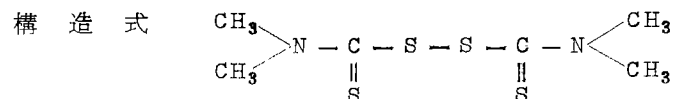


テトラメチルチウラムジスルフィドの濃縮度試験成績報告書

1. 試験期間 昭和53年4月18日～昭和53年9月30日
2. 試料名 テトラメチルチウラムジスルフィド(試料No. 168)



性状 外観：白色粉末 純度：99.5%以上
融点：140℃以上

溶解度：クロロホルムに易溶
アセトン、ベンゼン、アルコールに可溶
水、ガソリンに不溶

LD₅₀ (mg/kg) 1350 (ホワイトマウス)
1200 (ラット)
210 (ラビット)

(提示資料による)

3. 試験方法及び条件

環保業第5号
薬発第615号 } 魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験による
49基局第392号

3.1 試験装置及び機器

- (a) 水系環境調節装置 流水式
(b) ガスクロマトグラフ 検出器 FPD

3.2 試験条件

3.2.1 T L m 試験

(a) 試験魚

ヒメダカ 平均体重 0.27g、塩化第二水銀検定合格魚*

*田端健二 用水と廃水 14 1297～1303 (1972)

(b) 溶解法，分散剤及び分散法

分散剤

使用せず

分散法

供試物質を一夜攪拌し、ろ過したのち濃度検定を行い、16.4 ppm (W/V) の原液を調製した。

(c) 試験温度

25 ± 2℃

(d) 結果

48時間 T L m 値 0.19 ppm (W/V)

3.2.2 濃縮度試験

(a) 外部消毒及び順化

(1) 外部消毒

止水状態で10ppm 塩酸クロロテトラサイクリン
溶液で24時間薬浴を行った。

(2) 順化

25℃ × 21日

(b) 試験水槽

ガラス製 容量 100L

流量 576L/日

(原液：希釈水 4ml : 400ml)

(c) 試験魚

コイ 平均体重 約24g

平均体長 約10cm

(d) 溶解法，分散法

3.2.1 (b) に同じ

(e) 試験温度

25 ± 2℃

(f) 試験水槽の溶存酸素

図一9，10 参照

(g) 水槽濃度

設定理由 精度よく定量できる濃度は約158ppb（二硫化炭素として約100ppb）（図-2参照）である。

水分析時の前処理操作において100倍濃縮が可能なこと及び回収率70.2%及び水槽濃度の低下を10%と見込み、低濃度区の水槽濃度を設定した。
高濃度区については低濃度区の10倍とした。

$$\frac{158}{100 \times \frac{70.2}{100} \times \frac{100-10}{100}} = 2.5 \text{ ppb}$$

