

HELSINGIN YLIOPISTO
Matemaattisluonnontieteellinen tiedekunta
Kemian opettajan koulutusohjelma
Kandidaatin tutkielma

TRIKLOSAANI

Marianne Juntunen

Tiivistelmä

Triklosaani on yksi yleisimmistä kuluttajatuotteissa käytetyistä antimikrobisista yhdisteistä. Antimikrobisten aineiden tarkoituksena on estää mikrobeja pilaamasta tuotetta, kuten kosmetiikkaa tai tappaamaan mikrobeja esimerkiksi puhdistusaineiden ainesosana iholta tai erilaisilta pinnoilta. Triklosaani tappaa mikrobeja estämällä niiden rasvahapposynteesin normaalin toiminnan.

Ympäristöön päätyy vuosittain tonneittain triklosaania. Stabiilina yhdisteenä se kertyy ympäristöön ja rikastuu ravintoketjussa. Triklosaania on löytynyt esimerkiksi kalojen rasvakudoksista ja äidinmaidosta. Myös triklosaanin stabiilit ja myrkylliset hajoamistuotteet aiheuttavat huolta tutkijoissa. Erilaiset eliöt altistuvat enenevässä määrin triklosaanille ja sen johdannaisille, mutta pitkäaikaisvaikutuksista ei ole tutkimustietoa. Triklosaanin käytön riskit ovat mitä ilmeisemmin oletettuja hyötyjä suurempia, eikä yhdisteen käyttö tavallisissa kuluttajatuotteissa ole siksi tarpeen.

SISÄLLYS

<u>1 Johdanto.....</u>	<u>1</u>
<u>2 Kemialliset ominaisuudet ja valmistus.....</u>	<u>2</u>
<u>3 Käyttö.....</u>	<u>4</u>
<u>4 Vaikutusmekanismit.....</u>	<u>7</u>
<u>4.1 Rasvahapposynteesitien inhibitio.....</u>	<u>7</u>
<u>4.2 Haittavaikutukset.....</u>	<u>9</u>
<u>5 Esiintyminen ympäristössä.....</u>	<u>10</u>
<u>5.1 Analytiikka.....</u>	<u>12</u>
<u>5.2 Jätevesien puhdistus.....</u>	<u>13</u>
<u>5.3 Hajoaminen.....</u>	<u>15</u>
<u>6 Johtopäätökset.....</u>	<u>17</u>
<u>7 Yhteenveto.....</u>	<u>18</u>

1 Johdanto

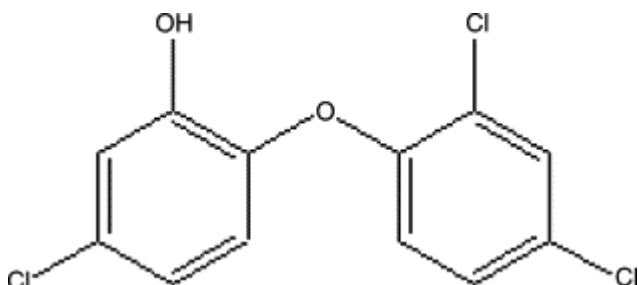
Antimikrobiset aineet ja antibiootit inhiboivat haitallisten mikrobien kasvua. Antibioottien tarkoituksena on parantaa sairaus, kun taas antimikrobisten aineiden käytöllä pyritään estämään sairauksia aiheuttavien mikrobien kulkeutumista. Kosmetiikassa ja hygieniatuotteissa antimikrobiset aineet estävät mikrobeita pilaamasta itse tuotetta. Monissa kulutustavaroissa, kuten tiskiharjoissa tai urheilusukissa antimikrobiset aineet tappavat bakteereita iholta tai erilaisilta pinnoilta ja tuovat näin tuotteille lisäarvoa erottamalla ne tavanomaisista tuotteista. (Glaser, 2004)

Yli 35 vuotta markkinoilla ollut triklosaani on eräs laajimmin käytetyistä antimikrobisista yhdisteistä. Viime vuosina julkaistut tutkimukset yhdisteen rikastumisesta ravintoketjussa ja sen haitallisista hajoamistuotteista ovat aiheuttaneet huolta sekä tutkijoissa että kuluttajissa. Valmistaja Ciba Specialty Chemicals (Basel, Sveitsi) pitää triklosaania täysin turvallisena eikä näe syytä huoleen. Ciba Specialty Chemicals perustaa kantansa triklosaanista tehtyihin kattaviin tuoteturvallisuustutkimuksiin, erilaisten tutkimuskomiteoiden päätöslauselmiin ja yhdisteen pitkään jatkuneeseen, turvalliseksi havaittuun käyttöön. (Anon. a, 2007; Engelhaupt, 2007) Kuitenkin tavallisten kotitalouksien puhdistusaineissa käytettynä antimikrobiset lisäaineet ovat ilmeisen tarpeettomia, sillä tutkimustuloksia aineiden aikaan saamista positiivista terveysvaikutuksesta ei ole. Esimerkiksi yhdysvalloissa tutkittiin yli kahta sataa lapsiperhettä, joista osa käytti antimikrobisia aineita kodin puhdistustapahtumissa. Antimikrobisia ja ei-antimikrobisia puhdistusaineita käyttäneiden ryhmien välillä ei havaittu eroja infektioiden määrässä tai infektio-oireiden vahvuudessa. (Larson *et al.*, 2004)

Seuraavissa kappaleissa kerrotaan trikloasaanista yhdisteenä, aineen käytöstä ja antimikrobisista vaikutusmekanismeista. Lisäksi käsitellään tapoja analysoida trikloasaania erilaisista ympäristönäytteistä, trikloasaanin ympäristövaikutuksia ja yhdisteen hajoamista luonnossa. Näiden tietojen perusteella arvioidaan lopuksi trikloasaanin tarpeellisuutta kuluttajatuotteissa.

2 Kemiaiset ominaisuudet ja valmistus

Triklosaani (2,4,4'-trikloro-2'-hydroksidifenyylietteri) on huoneenlämpötilassa valkoisena jauheena esiintyvä synteettinen orgaaninen yhdiste, jonka sulamispiste on noin 55–57 °C. Se ei maistu miltään, mutta omaa lievästi aromaattisen, fenolin kaltaisen tuoksun. Triklosaani on kloorattu aromaattinen yhdiste, jolla on sekä eetterin että fenolin funktionaaliset ryhmät. Trikloasaanin moolimassa on 289,9 g/mol ja sen CAS-numero on [3380-34-5] (Anon.b, 2007) Trikloasaanin vesiliuos on emäksinen. Yhdiste liukenee huonosti veteen, mutta hyvin orgaanisiin liuottimiin, kuten etanoliin, dietyylietteriin ja vahvoihin emäsluoksiin. Yhdiste on kemiallisesti pysyvä ja kestää kuumennusta 200 °C:ssa kaksi tuntia. (Barghava ja Leonard, 1996) Kuvassa 1 on esitetty trikloasaanimolekyylin rakenne.



