

## 食品中微生物におよぼす合成洗剤の影響

基礎科目 片倉 久美子

### Effects of Synthetic Detergents on Microbes in Foodstuffs

Kumiko KATAKURA

#### 要 旨

食品中から採取した納豆菌、三枚肉の菌、野菜揚げの菌、竹輪の菌の4菌を用いて、一般に広く利用されている合成洗剤Ⅰと天然ヤシ油高級アルコール系の合成洗剤Ⅱの2種類を用いて、合成洗剤の菌の生育におよぼす影響について検索を試みた。その結果、合成洗剤Ⅰ・Ⅱとも高濃度で生育阻害が認められた。

#### 緒 言

自然環境問題が大きく取り上げられている今日、身近に広く利用されている合成洗剤に関しても、「自然にやさしい」をキャッチフレーズにさまざまな工夫をこらした商品が販売されている。合成洗剤の利用に関しては、湖沼における生活排水や工場排水などに含まれる大量の窒素・リンなどの栄養塩類による富栄養化現象が水質汚濁の問題となり、含リン合成洗剤から無リン化がなされてきている。現在用いられている合成洗剤の主成分の界面活性剤は、天然の油脂から作られるセッケンに対し、石油を原料とする化学合成によって得られた洗浄剤である。今日、合成洗剤はすべて環境中で容易に生分解を受け特別な問題がないと言われている。しかし、一方では人体や自然生態系に悪影響をおよぼすとの懸念から、合成洗剤の使用を中止し、セッケンに切り替えるべきという意見もある。大気汚染や河川の汚濁が社会問題となり、公害防止対策として、工場や企業に対し環境基準が設けられ規制が加えられてきている中で、農業排水を始め生活排水については特別な規制もなく、また下水道処理の整備が不十分な状況で、生活排水の1/3を占める洗剤の残留性の問題や生物への蓄積などの悪影響はないのだろうか。人の健康保持や生物の生態学的な生活環境を保全するために、化学的に合成され環境中に

入る物質へのより慎重な配慮が必要と思う。環境への影響を考えるうえでは、水棲生物を用いた研究が一般的であるが、本研究では予備試験として増殖が速く入手が容易な、日常口にする食品やこれら食品の処理中に付着する微生物を対象に合成洗剤のおよぼす影響について、生育阻害濃度の検索を試みた。

#### 実験方法

1. 試料 納豆、三枚肉、野菜揚げ、竹輪の4食品から白金耳で肉エキスブイヨン寒天培地に菌を採取し12時間から24時間培養し、純粋分離後に試料として用いた。納豆は製造月日の新しいもので、納豆菌 (*Bacillus natto*)。三枚肉は新鮮な肉の表面から採取し、野菜揚げは正味期限の過ぎた野菜入りの練製品の表面から採取した。竹輪では新鮮なものの輪切りにした切り口から採取した。採取菌の形態学的な形状<sup>1)</sup>を表1に示す。
2. 洗剤 市販されている洗濯用合成洗剤のうち、一般的な合成洗剤Ⅰと天然ヤシ油高級アルコール系の合成洗剤Ⅱの2種類を用いた。成分の約40%が界面活性剤で、そのほかにビルダーや添加剤を含んでいる。合成洗剤Ⅰでは3種の化学合成物質を含み、合成洗剤Ⅱでは化学合成物質2種と天然ヤシ油からの純セッケン1種を含んでいる。表2に各合成洗剤の成分を示

表1 採取菌の形状













採取菌	形	隆起	周辺
納豆菌	根状 	扁平 	裂片状 
三枚肉の菌	円形 	隆起 	裂片状 
野菜揚げの菌	円形 	扁平 	滑 
竹輪の菌	不規則形 	中央隆起 	波状 

