

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

「新課題医療廃棄物の処理システムの構築に関する研究」  
（H10－生活－043）

平成11年度総括研究報告書

平成12年3月

主任研究者：松 島 肇

浜松医科大学医学部

## 総括研究報告書

主任研究者 松島 肇（浜松医科大学医学部教授）

分担研究者 配島 由二（国立医薬品食品衛生研究所薬品部第一室長）

分担研究者 保科 定頼（東京慈恵会医科大学医学部講師）

### 研究要旨：

医療機関における消毒剤、PCR廃棄物、プリオン蛋白汚染廃棄物などの細胞毒性廃棄物の取扱いに関して、消毒剤については活性汚泥処理、PCR廃棄物、プリオン蛋白汚染廃棄物については不活化処理の確立、およびそれらのアンケート調査の解析などによって、それぞれの適正な処理システムを構築する。

平成11年度は活性汚泥に対して毒性の強いトリクロサン（TCS）、クロルヘキシジン（CH）などの医療系廃水中の分析法を確立することとした。PCR廃棄物については、医療機関での実態調査と実験室内汚染について疫学的調査を行った。プリオン蛋白汚染廃棄物については、欧米におけるガイダンスを中心として文献調査、および医療機関におけるプリオン病である伝達性海綿状脳症（TSE）患者およびTSE廃棄物の実態調査を実施した。

医療系廃水中のTCS、CHなどの分析法については、固相抽出、誘導体化、セレクトイディオモニタリングなどで定量する方法を確立した。本法を医療系廃水に適用した結果、TCSでは0.43–8.01 $\mu$ g/l、CHでは0.10–1.94mg/lであり、最高でも最大無作用濃度の十分の一程度であるので、好気性微生物処理法である活性汚泥に対して著しく阻害作用を与えないものと推察した。

PCR廃棄物の疫学的調査では増幅DNA廃棄物の封じこめが充分に行われていないことが明らかになった。またユニバーサルプライマーによる実験室内のDNA汚染が観察され、それらが作業者に曝露されることには問題が多い。

TSE廃棄物の文献調査で、高リスク廃棄物であっても焼却処理などの適切な方法で中間処理すれば問題がないことが明らかになった。日本国内の医療機関での実態調査で、TSE疾患に関する認識、対応策および実際の対処方法のレベルは多種多様であった。加圧型アルカリ加水分解装置によるTSE廃棄物の不活化効率については、現在英国の研究者と共同研究中である。

医療機関における細胞毒性廃棄物のアンケート調査の解析結果については、別添資料編を参照されたい。

## 目 次

第一章	概要 .....	1
第二章	消毒剤の活性汚泥処理に関する研究 .....	7
	一医療系廃水中のトリクロサン、クロルヘキシジンの分析法一	
第三章	プリオン蛋白汚染廃棄物処理の現状と適正処理に関する研究 .....	33
第四章	PCR廃棄物の化学的分解法に関する研究 .....	51
第五章	参考資料 .....	69

別 添 平成11年度総括研究報告書資料編

# 第一章

## 「 概 要 」

主任研究者：松島 肇

浜松医科大学医学部環境科学研究室

## 1 研究目的

新課題医療廃棄物には、毎日、多量に排出される有害性廃棄物である消毒剤、遺伝子増幅（PCR）などで多量に複製されたDNAを含み、発がん性・遺伝毒性などの可能性のある廃棄物（PCR廃棄物）、狂牛病、クロイツフェルト・ヤコブ病などの原因物質と考えられているプリオン蛋白汚染廃棄物などの細胞毒性廃棄物があり、それらの処理方法の構築は緊急の課題である。

そこで、細胞毒性廃棄物の安全な処理法の確立を目指し、消毒剤については、医療機関などの廃水処理に多用されている活性汚泥法による毒性評価を通して、その適用を探る。PCR廃棄物については、酸化剤など、およびプリオン蛋白汚染廃棄物については、アルカリ化剤などによる不活化法を確立して、それらの実用化処理装置を模索する。医療機関に対して、細胞毒性廃棄物の処理についてアンケート調査を実施して、それらの実態と問題点を具体的に提示する。

最終的には、それらの処理システムを構築することを目的としている。

平成11年度は、活性汚泥に対して毒性の強いトリクロサン（TCS）、クロルヘキシジン（CH）などの医療系廃水中の分析法を確立することとした。PCR廃棄物については、医療機関での実態調査と実験室内汚染について疫学的調査を行った。プリオン蛋白汚染廃棄物については、欧米におけるガイダンスを中心として文献調査、および医療機関におけるプリオン病である伝達性海綿状脳症（TSE）患者およびTSE廃棄物の実態調査を実施した。

## 2 研究方法

医療系廃水中の消毒剤トリクロサン、ヘキサクロロフェンの分析法については、固相抽出、誘導体化後、ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）によるセレクトイディオオンモニタリングで定量する方法の確立を試みた。また、医療系廃水中のクロルヘキシジンについても、固相抽出、誘導体化、オンカラムメチレーション後、セレクトイディオオンモニタリングによる定量法の確立を試みた。そして、それらの分析法を医療系廃水の消毒剤濃度の定量に適用した。

