

資 料

合成洗剤の各種細菌，魚，ヒト皮膚に及ぼす影響

阿 部 隆 正*

(専攻課程環境コース，平成2年度)

近 藤 雅 雄

(国立公衆衛生院・栄養生化学部)

吉 田 洋 子

(国立公衆衛生院・衛生微生物学部)

葛 原 由 章

(国立公衆衛生院・衛生薬学部)

Effects of synthetic detergents on bacterial growth,
fish toxicity and human skin irritation

Takamasa ABE

*(from the Course of Environmental Science, Course Leading to the Diploma
in Public Health, the Institute of Public Health, Tokyo.)*

Masao KONDO

(from the Department of Nutrition and Biochemistry, the Institute of Public Health, Tokyo.)

Youko YOSHIDA

(from the Department of Public Health Microbiology, the Institute of Public Health, Tokyo.)

Yoshiaki KUZUHARA

(from the Department of Pharmaceutical Science, the Institute of Public Health, Tokyo.)

T. ABE, M. KONDO, Y. YOSHIDA, Y. KUZUHARA *Effects of synthetic detergents on bacterial growth, fish toxicity and human skin irritation.* Bull. Inst. Public Health, 40(3), 311-317, 1991.

Seven different synthetic detergents, i.e., four for kitchen use and two for household use obtained from domestic market and one imported from U.S.A., were assessed for their safety to use by bacterial growth inhibition, fish toxicity and human skin irritation tests. The results are as follows:

1. The imported synthetic detergent and both synthetic detergents for household use inhibited bacterial growth at lower concentrations than the synthetic detergents for kitchen use.
2. When the detergents were assessed by the fish toxicity test, the two detergents for kitchen use containing straight chain of alkylbenzene sodium sulfonate, as a main ingredient were most toxic. Sequential toxic manifestations eventuating in death of fish were common with all synthetic detergents tested, being diminished power of swimming, swarming up to the surface of water, difficult to keep equilibrium and incapable of swimming.
3. The intensity of skin irritation varied with chemical characteristics of synthetic

*現在：陸上自衛隊衛生補給処

[キーワード] 合成洗剤，細菌発育阻止能，魚毒性，皮膚刺激，パッチテスト

[平成3年9月17日受理]

detergents. The four products for kitchen use (containing straight chain of alkylbenzene sodium sulfonate, as a main ingredient) were more potent than the imported product in eliciting an irritant skin response, which might be responsible for hand eczema.

Key Words synthetic detergent, bacterial growth inhibition, fish toxicity, skin irritation, patch test.

(Accepted for publication, September 17, 1991)

序 論

合成洗剤は日常生活の中で台所用・住宅用洗剤として広く使用されている。しかし、一方ではこれの生活排水や工場廃水の流出に伴う河川の汚染、富栄養化に伴う漁業への影響、飲料水や食品への影響、皮膚への影響等が問われており、合成洗剤の人体および環境への影響についての論争が絶えないのが現状である。我々は、現在国内で一般に広く使用されている合成洗剤と、外国から新しく輸入された合成洗剤について細菌に対する最小発育阻止濃度の測定、水棲生物への影響、皮膚刺激反応の有無に関しての比較検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

実験材料および方法

1. 試 料

本実験に用いた合成洗剤の主成分、液性等について表1に示し、製品別にA~Gと命名した。A, B, C, Dは台所用合成洗剤, F, Gが住宅用合成洗剤であり、現在広く一般家庭で利用されている。しかし、Eは新しく外国から輸入された合成洗剤であり、環境保全および水質汚染防止に役立つ超効力洗浄液として米国食品衛生局 (USDA), 労働省安全局 (OSHA), 沿岸海染監督局 (US Coast Guard) などの許認可を受け主に米国で使用されているが、わが国では市販されていない。

