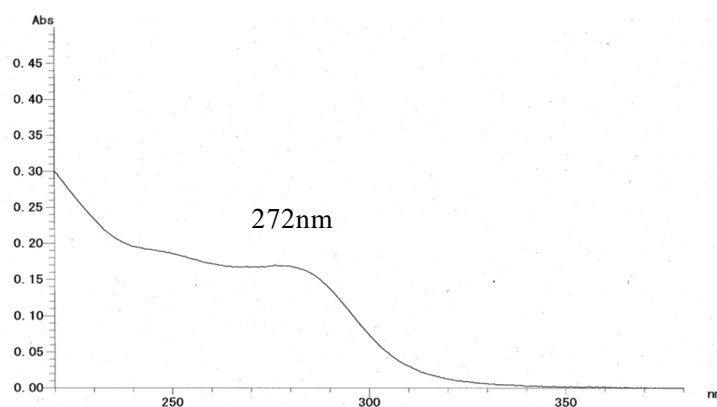


図 1 チウラムの UV 吸収スペクトル

表 3 HPLC 測定条件

装置	UltiMate-3000 (DIONEX 製)
カラム	InertSustain C-18 (5 μ m 4.0×250 mm)
移動相	アセトニトリル：水=55:45
注入量	50 μ L
温度	40°C
検出器	UV (272 nm)
流量	0.7 mL/分

4. ブランク

標準物質を添加していない PTFE ろ紙を表 2 に記された操作手順に従い試料を作成し、表 3 にある方法でブランク試験を行った。結果、チウラムのピークは認められなかった。

5. 脱着率

4E (0.2 mg/m³) と 1/500E (0.0001 mg/m³) 濃度の標準物質をろ紙に添加し、気中空気を 2 L/分で 6 時間 (720 L) 吸引し試料を作成した。はじめに、アセトニトリルでの脱着を試みたが、50%～60%の脱着率であった。次に、メタノールでの脱着を試みた。結果、98.9%～101.7%の脱着率であったため、メタノールを脱着溶媒として採用した。

6. クロマトグラム

表 3 に記す測定条件でチウラムの標準溶液を測定した。7.46 分にチウラムのピークを確認した (図 2)。

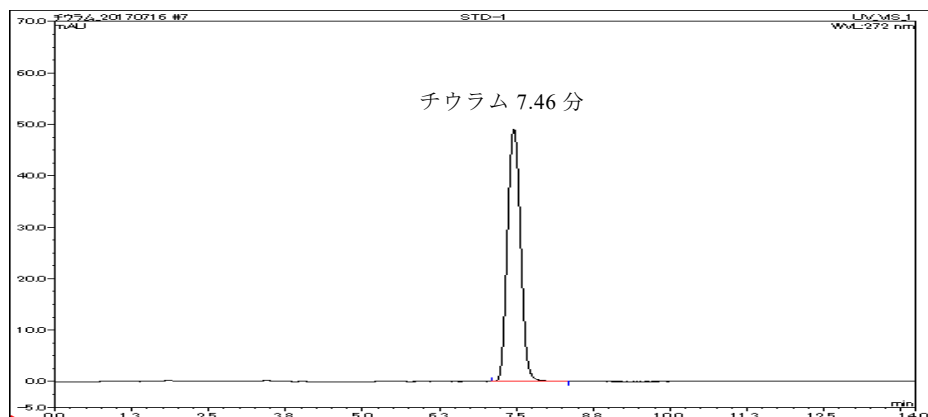


図 2 チウラムのクロマトグラム

7. 検量線

チウラムの標準品をメタノールで溶解し、液列を作成した (作成試料と同じく、メタノール：超純水=3：1 となるように調整する)。これらの検量線の直線性について確認を行った (表 4、図 3)。その結果、良好な直線性が得られた。

表 4 チウラムの検量線液列

濃度($\mu\text{g}/\text{mL}$)	面積($\text{mAU} \times \text{分}$)
0.005	0.0124
0.018	0.0513
0.036	0.1128
0.180	0.5825
0.360	1.170
3.591	12.18
7.212	24.50
17.96	60.90
36.02	122.1

