

テトラエチルチウラムジスルフィドの測定・分析手法に関する
検討結果報告書

目 次

1. はじめに.....	- 3 -
2. 文献調査.....	- 3 -
3. 捕集および測定条件	- 4 -
3-1. 試薬・器具	- 4 -
3-2. 捕集試験の方法と条件.....	- 4 -
3-3. 試料の前処理	- 4 -
3-4. 検出方法の選択、HPLC 測定条件	- 5 -
4. ブランク	- 5 -
5. 破過試験.....	- 5 -
6. クロマトグラム.....	- 6 -
7. 検量線	- 6 -
8. 検出下限および定量下限	- 7 -
9. 添加回収率.....	- 7 -
10. 保存安定性	- 7 -
11. まとめ.....	- 8 -
11-1. 個人ばく露濃度測定.....	- 8 -
11-2. 作業環境中のジスルフィラム測定への適用	- 8 -
12. 参考文献.....	- 8 -

1. はじめに

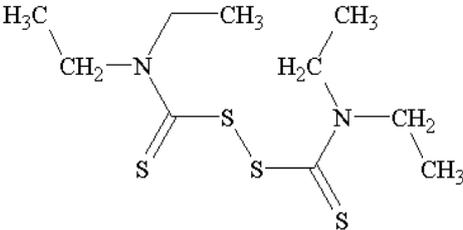
テトラエチルチウラムジスルフィド(以下、ジスルフィラム)は主に、タイヤ工場のゴムの加硫促進剤、硫黄供与型加硫剤として使用されている¹⁾。人への健康影響では、生殖器又は胎児への悪影響の疑いがあり、長期ばく露においては、神経系、肝臓、甲状腺、内分泌系の障害が発生するとある。

また、肝臓においてはエタノールの代謝を抑制し、悪酔いの原因となるアセトアルデヒドを体内に蓄積させることから、医療現場ではアルコール依存症患者に対する抗酒剤として使用される²⁾。

(表1)にジスルフィラムの物理化学的性状を示した。

本報告ではACGIH許容濃度値 2 mg/m³ (0.17 ppm)を基準に 1/1000~2 倍(0.00017 ppm~0.34 ppm)の測定方法を開発することを目的とした。なお、労働者の個人ばく露濃度を評価するために、4時間にわたる大気の採取(吸引速度 0.2 L/min)を行った。

表1 ジスルフィラムの物理化学的性状

CAS No.	97-77-8	
別名	ジスルフィラム、 二硫化N,N,N',N'-テトラエチルチウラム、 ビス(ジエチルチオカルバモイル)ペルスルフィド、 アンタブース	
用途	タイヤの加硫促進剤, 硫黄供与型加硫剤	
構造式	$C_{10}H_{20}N_2S_4$ 	
分子量	296.54	
物性	比重	1.27~1.31
	沸点	117°C (2.5 kPa)
	融点	71°C
	蒸気圧	0.116 Pa (推定値)
	形状	白-灰色の粉末
許容濃度等	日本産業衛生学会	設定なし
	OSHA	設定なし
	NIOSH	設定なし
	ACGIH	TLV-TWA-2 mg/m ³

2. 文献調査

文献調査で、ジスルフィラムは農薬のテトラメチルチウラムジスルフィド(チウラム)と似た性質をもつことが分かった。また、OSHA No.2682³⁾にジスルフィラムの測定方法があり、それを参考に研究を行った。しかし、OSHAに記された捕集方法(石英フィルター捕集)では、低濃度範囲

において高い回収率を得ることができなかった。

このことから、ガラスろ紙と捕集剤が一体となったコマ型捕集剤 NOBIAS RP-SG1WA(ガラスろ紙+ジビニルベンゼンメタクリレート共重合体 440mg、日立ハイテクサイエンス製)を捕集剤として採用し、再び検討を続行した。

3. 捕集および測定条件

3-1. 試薬・器具

【試薬】

テトラエチルチウラムジスルフィド(特級試薬)：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】

捕集剤：NOBIAS RP-SG1WA：株式会社日立ハイテクサイエンス

ポンプ：MP-Σ30 柴田科学株式会社

自動固相抽出装置：アクアトレース：GL-サイエンス株式会社

3-2. 捕集試験の方法と条件

測定範囲：0.00017 ppm～0.34 ppm

気中濃度として、許容濃度 TLV-TWA-2 mg/m³ (0.17 ppm) の 1/1000～2 倍の範囲における捕集および測定方法について検討を行った。

(表 2)に示す各濃度のジスルフィラム溶液を捕集剤に 10 μL 添加し、室内空気を流速 0.2 L/min で 4 時間(全採気量：48 L)通気した。その後、キャップをはめ、4℃の冷蔵庫で一昼夜保存した。

