

界面活性剤の皮膚常在菌への影響

宮野直子*

合成界面活性剤は家庭内では多くの場面に使用されている化学物質である一方、合成洗剤、洗浄剤による皮膚障害が問題となっている。これは界面活性剤によって皮膚のバリアが破壊されることが、原因のひとつと考えられる。また界面活性剤の抗菌作用による皮膚常在菌への影響が一因ではないかと考え今回、市販の基剤も含めて検討を行った。その結果、抗菌性を有する陽イオン系以外に陰イオン系や非イオン系の一部に皮膚常在菌等に対する生育抑制が見られ、皮膚常在菌への影響が示唆された。

キーワード：界面活性剤、MIC、MBC、CFU、皮膚常在菌

Key words: Surfactants, MIC, MBC, CFU, Skin microbial flora

合成界面活性剤は洗濯用洗剤、台所用洗剤、柔軟仕上げ剤、髪髪用、皮膚用洗浄剤として、家庭のなかで大量に使われている化学物質である。厚生労働省の「家庭用品に係る健康被害モニター報告」によると、皮膚科の報告件数のうち合成洗剤や洗浄剤による皮膚障害は毎年上位にある¹⁾。界面活性剤により皮脂膜が脱落して進行性指掌角皮症(KTPP型)が発症する。この要因として、界面活性剤の細胞膜機能消失作用や刺激作用により皮膚のバリアが破壊されるためと考えられている¹⁾。また、界面活性剤には抗菌作用のあるものもあり、特に陽イオン系界面活性剤はその抗菌作用のため洗濯用洗剤や化粧品などに添加されている²⁾。著者は、以前に、市販の抗菌防臭加工製品の抗菌力評価を行い、皮膚常在菌のバランスを崩す可能性を指摘した³⁾。皮膚常在菌は *Staphylococcus* 属や *Propionibacterium* 属が大半を占め、密集することによって、真菌等の微生物の侵入を防ぐ働きがあると言われており⁴⁾、バランスの崩れは皮膚障害を引き起こす要因になりえる。身の回りで利用される界面活性剤は皮膚に接触する機会も多く、陽イオン系に限らず、

その抗菌性による皮膚常在菌への影響について検討を行った。

実験方法

1. 供試菌

試験には、大腸菌 (*Escherichia coli* IFO3972)、肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae* IFO13277)、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* IFO12732)、皮膚常在菌 (*Staphylococcus epidermidis* NRBC100865 とヒト健康者足裏より採取した *Staphylococcus capitis* B、*Staphylococcus warnei*) を用いた。

これらの菌をニュートリエントブロス (NTB) 中で 37°C 1 晩震盪培養した後、NTB で 50 倍希釈し、さらに 2 時間震盪培養した。遠沈 (4°C、3000rpm、10 分) して菌を滅菌生食水で洗浄後、菌を滅菌蒸留水に 660nm で吸光度が 0.05 になるように懸濁した後、滅菌蒸留水で 2~5 倍希釈した液を試験菌液とした ($10^6 \sim 10^7$ 個/ml)。

2. 界面活性剤

陽イオン系界面活性剤として、塩化セチルピリジニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、塩化セチルトリメチルアンモニウム、塩化トリメチルアンモニウム、および塩化テトラメチルアンモニウムの 6 種類を用いた。

陰イオン系界面活性剤として、オレイン酸 K、1-ペ

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

Effect of Surfactants on Skin Microbial Flora.

by Naoko MIYANO

ンタスルホン酸 Na、1-デカンスルホン酸 Na、ブチルナフタレンスルホン酸 Na、ドデシル硫酸 Na、ドデシルベンゼンスルホン酸 Na、およびヘキサデシル硫酸 Na の 7 種類を用いた。

また、メーカー5 社より陰イオン系界面活性剤を主成分とする 8 種類の基剤の提供を受けた。基剤の用途は表 1 に示した。

表1. 陰イオン系基剤の用途

No	用途
①	ハウスホールド、台・洗剤、シャンプー
②	ハウスホールド
③	洗剤
④	シャンプー、洗顔料
⑤	シャンプー、洗顔料
⑥	洗剤
⑦	洗剤
⑧	洗剤

非イオン系界面活性剤として、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート (tween20) ; A、ソルビタンモノオレート ; B、ポリエチレングリコールモノステアレート ; C、ポリオキシエチレン (10) ノニルフェニルエーテル ; D、ポリオキシエチレンラウリルエーテル ; E、ポリオキシエチレン (5) ドコシルエーテル ; F の 6 物質を用いた。