PCR廃棄物の疫学的調査は、大学医学部を含む全国の医療機関でDNA診断が行われている施設を中心にアンケートを項目立てして作成し郵送した。また、実験

室内汚染の調査は2種の16S リボソームユニバーサルプライマーを使用して、細菌DNAの存在を検出しバンドを確認した。塵埃、無機汚泥、有機汚泥、スメアータストを行い、これらの物質に含まれるポリメラーゼ阻害物質の除去に関する方法を確立することを試みた。

プリオン蛋白汚染廃棄物については、世界保健機構、英国の危険病原体に関する諮問委員会およびTSE諮問委員会により作成されたガイダンスの文献調査を行い、TSE疾患の伝播、TSE病原体の体内分布、医療機関におけるTSE患者およびTSE廃棄物の取扱いなど、医療廃棄物処理に関連する現在の知見を取りまとめた。日本国内の医療機関におけるTSE患者およびTSE廃棄物の取扱いに関する実態調査を行った。

### 3 結果と考察

医療系廃水中のTCSおよびHCPの分析法については、試料100mlに内部標準物質として、ピチオノールの一定量を加えた後、1規定水酸化ナトリウム溶液1-3mlを加えてpH11.0-13.0に調節した溶液から正確に20mlを取り、エキストレルートカラムに添加してn-ヘキサンで不純物を除去した。そして、酢酸エチル40mlで溶離してTCS、HCPなどを抽出した。抽出液を減圧下および窒素ガス下で蒸発乾固して、トリメチルシリル(TMS)化剤を加えて室温で1分間攪拌して、それらのTMS誘導体とした後、セレクトイディオモニタリング(EI 20eV)によって定量する方法を確立した。

また、医療系廃水中のCHの分析法については、試料100mlに1規定水酸化ナトリウム溶液1-2mlを加えてpH12.5-13.0に調製した溶液から、正確に20mlを取ってエキストレルートカラムに添加し、酢酸エチル40mlで溶離してCHを抽出・精製した。溶出液を減圧下で0.1ml程度に濃縮し、無水トリフルオロ酢酸0.2mlを加えて、室温で2分間攪拌してCHトリアジン誘導体とした後、窒素ガス気流下で蒸発乾固した。これに、0.2モルトリメチルアニリニウムヒドロキシドのメタノール溶液を加えて溶解し、GCカラム内でオンカラムメチレーションしてCHトリアジンメチル誘導体とした後、セレクトイディオモニタリング(EI70eV)によって定量した。

本法を浜松医科大学医療廃棄物処理センターに流入する医療系廃水に適用した結

果、TCSでは0.43–8.01 $\mu\text{g}/\text{l}$ 、HCPではいずれも不検出(0.10 $\mu\text{g}/\text{l}$ 未満)であり、CHは0.10–1.94 $\text{mg}/\text{l}$ であった。本分析結果は、最高で最大無作用濃度の十分の一程度であり、好気性微生物処理法の活性汚泥に対して著しく阻害作用を与えることはないものと推察した。

PCR廃棄物の疫学的調査の結果、定期的に遺伝子操作で加工されたDNAが廃棄され、その種類と量がおおむね把握された。

実験室内汚染調査は2種のプライマーのもつ特性によって環境由来のDNA汚染を調べ、汚染DNAを迷入した場所を特定することが可能となり、それは広域に渡っていた。また、塵埃、汚泥中からユニバーサルプライマーを用いてDNAの回収が可能であった。ポリメラーゼ阻害除去に関して種々の処理と高速遠心の組み合わせでPCR反応が可能であった。これらによって生じるPCR廃棄物は意味のある塩基配列を持っていることが多く、処理には感染性廃棄物容器への封じこめと中間処理、さまざまな処理法での分解、作業中には手袋着用など、適正な処理が必要と考えられる。また、ペプチド核酸は、DNA分解酵素、蛋白分解酵素で消化されないため、PCR廃棄物と同様な廃棄物処理の必要性が示唆された。

TSE廃棄物に関する文献調査の結果、各種の公的なガイダンスに従った場合、医療廃棄物分野においては、高リスク廃棄物であっても焼却処理を施すのであれば現行と同じ方法により、各種のTSE廃棄物を取り扱って差し支えなく、焼却が適用できない場合でも、適切な方法で洗浄および中間処理を行うことを除けば、通常の医療廃棄物を取り扱う以上の特別な処置を必要としないことが明らかになった。