表 2 ジスルフィラム溶液の添加量

		4 時間捕集としての濃度(ppm)		相当の濃度	標準溶液 (μg/mL)	10μL 添加としての添加量(μg)
		①	②	目標濃度 (二次評価値 1/1000)	9.94	0.0994
ジスルフィラム 0.994g/50mL	25μL//50mL ⇒		0.00017	二次評価値 (許容濃度)	9940	99.4
	25mL//50mL ⇒	②	0.17	二次評価値×2 (許容濃度×2)	19880	198.8
	⇒	③	0.34			

3-3. 試料の前処理

3-2. の操作後、捕集剤を自動固相抽出装置に取り付け、バックフラッシュで 5 mL のメタノールを用い溶出した。溶出後メタノールで 4 mL に標線を合わせ、超純水で 5 mL に定容した。この試料を HPLC 測定に供した。

3-4. 検出方法の選択、HPLC 測定条件

文献に測定波長は 220 nm、254 nm と記載されてあったが、確認のため分光光度計にて、ジスルフィラムの最大吸収波長を検出することにした。(図 1) 結果、215 nm 付近で強い吸収を示した。しかし、実際の測定で波長 215 nm を用い測定したところ、ベースラインは安定せず、目的物質の面積も小さく適切ではないことが分かった。このことより、本試験では、254 nm を検出波長として採用した。また、目的物質の検出面積を十分に確保するために、試料注入量を 50 μ L としたところ、ピーク形状に問題はなく良好な結果であった。

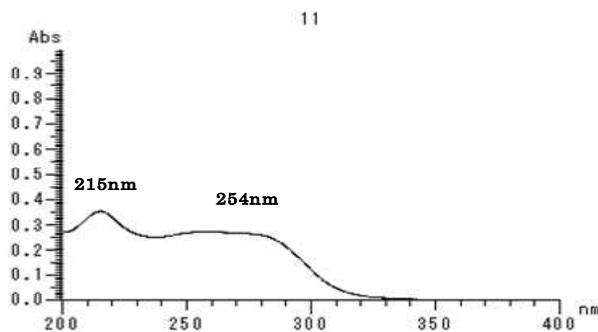


図 1 ジスルフィラムの検出波長

ジスルフィラムの測定条件を(表 3)に記す。

表 3 HPLC の測定条件

装置	UltiMate-3000, (DIONEX 製)
カラム	InertSustain C-18 (5 μ m 4.0 \times 250 mm)
移動相	メタノール : 水 = 75 : 25
注入量	50 μ L
温度	40 $^{\circ}$ C
検出器	UV (254 nm)
流量	0.8 mL/min

4. ブランク

脱着溶媒および捕集材のブランクの確認を HPLC 測定法で行ったところ、目的物質のピークは認められなかった。

5. 破過試験

二連に繋げた捕集剤の上段(一層目)に、ジスルフィラムの許容濃度の二倍濃度(19880 μ g/mL)に調整した標準液 10 μ L を添加し、流速 0.2 L/min で 4 時間通気し破過の確認を行った。

それぞれの捕集剤を測定した結果、一層目からの回収率は 90%以上を超えており、また下段(二層目)から検出された回収率はほぼ 0.00%であった。このことから、流速 0.2 L/min で 4 時間通気の

サンプリングが可能であることが確認できた。(表4)

表4 破過試験結果(n=3)

添加量(μg)	一層目	二層目
	回収率(%) n = 3	
198.8	99.00	0.02
	94.17	0.02
	93.90	0.00

6. クロマトグラム

3-4. (表3)に記す測定条件でジスルフィラム溶液を測定した。9.28分にジスルフィラムのピークを確認した。(図2)