Kuva 1. Trikloasaanimolekyylin rakenne

Ensimmäinen patenti trikloasaanista on julkaistu vuonna 1966 (Glaser, 2004). Ciba Specialty Chemicals eli silloinen Ciba-Geigy Co. toi ensimmäisenä trikloasaanin markkinoille nimillä Irgasan DP300 ja Irgacare MP 1970-luvulla. (Anon.a, 2007) Trikloasaanin kemiallisen rakenteen takia, on mahdollista, että yhdisteen synteesissä muodostuu epäpuhtauksina kloori-dioksiineja ja -dibentsofuraaneja. Epäpuhtauksien muodostuminen riippuu synteesin lähtömateriaalien puhtaudesta ja reaktio-olosuhteista, kuten lämpötilasta ja paineesta. Myrkyllisten epäpuhtauksien suhteelliset pitoisuudet vaihtelevat tuotantoerien välillä suurestikin. Dioksiinien ja dibentsofuraanien myrkyllisyyteen vaikuttavat trikloasaanimolekyylin aromaattiseen renkaaseen liittyvien klooriatomien paikka ja lukumäärä. Dioksiineja voi muodostua myös valkaistaessa ja poltettaessa trikloasaania sisältäviä tekstiilejä. (Anon.c, 2007; Kanetoshi *et al.*, 1988)

Trikloasaani on antimikrobisilta vaikutuksiltaan laajakirjoinen yhdiste, koska se torjuu bakteereiden lisäksi sieniä, alkueläimiä ja viruksia (Jones *et al.*, 2000; Lund *et al.*, 2005; Paul *et al.*, 2004). Trikloasaanista on tullut laajimmin käytetty bisfenolinen antimikrobinen yhdiste 30 viime vuoden aikana, sillä se inhiboi mm. metisilliini resistenttia *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli*, *Corynebacterium sp.* ja *Salmonella sp.*-bakteereita (Barghava ja Leonard, 1996).

Erilaisten tuotteiden ainesosana trikloasaani on vain harvoin yhdistetty ihmisillä ihon ärsytykseen tai yliherkkyyteen, vaikka altistuspitoisuuksia liioitelleissa eläinkokeissa eläimillä onkin havaittu ihonärsytystä. Akuutit, subakuutit/subkrooniset ja krooniset toksisuusprofiilit on määritetty trikloasaanille ja niistä voidaan todeta, ettei yhdiste aiheuta akuuttia oraalia toksisuutta, eikä vaikuta karsinogeenisesti, mutageenisesti tai teratogeenisesti. (Barghava ja Leonard, 1996; Glaser, 2004)

3 Käyttö

Yhdysvalloissa triklosaania on käytetty 60-luvulta asti deodoranteissa ja saippuoissa. Euroopassa triklosaania on käytetty hammastahnoissa vuodesta 1972. Antimikrobisten aineiden ja triklosaanin käyttö yleistyi voimakkaasti 1990-luvulla ja USA:n kuluttajamarkkinoille tuli vuosina 1992–1997 yli 700 uutta antibakteerista tuotetta, joista valta osa sisälsi triklosaania. (Schweizer, 2001). Nykyään triklosaania käytetään laajakirjoisesti mikrobien kasvua estävänä aineena lukuisissa arkipäivän tuotteissa. Yhdysvalloissa kartoitettiin markkinoilla olevien tuotteiden antibakteerisia ainesosia vuonna 2000 ja lähes puolet tuotteista sisälsivät triklosaania (Glaser, 2004). Näihin kuuluvat muun muassa hammastahnat, suuvedet, pesu- ja puhdistusaineet, deodorantit, saippuat, meikit ja ihovoiteet, ja lisäksi erilaiset tekstiilit, kuten antimikrobiset urheilusukat tai tiskirievut. (Anon.c, 2007; Anon.d. 2007) Hyvän lämmönkestävyytensä ansiosta triklosaani soveltuu myös muovituotteisiin. Siksi monet antimikrobiset keittiötarvikkeet, kuten leikkuulaudat, roskapussit, pesusienet, muoviastiat ja keittiötyökalut sisältävät triklosaania. Tällaisia antimikrobisia erikoismuovisovelluksia myydään esimerkiksi Microban® -tuotemerkillä (<http://www.microban.com>). (Schweizer, 2001) Tuoteselosteissa voi triklosaanin asemesta myös lukea Irgasan DP-300, Lexol 300, Ster-Zac, Cloxifenolum tai Biofresh (Glaser, 2004).

Pohjoismaisen kemikaalirekisterin SPIN (Substances in Preparations in Nordic Countries) mukaan vuonna 2003 Suomessa myytävissä kemikaaleissa käytettiin triklosaania noin 400 kg (Anon.e, 2007). Myös Norjan elinkeino- ja elintarviketurvallisuusvirasto analysoi triklosaanimääriä Norjassa myytävistä kosmetiikkatuotteista vuonna 2003. Markkinoilla oli yhteensä noin 2300 kg triklosaania, josta 1700 kg löytyi hammastahnoista. Suuvesissä triklosaania oli 50 kg,

deodoranteissa 60 kg, käsisäippuissa 270 kg ja muussa kosmetiikassa 200 kg. (Anon.f., 2007) Saksassa triklosaania oli markkinoilla vuonna 2002 yhteensä 70 000 kg ja koko Euroopassa yhteensä jopa 350 000 kg (Bester, 2005).

Taulukossa 1 on listattu kuluttajatuotteita, joiden tuoteselosteesta Suomessa löytyy triklosaania. Kosmetiikassa on lain mukaan oltava luettelo valmisteen sisältämistä ainesosista. Muissa tuotteissa ei näin kattavaa luetteloja edellytetä. Pitoisuudet taulukkoon 1 on saatu Norjan elinkeino- ja elintarviketurvallisuusviraston teettämästä tutkimuksesta (Anon.f., 2007).

Taulukko1. Suomessa myytäviä kuluttajatuotteita, joissa on triklosaania.

Tuotemerkki	Valmistaja	Käyttötarkoitus	Triklosaani-% +/- 10%	Lähde
Colgate total	Colgate-palmolive A/S	Hammastahna	0,29	Anon.f,2007
Colgate Fresh Confidence	Colgate-palmolive A/S	Hammastahna	0,27	Anon.f,2007
Pepsodent Sensitive Extra	Unilever, Lever Faberge	Hammastahna	≤ 0,32	Stockmann, 11.7.2007
Pepsodent Compele Fresh Action	Unilever, Lever Faberge	Hammastahna	≤ 0,32	Stockmann, 11.7.2007
Clerasil Cream	Procter & Gamble UK	Voide	0,13	Anon.f,2007
Giorgio Armani, Emporio armani	L`Oreal	Deodorantti	0,25	Anon.f,2007
Adidas Dynamic Deostick	Adidas AG	Deodorantti	0,30	Anon.f,2007
212 MEN	Carolina herera	Deodorantti-suihke	0,30	Anon.f,2007
Bvlgari Pour Femme Deo-spray	Pvkgari Parfums S.A. Suisse	Deodorantti-suihke	0,27	Anon.f,2007
IsaDora Eye-shadow Fix	IsaDora	Luomivärin kiinnittäjä	< 0,09	Anon.f,2007
Pure Deep pore wash	Garnier	Ihon syväpuhdistus geeli	-	Stockmann, 11.7.2007
Pure, pore purifying toner	Garnier	Kasvovesi	-	Stockmann, 11.7.2007
Pure, self heating sauna-mask	Garnier	Saunakasvo-naamio	-	Stockmann, 11.7.2007