また、TSE患者の取扱い、使用済み器具およびTSE患者由来廃棄物の処理方法、汚染除去法などに関しても有益な情報を得た。日本国内の医療機関での実態調査では、各医療機関におけるTSE疾患に関する認識、対応策および実際の対処方法のレベルは多種多様であることが判明した。回答の得られた医療機関の中には、TSE廃棄物を不適切な方法で処理しているケースや感染制御上、明らかに過剰防衛処理を施しているケースがあるなど改善されるべき幾つかの問題点が存在することが明らかになった。これらの原因としては、1)医療現場におけるTSE疾患の理解不足、2)統一されたガイダンスの欠如などが考えられる。そのほか、TSE廃棄物の処理を処分業者に委託する場合の問題点も明らかになった。平成10年度の本研究においては、医療機関における簡便かつ安全なTSE廃棄物処理システムを構築する目的で処理装置の検索を行い、加圧型アルカリ加水分解装置(WR<sup>2</sup>)がその第一候補として挙げた。現在、Institute for Animal Health(英国)のDavid Tay-

lor 博士らのグループとの共同研究により同装置の T S E 病原体に対する不活化効率を *in vitro* および *in vivo* 試験により検討しており、その結果に興味を持たれる。

#### 4 結論

医療系廃水中の T C S、C H などの分析法については、固相抽出、誘導体化、セレクトイディオモニタリングなどで定量する方法を確立した。

本法を医療系廃水に適用した結果、T C S では 0.43–8.01 µg/l、C H では 0.10–1.94 mg/l であり、最高でも最大無作用濃度の十分の一程度であるので、好気性微生物処理法である活性汚泥に対して著しく阻害作用を与えることはないものと推察した。

P C R 廃棄物の疫学的調査では、増幅 D N A 廃棄物に関して、その汚染が問題にされ一部では生体への影響も意識されていた。しかし、増幅 D N A 廃棄物の封じこめが充分に行われていないことが明らかになった。

また、ユニバーサルプライマーによる実験室内の D N A 汚染が観察され、それらが作業者に曝露されることには問題が多い。有価性のある患者個人情報への守秘義務という点からも検討が必要であると考えられた。さらに、ペプチド核酸は自然界に存在する D N A と三重鎖構造を形成し、いったん細胞に取り込まれると細胞毒性を生じると考えられる。今後、遺伝子増幅操作に限らず、遺伝子操作を行った D N A、R N A についても廃棄の問題を検討する必要がある。

T S E 廃棄物の文献調査で、高リスク廃棄物であっても焼却処理などの適切な方法で中間処理すれば問題がないことが明らかになった。

日本国内の医療機関での実態調査で、T S E 疾患に関する認識、対応策および実際の対処方法のレベルは多種多様であった。加圧型アルカリ加水分解装置による、T S E 廃棄物の不活化効率については、現在、英国の研究者と共同研究中である。

医療機関における細胞毒性廃棄物のアンケート調査の解析結果については、別添資料編に記した。



## 第二章

### 「消毒剤の活性汚泥処理に関する研究」

#### —医療系廃水中のトリクロサン、クロルヘキシジンの分析法—

主任研究者　：　松　島　肇

浜松医科大学医学部環境科学研究室

## I はじめに

医療廃棄物には、ヒトが感染し、または感染のおそれのある病原微生物が含まれ、もしくは付着しているまたはそれらのおそれのある感染性廃棄物、ガラスくず、陶磁器くず、金属くずなど鋭利なものによって傷害の危険性のある損傷性廃棄物、重金属類、ダイオキシン類のような毒性化学物質などを含有する有害性廃棄物などに分類することができる。

そのなかでも、消毒剤は毎日頻繁に使用され、多量に排出される医薬品の一つであり、有害性廃棄物である。消毒剤は短時間の接触で病原微生物を死滅させ、消毒作用が持続するという性質が要求されることから、一般に医療系廃水処理施設で使用されている好気性微生物処理の活性汚泥に対して悪影響を与えることが危惧される。

その処理方法として、消毒剤を難燃性廃液として分別回収して焼却処理することが考えられる。しかしながら、医療機関などに設置されている焼却炉は、主として固形状のものが対象であり、消毒剤廃液に適用することはできない。研究機関を有する大学医学部などに設置されている噴霧燃焼炉は、焼却処理能力が小さく、消毒剤廃液に適用することは困難である。しかも、トリクロサン（グリンズ）などの消毒剤を難燃性廃液として噴霧燃焼処理すると、毒性の非常に高いダイオキシン類が生成することが報告されている<sup>1, 2)</sup>。

そして、前報では、消毒剤の活性汚泥処理への適用を検討するために、酸素吸収法を用いて消毒剤の酸素吸収量を測定して、活性汚泥に対する毒性を最大無作用濃度および半数致死濃度（阻害率50%濃度）で評価した。

最大無作用濃度で最も毒性の強い消毒剤は、ヘキサクロロフェン（ファイゾフェックス）で推定6 mg/lであり、つづいてトリクロサン、20%クロルヘキシジンジグルコネート（ヒビテン・グルコネート液）、塩化ベンゼトニウム（ハイアミン液）、ポビドンヨード（イソジン）、クレゾール石けん液などの順で20-320mg/lである。半数致死濃度で最も毒性の強い消毒剤は、トリクロサンで50mg/lであり、つづいてヘキサクロロフェン、クロルヘキシジンジグルコネート、塩化ベンゼトニウム、ポビドンヨード、アルキルジ（アミノエチル）グリシン塩酸塩（テゴ-51）、クレゾール石けん液などの順で110-920mg/lであるという結果を得ている<sup>3)</sup>。

