

室内環境中の微生物発育速度・MVOC 放散のモデリングと数値予測手法の開発

(第5報) 3種類の真菌を対象とした MVOC 放散フラックスの測定

Modeling and Numerical Analysis of Fungal Growth and MVOC Emission in Indoor Environment

(Part 5) Measurement of MVOC Emission Rate from Three Kinds of Fungi

学生会員 ○中村 美咲 (東京工芸大学大学院)

学生会員 水野 優 (東京工芸大学大学院)

正会員 伊藤 一秀 (東京工芸大学)

Misaki NAKAMURA*¹ Yu MIZUNO*¹ Kazuhide ITO*¹

*¹ Tokyo Polytechnic University

The fungal growth and infestation are deeply associated with indoor air humidity, temperature, building materials and ventilation rate. The overarching of this study is to develop the numerical model that predict microorganism growth and MVOC emission by taking into account the influence of moisture, temperature and building materials for various fungi. Towards this end, in this paper (Part 5), we focus on the measurement of MVOC emission rate from three kinds of fungi (*Aspergillus penicillioides*, *Aspergillus niger* and *Penicillium citrinum*) under various relative humidity conditions.

はじめに

本報を含む一連の研究は、微生物由来の室内環境汚染問題の中で、特に一般的な室内に存在する微生物、特に真菌類を対象として、対象微生物の成長・増殖メカニズムの解明に加え、汚染物質放散源としての微生物に着目し、微生物由来の揮発性有機化合物(MVOC)放散のメカニズムを解明し、定量的な放散量データを提供することを目的とする。最終的には CFD(計算流体力学)をベースとした浮遊真菌胞子の Lagrange 解析に真菌成育モデル、ならびに MVOC 放散モデルを組み込むことで、総合的な室内微生物環境予測法の確立を目指す。既報(その1~3)では5種類の真菌類を対象として温度・湿度をパラメータとし、各真菌から放散される MVOC 成分の定性分析を行った結果を報告した。本報(その5)では、代表的な耐乾性真菌3種に着目し、雰囲気湿度条件が変化した場合の MVOC 放散量を測定すると共に、Toluene 換算値として定量を行うことで放散フラックス値の推定を行った結果を報告する。

1. 対象とする真菌類

一般室内に存在が確認されている真菌類の中で、特に耐乾性に着目して3種(3属)の菌種を選定し、実験を行う。3菌株とも(独)製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部・生物遺伝資源部門(NBRC)より分譲された菌株を使用する。本研究では *Aspergillus penicillioides* (NBRC 33024)、*Penicillium citrinum* (NBRC7784)、*Aspergillus niger* (NBRC31628)の3種類の真菌(カビ)に着目する。*Aspergillus penicillioides* は、代表的な耐乾性真菌であり、*Aspergillus niger* はカビ抵抗性試験 JIS- Z- 2911 などに供試される代表的な耐乾性真菌であり、また泡盛醸造にも

表1 実験ケース

ケース	対象真菌	温度	湿度
Case 1	<i>Aspergillus penicillioides</i> (NBRC 33024)	28 [°C]	Rh 0 [%]
			Rh 50 [%]
			Rh 90 [%]
Case 2	<i>Aspergillus niger</i> (NBRC 31628)		Rh 0 [%]
			Rh 50 [%]
			Rh 90 [%]
Case 3	<i>Penicillium citrinum</i> (NBRC 31628)		Rh 0 [%]
			Rh 50 [%]
			Rh 90 [%]

表2 実験のタイムスケジュール

← 培養期間 →	← 実験期間 →	
7日間	Sample 100 [L]	Sample 100 [L]
温度条件	温度条件	
28°C	28°C	
湿度条件	湿度条件	
—	→ Rh 90%	Rh 90%
(制御無)	→ Rh 50%	Rh 50%
	→ Rh 0%	Rh 0%