表2 合成洗剤の成分

合成洗剤 I	合成洗剤 II
界面活性剤 41 %	42 %
・直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS)	・アルキル硫酸エステルナトリウム (AS)
・高級アルコール系 (陰イオン)	・脂肪酸ナトリウム (純石けん分)
・ポリオキシエチレンアルキルエーテル (AE)	・ポリオキシエチレンアルキルエーテル (AE)
ビルダー (洗浄力補助剤)	
・アルミノけい酸塩	・アルミノけい酸塩
・炭酸塩	・炭酸塩
添加剤 (有機性性能向上剤)	
・酵素配合	・酵素配合
・蛍光剤配合	

す。

3. 方法 微生物に対する生物試験法の中で、化学療法剤に対する感受性の程度を調べるための薬剤感受性試験の方法<sup>2,3)</sup>を用いた。

(1) 液体培地希釈法 (Dilution method in liquid medium)

被験菌を1白金耳づつ、5mlの増殖用のソイビーンカゼイン消化ブイオン培地に接種し、37℃で一夜静置培養を行う。菌は $10^5 \sim 10^9$ /ml程度になるが、接種時に滅菌生理食塩水(0.85%)で1:100に希釈し、その0.05mlを合成洗剤を含む5段階濃度別のブレインハートインフュージョン培地に接種し、37℃で16~20

時間の静置培養を行う。この系列を3組作り、対照ブイオン培地と比較して明らかに発育が阻止された最小阻止濃度 (minimal inhibitory concentration, MIC) を求める。また、光電光度計 660nm で透過率を測定し、肉眼での発育の観察と合わせて、最小阻止濃度を求める。

(2) 固体培地希釈法 (Dilution method in solid medium)

基本的な操作を(1)と同様に行い、合成洗剤の5段階の希釈液 1ml をピペットでペトリ皿に注入し、15g/l の寒天を含む前記培養基 (60℃以上) 9ml を速やかに分注し、よく混合後、水平に静置固体化させる。このペトリ皿に白金耳で、被験菌濁液の 0.5~10 倍希釈菌を 2cm 程度の長さに画線塗抹し、37℃で 16~20 時間、静置培養する。コントロール寒天培地と比較して増殖が完全に阻止されるか、あるいは明らかに増殖が悪くなった最小濃度を MIC とする。

## 結 果

市販の洗濯用合成洗剤の標準使用量は、水 30 l に対して 25g とされている。このことから合成洗剤の最高濃度を 1000ppm として、10 倍希釈で 5 段階濃度における被験菌の生育の有無を判定した。上記(1)・(2)の判定方法は、いずれも肉眼観察で生育程度がかなり旺盛 (卅)、旺盛 (卅)、生育 (+)、不明 (±)、阻止 (-) とし、特に液体培地希釈法では、高濃度状態においての合成洗剤による白濁と、被験菌の生育による白濁の区別が難しいため、光電光度計 660nm での透過率と合わせて、透過率が 0~39% (卅)、40~49% (卅)、50~79% (+)、80~94% (±)、95%~(-) で判定を行った。

(1) 液体培地希釈法による透過率をもとにした結果を図 1~4 に示す。

①納豆菌 (図 1) 合成洗剤 I・II の濃度が高くなるに従い透過率が上り、100ppm の濃度で透過率 100% に達している。この結果から納豆菌の MIC は 100ppm と判断される。また、合成洗剤 I は合成洗剤 II と比べて、高濃度になるに従い生育阻害が大きい傾向にある。