またメーカー4 社より非イオン系界面活性剤を主成分とする 9 種類の基剤の提供を受けた。基剤 (G~O) の用途は表 2 に示した。

表2. 非イオン系基剤の用途

	用途
G	化粧品用乳化剤、消泡剤、抑泡剤
H	活性剤 (農薬)
I	シャンプー、家庭用液体洗剤
J	スキンケア、ヘアケア、潤滑剤
K	洗浄剤、スキンケア、ヘアケア
L	化粧品用増泡増粘剤
M	化粧品用乳化剤
N	濃縮型粉末洗剤、液体洗剤
O	洗剤の増泡増粘剤

3. MIC (Minimum inhibitory concentration、最小発育阻止濃度) の測定

界面活性剤は蒸留水で 5,000 μ g/ml に調整し、メンブランフィルターでろ過滅菌後、マイクロプレート (IWAKI 製 96 穴平底) 上に、滅菌蒸留水で順次 2 倍希釈して 39~5,000 μ g/ml の濃度系列の 100 μ l 溶液を作製した。また、基剤は、有効成分が 5,000 μ g/ml となるよう調整し、同様に滅菌後、39~5,000 μ g/ml の濃度系列の 100 μ l 溶液を作製した。さらに、滅菌した 2 倍濃度

感受性測定用ブイヨン (ニッスイ) を 100 μ l ずつ加え、試験菌液を 10 μ l ずつ加えて 35 $^{\circ}$ C で 24~48 時間培養した。マルチスキャン MS (Labsystems 製 630 nm) により吸光度を測定し、濁りの観察されない最小濃度を MIC 値とした^{5, 6)}。

4. MBC (Minimum bactericidal concentration、最小殺菌濃度) の測定

短試に滅菌蒸留水 500 μ l ずつ加え、次に調製した試料 5,000 μ g/ml を 500 μ l 加え、順次 2 段階希釈を行って 39~5,000 μ g/ml の濃度系列の 500 μ l 溶液を作製した。さらに、試験菌液を 500 μ l ずつ加えて 30 $^{\circ}$ C で 30 分間静置した。マイクロプレートに NTB ブイヨン 200 μ l を加えた後、短試から 10 μ l ずつ移した。1 濃度 4 穴で行ない、35 $^{\circ}$ C で 24~48 時間培養した。マルチスキャン MS により吸光度を測定して、濁りの観察されない最小濃度を MBC 値とした^{5, 6)}。

5. CFU (colony forming unit) による殺菌作用の測定

界面活性剤はエチルアルコールに溶解して 5000 μ g/ml とした後、エチルアルコールで希釈して 125~2,000 μ g/ml に調整した。基剤はエチルアルコールに溶解して 2,000 μ g/ml にした後、2 倍希釈して 125~2,000 μ g/ml に調整した。

滅菌した 1.5ml のサンプルチューブに、リン酸緩衝液 100 μ l、精製水 325 μ l、各濃度の界面活性剤 25 μ l、試験菌液 50 μ l を加えた (全量 500 μ l) 後、37 $^{\circ}$ C 60 分温浴した。混合試験液 0.2ml を滅菌生理食塩水 1.8ml に加えて 2 回希釈した ($\times 10$ 、 $\times 100$)。希釈液 100 μ l を標準寒天培地にコンラージで塗抹し、24~48 時間培養した後、コロニーアナライザー (システムサイエンス社製 CA-11) で計測した。

結果および考察

1) 陽イオン系界面活性剤

陽イオン系 6 物質の MIC を測定した結果を表 3 に示した。塩化セチルピリジニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウムおよび塩化セチルトリメチルアンモニウムの MIC 値が 2 未満~31.5 μ g/ml を示し、全菌種に対して高い発育阻止がみられた。*E. coli* および *K. pneumoniae* より皮膚常在菌 3 種に対する MIC 値は低

く、より影響を受けやすいと考えられた。安全性の面から塩化セチルピリジニウム、塩化セチルトリメチルアンモニウムは皮膚・粘膜・眼の刺激作用がいわゆる等、これら4物質は薬事法でアレルギー反応をおこす可能性があるとした表示指定成分である^{2, 7)}。

陽イオン系は殺菌性、脱臭性あるいは吸着性があり、衣料用合成洗剤に殺菌剤、柔軟剤、帯電防止剤として添加されている。また毛髪や皮膚のリンス剤として生産量は増加していることから⁷⁾、皮膚上の常在菌を殺菌してバリア機能の低下をおこす要因のひとつとなる可能性が考えられる。