Triklosaani on kuluttajatuotteissa sallittu lisäaine kaikkialla maailmassa, eikä sen käyttöä tai kulkeutumista ympäristössä ilmeisesti erityisemmin valvota. Suomessa Sosiaali- ja terveydenhuollon tuotevalvontakeskus (STTV) on triklosaania ja muita biosidejä valvova viranomaistaho, mutta STTV valvoo vain yleisluontoisesti kemikaalien terveysriskeihin ja lupiin liittyviä asioita. Myös kuluttajavirasto ja tullilaboratorio valvovat eri kuluttajatuotteiden koostumuksia projekteissaan ja pistokokein (Juuti, 2006). Suomen ympäristökeskukseen ei valvo erityisesti triklosaenin käyttöä tai kulkeutumista, mutta eri tahot teettävät yhdessä ympäristötutkimuksia, joissa triklosaani voi olla tutkittavien yhdisteisten joukossa (Braunschweiler, 2006).

Yhdysvalloissa vastuun antimikrobisten aineiden käytön säädöksistä jakavat maan elintarvike- ja lääkevirasto FDA (U.S. Food and Drug Administration) ja ympäristönsuojeluvirasto EPA (Environmental Protection Agency). FDA säätelee triklosaenin käyttöä elintarvikkeissa ja lääkkeissä, mukaan lukien kosmetiikan tuotteet. EPA:n vastuulla ovat muut triklosaenin käyttötarkoitukset, kuten pestisidi- ja säilöntäaine sovellukset. (Glaser, 2004) FDA on luokitellut triklosaenin joko käsikauppa- tai reseptilääkkeiden ainesosaksi, riippuen myytävän tuotteen koostumuksesta ja käyttötarkoituksesta. Lisäksi FDA on hyväksynyt triklosaenin käytön antimikrobisena aineena estämään sienten ja bakteereiden kasvua erilaisissa sovelluksissa, esimerkiksi muoveissa. (Jones *et al.*, 2000) Vuonna 1997 EPA kielsi lastenleluja valmistavaa Hasbro, Inc. -yritystä väittämästä, että sen triklosaania sisältävät lelut suojelisivat lapsia bakteerien aiheuttamilta infektioitaudeilta. Todellisuudessa triklosaani suojeli bakteereilta vain lelun muovia, ei sen käyttäjää! (Glaser, 2004)

Euroopaassa kuluttajia on kehoitettu välttämään antimikrobisia kuluttaja tuotteita, kuten pesu- ja puhdistusaineita. Vuonna 2000 Tanskan Terveysministeriö, Keskuslaboratorio ja

Kuluttajaneuvontakeskus valistivat yhdessä tanskalaisia kuluttajia lopettamaan rutiininomaisen antimikrobisten tuotteiden käytön kotitalouksissaan. Viranomaiset Suomessa ja Saksassa ovat neuvoneet samaa. Saksan ympäristöministeri pyysi teollisuutta lopettamaan harhaanjohtavan markkinoinnin, jossa kehoitettiin taistelemaan aggressiivisesti ”vihollisbakteereita” vastaan, joita ”elinympäristömme on täynnä”. Yhdysvalloissa kuluttajia ei ilmeisesti ole viranomaistaholta juurikaan valistettu antimikrobisten aineiden käytön riskeistä. (Glaser, 2004) Näitä riskejä käsitellään tarkemmin kappaleessa 4.2.

4 Vaikutusmekanismit

Mikrobien kasvua estävät ja mikrobeja tappavat triklosaanipitoisuudet riippuvat esimerkiksi altistusajasta, olosuhteista ja kyseessä olevasta mikrobikannasta. Triklosaanin vaikuttaa myös eukaryoottisoluihin ja sitä on tutkittu antimalaria lääkkeenä, koska se voisi inhiboida malariaa aiheuttavan *Plasmodium falciparum* -loisen rasvahapposynteesiä. (Kapoor *et al.*, 2004) Aikaisemmin triklosaanin spesifisiä vaikutusmekanismeja ei tunnettu ja ajateltiin, että yhdiste vaikuttaa epäspesifisesti membraanien rakenteisiin ja niiden toimintaan diffuntoitumalla soluihin. Uusimpien tutkimustuloksien mukaan triklosaani vaikuttaakin mikrobeja tappavina konsentraatioina ilmeisesti epäspesifisesti, häiriten solumembraanien toimintaa. Sen sijaan laimeampina konsentraatioina triklosaanin on havaittu vaikuttavan spesifisesti solussa juuri rasvahapposynteesin toimintaan.

4.1 Rasvahapposynteesitien inhibitio

Triklosaanin on todettu vaikuttavan bakteerisolussa rasvahapposynteesin enoli-[asyyli-kantajaproteiini]reduktaasi

-entsyymiin (kirjallisuudessa käytetään myös lyhenteitä enoyl-ACP reductase, FabI tai ENR) tai sen homologiin bakteerikannasta riippuen (McMurry *et al.*, 1998; Patrikh *et al.*, 2000; Escalada *et al.*, 2005b; Schweizer, 2001).

Entsyymi tarvitsee toimiakseen aina sille spesifisen substraatin. Triklosaanin läsnäollessa enoli-ACP-reduktaasi (ENR) sitoutuu luontaisen substraattinsa sijaan triklosaaniin, koska yhdiste muistuttaa sen luontaista substraattia. Näin triklosaani hidastaa ENR:n reaktiota rasvahapposynteesissä. Reaktio hidastuu ja lopulta estyy kokonaan altistusajan kasvaessa. Reaktion estyminen johtuu stabiilin tertiaarisen ENR-NAD⁺-triklosaani -kompleksin muodostumisesta. Tämän *E. coli* -bakteerista eristetyn kompleksin kiderakenteesta käy ilmi, että triklosaani muodostaa stabiilin kompleksin entsyymin aktiivisen keskuksen aminohappojen kanssa. (Heath *et al.*, 1999; Schweizer, 2001)

Suuri osa tutkijoista uskoo yhä, että triklosaani vaikuttaa moniin kohteisiin solussa. Tutkimuksissa mikrobien kasvatusalustojen triklosaanipitoisuudet vaihtelevat noin 2-20 mg/ml välillä, kun sekä membraanirakenteet vaurioituvat ja lipidi-, RNA- ja proteiinisynteesi inhiboituvat. Schweizer (2001) on kritisoinut näitä tutkimuksia. Hän esittää, että tutkimukset rajoittuvat triklosaanin liukoisuuteen ja että triklosaanin liukoisuus kasvatusalustaan on alustan rakenteesta ja pH:sta riippuen luokkaa 0,2 mg/ml. Havaintoja triklosaanin vaikutuksista membraaneihin on selitetty rasvahapposynteesitien inhiboitumisella, joka taas vaikuttaa edelleen kaikkiin rasvahapposynteesistä riippuvaisiin solun prosesseihin, kuten esimerkiksi juuri fosfolipidien, lipopolysakkaridien ja kalvolipidien synteesiin. Koska tutkimuksissa kuitenkin havaitaan jatkuvasti epäspesifisiä vaikutuksia altistuksen kohteena olleissa soluissa, on tärkeää jatkaa myös epäspesifisinä pidettyjen solumembraani muutosten tutkimista. Triklosaani vaikuttaa sekä eukariootti- että

prokarioottisolujen fosfolipideihin, vaikka rasvahapposynteesitiet ovatkin prokariootti- ja eukarioottisolulla erilaiset. (Lygre *et al.*, 2003; McMurry *et al.*, 1998)