②三枚肉の菌 (図 2) 合成洗剤 I・II の濃度

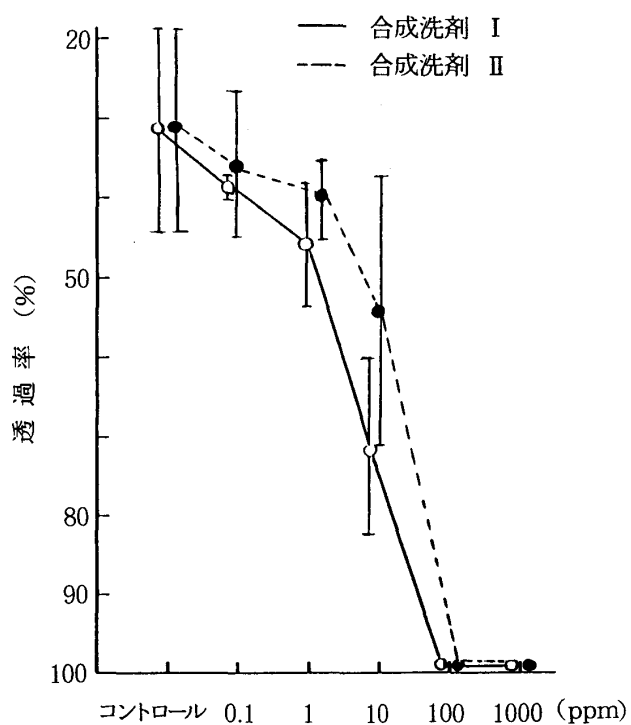


図1 納豆菌の生育におよぼす合成洗剤の影響

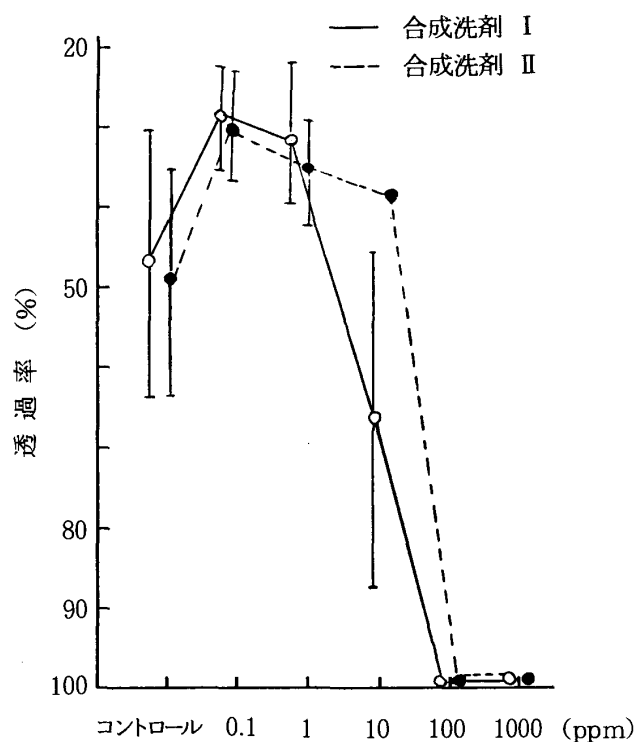


図3 野菜揚げの菌の生育におよぼす合成洗剤の影響

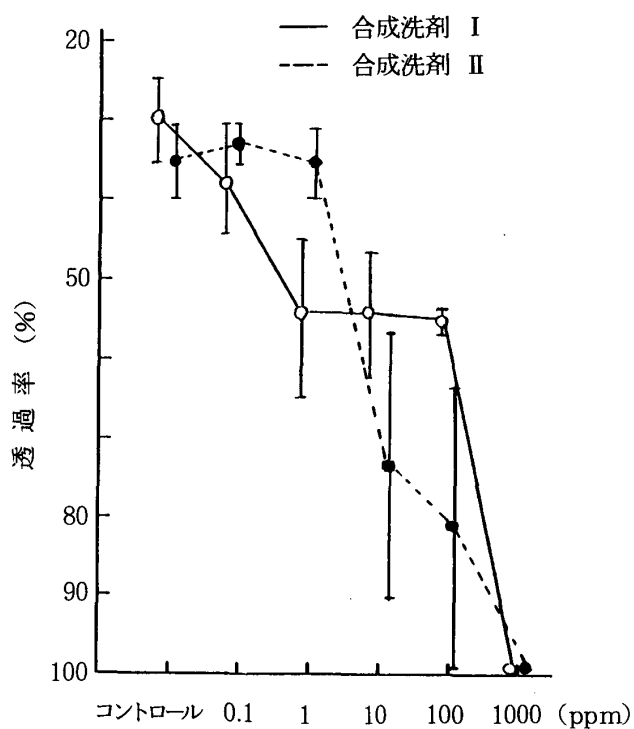


図2 三枚肉の菌の生育におよぼす合成洗剤の影響

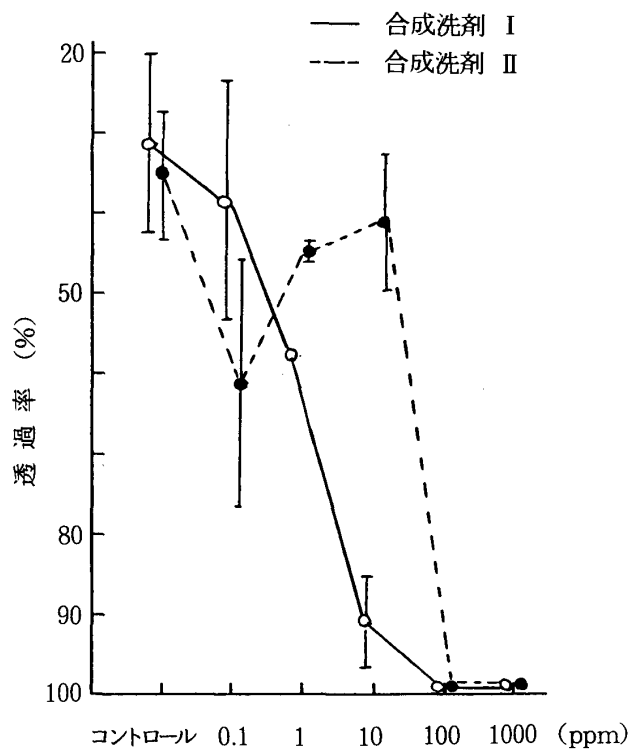


図4 竹輪の菌1生育におよぼす合成洗剤の影響

表3 合成洗剤Ⅰ・Ⅱの微生物の生育におよぼす影響（固体培地希釈法）

被験菌	合成洗剤Ⅰの濃度（ppm）						合成洗剤Ⅱの濃度（ppm）					
	コントロール	0.1	1	10	100	1000	コントロール	0.1	1	10	100	1000
納豆菌	++	++	++	++	+	—	+	++	++	++	+	—
三枚肉の菌	+	+	+	+	+	+	+	±	+	++	+	±
野菜揚げの菌	+	++	++	++	+	—	+	++	++	++	++	—
竹輪の菌	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—