使用される。*Penicillium citrinum* は耐乾性真菌で、カビ毒のシトリニンを産生し、アレルゲンとしても認知されている。

実験ケースを表1にまとめて示す。真菌はガラスシャーレを用いて、PDA 培地に接種し、28°Cに制御したインキュベータ内にて7日間培養したものを実験に使用する。

2. 実験概要

培養期間・サンプリング期間を含めた実験スケジュールを表2に示す。本研究では、真菌由来の MVOC を測定するために測定用チャンバーを制作している。MVOC 測定用チャンバーは、SUS304 製の真菌設置ユニット6段から構成される。真菌設置ユニットは内径110×10²[m]、深さ37×10²[m]の円筒形で、上下に空気が流通する形

状である。ユニット間はシーリング無しで密閉性を保つことができるよう設計されている。MVOC 測定用チャンバーに供給する空気は N₂ ベースの O₂ (20%)混合ガス (P>99.99999)を使用する。更に、上流側 2 ヶ所に活性炭ベースのケミカルフィルターを設置することで供給空気の清浄化を行っている。また、バブリング機構を組み込むことで相対湿度を3段階(0%、50±5%、90±5%)に設定する。供給空気量はマスフローコントローラーにより 400[cc/min]に制御する。図 1 に MVOC 測定チャンバーを含む一連の実験系を示す。

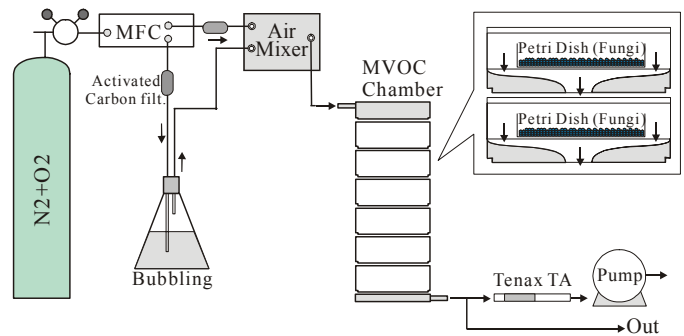


図 1 MVOC 測定 実験系

3. サンプリング・分析条件

MVOC 測定用チャンバーの下流側において、MVOC を含むチャンバー通過空気を Tenax TA (Gestel, 80/100 mesh) を用いてアクティブサンプリングする。この時、Tenax TA 管を 2 本連結してサンプリングすることで破過の確認も行っている。積算流量計付きポンプにより 350 [cc/min] の割合で計 100 [L]サンプリングする。サンプリングは続けて 2 回行うことで再現性ならびに時系列変化を確認する。本報では 1 回目のサンプリング(Sample 1)を実験ケースの添え字 -1、2 回目のサンプリング(Sample 2)を添え字 -2 で示している。MVOC 成分の分析は GC/MS のマススペクトルにて定性すると共に、検出成分は Toluene 換算値として定量する。MVOC サンプリング・分析条件を表 3 に示す。

表 3 MVOC サンプリング・分析条件

GC	HP6890
TDS	Gestel TDS (Thermal Desorption System)
Column	HP5 (0.25mmφ×60m×1μm)
Oven Temp.	40°C(3min)→10°C/min→220°C(10min)
Detector (MS)	HP5973MSD
Analysis mode	SCAN
Sampler	Tenax TA (60/80 mesh)
Sampling Speed	350 cc/min, Total 100 [L]

表 4 検出された MVOC 成分

化学物質名	菌名		
	<i>Aspergillus penicillioides</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium critrimum</i>
1-Octen-3-ol	○	○	○
2-Butanone			○
2-Methyl-1-propanol	○	○	○
3-Octanone	○	○	
3-Methyl-1-butanol		○	○

4. 実験結果

本実験で検出された MVOC 成分の一覧を表 4 に示す。また、各ケースにおける MVOC 成分測定結果をクロマトグラフとして図 2～図 7 に示す。各図中の縦軸は Toluene 換算の放散フラックス値 [μg/m²/h]で示している。