4.2 Haittavaikutukset

Triklosaanin käytön merkittävin haittatekijä on yhdisteen rikastuminen ravintoketjussa, koska yhdiste hajoaa hitaasti ympäristössä. Triklosaani on rasvahakuinen eli lipofiilinen ja siksi se voi bioakkumuloitua eliöiden rasvakudoksiin. (Glaser, 2004) Sammakon elimistöön kertyneenä triklosaanin on todettu haittaavan eläimen tyreotropiinin (kilpirauhasen toimintaa lisäävä hormoni) tuottoa, koska triklosaanin kemiallinen rakenne on niin lähellä hormonin rakennetta. Triklosaani ilmeisesti sitoutuu elimistössä tyreotropiinireseptoreihin, eikä tyreotrooppisia hormoneja enää tuotu normaalisti. Tämä aiheuttaa myös sammakon alkion kehityksen pysähtymisen. (Veldhoen *et al.*, 2006) Triklosaanin kertymisestä elinympäristöön ja sen myrkyllisistä hajoamistuotteista kerrotaan tarkemmin kappaleessa 5.3.

Antibakteeristen aineiden ja antibioottien laajamittainen käyttö voi johtaa uusien, vastustuskykyisempien ja siten usein ongelmallisten bakteerikantojen kehittymiseen. Yleisesti pätee, että mikrobikannan sopeutuminen yhteen ympäristön stressitekijään, lisää sen kykyä sopeutua toiseenkin. Siten vastustuskyvyn lisääntyminen antimikrobiselle yhdisteelle voi edesauttaa myös antibioottiresistenssin kehittymistä. (Glaser, 2004; Yazdankhah *et al.*, 2006)

Myös triklosaanin käytön on osoitettu olevan yhteydessä tiettyjen bakteerien yleisen vastustuskyvyn lisääntymiseen (Yazdankhah *et al.*, 2006). Painetta kasvattaa se, että triklosaanin vaikutuksen kohde, rasvahapposynteesitie ja sen tietyt entsyymit, ovat hyvin samankaltaisia eri mikrobeilla. Esimerkiksi *E. coli* tulee resistentiksi triklosaanille yhden geenin pistemutaation kautta. Pistemutaatiossa

yhden nukleotidin vaihtuminen toiseen aiheuttaa sen, että geeni koodaa eri aminohappoa kuin ennen mutaatiota, eikä rasvahapposynteesien inhibitoitumisen aiheuttavaa ENR-NAD⁺-triklosaani –kompleksia ei enää samalla tehokkuudella muodostu. *E. coli* –bakteerin hankkima geneettinen resistenssi viittaa siihen, että triklosaanin laajamittainen käyttö voi johtaa yleisemminkin resistenttien mikrobikantojen kehittymiseen. (Heath *et al.*, 1999)

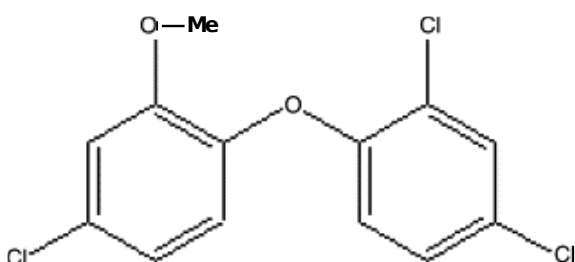
Kaikissa tutkimuksissa lisääntyneitä bakteeriresistenssiä ei ole havaittu, kun on tutkittu triklosaania sisältävien tuotteiden pitkäaikaisia vaikutuksia ihon tai suun bakteeriflooraan (Tixier *et al.*, 2002; Zambon *et al.*, 1995). Esimerkiksi Aiello *et al.* (2005) eivät havainneet lisääntyneitä bakteeriresistenssiä tutkiessaan kotitalouksissa vuoden ajan triklosaania sisältävien antibakteeristen siivous- ja hygienia tuotteiden vaikutuksia. Valmistaja Ciba Specialty Chemicals vakuuttaa, useisiin tutkimustuloksiin ja erilaisten tutkimuskomiteoiden päätöksiin vedoten, ettei resistenttien bakteerikantojen kehittymisestä ole todisteita, eikä käyttörajoituksille siksi ole tarvetta. Lähes kaikki alan tutkijat ovat kuitenkin yhtä mieltä siitä, että lisätutkimuksia aiheesta tarvitaan.

Lisäksi triklosaanin ja muiden antibakteeristen aineiden käytöllä voi olla yhteys allergioihin. ”Hygienia hypoteesi” on tutkijoiden esittämä teoria, jonka mukaan liian hygieninen ympäristö korreloi ihmisten lisääntyneiden allergioiden ja astman kanssa. (Strachan, 1989; Matricardi *et al.*, 2000)

5 Esiintyminen ympäristössä

Triklosaani on aktiivinen jo hyvin pieninä pitoisuuksina ja sen on todettu säilyvän aktiivisena tuotteissa pitkään (Lyngre *et al.*, 2003). Laajasta käytöstä ja yhdisteen stabiilisuudesta johtuen triklosaania ja sen johdannaisia on kertynyt elinympäristöömme ja ravintoketjuun. Ruotsalaisessa tutkimuksessa äidinmaidosta ja kaloista löydettiin korkeita pitoisuuksia triklosaania. Yhdisteen rikastumista ravintoketjussa kuvaavat hyvin tutkimustulokset, joissa äidinmaitonäytteistä löytyneet triklosaanipitoisuudet olivat 300 ng/g rasvaa eli jopa 15 kertaiset verrattuna lehmänmaitokontrollin alle 20 ng/g rasvaa pitoisuuteen. (Adolfsson-Erici *et al.*, 2002)

EU:n Kemikaalien ympäristövaaraluokitus-rekisterissä triklosaani on luokiteltu erittäin myrkylliseksi vesieliöille ja sen todetaan aiheuttavan pitkäaikaisia muutoksia vesiympäristöihin (Anon. g., 2006). Lisäksi triklosaanin biologisessa hajoamisessa muodostuva metyyli-triklosaani (kuva 2) on triklosaaniakin pysyvämpi ja rasvaliukoisempi yhdiste ja siksi sen on havaittu kertyvän eliöihin helpommin kuin itse triklosaanin. (Balmer *et al.*, 2004; Bester 2005; Anon, c., 2007; Anon.d, 2006)



Kuva 2. Metyyli-triklosaanimolekyylin rakenne

Triklosaania ja sen johdannaisia on havaittu järvissä, puroissa ja joissa, jätevesissä ja sellaisten järvien kaloissa, joihin lasketaan kotitalouksien jätevesiä. (Balmer *et al.*, 2004; Canosa *et al.*, 2005; Anon.c, 2006; Adolfsson-Erici *et al.*, 2002) Pintavesistä on mitattu