設定値

(単位 ppb W/V)	
	供試物質
第1濃度区	25
第2濃度区	2.5

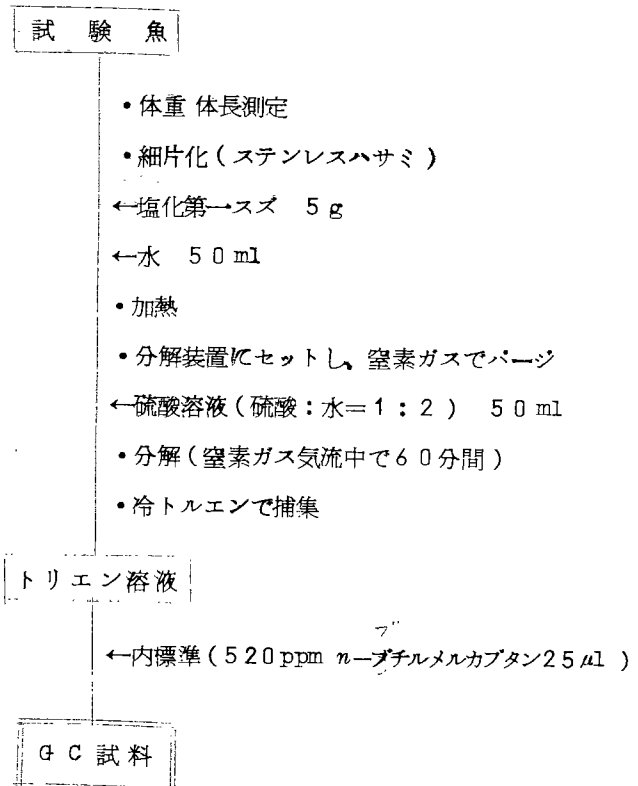
実測値

表-1 濃縮倍率を求めるための平均濃度（単位ppb W/V）

	2W	3W	4W	6W
第1濃度区	17.5	19.2	19.8	20.6
第2濃度区	2.15	2.26	2.21	2.18

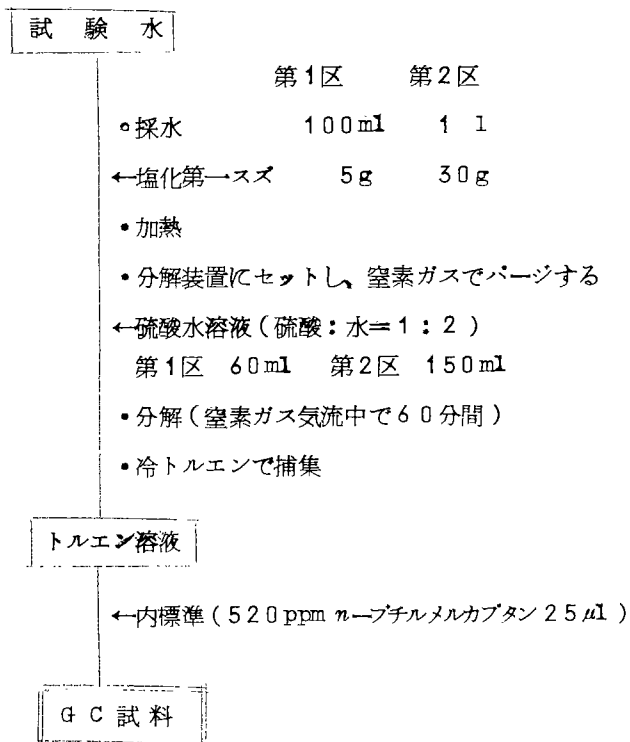
3.2.3 分析試料の前処理

(a) 魚体



以下次頁に続く

(b) 試験水



3.2.4 分析条件

ガスクロマトグラフ	日本電子 20K
検出器	炎光光度検出器（FPD）
カラム	2mmφ×1m ガラスカラム
充てん剤	20% OV-17/クロモソルブ W-AW DMCS
カラム温度	80℃
キャリアーガス	N ₂

4. 試験結果

表-2 濃縮倍率

	2 W	3 W	4 W	6 W	付 図	付 表
第1濃度区	(2.6) (2.0)	(1.5) (1.1)	(3.4) (3.5)	(3.7) (4.4)	1～4	3, 4, 6
第2濃度区	3.4以下 3.4以下	3.4以下 3.4以下	3.4以下 3.4以下	3.4以下 3.4以下	2～4	3, 5, 6