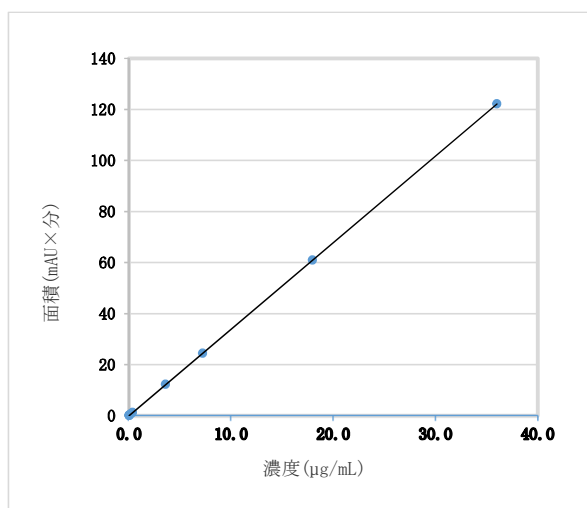


図 3 チウラムの検量線

8. 検出下限及び定量下限

1/500E 濃度となるチウラム標準液 0.018 µg/mL (0.0001 mg/m³ 相当) を 5 サンプル測定し、標準偏差 (SD) を算出した。また次式より検出下限及び定量下限を求めた。

$$\text{検出下限 (}\mu\text{g/mL)} = 3\text{SD} \qquad \text{定量下限 (}\mu\text{g/mL)} = 10\text{SD}$$

その結果、HPLC 測定における検出下限及び定量下限は表 5 に示すとおりとなった。この定量下限 (10SD) 0.0053 µg/mL を実際に HPLC で測定したところ、RSD1.5%(n=5)で十分に検出できることが確認できた。

また、本研究においては暫定 2 次評価値 (E : 0.05 mg/m³) を基準に、1/1000E まで測定することは不可能であった。しかし、個人ばく露濃度測定においては 1/500E まで、作業環境測定においては 1/20E まで定量可能であると分かった。

表 5 検出下限及び定量下限

	検出下限(3SD)	定量下限(10SD)
溶液濃度(µg/mL)	0.0016	0.0053

1/1000E までの測定は不可能

※ 4mL 定容

9. 添加回収試験

表 2、表 3 に記された操作手順に従い試料を作成し、HPLC 測定を行った。その結果、1/1000E においては回収率 86.2%という結果となり、添加回収試験の条件を満たすことができなかった。また、4E、1/50E、1/500E においては 90%を越える回収率が確認された (表 6)。このことより、保存性試験は、4E、1/50E、1/500E の 3 濃度で行うことにした。

表 6 添加回収試験結果

相当の濃度	6 時間での濃度 (mg/m ³)	添加量 (µg)	回収率(%)					回収率(%)		RSD (%)
								平均	SD	
1/1000E	0.00005	0.036	87.8	96.7	76.7	87.8	82.2	86.2	7.4	8.6
1/500E	0.0001	0.072	100.0	101.1	95.5	100.5	97.2	98.9	2.4	2.4
1/50E	0.001	0.72	106.6	107.1	104.8	104.7	104.8	105.7	1.1	1.1
4E	0.2	144	92.6	103.9	104.7	103.5	103.5	101.7	5.1	5.0

10. 保存性試験

ろ紙に脱着率の操作と同様に標準物質をろ紙に添加し、試料を作成した。その後、冷蔵庫（5℃）で保存し、0日、1日、3日、5日後に測定を行い保存性の確認を行った。結果、全ての濃度において95～105%の保存性が確認できた（表7）。

表7 保存性試験結果

相当の濃度	6時間での濃度 (mg/m ³)	添加量 (μg)	保存日数	保存率(%) n=3		RSD (%)
				Mean	SD	
1/500E	0.0001	0.072	0	103.3	1.1	1.1
			1	100.6	0.6	0.6
			3	95.9	1.4	1.5
			5	91.1	1.5	1.6
1/50E	0.001	0.72	0	104.0	1.4	1.3
			1	105.4	1.0	1.0
			3	100.7	0.3	0.3
			5	104.0	4.0	3.8
4E	0.2	144	0	102.8	1.5	1.5
			1	103.7	0.2	0.2
			3	101.7	0.9	0.9
			5	104.6	1.2	1.7