(1) Case 1 (*Aspergillus penicillioides*)

Aspergillus penicillioides を対象とした測定結果のうち、1 回目サンプリング(Sample 1)の結果を図 2(1)～(3)に、2 回目のサンプリング(Sample 2)の結果を図 5(1)～(3)に示す(*Aspergillus penicillioides* の結果のみ他の測定結果と縦軸のスケールが異なる)。湿度条件(0%、50%、90%)に関わらず 1-Octen-3-ol、2-Methyl-1-propanol、3-Octanone の 3 種類の MVOC 成分が検出された。Case1-1 の実験(図 2)においては、Rh 0%の条件と比較し、Rh 90%の条件では相対的に MVOC 放散量が大きくなる結果となった。1 回目のサンプリング(Sample 1)と比較して 2 回目のサンプリング(Sample 2)において、すなわち時間が経過するに従い、MVOC 放散量が減少する傾向が観察された。また、*Aspergillus penicillioides* から検出された MVOC 放散量は、全 3 種類の真菌中で最も小さい結果となった。

(2) Case 2 (*Aspergillus niger*)

Aspergillus niger を対象とした測定結果を図 3(1)～(3)なら

びに図 6(1)～(3)に示す。MVOC 成分として 1-Octen-3-ol、2-Methyl-1-propanol、3-Octanone、3-Methyl-1-butanol の 4 種が検出され、本研究で対象とした全 3 種類の真菌中で最大の検出となると共に、MVOC 放散フラックスに関しても、全 3 種類の真菌中で最も大きい結果となった。Rh 0%の条件と比較して、Rh 50%の条件下では MVOC 放散量に大きな違いは見られないが、Rh 90%の条件下では MVOC 放散量が相対的に大きくなった。1 回目サンプル(Sample 1)と 2 回目サンプル(Sample 2)を比較したところ、大きな時間変化は確認されなかった。

(3) Case 3 (*Penicillium critrimum*)

Penicillium critrimum を対象とした測定結果を図 4(1)～(3)ならびに図 7(1)～(3)に示す。1-Octen-3-ol、2-Butanone、2-Methyl-1-propanol、3-Methyl-1-butanol の 4 種の MVOC 成分が検出され、*Aspergillus niger* と同様に全 3 種類の真菌中で最大となった。MVOC 放散フラックスの湿度依存性はほとんど観察されなかった。また、Sample 1 と Sample 2 の結果に大きな差異は無く、すなわち放散フラックスの時間変化も観察されなかった。