試験結果の表示について

精度よく定量できる濃度は約158ppb（二硫化炭素として約100ppb）である。これは魚体重30g，最終液量10ml，回収率64.8%とすると魚体中濃度で約

$$\frac{158}{\frac{30}{10} \times \frac{64.8}{100}} = 8.13 \text{ ppb}$$

に相当する。

なお $\frac{S}{N} = 2$ とした時の供試物質の検出限界は14.2ppb（二硫化炭素として9ppb，ピーク高さ約3mm）であり、これは魚体中濃度で

$$\frac{14.2}{\frac{30}{10} \times \frac{64.8}{100}} = 7.3 \text{ ppb}$$

に相当する。

従って魚体中濃度が7.3～8.13ppbの試料については濃縮倍率は参考値として()で表示し、7.30ppb未満の試料については

$$\frac{7.30}{\text{6週目の平均水槽濃度}}$$

から算出して第1区0.4，第2区3.4倍以下と表示した。

又、試験中第1濃度区において3日目より試験終了まで魚体に異状が認められたため濃縮倍率は参考値とした。

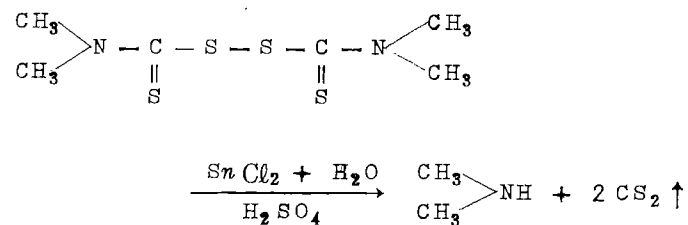
5. 備 考

5.1 供試物質の定量方法について

5.1.1 分析概要

供試物質を分解して発生する二硫化炭素をGCにより定量する。

5.1.2 分解反応の機構^{1) 2)}



試料の分子量 240.4 CS₂ の分子量 76

従って試料の重量は発生するCS₂の重量の $\frac{240.4}{76 \times 2} = 1.58$ 倍

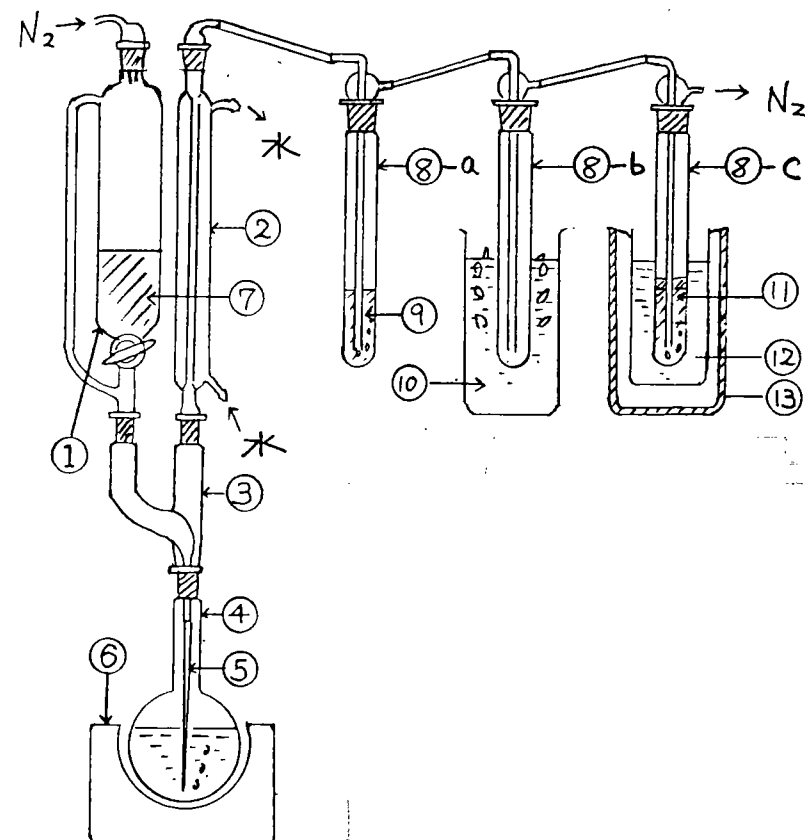
にあたることになる。

5.1.3 分解方法

丸底フラスコ④に適量の試料を入れ、SnCl₂・2H₂O 5gと水100mlを加えて加熱し、捕集管⑧-a 10%酢酸鉛水溶液と⑧-bの空捕集管をつないで装置を窒素ガスで15分間バージする。捕集管⑧-c トルエン溶液10mlをつないで①の硫酸水溶液（硫酸：水＝1：2）60mlを徐々に滴下し、発生する気体をトルエンで捕集する。反応時間は60分。

その結果捕集された気体のトルエン溶液のCS₂をGC分析で定量する。この分解反応は定量的に進行することがわかった。

5.1.4 分析装置



- | | |
|-----------------|---------------|
| ① 分液ロート（円筒平衡型） | ⑧ 捕集管 |
| ② リービッヒ冷却管 | ⑨ 酢酸鉛水溶液 |
| ③ 連結管三叉U字管（中管付） | ⑩ 氷水 |
| ④ 丸底フラスコ | ⑪ トルエン |
| ⑤ テフロン管（内径2mm） | ⑫ ドライアイス アセトン |
| ⑥ マントルヒーター | ⑬ デュワービン |
| ⑦ 硫酸水溶液 | |

5. 1. 5 CS₂捕集条件

還元剤として Na₂S を用いて試料の分解を行ったが、硫化水素の発生が多く、酢酸鉛のトラップでは硫化水素を全部捕集できず、CS₂の定量の際、硫化水素のピークが妨害するので、還元剤として SnCl₂ を用いた。

捕集溶媒は、CS₂との分離及びトラップを冷却することにより、凝固点の低いトルエンを用いた。更に検出器の感度が不安定なために内標準物質として CS₂に類似した *n*-ブチルメルカプタン CH₃(CH₂)₃SH を用いた。