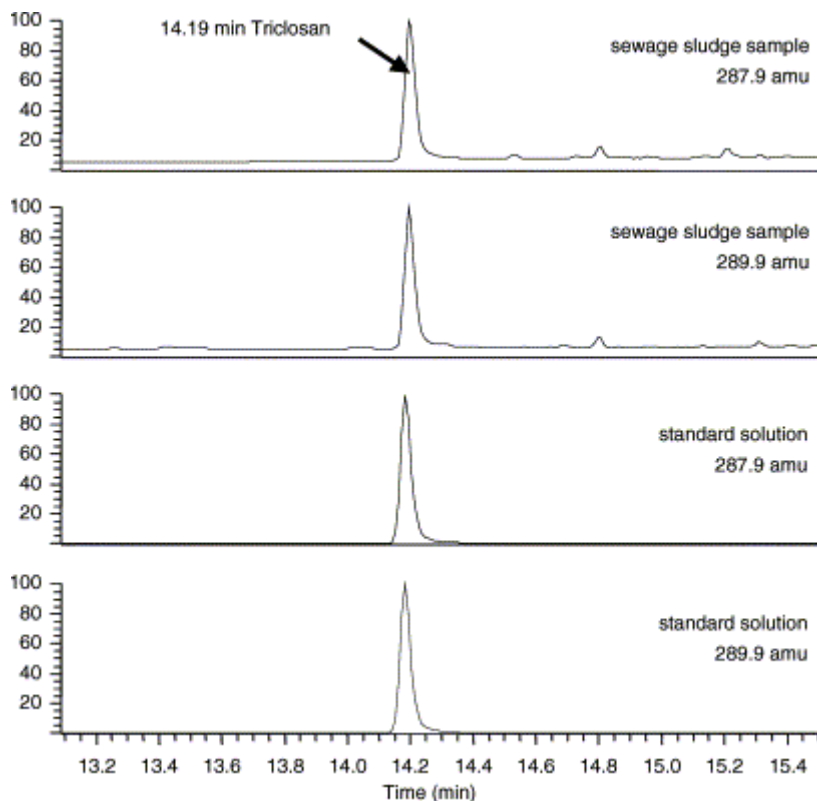
vaihtelevia 5–90 ng/l trikloasaanipitoisuuksia (Tixier *et al.*, 2002). Trikloosaani kertyy vesieliöihin (Braunschweiler, 2006). Yhdisteen on osoitettu olevan myrkyllistä leville ja vaikuttavan leväyhdyskuntien rakenteeseen ja elintoimintoihin. Leväyhdyskuntien rakenteet ovat yleisesti herkkiä ympäristön stressitekijöille (Orvos *et al.*, 2002; Wilson *et al.*, 2003). Valmistaja Ciba Specialty Chemical totesi tutkimuksissaan vuonna 1998, ettei 500 ng/l trikloosaania ollut myrkyllistä *Scenedesmus subspicatus* -levälle. Yleisesti käytetään kuitenkin 10-kertaista turvallisuus tekijää, jolloin alhaisin konsentraatio ns. PNEC-arvo (Predicted no effect concentration), joka ei vaikuta organismiin olisi 50 ng/l. Tämä arvo on suhteellisen alhainen ja ekologisessa mielessä sen ei tulisi ylittyä luonnon vesistöissä. Trikloosaanin PNEC-arvot muille vesieliöille jätevesitutkimuksissa ovat samaa luokkaa (Tixier *et al.*, 2002).

5.1 Analytiikka

Analysoitaessa trikloosaania ympäristönäytteistä, maa- tai vesinäytteistä, yhdiste uutetaan yleensä orgaaniseen faasiin. Tätä liuosta konsentroidaan edelleen erilaisia esimerkiksi kaasui- tai nestekromatografilla ja massaspektrofotometrillä tehtäviä mittauksia varten. Yleisimmin käytetään massaspektrometridetektorilla varustettua kaasukromatografia (GC-MS) tarkimman tuloksen saamiseksi. Kuvassa 3 on esitetty mitattuja trikloosaanin GC-MS-ionikromatogrammeja jätevesiuutteista ja standardi liuoksista. Havaitsemistarkkuus sekä GC-MS:a käytettäessä trikloosaanille on luokkaa 3 ng/l ja metyyli-trikloosaanille 0,3 ng/l. (Bester, 2005; Bester, 2003 ;Palmquist ja Hanaæus, 2005,)) Mittauksissa trikloosaani voidaan myös leimata esimerkiksi radioaktiivisella hiili-isotoopilla, joka analysoidaan esimerkiksi korkea-resoluutio-kaasukromatografilla. (Ying *et al.*, 2007; Anon,c., 2007)

Veteen liuenneena trikloosaani esiintyy pH 9,5 emäksisemmissä vesiliuoksissa negatiivisesti varautuneena kloorattuna poly-

aromaattisena fenolina. Negativisesti varautuneena triklosaani-iona voidaan erottaa elektrostaattisia vuorovaikutuksia hyödyntävien menetelmien avulla, kuten ioninvaihtokromatografisesti tai erilaisilla kalvotekniikoilla. (Amiri *et al.*, 2007)



Kuva 3. Triklosaanin ionikromatogrammeja jätevesi uutteista (sewage sludge sample) ja standardi liuoksista (standard solution). Ylimmässä kuvassa on mitattu triklosaanimolekyyliä, jossa on kolme ^{35}Cl -isotooppia ja toiseksi ylimässä kuvassa triklossanimolekyyliä, jossa on yksi ^{37}Cl - ja kaksi ^{35}Cl -isotooppia. Kromatogrammi ilmaisee aineen suhteellisen esiintyvyyden retentioajan funktiona. (Bester 2003)

5.2 Jätevesien puhdistus

Yhdysvalloissa tutkittiin jätevesinäytteiden sisältämiä orgaanisia epäpuhtauksia 30 osavaltiossa vuosina 1999-2000. Triklosaani oli yksi yleisimmistä ja osin myös suurimpina pitoisuuksina esiintyneistä yhdisteistä (Kolpin *et al.*, 2002). Vedenpuhdistamot eliminoivat puhdistusprosessista riippuen yleensä noin 85–95 % jätevesien triklosaanista (Tixier *et al.*, 2002). Jos Euroopassa käytettiin arviolta 350 000 kg triklosaania vuonna 2002 (Bester, 2005), niin 95 % puhdistustehokkuudellakin vedenpuhdistamoiden läpi olisi päässyt

ainakin 17 500 kg triklosaania ympäristöön. Pintavesiin on aiheutunut jäämistä vaihtelevia 5–90 ng/l pitoisuuksia. Mittausdatan kerääminen on haasteellista, koska luonnonvesien triklosaanipitoisuuksiin vaikuttavat monet parametrit. Tällaisia ovat esimerkiksi (Tixier *et al.*, 2002):

- 1) Triklosaani kuormitus (yhdistettä sisältävien tuotteiden käyttö alueella, josta jätevedet ovat peräisin)
- 2) Vedenpuhdistamon puhdistuskyky (voi vaihdella 0 %:sta modernien puhdistamoiden 95 %:iin)
- 3) Laimentuminen vesialueella, johon puhdistettu vesi lasketaan
- 4) Vesialueen ominaisuudet (pH, UV-valon määrä, absorptiokerroin, suspendoituneet partikkelit, sekoittuminen, virtaukset, syvyys)