そこで、活性汚泥に対して毒性の強いトリクロサン、クロルヘキシジンなどの医療系廃水中の濃度を明らかにして、活性汚泥処理への適用を検討するために、医療系廃水中のそれらの分析法を確立することとした。

## II 消毒剤の活性汚泥に対する毒性の評価<sup>3, 4)</sup>

### 1. 実験方法

ワールブルグ検圧計を用い、採取後、医療系廃水に特徴的な貧栄養下で馴養した活性汚泥の適量に、供試消毒剤希釈溶液などを添加し、活性汚泥の酸素吸収量（呼吸量）を測定した。反応容器の主室には供試消毒剤希釈溶液などを入れ、副室には呼吸によって発生する二酸化炭素吸収用の水酸化ナトリウム溶液を入れる。測定条件は、予備実験の結果から、水温20℃、振とう回数100回/分、活性汚泥濃度3,500 mg/l、基質（グルコース）濃度 100mg/l、pH 7.2（リン酸緩衝液使用）、測定時間 5 時間とした。

### 2. 活性汚泥に対する消毒剤の評価

活性汚泥に対する消毒剤の毒性については、5時間後の活性汚泥の酸素吸収量が正常値と同じ値になったときの消毒剤の濃度を最大無作用濃度（ $IC_{0}$ ）として評価した。また、同様に、5時間後の活性汚泥の酸素吸収量が正常値の半分（50%）になったときの消毒剤の濃度を半数致死濃度（ $IC_{50}$ ）として評価した結果を表1に示す。最大無作用濃度または半数致死濃度の値が小さいほど、活性汚泥に対する

表1 各種消毒剤の活性汚泥に対する  $IC_{0}$  および  $IC_{50}$  (mg/l)

消 毒 剤	$IC_{0}$	$IC_{50}$
トリクロサン	20	50
ヘキサクロロフェン	( 6 )	110
クロルヘキシジンジグルコネート 4%	20	140
クロルヘキシジンジグルコネート 5%	110	200
クロルヘキシジンジグルコネート 20%	110	220
ジデシルジメチルアンモニウムクロライド	110	280
塩化ベンゼトニウム	120	290
ポピドンヨード	130	300
アルキルジ（アミノエチル）グリシン塩酸塩	300	640
クレゾール石鹼液	320	920

毒性（阻害）が強いことになる<sup>5)</sup>。

### 3. 活性汚泥に対する消毒剤の毒性

各種消毒剤の活性汚泥に対する毒性試験の結果、最大無作用濃度でみると、最も毒性の強い消毒剤は、ヘキサクロロフェンで推定 6mg/l であり、つづいてトリクロサンで 20mg/l であり、20% クロルヘキシジンジグルコネートで 110mg/l、塩化ベンゼトニウムで 120mg/l、ポビドンヨードで 130mg/l、クレゾール石けん液で 320mg/l などの順である。

また、半数致死濃度（阻害率 50% 濃度）でみると、最も毒性の強い消毒剤は、トリクロサンで 50mg/l であり、つづいてヘキサクロロフェンで 110mg/l であり、4% クロルヘキシジンジグルコネート（ヒビスクラブ）で 140mg/l、5% クロルヘキシジンジグルコネート（5% ヒビテン液）で 200mg/l、20% クロルヘキシジンジグルコネートで 220mg/l、塩化ベンゼトニウムで 290mg/l、ポビドンヨードで 300mg/l、アルキルジ（アミノエチル）グリシン塩酸塩で 640mg/l、クレゾール石けん液で 920mg/l などの順である。

### Ⅲ 消毒剤の使用量

浜松医科大学（本学と略す）附属病院で調査（1995年4月から1996年3月）したアルコール類を除いて、主に手指、医療器具などに使用された消毒剤の年間使用量を表2に示す。

それによると、年間使用重量では、次亜塩素酸ナトリウム（ミルトンまたはピューラックス）、アルキルジ（アミノエチル）グリシン塩酸塩、グルタールアルデヒド（ステリハイド）が100kg以上使用されていることが明らかになった。そのほか、第四級アンモニウム塩である塩化ベンゼトニウム、クロルヘキシジンジグルコネート、ポビドンヨード、クレゾール石けん液などの順で使用されていた。

一方、その年間使用容量では、次亜塩素酸ナトリウム、グルタールアルデヒド、ポビドンヨード、アルキルジ（アミノエチル）グリシン塩酸塩の使用が多く、その

表2 浜松医科大学附属病院における消毒剤年間使用量  
(1995年4月～1996年3月)