2) 陰イオン系界面活性剤

陰イオン系7物質のMICを測定した結果を表4に示した。ドデシルベンゼンスルホン酸Naおよびヘキサデシル硫酸Naは*E. coli* および*K. pneumoniae* に対する発育阻止は見られないが、*S. aureus* および皮膚常在菌3種に対するMIC値は15.7~500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を示し、発育阻止がみられた。

陰イオン系界面活性剤を主成分とする基剤のMICを表5に示した。基剤⑦は*K. pneumoniae*、*S. aureus* および皮膚常在菌3種に対するMIC値が78.1~156.3

$\mu\text{g}/\text{ml}$ であり発育阻止がみられた。また、基剤⑥および⑧は*S. aureus* および皮膚常在菌3種に対するMIC値が39.1~156.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、発育阻止がみられた。

基剤のMBCについて表6に示した。基剤⑤および⑥156.3~625 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり殺菌作用がみられた。基剤⑦値が78.1~312.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり殺菌作用がみられた。

ヘキサデシル硫酸Naや基剤⑦は気泡性や洗浄力があり、台所、衣料用洗剤、シャンプー、歯磨き等の用途がある。しかし、皮膚刺激、毛髪発育障害、経皮吸収促進があるといわれている。ドデシルベンゼンスルホン酸Naや基剤⑧は気泡性、浸透性、洗浄性が優れ衣料用、台所用、住居用洗剤の主基剤として利用されている。両物質はアレルギー性があり表示指定物質である⁷⁾。

陰イオン系は界面活性剤生産量の過半を占めており、合成洗剤中に5~30%含まれている。また洗濯時における界面活性剤の通常使用濃度は0.01% (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)である^{2, 8)}。今回、皮膚常在菌に影響を与える濃度を検討した結果、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下でも皮膚常在菌は影響

表3. 陽イオン系界面活性剤のMIC (最小発育阻止濃度)

界面活性剤	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)					
	大腸菌	肺炎桿菌	黄色ぶどう球菌	皮膚常在菌		
	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. capitis B</i>	<i>S. warneri</i>
塩化セチルピリジニウム	15.75	8	<2	<2	<2	<2
塩化ベンザルコニウム	15.75	4	<2	<2	<2	<2
塩化ベンゼトニウム	31.5	4	<2	<2	<2	<2
塩化セチルトリメチルアンモニウム	31.5	8	<2	<2	<2	<2
塩化トリメチルフェニルアンモニウム	>500	>500	>500	>500	>500	>500
塩化テトラメチルアンモニウム	>500	>500	>500	>500	>500	>500

表4. 陰イオン系界面活性剤のMIC (最小発育阻止濃度)

界面活性剤	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)					
	大腸菌	肺炎桿菌	黄色ぶどう球菌	皮膚常在菌		
	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. capitis B</i>	<i>S. warneri</i>
オレイン酸カリウム	>500	>500	>500	>500	500	250
1-ペンタスルホン酸Na	>500	>500	>500	>500	>500	>500
1-デカンスルホン酸Na	>500	>500	>500	>500	>500	>500
ブチルナフタレンスルホン酸Na	>500	>500	>500	500	>500	500
ドデシル硫酸Na	>500	250	250	250	500	250
ドデシルベンゼンスルホン酸Na	>500	>500	31.5	31.5	125	31.5
ヘキサデシル硫酸Na	>500	>500	31.5	15.75	500	250

表5. 陰イオン界面活性剤を主成分とする基剤のMIC(最小発育阻止濃度)

基剤	主成分	MIC(μg/ml)					
		大腸菌	肺炎桿菌	黄色ぶどう球菌	皮膚常在菌		
		<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. capitis B</i>	<i>S. warneri</i>
①	ポリオキシエチレン	>2500	1250	2500	>2500	>2500	>2500
	アルキルエーテル硫酸Na	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	2500
②	ポリオキシエチレン	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
	オクチルエーテル硫酸Na	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
③	ポリオキシエチレンヤシ脂肪酸	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
	モノエタノールアミド硫酸Na	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
④	ポリオキシエチレン	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
	スルホコハク酸ラウリル2Na	>2500	>2500	>2500	312.5	>2500	>2500
⑤	ポリオキシエチレン	>2500	>2500	>2500	39.1	156.3	78.1
	スルホコハク酸ラウリル2Na	>2500	>2500	39.1	39.1	156.3	78.1
⑥	アルキルジフェニルエーテル	>2500	156.3	78.1	78.1	156.3	156.3
	ジスルホン酸Na	>2500	>2500	39.1	39.1	39.1	39.1
⑦	アルキル 硫酸Na	>2500	>2500	39.1	39.1	39.1	39.1
⑧	ドデシルベンゼンスルホン酸Na	>2500	>2500	39.1	39.1	39.1	39.1