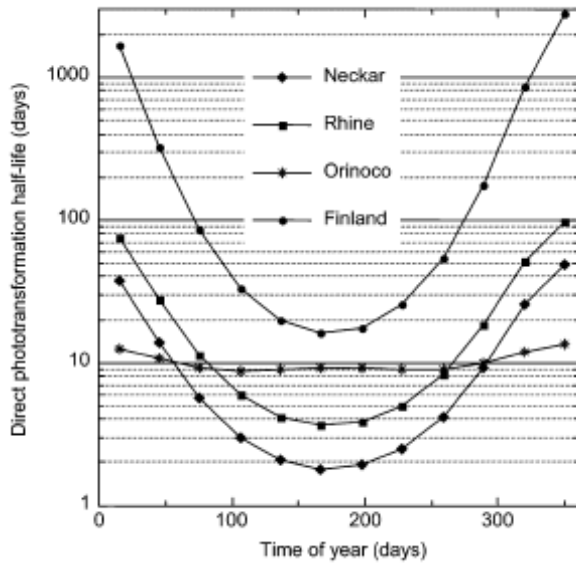
Saksassa tutkittiin triklosaanin ja metyyli-triklosaanin kohtaloa erilaisilla jätevedenpuhdistusmenetelmillä. Heti puhdistusprosessien jälkeen jätevesien triklosaanipitoisuudet olivat 10 – 600 ng/l. Kauempana Ruhr-joessa pintavesistä mitattiin 0,3 - 10 ng/l pitoisuuksia. Triklosaanin ja metyyli-triklosaanin puoliintumisajoina Ruhr-joessa määritettiin vähintään 11 vrk. (Bester, 2005)

Ruotsissa läheltä Lundin kaupunkia analysoitiin triklosaania Hoje-joesta. Puhdistamoon tullut triklosaanipitoisuus oli 380 ng/l, josta puhdistuksen jälkeen jäljelle jäi 160 ng/l. Keskimääräinen puhdistustehokkuus oli vain 58 %. Triklosaania ei kuitenkaan havaittu enää n. 7,5 km päässä puhdistamon padoista. (Bendz *et al.*, 2005) Ruotsissa analysoitiin vuonna 2005 triklosaanipitoisuuksia myös kotitalouksien mustista (vessojen ulosteita sisältävät vedet) ja harmaista (lopun käyttövedet) jätevesistä. Puhdistamattomat mustat jätevedet sisälsivät triklosaania keskimäärin 2480 ng/l ja harmaat 3430 ng/l (Palmquist ja Hanaæus, 2005).

5.3 Hajoaminen

Triklosoanin hajoamisesta vesistöissä on paljon tutkimustietoa. Sen sijaan hajoamista maaperässä ei juurikaan ole tutkittu. Maaperään triklosoania päätyy esimerkiksi talousjätteistä kaatopaikoilla. Ying *et al.*, (2007) havaitsivat triklosoanin ja sen johdannaisen triklokarbaanin biologisen hajoamisen maaperässä olevan hidasta. Aerobisessa maaperässä mikrobit hajottivat triklosoanipitoisuuden puoleen alkuperäisestä muutamissa viikoissa, mutta anaerobisessa maaperässä hajoamista ei ehtinyt tapahtua 70 päivää kestäneen kokeen aikana.

Hajoaminen vesistöissä tapahtuu ensisijaisesti suoran fotokemiallisen muuntumisen eli fototransformaation kautta, jos UV-valoa on saatavilla. Lisäksi yhdistettä poistuu pintavesistä myös epäsuoran fototransformaation, sedimentteihin painumisen ja biologisen hajoamisen seurauksena. Triklosoanin puolintuumisaika vedessä on voimakkaasti riippuvainen UV-valon määrästä. Tixier *et al.* tutkivat triklosoanin hajoamista Sveitsiläisessä järvessä ja totesivat, että 80 % triklosoanin hajoamisesta tapahtui suoralla fototransformaatiolla. Hajoamisen riippuvuutta vuoden ajasta ja valon määrästä havainnollistetaan kuvassa 4, joka esittää triklosoanipitoisuuden puoliintumisaikaa vuoden päivien funktiona Saksalaisessa Neckar-jossa, Saksalais-Ranskalaisessa Rein(Rhine)-jossa, Venetsuelalaisessa Orinoco-jossa ja kuvitellussa eteläsuomalaisessa järvessä.



Kuva 4. Triklosaanin fotokemiallisen muuntumisen puoliaikojen kausittainen vaihtelu neljälle esimerkki alueelle. X-akselilla on esitetty vuoden aika päivinä ja Y-akselilla suora fototransformaatio-puoliaika päivinä. Suomalaisessa järvessä triklosaanin fotokemiallinen hajoaminen on talvella erityisen hidasta (ylin esitetystä käyristä). (Tixier *et al.*, 2002)

Sen lisäksi, että synteettinen triklosaani voi sisältää epäpuhtauksina dioksiineja, niin myös auringonvalo voi muuttaa jätevesipäästöjen triklosaania dioksiineiksi. Sanchez-Prado *et al.* 2006 totesivat UV-valon indusoivan triklosaanin muuntumisen dioksiineiksi koko tutkimallaan pH skaalalla 3-9. Dioksiinit ovat hyvin myrkyllisiä kemikaaleja, jotka häiritsevät hormonitoimintaa ja voivat aiheuttaa syöpää. (Anon.d., 2006) Triklosaanin on havaittu muodostavan pH 7:ssä vesijohtoveden vapaan kloorin kanssa myös erilaisia myrkyllisiä kloorifenoleita ja kloroformia. Muodostuvat pitoisuudet vaihtelevat ympäristötekijöiden, kuten lämpötilan ja vesijohtoveden koostumuksen mukaan. Kloorifenoleita syntyy, kun triklosaania lisätään hanaveteen, jossa vapaata klooria on alle 1 mg/l. Kloorifenolien muodostuessa kloori liittyy triklosaanin fenolirenkaaseen ja eetterisidos katkeaa. Samalla syntyy tetra- tai penta-kloorattuja hydroksi-difenyyli-eettereitä, 2,4-dikloorifenoleita ja 2,4,6-dikloorifenoleita. Tutkimustulokset ovat herättäneet huomiota, sillä sekä kloroformi että kloorifenolit ovat solumyrkkyjä ja niitä pidetään karsinogeenisinä yhdisteinä (Fiss *et al.*, 2007; Canosa *et al.*,

2005). Lisätutkimuksia ihmisten altistumisesta elinympäristössä dioksiineille, kloroformille ja kloorifenoleille tarvitaan. (Engelhaupt, 2007)

6 Johtopäätökset

Biosidien käyttö arjessa on hyödyltään erittäin kyseenalaista. Asiantuntijat näyttäisivät olevan sitä mieltä, että triklosaani on tarpeetonta monissa käyttökohteissaan. Stabiileina yhdisteinä triklosaani ja sen myrkylliset hajoamistuotteet kertyvät eliöiden rasvakudoksiin ja elinympäristöömme. Tutkimukset näiden yhdisteiden pitkä- ja lyhytaikaisista vaikutuksista eliöihin ovat vasta aivan alussa. Lisäksi triklosaani voi muiden antimikrobisten aineiden ohella edesauttaa vastustuskykyisempien, antibioottiresistenttienkin bakteerikantojen kehittymistä, vaikka käytännössä tätä ei ole vielä havaittu laboratorioden ulkopuolla.