消 毒 剤	年 間 使 用 量		
	(ℓ)	(kg)	
クロルヘキシジンジグルコネート	20%	35	7.0
クロルヘキシジンジグルコネート	5%	465	23.3
クロルヘキシジンジグルコネート	4%	354	14.2
チオ硫酸ナトリウム	2%	730	14.6
ポビドンヨード (ヨウ素換算)	1%	1453	14.5
ポビドンヨード (ヨウ素換算)	0.75%	247	1.9
トリクロサン	0.3%	194	0.6
次亜塩素酸ナトリウム	6%	2145	129
次亜塩素酸ナトリウム	1.1%	1959	21.5
グルタールアルデヒド	20%	188	37.6
グルタールアルデヒド	2.25%	3401	76.5
ヘキサクロロフェン	3%	0	0
クレゾール	42～52%	33	15.8
塩化ベンザルコニウム	0.2%	198	0.4
塩化ベンゼトニウム	10%	541	54.1
オキシドール	2.5～3%	90	2.5
アクリノール	0.1%	24	0.02
アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩	10%	1303	130

クレゾール48%、オキシドール2.8%として計算

ほか、クロルヘキシジンジグルコネート、チオ硫酸ナトリウム、塩化ベンゼトニウムなどの順で使用されていた。

著者らが、1988年 4月から1989年 3月までの1年間に使用された消毒剤の重量を調査した結果では、クレゾール石けん液、塩化ベンゼトニウム、クロルヘキシジンジグルコネートの使用が多く、主として手指消毒に使用されているものが上位を占めたが、今回の調査では、主として医療器具などの消毒に使用される消毒剤が上位を占めていた。このことは、院内感染の防止対策などとして消毒剤が多用されていることを反映しているものと推定される。

#### IV 医療系廃水中のトリクロサンおよびヘキサクロロフェンの分析法

We have developed method for determination of triclosan [2,4,4'-trichloro-2'-hydroxy-diphenylether] and hexachlorophene [2,2'-methylene-bis(3,4,6-trichlorophenol)], disinfectants, in medical waste water by selected ion monitoring assay (electron ionization 20eV).

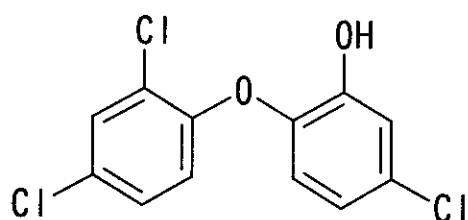
To 100ml of the medical waste water spiked a constant volume of bithionol [2,2'-thio-bis(4,6-dichlorophenol)] as an internal standard compound, was added 1.0-3.0ml of 1N NaOH solution to adjust its pH 11.0-13.0. A 20ml aliquot of the solution was applied to an Extrelut column and eluted with 40ml of n-hexane to eliminate interfering compounds. And then triclosan, hexachlorophene and bithionol on the column were extracted with 40ml of ethyl acetate. To the residue dried up under a reduced pressure and N<sub>2</sub> gas, was added a constant volume of N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide(BSTFA)-ethyl acetate (1:4) solution and mixed vigorously for 1 minute at room temperature. It was subjected to triclosan, hexachlorophene and bithionol trimethylsilylether derivatives. The amounts of triclosan and hexachlorophene were determined by monitoring at m/z 347, 515 and m/z 397 for bithionol to ensure specificity of this analysis.

Recoveries of triclosan and hexachlorophene added to medical waste water were 93, 88% for 1 $\mu$ g and 98, 95% for 10 $\mu$ g, respectively. In the medical waste water from our medical waste water treatment plant, triclosan and hexachlorophene concentrations were found to be 0.43-8.01 $\mu$ g/l, not detected (less than 0.10 $\mu$ g/l).

##### 1. 緒言

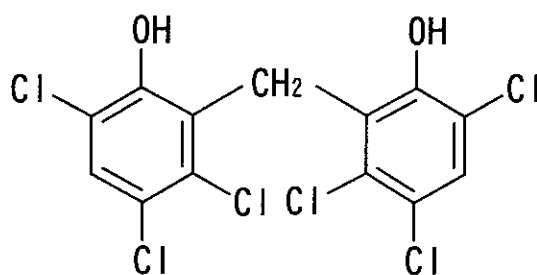
病院などから排出される医療系廃水中には、不特定多数の医薬品が常時含有されているが、そのなかでも消毒剤は、毎日頻繁に使用されて多量に排出される医薬品の一つである。トリクロサン [Triclosan=2,4,4'-Trichloro-2'-hydroxy-diphenylether; C<sub>12</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub>、分子量 289.6; T C Sと略す] およびヘキサクロロフェン [Hexachlorophene=2,2'-Methylene-bis(3,4,6-trichlorophenol); C<sub>13</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>6</sub>、分子量 406.9; H C Pと略す] は強い抗菌性と広い抗菌スペクトルを有する性質か

ら消毒剤として使用されている。とくにTCSは、肝炎ウイルス活性に対して阻害作用があることから、最近広く使用されている。TCSおよびHCPの構造式を図1に示す。使用された消毒剤溶液は直接廃棄されて医療系廃水中に含有されるこ



トリクロサン

2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether



ヘキサクロロフェン

2,2'-methylenebis (3,4,6-trichlorophenol)