が1000ppmで生育阻害濃度に達した。MICは1000ppmと判断される。10～100ppmの濃度において、サンプルによるばらつきが大きく異なる合成洗剤間での生育阻止への相違は認められなかった。

③野菜揚げの菌（図3） 合成洗剤Ⅰ・Ⅱを無添加のコントロールの状態での透過率より、0.1～1ppmの濃度の透過率が減少していることから薄濃度では、合成洗剤が阻害効果よりむしろ増殖に効果的に働いている傾向がみられる。100ppmの濃度では生育の阻害が認められる。MICは100ppmと判断される。異なる合成洗剤間での生育阻止への相違は認められなかった。

④竹輪の菌（図4） 合成洗剤Ⅰ・Ⅱの透過率が100%に達するのは100ppmの濃度で、MICは100ppmと判断される。サンプルのばらつきが大きい、合成洗剤Ⅰでは洗剤の濃度が高くなるに従って透過率が増加し生育阻止の傾向が強まる。また、合成洗剤Ⅱにおいては0.1ppmの濃度で透過率が一端上昇し、その後1～10ppmにかけて再び透過率が減少している。これは菌が0.1ppmの濃度では生育阻止がみられ、1～10ppmではむしろ増殖要因として合成洗剤が利用されたことを示していると考えられる。

(2) 固体培地希釈法による結果を表3にまとめて示す。

表からも明らかなように、納豆菌、野菜揚げの菌、竹輪の菌は合成洗剤Ⅰ・Ⅱによる生育阻害のMICは1000ppmと判断される。三枚肉の菌は1000ppmの濃度での生育が不明あるいは