各洗剤の成分についての詳細は不明であるが、輸入合成洗剤の主成分は非イオン系高級アルコールのオクチルフェノキシポリエトキシアルコール27~28%, キ

表1 合成洗剤一覧表

被験物質	界面活性剤		その他の成分	液 性	用 途	標準使用量
	%	主 成 分				
A	23	直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム		中 性	野菜・果物 食器・調理 用具用	水1ℓに 対して1.5ml
B	29	アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム 脂肪酸アルカノールアミド		弱酸性	野菜・果物 食器・調理 用具用	水1ℓに 対して1.5ml
C	26	直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム アルファオレフィンスルホン酸ナトリウム		中 性	野菜・果物 食器・調理 用具用	水1ℓに 対して1.5ml
D	16	アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム 脂肪酸アルカノールアミド		中 性	野菜・果物 食器・調理 用具用	水1ℓに 対して2.5ml
E	28	オクチルフェノキシポリエトキシアルコール	グリコールエー テルキレート剤	アルカ リ性	工業用・食 品用	水1ℓに 対して1.5ml
F	6	ポリオキシエチレンアルキルエーテル		アルカ リ性	住宅用	水1ℓに 対して1.5ml
G	8	高級アルコール系 (非イオン)	グリコールA・ ME	弱アル カリ性	住宅用	水1ℓに 対して2.5ml

レート剤 (EDTA) 2~4%, 可溶化剤 (ジプロピレングリコール・メチルエーテル) 4~6%等を含んでいる。また、国内製品の主成分は直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (陰イオン系), アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム (陰イオン系), ポリオキシエチレンアルキルエーテル (非イオン系) である。

2. 細菌の発育阻止濃度

(1) 被験物質: 台所用合成洗剤 A, B, C, D, 輸入合成洗剤 E, 住宅家具用合成洗剤 F, G の合計 7 種を使用した。

(2) 菌株: グラム陽性菌の黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* H209P) 1 株, グラム陰性菌の B 群赤痢菌 (*Shigella flexneri* 2B), D 群赤痢菌 (*Shigella sonnei* I), 大腸菌 (*Escherichia coli* K12 921), 大腸菌 (*Escherichia coli* NIH), *Klebsiella*, 緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) の 6 株 (合計 7 株) を用いた。

(3) 培地: 発育阻止濃度測定のための培地として Luria Broth [LB; 1l 中に Bacto yeast extract 5g (Difco), NaCl 5g を含み, これを 1N NaOH で pH 7.0 に調整し, 121°C 120 分 高圧滅菌した後, glucose 0.2% を加えた] を用いた。

(4) 最小発育阻止濃度の測定: プロス 2 倍希釈法¹⁾により測定した。まず合成洗剤 20% を含む LB 溶液を調製後順次, 新鮮 LB で 10%, 5%, 2.5%, 1.25% の洗剤希釈溶液を作製した。各濃度の洗剤溶液中に一夜静置培養菌液を最終濃度 10⁴/ml となるように接種し, 37°C 48 時間培養後, 菌の発育を完全に阻止した洗剤の最小濃度を測定した。

3. 魚毒性試験^{2),3)}

(1) 被験物質: 台所用合成洗剤 A, B, C, D および輸入合成洗剤 E の合計 5 種を用いた。

(2) 供試魚: 平均体重 0.28g, 平均全長 3.05cm のヒメダカ (*Oryzias latipes*) を 1 濃度区あたり 10 尾, 合計 350 尾用いた。

(3) 装置: 長方形プラスチック水槽 (縦 20cm, 横 30cm, 深さ 8cm) を用い, 希釈水として水道水を用いたので残留塩素を除去するため中和剤を薬液と共に使用した。試験期間中は室温に放置し, 水温を 20±2°C に保った。

(4) 試験液の調製: 被験物質 2g を希釈水に溶解し 2

l に定容した試験原液 (1g/l) を水で希釈し, 125mg/l, 100mg/l, 75mg/l, 50mg/l, 25mg/l, 10mg/l の各濃度の試験液を作製した。試験濃度区数は, 予備実験の結果から決定した。

(5) 方法: 6 種類の濃度の合成洗剤を含む試験液にヒメダカを暴露し, 止水式で 24, 48, 72, 96 時間後の LC50 (Lethal Concentration, 半数致死濃度) 値を求めた。試験は農薬取締法⁴⁾に準じ, 観察を行った。

4. 皮膚刺激試験^{5),6)}

(1) 被験物質: 台所用合成洗剤 A, C, および輸入合成洗剤 E の合計 3 種を使用した。

(2) 被検者: 男性 10 人 (年齢 19~54 歳); 女性 8 人 (年齢 19~48 歳) の合計 18 人の健常者を対象とした。

(3) 貼布材料: パッチテスト用絆創膏 (鳥居薬品株式会社, 東京) を用いた。

(4) 貼布濃度: 0.075%, 0.15%, 0.30%, 0.6%, 1.20% に調製した各種合成洗剤を貼布した。

(5) 方法: 被検者の健常な皮膚 (肩胛間部) に各濃度の洗剤溶液 0.05ml を浸潤させたパッチテスト用絆創膏を貼布し, 入浴等を禁止させた。48 時間後に絆創膏をはがした後, 30~60 分以内に紅斑, 浮腫等刺激反応の有無について判定 (48 時間判定) を行った。さらに, 翌日に第 2 回目の判定 (72 時間判定) を行った。判定は本邦基準を用いた^{5),6)}。