11. まとめ

暫定2次評価値（E）を0.05 mg/m³に設定し、本研究を行った結果、2.0 L/min、6時間（通気720 L）の捕集条件で、1/1000Eの濃度においては回収率86.2%となり、添加回収試験の条件を満たすことができなかった。しかし、1/500E～4Eの濃度範囲においては、脱着率、回収率ともに90%以上の良好な結果が得られた。また、通気後の試料においては5日間の冷蔵保存が可能であると確認ができた。

個人ばく露濃度測定においては1/500Eまで測定できることから、作業環境測定においては約1/20Eまで定量可能であると分かった。また、定量下限（10SD）0.0053 μg/mLを実際にHPLCで測定したところ、十分に定量可能だと確認できた。

12. 参考文献

- 1) チウラム：産業衛生学雑誌 50 巻 2008 年発行
- 2) 職場のあんぜんサイト：製品安全データシート p. 1-6（改定2012年3月30日）
- 3) NIOSH Method No.5005：NIOSH Manual of Analytical methods (NMAM) Fourth Edition, 8/15/94
- 4) チウラムの測定方法：環境庁公示第59号付表4 水質汚濁に係る環境基準

(別紙) テトラメチルチウラムジスルフィド 測定分析法

化学式：C ₆ H ₁₂ N ₂ S ₄		分子量：240.43	CAS No.：137-26-8
許容濃度等 日本産業衛生学会：0.1mg/m ³ OSHA：設定なし NIOSH：設定なし ACGIH TWA：0.05mg/m ³ (IFV)	物性等： 比重：1.29 沸点：242℃ 融点：155-156℃ 蒸気圧：0.0023 Pa (25℃) 形状：無色の結晶		
別名 チラム、チウラム			
サンプリング		分析	
サンプラー：PTFE PF040 φ37 株式会社アドバンテック サンプリング流量：2.0 L/min サンプリング時間：6 時間 (720 L) 保存性：添加量 0.072 μg～144 μg であれば、冷蔵 (4℃) で 5 日間保存可能 ブランク：検出せず		分析方法：高速液体クロマトグラフ (HPLC) 分析法 脱着：メタノール 3.0 mL 振とう脱着 30 分間。 その後超純水 1.0 mL 添加 (4.0 mL 定容) 測定機器：UltiMate-3000 (DIONEX 製) カラム：InertSustain C-18 (5 μm4.0×250 mm) カラム温度：40℃ 移動相：アセトニトリル：水=(55：45) 流速：0.7 mL/min 検出器：UV 272 nm 注入量：50 μL 検量線：0.0053～36.02 μg/mL 上記範囲で直線性が得られている 定量法：絶対検量線法 リテンションタイム：7.46 分	
精度			
脱着率：0.072 μg (0.0001 mg/m ³) 98.9% 144 μg (0.2 mg/m ³) 101.7% (2.0 L/min 6 時間通気) 添加回収率：0.036 μg (0.00005 mg/m ³) 86.2% 0.072 μg (0.0001 mg/m ³) 98.9% 0.72 μg (0.001 mg/m ³) 105.7% 144 μg (0.2 mg/m ³) 101.7% (2.0 L/min 6 時間通気)			
検出下限 (3SD) 1/500E 濃度まで測定可能 0.0054 μg/mL 0.00003 mg/m ³ (720 L 採気時) 0.001mg/m ³ (20 L 採気時)			
定量下限 (10SD) 1/500E 濃度まで測定可能 0.018 μg/mL 0.0001mg/m ³ (720 L 採気時) 0.0036mg/m ³ (20 L 採気時)			
適用：個人ばく露濃度測定、作業環境測定			
妨害：確認されていない			
参考文献：			
1) チウラム：産業衛生学雑誌 50 巻 2008 年発行			
2) 職場のあんぜんサイト：製品安全データシート p. 1-6 (改定 2012 年 3 月 30 日)			
3) NIOSH Method No.5005：NIOSH Manual of Analytical methods (NMAM) Fourth Edition, 8/15/94			
4) チウラムの測定方法：環境庁公示第 59 号付表 4 水質汚濁に係る環境基準			

作成日：平成 30 年 2 月 14 日