表6. 陰イオン界面活性剤を主成分とする基剤のMBC(最小殺菌濃度)

基剤	主成分	MBC(μg/ml)					
		大腸菌	肺炎桿菌	黄色ぶどう球菌	皮膚常在菌		
		<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. capitis B</i>	<i>S. warneri</i>
①	ポリオキシエチレン	>2500	2500	2500	>2500	2500	1250
	アルキルエーテル硫酸Na	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
②	ポリオキシエチレン	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
	オクチルエーテル硫酸Na	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
③	ポリオキシエチレンヤシ脂肪酸	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
	モノエタノールアミド硫酸Na	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500	>2500
④	ポリオキシエチレン	>2500	>2500	>2500	1250	>2500	>2500
	スルホコハク酸ラウリル2Na	>2500	2500	625	312.5	2500	312.5
⑤	ポリオキシエチレン	>2500	>2500	312.5	156.3	2500	312.5
	スルホコハク酸ラウリル2Na	>2500	>2500	312.5	156.3	2500	312.5
⑥	アルキルジフェニルエーテル	>2500	1250	156.3	312.5	312.5	156.3
	ジスルホン酸Na	>2500	>2500	78.1	78.1	312.5	78.1
⑦	アルキル 硫酸Na	>2500	>2500	78.1	78.1	312.5	78.1
⑧	ドデシルベンゼンスルホン酸Na	>2500	>2500	78.1	78.1	312.5	78.1