Riskit ympäristön kuormituksen ja resistenssien mikrobikantojen kehittymiseen pienenevät, kun triklosaania käytetään kuluttajatuotteissa vain hyvin harkiten. Yleensäkin kodeissa hyvä perushygienia ajaa antibakteeristen aineiden käytön ohitse. Silloin tehokkaat biosidit vaikuttavat siellä, missä niitä tarvitaan. Käyttö voisi olla perusteltua esimerkiksi sairaaloissa, missä antibioottiresistenttejä bakteereita täytyy torjua mahdollisimman tehokkaasti. Sielläkin triklosaanin käytön turvallisemmista vaihtoehdoista on otettava selvää. Paras tapa välttää altistumista triklosaanille on jättää hankkimatta ja käyttämättä tuotteita, jotka sisältävät kyseistä yhdistettä. Joskus se voi olla vaikeaa, koska vain kosmetiikassa on lain mukaan oltava luettelo valmisteen sisältämistä ainesosista. Muissa tuotteissa ei näin kattavaa luetteloa edellytetä.

Erilaiset kemikaalit kuormittavat ympäristöämme enenevässä määrin ja jatkotutkimuksia eri yhdisteiden ympäristövaikutuksista tarvitaan.

Tämä koskee erityisesti trikloaania ja sen myrkyllisiä hajoamistuotteita, koska niiden on havaittu rikastuvan ravintoketjussa ja kertyvän elinympäristöömme. Trikloaani kuuluu myös EU:n uuden REACH kemikaali-asetuksen piiriin. Asetuksen myötä kaikki aineet, joita valmistetaan tai tuodaan EU-alueelle yli tonni vuodessa pitää rekisteröidä uudelleen yhteiseen tietojärjestelmään ja osoittaa turvalliseksi. Rekisteröinti ja käyttö- ja altistumistapätietojen tutkimukset kuuluvat sekä kemikaalin valmistajalle että sitä tuotesovelluksissaan käyttävälle yritykselle. (Anon.h, 2007). Tehtävien tutkimusten tärkein kriteeri on puolueettomuus, joka myös REACH:ssa on tavoitteena. Hämmästyttävän monet tutkimukset teetetään tuotevalmistajien rahoittamina ja tuotevalmistajilla on kuitenkin aina omia kaupallisia intressejä tutkimustulosten suhteen.

7 Yhteenveto

Trikloaani on laajimmin kuluttajatuotteissa käytetty antimikrobinen yhdiste. Tähän tutkielmaan kerättyjen julkaisujen perusteella trikloaanin käytön riskit kuluttajatuotteissa vaikuttavat hyötyjä suuremmilta. Trikloaanin käyttö perustuu jo suhteellisen pieninä pitoisuuksina todistettuihin antimikrobisiin vaikutuksiin ja yhdisteen dokumentoituun turvallisuuteen ja hyvään säilyvyyteen tuotesovelluksissa. Trikloaani kuitenkin voi aiheuttaa haittoja eliöille pidemmällä aikavälillä, koska yhdiste on erittäin stabiili ja bioakkumuloituva. Lisäksi trikloaanin hajoamistuotteet ovat vielä myrkyllisempiä, pysyvämpiä ja bioakkumuloituvampia kuin itse trikloaani. Jätevesien ja talousjätteiden mukana elinympäristöömme kulkeutuu vuosittain tonneittain trikloaania.

Lähteet

Adolfsson-Erici, M., Pettersson, M., Parkkonen, J. ja Sturve, J., Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden, *Chemosphere* **46** (2002) ss.1485-1489.

Aiello, A.E., Marshall, B., Levy, S.B., Della-Latta, P., Lin, S.X. ja Larson, E., Antibacterial cleaning products and drug resistance, *Emerg Infect Dis.* **10** (2005) ss.1565-70.

Amiri, M., Shahrokhian, S., Psillakis, E. Ja Marken, F., Electrostatic accumulation and determination of triclosan in ultrathin carbon nanoparticle composite film electrodes, *Anal Chim Acta.* **593** (2007) ss. 117-122.

Anon.a. Triklosaanin valmistaja Ciba Specialty Chemicals -yrityksen kotisivut,
<http://www.cibasc.com/ind-pc-triclosan.htm> ,28.6.2007.

Anon.b. Triklosaania myyvän Epochem -yrityksen kotisivut,
<http://www.epochem.com/products/pharm/3380-34-5.htm> ,24.7.2007.

Anon.c. Quantexlabs laboratories, Technology review series: Triclosan and its impurities,
<http://www.quantexlabs.com/Downloads/Triclosan%20and%20Its%20Impurities.pdf> 23.7.2007.

Anon.d. Rosqvist, P., WWF:n tiedote Triklosaanista (ja metyyliatriklosaanista),
http://www.wwf.fi/wwf/www/uploads/pdf/factsheet_edited_triclosan_sept05_kaannos.pdf , 4.7.2007.

Anon.e. Pohjoismainen kemikaalirekisteri SPIN (Substances in Preparations in Nordic Countries), <http://www.spin2000.net/spin.html>, 6.4.2006.

Anon.f. Norjan elinkeino- ja elintarviketurvallisuusvirasto, Kosmeettisten tuotteiden triklosaani-analyysi (2003), http://www.mattilsynet.no/mattilsynet/multimedia/archive/00015/SNT_2003_01_-_Analys_15935a.pdf, 11.7.2007.

Anon.g. EU:n Kemikaalien ympäristövaaraluokitus-rekisteri, <http://apps.kemi.se/nclass/default.asp>, 6.4.2006.

Anon.h. Sosiaali- ja terveysministeriön REACH-tiedotussivu, <http://www.reachinfo.fi>, 7.9.2007.

Balmer, M.E., Poiger, T., Droz, C., Romanin, K., Bergqvist, P.A., Müller, M.D. ja Buser, H.R., Occurrence of methyl triclosan, a transformation product of the bactericide triclosan, in fish from various lakes in Switzerland. *Environ. Sci. Technol.* **38** (2004) ss.390-395.

Barghava, H.N. ja Leonard, P.A., Triclosan: applications and safety. *Am. J. Infect.* **24** (1996) ss.209-218.

Bendz, D., Paxeus, N.A., Ginn, T.R. ja Loge, F.G., Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Hoje River in Sweden, *J Hazard Mater.* **122** (2005) ss.195-204.

Bester, K., Fate of triclosan and triclosan-methyl in sewage treatment plants and surface waters, *Arch Environ Contam Toxicol.* **49** (2005) ss.9-17.

Bester, K., Triclosan in a sewage treatment process--balances and monitoring data, *Water Res.* **37** (2003) ss. 3891-3896.

Braunschweiler, H., Ympäristökeskuksen ylitarkastaja, MMM, kirjallinen tiedonanto, 5.5.2007.