5. 考察

既報¹⁻³⁾では 1-Octen-3-ol、2-Butanone、2-Pentanone、3-Octanone

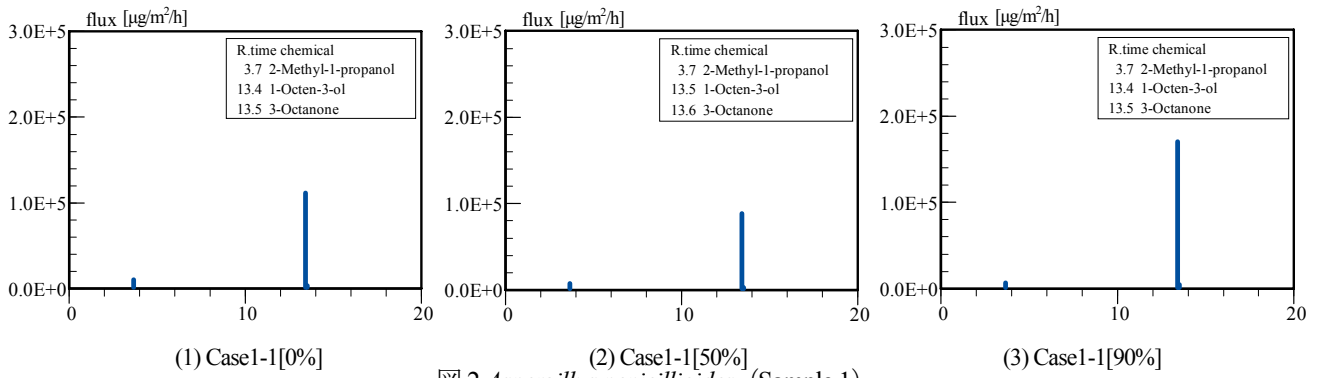


図2 *Aspergillus penicillioides* (Sample 1)

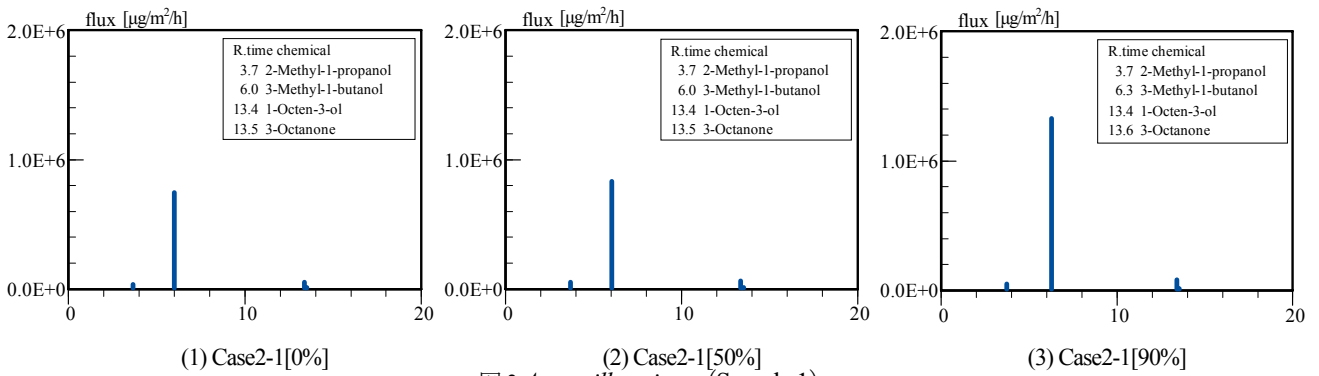


図3 *Aspergillus niger* (Sample 1)

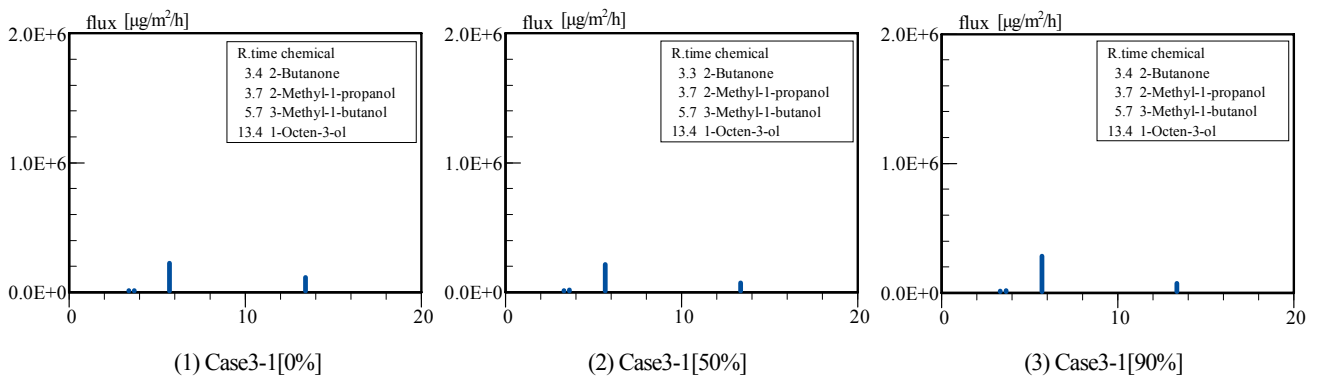


図4 *Penicillium crintrinum* (Sample 1)