図1 TCSおよびHCPの構造式

とから、医療系廃水処理施設の主要な処理過程である好気性微生物処理に対する影響、ならびに環境汚染などが問題となる可能性がある。消毒剤中のTCSおよびHCPの定量については種々の方法が報告されているが、廃水および環境水についてはほとんど報告されていないのが現状である。そこで、医療系廃水中のTCSおよびHCPについて、ビチオノール [Bithionol=2,2'-Thio-bis(4,6-dichlorophenol);  $C_{12}H_6O_2Cl_4S$ 、分子量 356.1; BTNと略す] を内部標準物質として、エキストラクトカラムによる抽出・精製、トリメチルシリルエーテル誘導体化後、セレクトイディオノンモニタリングで定量する方法を確立した。



## 2. 実験材料および装置

### 1) 実験材料

水酸化ナトリウム、*n*-ヘキサン、酢酸エチル、*N,O*-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFAと略す)は和光純薬工業(株)から購入した特級試薬またはガスクロマトグラフィー(GC)用試薬を用いた。エキストレルートカラムはE. Merck (Darmstadt, FRG)から購入した。標準物質としてのTCSは加商(株)から提供されたものを*n*-ヘキサンで再結晶したものをを用いた。HCPはSigma Chemical Co.、BTNは東京化成工業(株)よりそれぞれ購入したものをそのまま使用した。

分析試料は本学医療系廃水処理施設に流入する医療系廃水を採取したものをを用いた。

### 2) 装置

ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)は日本電子(株)製を使用し、ガラスカラム(1m×3mm)に1% Silicone OV-101 on Chromosorb W 60-80 meshを充てんしたものをを用いた。GC条件としては注入温度 310℃、カラム温度 240-290℃、昇温速度 5℃/min、ヘリウム流速 30ml/minとした。MSの条件としてはイオン化電圧20eV、イオン化電流 300 $\mu$ A、イオン化温度 290℃およびセパレーター温度 310℃などとした。

## 3. 結果

### 1) 抽出および精製

TCS、HCPおよびBTN標準溶液の既知量を取り、各種pH溶液を加えて正確に20mlとしてエキストレルートカラムに添加し、酢酸エチル、ジエチルエーテル、ジクロロメタン、ベンゼン、クロロホルム、アセトニトリル、*n*-ヘキサンなどで溶離して各種pHにおけるTCS、HCPおよびBTN抽出率などを検討した。それらの結果から抽出溶媒として酢酸エチルを選択した。

各種pHにおける酢酸エチルによるそれらの抽出曲線を図2に示す。それによると、TCSではpH11.0-13.0、HCPではpH 9.5-13.0で抽出率がほぼ100%であり、BTNではpH 9.5-13.0で95%以上であった。酢酸エチルによる溶出曲線を検討し

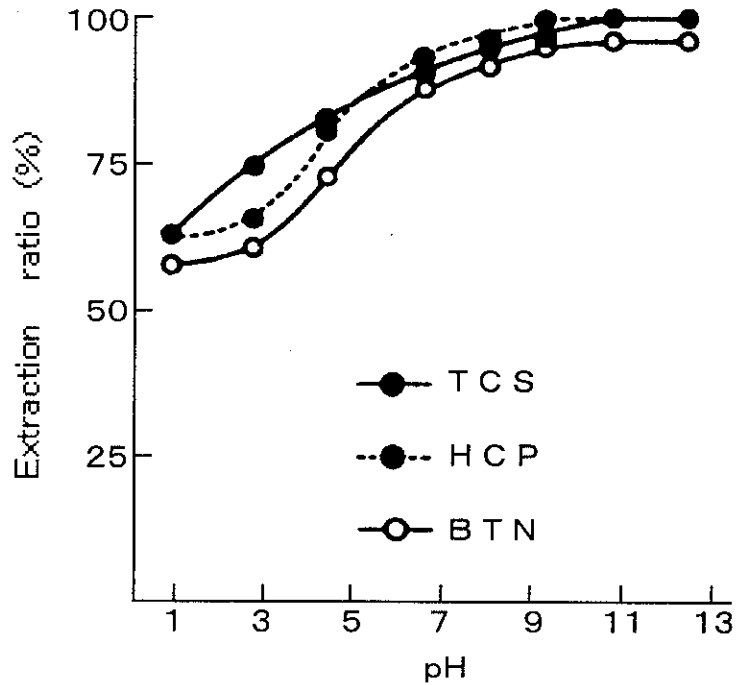


図2 TCS、HCPおよびBTNの抽出曲線

た結果、酢酸エチル30-60mlでTCS, HCPおよびBTN抽出率がほぼ一定であった。なお、直接酢酸エチルで溶離するとカラム由来の不純物ピークが認められるので、あらかじめn-ヘキサンでクリーンアップした後、酢酸エチルで抽出することとした。