生育という結果から、他の被験菌と比べて生育阻害を受けていないと推測される。また、合成洗剤Ⅰ・Ⅱによる生育阻害の違いは認められなかった。

### 考 察

食品中の微生物、4種類の菌に対する合成洗剤の影響について、液体培地と固体培地の2希釈法で試み、合成洗剤Ⅰ・Ⅱとも100～1000ppmの高濃度で生育阻害が認められた。尾形の報告<sup>4)</sup>によるとアサクサノリの光合成におよぼす液体状中性洗剤の影響は24時間と72時間の浸漬培養の結果では、30ppmから急激な光合成の阻害がみられ、粉末中性洗剤を用いた同様の試験結果からも100ppmで明らかな阻害が現れている。しかし、これはアサクサノリの光合成におよぼす影響で、本試験の生育への影響と単純には比較できない部分はあるが、光合成によって得られエネルギーが十分に供給されないことが生育に何らかの悪影響をおよぼすという点で、同様の阻害傾向を示している。また、比較的ばらつきが大きい実験結果となった理由として菌の増殖力の差異が考えられるが、今後検討の余地を残している。

次に生態影響試験としての問題を述べると、多くの実験に供されている水棲動物や水生植物の場合と異なり本実験は、滋養に富む培地を用いて37℃の至適培養条件で実施であることから、自然条件から大きく掛け離れており生態影響評価に直接結びつけることは疑問が残り、この結果を一般生態系の微生物に対する影響として拡大解釈することはできない。

本実験では2種類のタイプの合成洗剤の影響も比較したが、際立った違いは認められなかった。しかし、天然の純石けん分を含む合成洗剤Ⅱがいくぶん緩やかな阻害傾向を示していると思われる。数年前に家庭用合成洗剤の主な原料である界面活性剤が問題となり、微生物分解難分解性のABS（分岐鎖型アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム：ハード型）から易分解性のLAS（直鎖型アルキルスルホン酸ナトリウム：ソフト型）などに切り替えてきているが、ABSの残留量は30日経過しても80%程度の生分解しかされないのに対し、現在使用されている合成洗剤のLASでは、10日で50%となりさらに30日で25%まで生分解され、ASでは5日でほぼ完全に生分解さる。天然高級アルコールのセッケンに至っては5日以内に完全に生分解されるという報告<sup>5)</sup>がなされている。従って、合成洗剤Ⅱの影響が緩やか傾向を示すことは、含まれている成分の上でより分解され易いことから生態系への影響が少ない結果と考えることができる。

## 結 論

食品中の微生物に対する合成洗剤の影響は生

育の阻害に顕著に現れている。しかし、これが自然環境の生態系に悪影響をおよぼしているとは言及できない。生育阻害を調べて影響濃度を特定していく試みは、①定量的な条件、②界面活性剤の種類（構造）の何が生育阻害を引き起こすのか、③水質や生物の種類およびその発達段階で影響が異なるのか、など多くの難しい問題がある。生物体への取り込み、代謝や慢性毒性の問題、さらに生育阻止効果以外の問題として微生物が界面活性剤を分解し、河川を浄化するという水質環境保全の大きな役割を果たしていることも忘れてはならない。また、微生物による分解生成物の毒性や水生生物に対する影響についても考慮すべきであり、従って実験条件等の検討を加えながら、同様の試みを精査していく必要があると考える。

## 謝 辞

本研究を実施するに際し、ご助言下さった岩手女子看護短期大学の菅原洋子講師、校閲を頂いた矢川寛一教授に心から感謝の意を表します。

## 引 用 文 献

- 1) 別府輝彦、山崎真狩、堀内忠郎、永井和夫、新生化学実験講座 17—微生物実験法、東京化学同人、97-141、1992
- 2) 足立仁、沖本陽一郎、農芸化学実験操作法、玉川大学農芸化学教室、162-233、1966
- 3) 東京大学医科学研究所学会編、微生物学実習 提要、丸善、70-112、1988
- 4) 尾形英二、汚染によるノリ被害の生理学、水処理技術、8、(1)、29-42、1964
- 5) Sekiguchi, H. et al; 油化学、24、3、145-148、1975