結果および考察

1. 細菌の発育阻止濃度

図 1 に, 各種細菌に対する合成洗剤の最小発育阻止濃度を示した。いずれの洗剤も公的に表示された標準使用濃度では菌の発育は阻止されなかった。しかし, 洗剤 20% 溶液中では多くの被験菌株の発育が阻止された。図より, 住宅家具用合成洗剤 F, G は台所用合成洗剤 A, B, C に比し低濃度で細菌の発育阻止効果が見られたが, 台所用合成洗剤 D については, 住宅家具用合成洗剤に近い細菌の発育阻止効果が見られた。また, 輸入合成洗剤 E と住宅家具用合成洗剤 G は他の合成洗剤に比べ低濃度で細菌の発育を阻止した。菌側から見ると, グラム陽性ブドウ球菌は他のグラム陰性菌株に比較して洗剤に対する感受性が高いものが多かった。一方, 合成洗剤 B と D では同種の界面活性剤が使用され, しかも合成洗剤 B の方が界面活性剤の濃度が

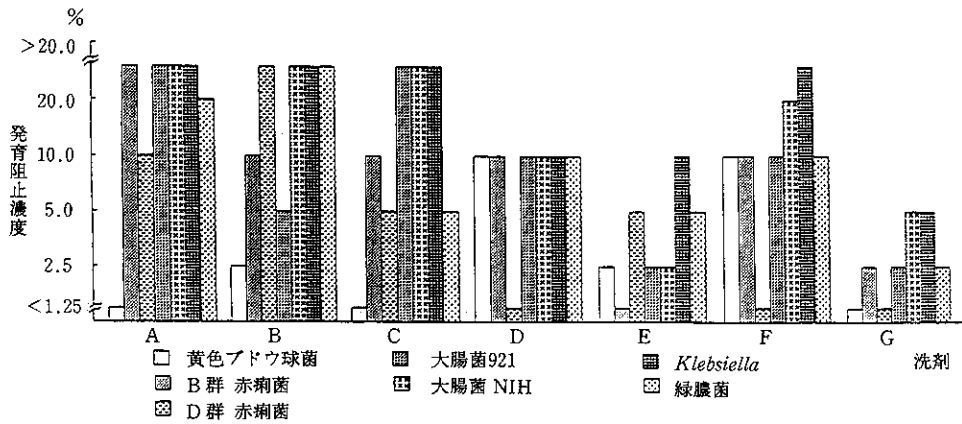


図1 合成洗剤の各種細菌に対する効果

高いにもかかわらず細菌の発育阻止能が悪かった。これは、おそらく合成洗剤Dでは界面活性剤と洗剤中に含まれる洗浄補助剤との相乗効果により、細菌の発育阻止能が高くなっているものと推測される。

2. 魚毒性試験

魚毒性については主に台所用合成洗剤が河川汚染の対象となることから合成洗剤A~DとEの5種について検討を行った。止水式暴露試験による各種合成洗剤のヒメダカに対するLC50値を各時間ごとに図2に示した。図より、96時間後のLC50値は毒性の強い順からA: 31mg/l, C: 36mg/l, E: 61mg/l, D: 80mg/l, B: 107mg/lであり、Bが最も毒性が低かった。AとCが同じ毒性のパターンを示した理由として、この2洗剤の主成分が陰イオン系の直鎖アルキルベンゼン

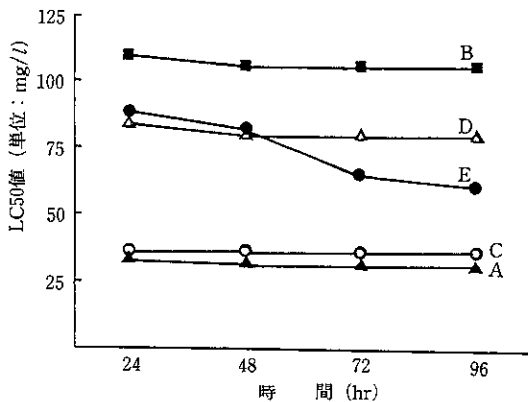


図2 各時間のLC50値

系であることと関係があると推測される。また、陰イオン系の高級アルコール系であるBとDに差を生じた理由は洗浄補助剤(物質名は同定し得なかった)の違いによるものと推測される。処理時間の経過に伴うLC50値の変化については、Eだけが時間経過に伴いLC50値が漸減し48時間目から96時間目に25%減少した。これはEの主成分であるオクチルフェノキシポリエトキシアルコールの構造が他の合成洗剤の主成分と異なっているためではないかと推測されるが、詳細については不明である。