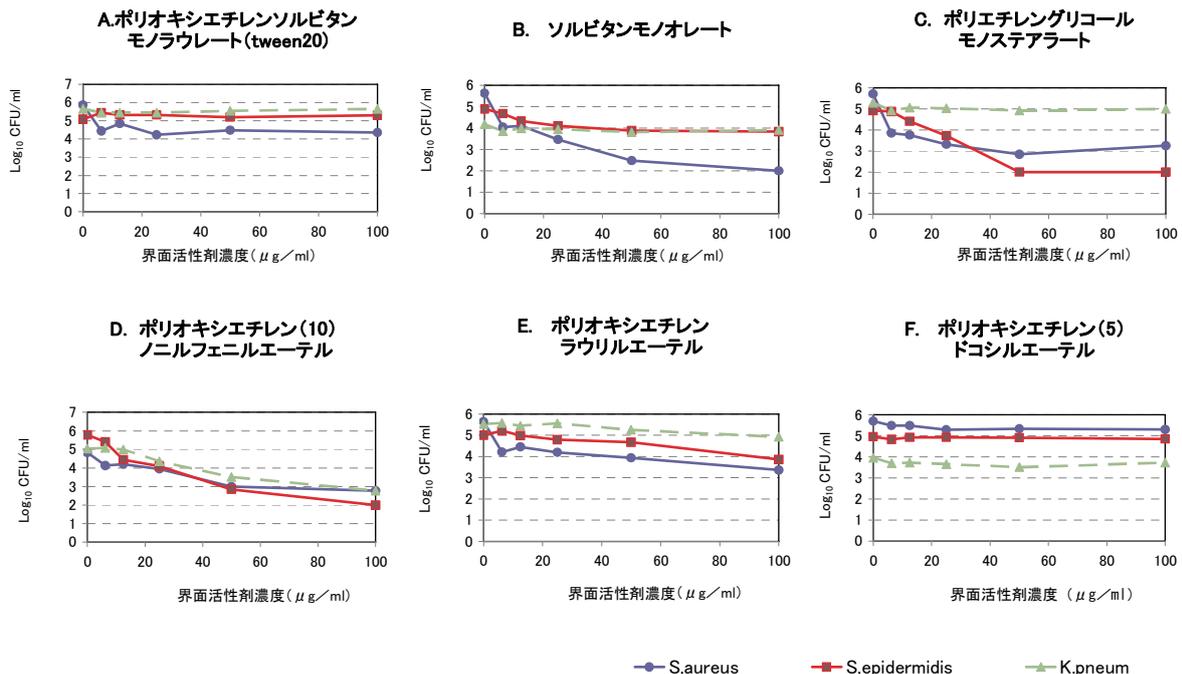


図1. 非イオン系界面活性剤のCFU測定

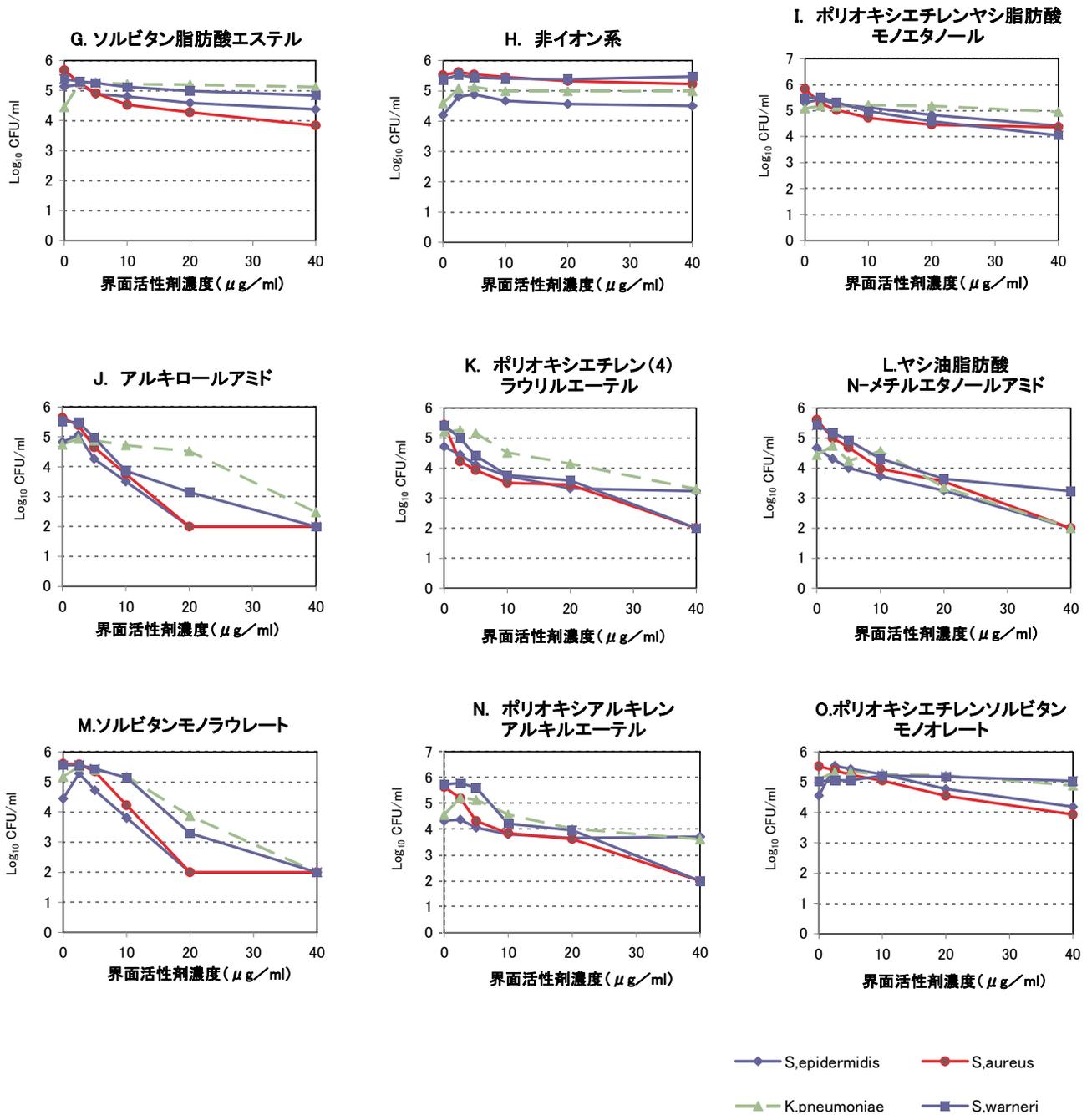


図2. 非イオン系界面活性剤を主成分とする基剤のCFU

を受けることがわかった。従って通常使用濃度であっても皮膚常在菌に影響がでる可能性がある。陰イオン系の殺菌作用は高くないが、皮膚に直接付着する可能性があり、濃度によっては、病原性菌は発育できるが皮膚常在菌は発育できない状態が出現する可能性が考えられる。