## 2) 誘導体化

TCS、HCPおよびBTNの誘導体化については、TMS（トリメチルシリル化と略す）、メチル化、トリフロロアセチル化などを検討し、簡便、迅速性の上でTMS化が適当であると判断した。そこで、それらの標準溶液の既知量を取り、種々のTMS誘導体化について検討した。その結果、BSTFAを使用することによって室温1分間で誘導体化され、長時間安定であることを確認した。

## 3) 同定および定量

標準物質からのTCS、HCPおよびBTNのそれぞれのTMS誘導体の電子イオン化20eVによるマススペクトラを図3に示す。それによると、TCSの分子イオン(M<sup>+</sup>) m/z 360のほか、m/z 362、364などのピークが出現していた。基準ピー

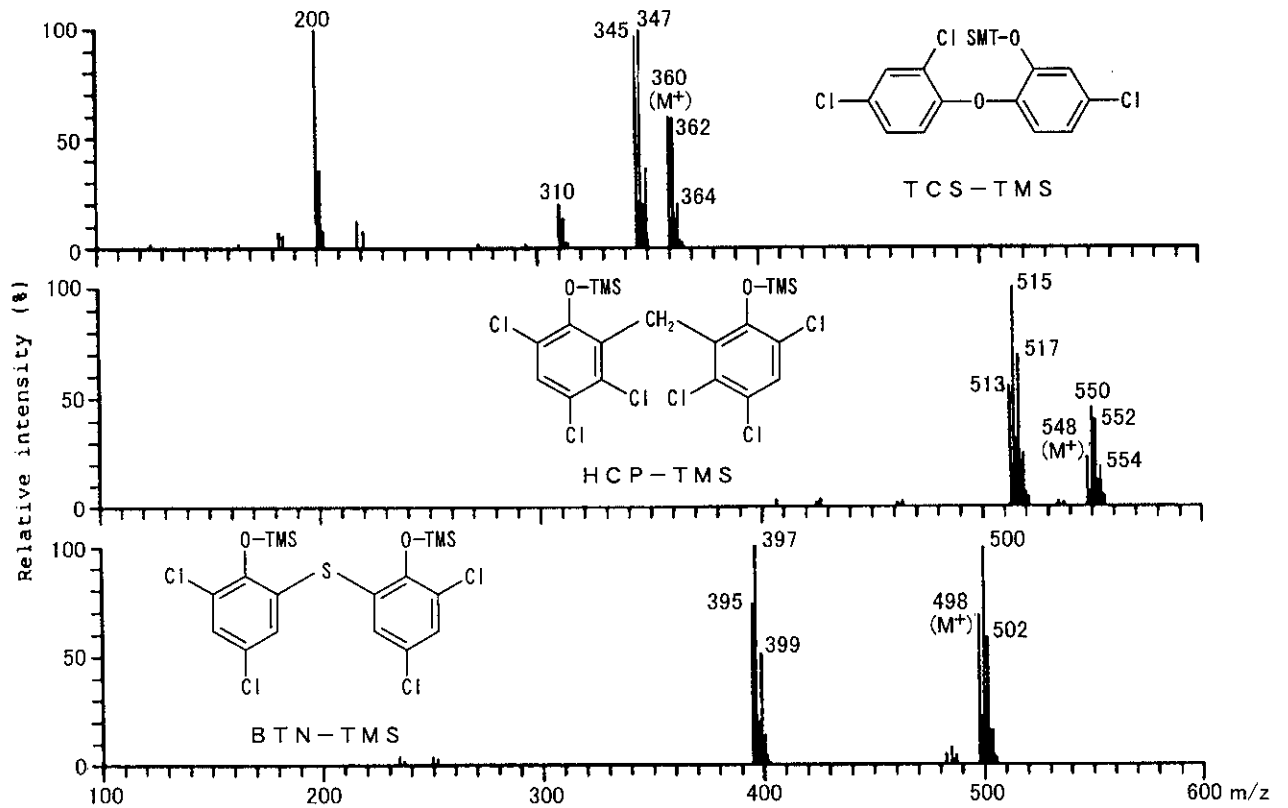


図3 TCS、HCPおよびBTN-TMS誘導体のマススペクトラ (EI 20eV)

クは $m/z$  200であり、相対強度の高いイオンは $m/z$  345、347、349 および 310、312 などであった。HCPの分子イオン $m/z$  548のほか、 $m/z$  550、552、554などのピークが出現していた。基準ピークは $m/z$  515であり、相対強度の高いイオンは $m/z$  513、517 などであった。BTNの分子イオン $m/z$  498のほか、 $m/z$  500、502などのピークが出現し、基準ピークは $m/z$  397であり、相対強度の高いイオンは $m/z$  395、399などであった。そこで、セレクトイディオオンモニタリングによるTCSおよびHCPの定量には $m/z$  347、515を用い、内部標準物質のBTNには $m/z$  397を用いた。

TCSおよびHCP誘導体の同定は、マスフラグメントグラムのピークの相対保持時間でそれぞれ行った。そして、それらの定量についてはマスフラグメントグラムのピーク面積から相対検量線法によって行い、0.05-50ng の範囲で直線性が成立した。