ヒメダカに対する毒性の発現から死亡に至る過程での肉眼的所見は、5洗剤について共通しており、遊泳力の低下、表層集中、平衡感覚の喪失、遊泳行動不能等を来して死亡した。これら界面活性剤の毒性の作用機序については富山の⁷⁾ワキン、鯉、ヒメダカを用いた研究がある。これによると①直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムはアルキル基の炭素数によって毒性が異なること、②直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム、アルファオレインスルホン酸ナトリウムはえらの部位に大量に吸着し、消化管へは吸着しないこと、③えらの部位に吸着が起ると赤血球数が増加すること等を見だしている。すなわち、界面活性剤による毒性機序として、えら吸着によるえら機能の低下により、呼吸機能が低下し、その結果、酸素欠乏により死に至ると結論づけている。

3. 皮膚刺激試験

洗剤の皮膚に及ぼす影響として、経皮吸収の促進、

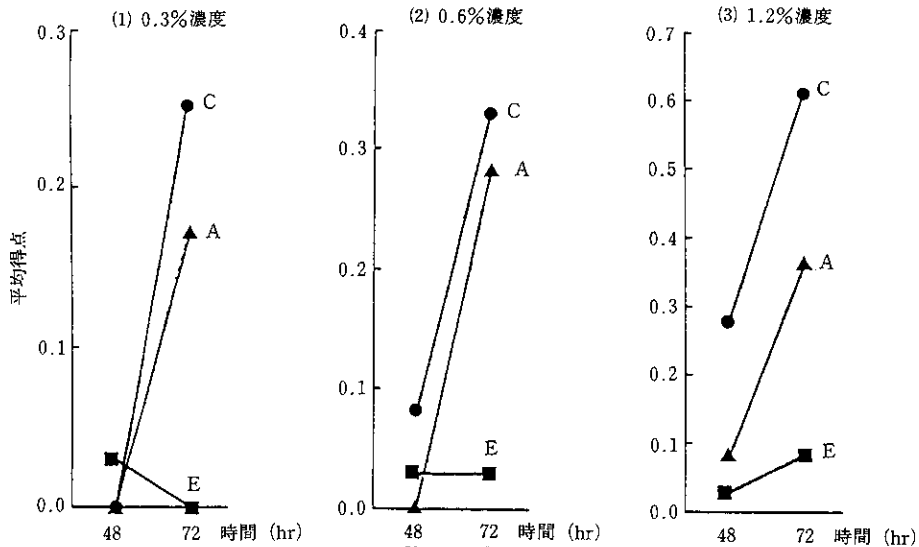


図3 Closed patch test 3洗剤の比較

皮脂膜の欠損、表皮のアルカリ化、皮膚蛋白の変性、および感作刺激作用等が考えられている⁹⁾。本研究では、魚毒性実験において同じ程度の強い毒性を示したAとC、そして毒性の最も低かったEの皮膚刺激作用について検討した。検討した合成洗剤3種類の各濃度におけるパッチテスト成績を表2にまとめた。判定基準は本邦基準⁹⁾によるもので、陽性率は+以上のものを用いた⁹⁾。まず、合成洗剤Aにおいて、48時間判定では1.2%の濃度で陽性率が6%であったのに対し、72時間判定では0.3%、0.6%および1.2%濃度で陽性率が、各々17%、28%、および28%と高値を示した。合成洗剤Cでは48時間判定の0.6%濃度から症状（陽性率6%）が見られ、1.2%濃度では陽性率17%であった。72時間判定では0.3%、0.6%、および1.2%濃度で各々陽性率が22%、22%、および33%であった。また、輸入合成洗剤Eは72時間判定の1.2%濃度で陽性率が6%を示しただけで、これら検討した3種類の合成洗剤の中では皮膚刺激反応が最も低かった。図3は、0.3%以上の濃度において、パッチテスト研究班が提唱している評価法¹⁰⁾を用い、軽い紅斑は0.5点、紅斑+浮腫は2点等の得点を与えてグラフ化したものである。図より、合成洗剤A、Cは輸入合成洗剤Eに比べ濃度が高くなるに従い、また、48時間判定よりも翌日の72時間判定の方が平均得点が高くなり、刺激反応が増強