3) 非イオン系界面活性剤

非イオン系の一部が水に難溶のため、エチルアルコールに溶解してCFU測定を行った。非イオン系界面活性剤6物質についてCFU測定した結果を図1に示した。脂肪酸系に分類される3物質(A, B, C)について

K. pneumoniae に対して3物質の影響はみられないが、*S. aureus* に対して3物質による殺菌効果と

S. epidermidis に対してCによる殺菌効果がみられた。高級アルコール系(D, E, F)の場合、Dは3菌種に対して殺菌効果を示したが、Fの影響はみられなかった。

非イオン系界面活性剤を主成分とする市販の基剤について、CFU測定した結果を図2に示した。脂肪酸系の基剤(J, L, M)は4菌種に殺菌効果が見られ、特に*S. aureus*、*S. epidermidis* に強い殺菌効果みられた。高級アルコール系の基剤(K, N)は4菌種に殺菌効果が見られ、特に*S. aureus*、*S. warneri* にやや強い殺菌効果がみられた。脂肪酸系の基剤(G, I, O)は4菌種に対し殺菌効果は弱かった。この結果、基剤の脂肪酸系には殺菌効果の高いグループと低いグループがみられた。

非イオン系は陰イオン系と比較して洗浄力は弱い、皮膚に対する刺激性や経口毒性は少ない。泡立ちが少なく、すすぎ性にすぐれたものが多いので台所用洗剤や衣類用洗剤に陰イオン系と共に利用される⁹⁾。台所用洗剤による繰り返しの水仕事等の外部刺激によって発症する進行性指掌角皮症は非イオン系および陰イオン系の影響と考えられる。界面活性剤は浸透力の強いタイプは眼や皮膚刺激性が強いとされるが、非イオン系のアルキル基や酸化エチレン鎖が長くなるほど眼や皮膚刺激性は弱くなるといわれている²⁾。

非イオン系はカビに対し生育促進作用を示すといわれるが、タイプ間で作用が異なる。脂肪酸系はアミド系を除いて室内、洗濯槽に見られるカビ全般に生育促進作用を示し、高級アルコール系は洗濯槽に多く見られるカビにのみ生育促進作用を示したという報告がある⁸⁾。

今回の実験から、非イオン系は製品使用によって皮膚常在菌等には殺菌効果を示す一方で、洗濯機内部に関するカビに対しては生育促進するという両面があると考えられる。

謝 辞

今回、市販界面活性剤の提供にご協力いただきましたメーカーの皆様には深謝いたします。

文 献

- 1) 厚生労働省：平成19年度家庭用品に係る健康被害モニター報告、(2009)
- 2) 東京都生活文化局消費生活部：家庭内で使用される化学物質の安全性に関する調査、2-33 (2002)
- 3) 宮野直子、中島春信、松永一朗：天然系薬剤使用の抗菌防臭加工繊維製品に対する抗菌力評価(第3報)、大阪府立公衆衛生研究所報、**37**、23-26 (1999)
- 4) 中山一誠、山地恵美子：検査と技術、**18**、576-578 (1990)
- 5) H. KOURAI, Y. MANABE, E. MATSUTANI, Y. HASEGAWA and K. NAKAGAWA, : Antimicrobial Activities Alkylallyldimethylammonium Iodides and Alkylallyldiethyl Ammonium Iodides, *J. Antibact. Antifung. Agents* **15**, 271-280 (1955)
- 6) 日本防菌防黴学会編：防菌防黴ハンドブック(1993)
- 7) 長谷川治：化粧品の実態、日本消費者連盟 (2006)
藤本武彦：新・界面活性剤入門、三洋化成工業 (1981)
- 8) 濱田信夫、中村正樹：種々の界面活性剤のカビの生育に与える影響、生活衛生、**49**、365-371 (2005)
- 9) 竹原淳彦：講座-界面活性剤の基礎的性質、防菌防黴、**33**、299-305 (2005)
- 10) T. MAEDA, S. GOTO, Y. MANABE, K. OKAZAKI, H. NAGAMUNE and H. KOURAI : Bactericidal Action of N-Alkylcyanopyridinium Bromide A against *Escherichia coli* K12W3110, *Biocontrol Science*, **1**, 41-49(1996)
- 11) 石坂要、石川敬治、稲垣誠、杉浦渉：健常人より分離した皮膚常在菌について、*J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn*, **35**, 34-41 (2001)