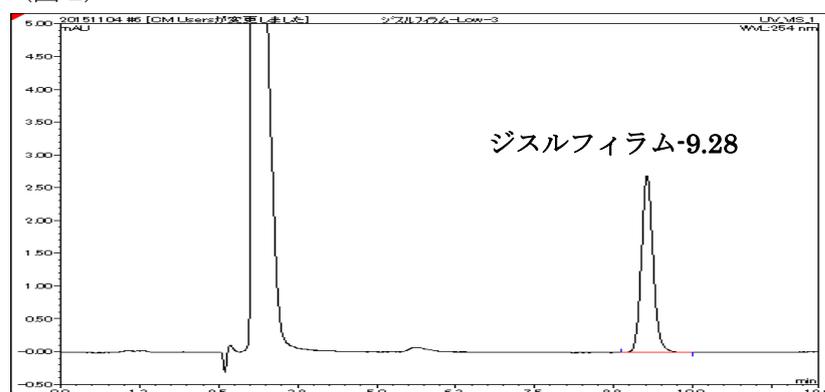


図2 ジスルフィラムのピーク

7. 検量線

適量のジスルフィラムを、メタノール：水=80：20で希釈し、液列を作成した。これらの検量線の直線性について確認を行った。(表5)(図3)(図4)その結果、良好な直線性が得られた。

表5 検量線濃度(0-39.76 μg/mL)

濃度 (μg/mL)	面積 mAU×分
0	0
0.01988	0.054
0.03976	0.111
0.0994	0.294
0.1988	0.558
0.994	2.577
1.988	4.857
9.94	24.34
19.88	47.936
39.76	99.094

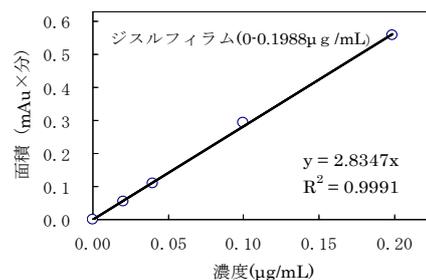


図3 検量線(0~0.1988μg/mL)

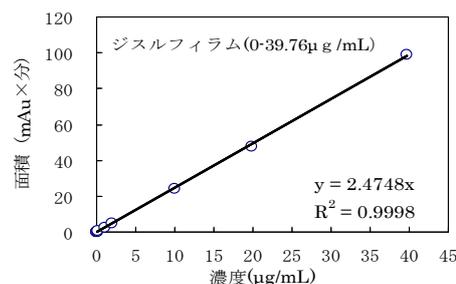


図4 検量線(0~39.76μg/mL)

8. 検出下限および定量下限

検量線作成で調整したジスルフィラム標準液の最低濃度 0.01988 µg/mL(二次評価値の 1/1000 相当)を 5 サンプル測定し、標準偏差(SD)を算出した。得られた標準偏差の 3 倍を検出下限値(LOD)とした。また、得られた標準偏差の 10 倍を定量下限(LOQ)とした。(表 6)

表 6 検出下限(LOD)及び定量下限(LOQ)

SD (µg /sample)	0.00037
LOD (µg /sample)	0.00110
LOQ (µg /sample)	0.00368
ジスルフィラム量	0.00074 µg /mL
48L 採気時の気中濃度の定量下限	0.0063 ppb

また、以下に分析方法の定量下限を示す (表 7)

表 7 測定方法の定量下限

ジスルフィラム量	0.01988 µg /mL
48L 採気時の気中濃度の定量下限	0.171 ppb

9. 添加回収率

添加回収率試験は、以下の表に示す濃度を捕集剤に添加し、3-2. の操作、3-3. の前処理手順に従い試料を作成し、HPLC 測定方法にて求めた。その結果、すべての濃度において 98~102%の回収率が確認でき、RSD も 10%以内と良好な結果となった。(表 8)

表 8 ジスルフィラムの添加回収率

添加量(µg)	4 時間捕集としての濃度(ppm)	相当の濃度	回収率 (%) n=5		RSD (%)
			Mean	SD	
0.0994	0.00017	目標濃度 (二次評価値 1/1000)	98	3.9	4.0
99.4	0.17	二次評価値 (許容濃度)	101	1.2	1.2
198.8	0.34	二次評価値×2 (許容濃度×2)	102	1.7	1.6

10. 保存安定性

捕集後の目的物質の保存安定性を確認するため、以下の表に示す濃度を捕集剤に添加し、3-2 の操作後、0 日、1 日、3 日、5 日間、4℃の冷蔵庫で保存した。その後、3-3 の前処理手順に従い試料を作成し、HPLC で測定を行った。結果、各保存日数において、すべての濃度で 94~103%の高い安定性が確認できた。(表 9)