#### 4) 医療系廃水中のTCSおよびHCPの定量

以上の結果から、つぎのように分析することとした。

試料 100mlに内部標準物質としてBTNの一定量を加えた後、1規定水酸化ナトリウム溶液 1-3mlを加えてpH11.0-13.0に調節した溶液から正確に20mlを取り、エキストレルートカラムに添加してn-ヘキサン40mlで不純物を除去した。そして、酢酸エチル40mlで溶離してTCS、HCPおよびBTNを抽出した。抽出液を減圧下および窒素ガス下で蒸発乾固し、BSTFA-酢酸エチル(1:4)一定量を加えて室温で1分間攪拌してそれらのTMS誘導体とした後、セレクトイディオモニタリング(EI 20eV)によって定量した。試料適当量にTCSおよびHCP 1、10 $\mu$ gを添加して全操作を行った結果、それらの回収率はTCSでそれぞれ 93、98%であり、HCPで 88、95%であった。試料からのそれらのTMS誘導体のマスフラグメントグラムを図4に示す。

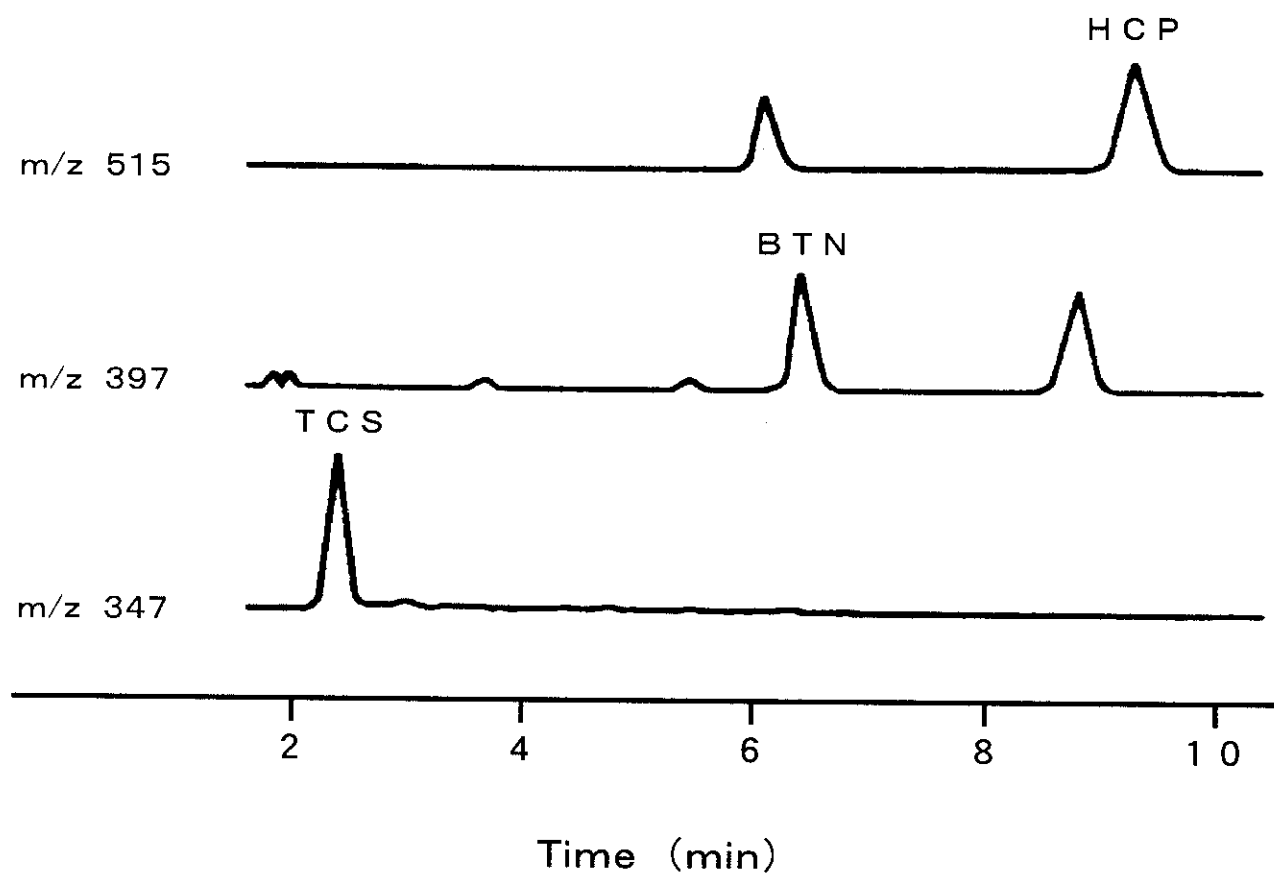


図4 TCS、HCPおよびBTN-TMS誘導体のマスフラグメントグラム

本法を本学医療系廃水処理施設に流入する医療系廃水に適用した結果、TCSでは 8.01、0.43、1.74、1.35 $\mu$ g/l、HCPではいずれも不検出(0.10 $\mu$ g/l未満)で