Canosa, P., Morales, S. Rodriguez, I., Rubi, E., Cela, R. ja Gomez, M., Aquatic degradation of triclosan and formation of toxic chlorophenols in presence of low concentrations of free chlorine, *Anal. Bioanal. Chem.* **383** (2005) ss.1119-1126.

Engelhaupt, E., More triclosan trouble, *Environ. Sci. Technol* **40** (2007) s.2072.

Escalada, M.G., Russell, A.D., Maillard, J.Y. ja Ochs, D., Triclosan-bacteria interactions: single or multiple target sites? *Lett Appl Microbiol.* **41** (2005a) ss.476-481.

Escalada, M.G., Harwood, J.L., Maillard, J.Y. ja Ochs, D., Triclosan inhibition of fatty acid synthesis and its effect on growth of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, *J Antimicrob Chemother.* **55** (2005b) ss.879-882.

Fiss, E.M., Rule, K.L. ja Vikesland, P.J., Formation of chloroform and other chlorinated byproducts by chlorination of triclosan-containing antibacterial products, *Environ. Sci. Technol.* **4** (2007) ss.2387-2394.

Glaser, A., The ubiquitous Triclosan, a common antibacterial agent exposed, *Pesticides and you* **24** (2004) ss.12-17.

Heath, R.J., Rubin, J.R., Holland, D.R., Zhang, E., Snow, M.E. ja Rock, C.O., Mechanism of triclosan inhibition of bacterial fatty acid synthesis, *J Biol. Chem.* **274** (1999) ss.11110-11114.

Jones, R.D., Jampani, H.B., Newman, J.L ja lee, A.S., Triclosan: a review of effectiveness and safety in healthcare settings, *Am. J. Infect. Control* **28** (2000) ss.184-186.

Juuti, S., Tuoteturvallisuusinsinööri, Kuluttajavirasto, kirjallinen tiedonanto, 10.4.2006.

Kanetoshi, A., Ogawa, H., Katsura, E., Kaneshima, H. ja Miura, T., Formation of polychlorinated dibenzo-p-dioxins upon combustion of commercial textile products containing 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether (Irgasan DP300), *J. Chromatogr.* **442** (1988) ss.289-299.

Kapoor, M., Gopalakrishnapai, J., Surolia, N. ja Surolia, A., Mutational analysis of the triclosan-binding region of enoyl-ACP reductase from *Plasmodium falciparum*, *Biochem J.* **381** (2004) ss.735-741.

Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B. ja Buxton, H.T., Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance, **36** (2002) ss.1202-1211.

Larson, E.L., Lin, S.X., Gomez-Pichardo, C. and Della-Latta P., Effect of Antibacterial Home Cleaning and Handwashing Products on Infectious Disease Symptoms: a Randomized, Double-Blind Trial, *Annals Int. Med.* **140** (2004) ss.321-329.

Lund, E.D., Soudant, P., Chu, F.L., Harvey, E., Bolton, S. ja Flowers, A., Effects of triclosan on growth, viability and fattyacid synthesis of the oyster protozoan parasite *Perkinsus marinus*, *Dis Aquat Organ.* **67** (2005) ss.217-224.

Lygre, H., Moe, G., Skalevik, R. ja Holmsen, H., Interaction of triclosan with eukaryotic membrane lipids, *Eur. J. Oral Sci.* **111** (2003) ss.216-222.

Matricardi, P.M., Rosmini, F., Riondino, S., Fortini M., Ferrigno, L., Rapicetta, M. ja Bonini, S., Exposure to foodborne and orofecal microbes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study, *BMJ* **320** (2000) ss.412-417.

McMurry, L.M., Oethinger, M. ja Levy, S.B., Triclosan targets lipid synthesis, *Nature* **394** (1998) ss.531-532.

Orvos, D.R., Versteeg, D.J., Inauen, J., Capdevielle, M., Rothenstein, A. ja Cunningham, V., Aquatic toxicity of triclosan, *Environ. Toxicol. Chem.* **21** (2002) ss.1338-1349.

Palmquist, H. ja Hanaeus, J., Hazardous substances in separately collected grey- and blackwater from ordinary Swedish households, *Sci. Total. Environ.* **348** (2005) ss.151-163.

Paul, K.S., Bacchi, C.J. ja Englund, P.T., Multiple triclosan targets in *Trypanosoma brucei*, *Eukaryot. Cell.* **3** (2004) ss.855-861.

Patrikh, S.L., Xiao, G ja Tonge, P.J., Inhibition of InhA, the enoyl reductase from *Mycobacterium tuberculosis*, by triclosan and isoniazid, *Biochemistry* **39** (2000) ss.7645-7650.

Roberts, C.W., McLeod, R., Rice, D.W., Ginger, M., Chance, M.L. ja Goad, L.J., Fatty acid and sterol metabolism: potential antimicrobial targets in apicomplexan and trypanosomatid parasitic protozoa, *Mol Biochem Parasitol.* **126** (2003) ss.129-42.

Sanchez-Prado, L., Llompart, M., Lores, M., Fernandez-Alvarez, M.,

Garcia-Jares, C. ja Cela, R., Further research on the photo-SPME of triclosan, *Anal Bioanal Chem.* **384** (2006) ss.1548-1557.

Schweizer, H.P., Triclosan: a widely used biocide and its link to antibiotics, *FEMS Microb. Lett.* **202** (2001) ss.1-7.

Strachan, D.P., Hay fever, hygiene, and household size, *Immunol. Today* **19** (1989) ss.113-116.

Tixier, C., Singer, H., Canonica, S. ja Müller, S., Phototransformation of triclosan in surface waters: A relevant elimination process for this widely used biocide—Laboratory studies, field measurements, and modelling. *Environ Sci Toxicol* **36** (2002) ss.3482–3489.

Veldhoen, N., Skirrow, R.C., Osachoff, H., Wigmore, H., Clapson, D.J., Gunderson, M.P., Van Aggelen, G. ja Helbing, C.C, The bactericidal agent modulates thyroid hormone-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development. *Aquat. Toxic.* **80** (2006) ss.217-227.

Wilson, B.A., Smith, V.H., DeNoyelles, F. ja Larive, C.K., Effects of three pharmaceutical and personal care products on natural freshwater algal assemblages. *Environ. Sci. Technol.* **37** (2003) ss.1713–1719.

Yazdankhah, S.P., Scheie, A.A, Hoiby, E.A., Lunestad, B.T., Heir, E., Fotland, T.O., Naterstd, K. ja Kruse, H., Triclosan and antimicrobial resistance in bacteria: an overview. *Microb Drug Resist* **2** (2006) ss. 83-90.

Ying, G., Yu, X. ja Kookana, R.S., Biological degradation of triclocarban and triclosan in a soil under aerobic and anaerobic conditions and comparison with environmental fate modeling, *Environ. pollut.* **23** (2007) ss.1-6.

Zambon, J.J., Reynolds, H.S., Dunford, R.G., DeVizio, W., Volp, A.R., Berta, R., Temporello, J.P. ja Bonta, Y., Microbial alterations in supragingival dental plaque in response to a triclosan-containing dentifrice, *Oral Microbiol Immunol.* **4** (1995) ss.247-55.