表9 ジスルフィラムの保存安定性

添加量(μ g)	4時間捕集としての濃度(ppm)	相当の濃度	保存 日数	保存率 (%) n=3		RSD(%)
				Mean	SD	
0.0994	0.00017	目標濃度 (二次評価値 1/1000)	0	94	5.6	5.9
			1	96	5.0	5.1
			3	94	1.9	2.0
			5	94	3.3	3.5
99.4	0.17	二次評価値 (許容濃度)	0	103	2.0	2.0
			1	100	1.4	1.4
			3	101	0.6	0.6
			5	102	2.0	1.9
198.8	0.34	二次評価値 \times 2 (許容濃度 \times 2)	0	101	2.2	2.2
			1	102	0.9	0.9
			3	102	2.8	2.7
			5	102	1.7	1.7

1 1. まとめ

1 1-1. 個人ばく露濃度測定

本研究では、作業環境中のジスルフィラム濃度を定量する方法を検討した。

目標濃度(二次評価値の 1/1000)の測定では精度、感度ともに良好な結果であることが確認できた。また、分析の定量下限は、48 L(0.2 L/min)採気で、0.171 ppb であるため、4時間の個人ばく露濃度測定の目標濃度(0.00017 ppm)まで測定可能と考えられる。保存安定性の確認においては、全濃度において5日目までは十分な保存が可能であると確認することができた。

結論として、本測定方法によって個人ばく露濃度は十分な精度と手法をもって測定することが可能であると考えられる。

1 1-2. 作業環境中のジスルフィラム測定への適用

48 L(0.2 L/min)採気中のジスルフィラム濃度の定量下限は 0.171 ppb であった。一方、作業環境中の A 測定、B 測定の採気時間を 10 分間とすると全採気量は 2.0 L(0.2 L/min \times 10 min)となり、この場合の定量下限は、4.10 ppb となる。この値は二次評価値 0.17 ppm の 1/10 以下であり、作業環境中の測定への応用も可能と考えられる。

1 2. 参考文献

- 1) 職場のあんぜんサイト：製品安全データシート 1-5 項
- 2) 医薬品インタビューフォーム 抗酒癖剤 日本薬局方ジスルフィラム ノンビック 原末 1-2 項 2009年3月改訂(第5版)
- 3) Occupational Safety & Health Administration : OSHA IMS Code Number 2682

(別紙)

テトラエチルチウラムジスルフィド 測定分析法

化学式: C ₁₀ H ₂₀ N ₂ S ₄	分子量: 296.54	CASNo.: 97-77-8
許容濃度等: OSHA 設定なし NIOSH 設定なし ACGIH TLV-TWA-2mg/m ³	物性等 沸 点 : 117°C (2.5kPa) 融 点 : 71 °C 蒸気圧 : 0.0116Pa (推定値) 形 状 : 白-灰色の粉末	
別名 ジスルフィラム、二硫化N,N,N',N'-テトラエチルチウラム		
サンプリング	分析	
サンプラー : NOBIAS RP-SG1WA : 日立ハイ テクサイエンス製 サンプリング流量 : 0.2L/min サンプリング時間 : 4 時間 (48L) 保存性 : 0.0994µg、99.4µg、198.8µg 添加 (冷蔵 5 日間保存可能)	分析方法 : 高速液体クロマトグラフ(HPLC)分 析法 脱着溶媒 : メタノール 5000 測定機器 : UltiMate-3000 (DIONEX 製) カラム : InertSustain C-18(5µm 4.0 × 250mm) カラム温度 : 40°C 移動相 : メタノール : 水=(75 : 25) 流速 : 0.8mL/min 検出器 : UV 254nm 注入量 : 50µL 検量線 : 0.01988~39.76µg/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	
精度		
添加回収率	0.0994 µg 添加	98%
	99.4 µg 添加	101%
	198.8 µg 添加	102%
検出下限 (3SD) 0.00110 µg/mL(0.0018 ppb ,0.2 L/min×4 時 間)		
定量下限 (10SD) 0.00368 µg/mL(0.0063 ppb ,0.2 L/min×4 時 間)		
適用 : 個人ばく露濃度測定		
妨害 : -		
参考文献 :		
1) 職場のあんぜんサイト : 製品安全データシート 1-5 項		
2) 医薬品インタビューフォーム 抗酒癖剤 日本薬局方ジスルフィラム ノンビック 原末 1-2 項 2009 年 3 月改訂(第 5 版)		
3) Occupational Safety & Health Administration : OSHA IMS Code Number 2682		

作成日 ; 平成 28 年 2 月 15 日