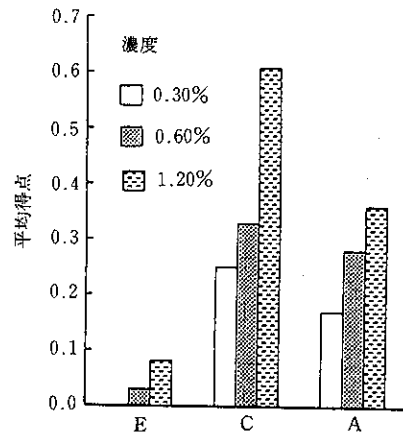


図4 Closed patch test 72時間 3洗剤の比較

した。図4に3洗剤の72時間判定を比較したが、濃度が高くなるにつれて、また洗剤の種類によって、はっきりと皮膚刺激反応の差が認められた。

これらの結果から、3洗剤の皮膚刺激反応の強弱についてはC>A>Eの反応関係が得られた。この原因として、界面活性剤の濃度、成分、および洗剤のpH等が考えられるが、界面活性剤の濃度に関してはE>C>Aの量的関係にあり否定される。また、pHについては、最近、浦上⁹⁾の実験により洗剤のpHの違いだけでは皮膚刺激反応の差について説明することは困難で

あると述べている。したがって、皮膚の刺激については各洗剤の成分、および洗剤の各種物理化学的特性によるものと思われ、各成分パッチテストおよび脱脂力、起泡力、表面張力、浸潤力等物理化学的特性を総合的に検討する必要がある。

以上、今回検討を試みた4種類の台所用合成洗剤、2種類の住宅家具用合成洗剤、および輸入合成洗剤の細菌に対する発育阻止効果、ヒメダカに対する毒性、ヒト皮膚に対する刺激反応の3方向からアプローチした結果、まず、いずれも表示された標準使用濃度では細菌の発育は阻止されなかったが、洗剤20%溶液中では被検菌の多くが発育を阻止され、特に住宅家具用洗剤と輸入合成洗剤では台所用洗剤に比べ細菌に対する発育阻害は一般に高い傾向を示した。また、ヒメダカに対するLC50値から台所用合成洗剤の中でも各々毒性効果が異なっていることが判明した。さらに、皮膚刺激試験の結果から、日常よく用いられている台所用合成洗剤A、Cよりも輸入合成洗剤Eの方が皮膚刺激反応が低かったこと等の事実を考慮すると、今回検討した試験項目に関しては輸入合成洗剤が他の合成洗剤よりも比較的優れていると思われた。しかし、合成洗剤の安全性評価については、更に総合的な検索が必要であり、生活環境衛生上安全な合成洗剤の開発が望まれる。

謝 辞

本研究を遂行するに当って、パッチテストの実験に心よく御協力くださいました18名のvolunteer（ボランティア）の皆様にご心より感謝致します。

文 献

- 1) 川喜多龍祥：薬剤感受性検査。近代出版社、東京、1987。
- 2) 西内康浩：農薬の魚介類に対する毒性試験法。植物防疫、38(4)、195-198、1984。
- 3) 岩村盛、西内康浩：コイを用いた魚毒性試験におけるLC50値と処理時間。農薬検査所報告、No.25、pp.26-27、1985。
- 4) 田所博、前田正伸：魚類急性毒性試験その現状と問題点。生態化学、7(4)、33-41、1985。
- 5) 須貝哲郎：パッチテスト。皮膚臨床、30(7)、787-799、1988。
- 6) 漆畑修：皮膚パッチテスト。臨床免疫、20(Suppl.13)、203-222、1988。
- 7) 富山新一：界面活性剤の魚に対する作用について。日本水産学会誌、40(12)、1291-1296、1974。
- 8) 浦上芳達：各種洗剤の表皮pHに及ぼす影響について。香粧雑誌、3(1)、42-47、1979。
- 9) 浦上芳達：最近頻用されている石鹼のパッチテスト成績について。皮膚、29(増3)、128-131、1987。
- 10) 請井智香子、大岩久美子、松永佳世子、早川律子：合成洗剤と液体石鹼。皮膚、26(2)、291-301、1984。