5. 1. 6 G C 条件

G C 分析を行うにあたり、まず CS₂を用いて G C 条件の検討を行った。検出器は S に特異的感度を示す FPD (炎光光度検出器) を用いた。

5. 1. 7 参考文献

- 1) 「農薬公定検査法註解」 鈴木照磨 監修

昭和47年10月31日 第2版発行

- 2) H. Roth und W. Beek : Dithiocarbaminat
und Thiuramdisulfidgruppe

6. 試験魚の斃死原因について

濃縮度試験を開始2週間頃から第1濃度区の試験魚が斃死し始めた。この原因を明らかにするため、以下の検査を行った。

6. 1 異状魚の出現状況

第1濃度区の試験魚について、試験中の観察結果は次のとおりである。

- (1) 下痢症状が3日目から始まり、試験終了時まで続いた。
- (2) 試験期間中、体表、ひれ、眼球などの外観的な異常は認められなかった。なお遊泳行動は緩慢であった。
- (3) 試験魚は16日目、35日目及び36日目に1尾ずつ斃死した。斃死に至る1日または2日前から衰弱が激しくなり、水面に口を出し呼吸困難な状態であった。
- (4) 斃死魚について、外観的な異常は認められなかったが、エラ部分が白っぽくなり極度の貧血症状であった。

6. 2 観察所見及び検査

試験終了時(43日目)試験魚(第1濃度区6尾、第2濃度区5尾)について、外部、エラ及び内部所見と検査を実施した。

6. 2. 1 観察所見の結果

- (1) 外部所見：両濃度区の試験魚について外観的な異常は認められなかった。
- (2) エラ所見：第1濃度区の試験魚5尾について、鰓弁末端が壊死崩壊していた。そのうち2尾はエラ全体が桃白色を呈し、貧血症状であった。また異常魚のエラについて顕鏡観察した結果カナムナリス菌(粘液細菌の一種)及び寄生虫は寄生していなかった。なお第2濃度区の試験魚には前記の所見は認められなかった。

- (3) 内部所見：両濃度区の試験魚とも目視では特別な異常は認められなかった。ただ第1濃度区の1尾について腸管に十二支腸虫が存在した。

6.2.2 魚体検査の結果

魚体検査項目は肥満度，比肝重，ヘマトクリット値（Ht値）及びヘモグロビン値（Hb値）である。検査した結果を表にまとめた。（参照 付表-1） 各項目の結果内容は次のとおりである。

- (1) 肥満度：第1濃度区の魚は第2濃度区のものに比べて僅かに低い値であった。しかし、両濃度区のすべての魚は正常値の範囲内であった。
- (2) 比肝重：第1濃度区の魚の場合、肝すい臓が僅かに肥大しており、比肝重は第2濃度区の魚に比べて大きな値であった。なお第2濃度区の魚の比肝重は正常値の範囲内であった。
- (3) Ht値及びHb値：第1濃度区の魚の場合、Ht値及びHb値はどちらも低く、5尾中3尾は明らかに貧血症状を呈している。なお第2濃度区の魚の場合、Ht値及びHb値はほぼ正常値の範囲内である。

6.3 考 察

第1濃度区に出現した異状魚及び斃死魚には体表面の粘液分泌，各ヒレの崩壊などの症状が認められなかった。従って前記の症状は細菌性疾病によるものでないと見なした。又付表-1の結果より、比肝重，Ht値及びHb値が正常値と異っている。

以上の結果より第1濃度区の試験魚斃死の原因は供試物質の影響と推定した。

K-168による鰓弁の急性変化像

方 法：供試物質濃度0.5 ppm（ヒメダカにおける48hr TL₅₀値の約2.5倍）に供試魚3尾を入れ、約3時間後に鰓弁の状態を顕微鏡により観察した。

結 果：写真-1に示した様に鰓弁末端は壊死・脱落の像を呈し、対照区（写真-2）と比較して明らかな差が認められた。この事は供試魚3尾について同様であった。この観察における倍率の範囲では変化像は濃縮度試験中に出現した異状魚の鰓弁の変化像と同様であった。

写真-1 （×約40）

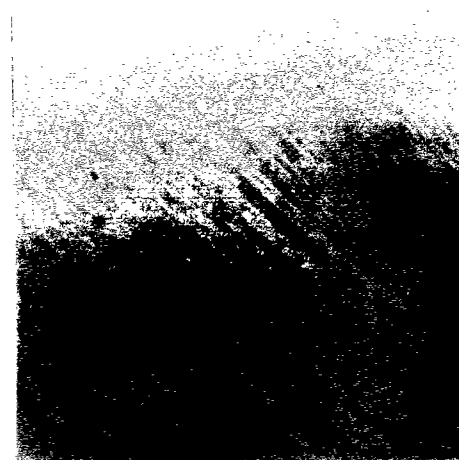


写真-2 （×約40）