の4種のMVOC成分の検出を報告したが、サンプリング量ならびにサンプリング条件を変更することで、新たに2-Methyl-1-propanolが検出されると共に、*Aspergillus niger*と*Penicillium crintrinum*では、3-Methyl-1-butanolも検出される結果となった。

本実験結果では、各真菌から放散されるMVOCフラックスに関して、特に明確な湿度依存性が観察されなかったが、相対的には、Rh 0%とRh 50%の条件と比較して、Rh 90%の条件においてMVOC放散フラックスが増加する傾向が観察された。当然のことながら、本報で対象とした真菌の至適発育条件(相対湿度条件)に適合する高湿度条件においてMVOC放散フラックスが大きくなる傾向があると推察される。

本報で示した実験では、28℃に制御したインキュベータ内にて7日間培養した真菌を用いている。即ち実験対象真菌は各シャーレ上に一面一様に分布しており、真菌増

殖曲線上では定常期を対象としていることとなる。一般的には、増殖曲線上の対数期において代謝が相対的に活発であると予想されるため、MVOC放散フラックスも大きくなることが推定される。本実験ケースでは、特に*Aspergillus niger*は孢子生産能力が非常に高い。本実験での1本当たりのサンプリング時間は5時間程度であるが、対象真菌を実験用チャンバーに設置後のサンプリング期間中の真菌生育状況、生育能力が、MVOC放散フラックスに一定の影響を与えた可能性がある。

湿度条件がMVOC放散フラックスに与える影響を明確に検討するためには、真菌増殖が活発な初期の培養期間中を対象とした実験が必要であろう。この点に関しては、別報での報告を予定している。

また、図2から図7に示した図中の縦軸は単位面積として[m²]を用いた換算を行っているため、MVOC放散フラックスが大きな値となって示されている。例えば、シャ

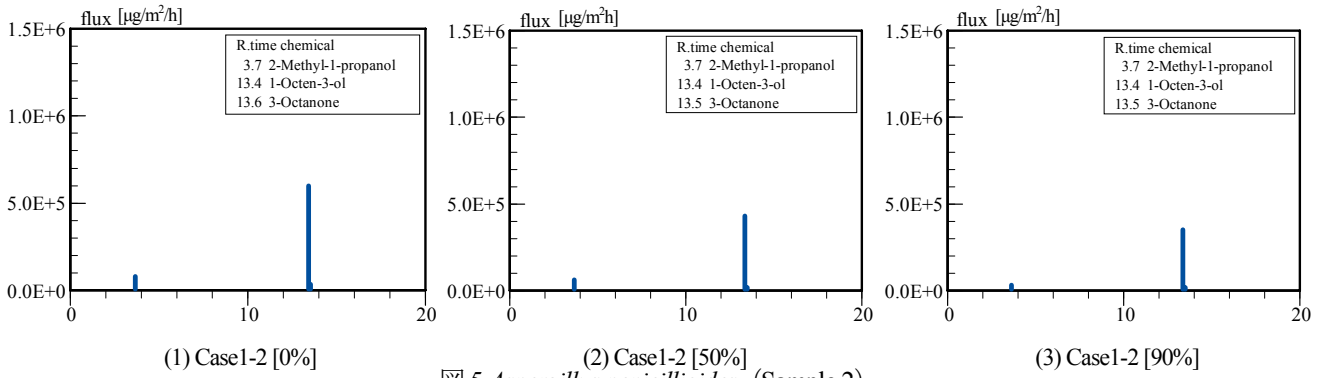


図 5 *Aspergillus penicillioides* (Sample 2)

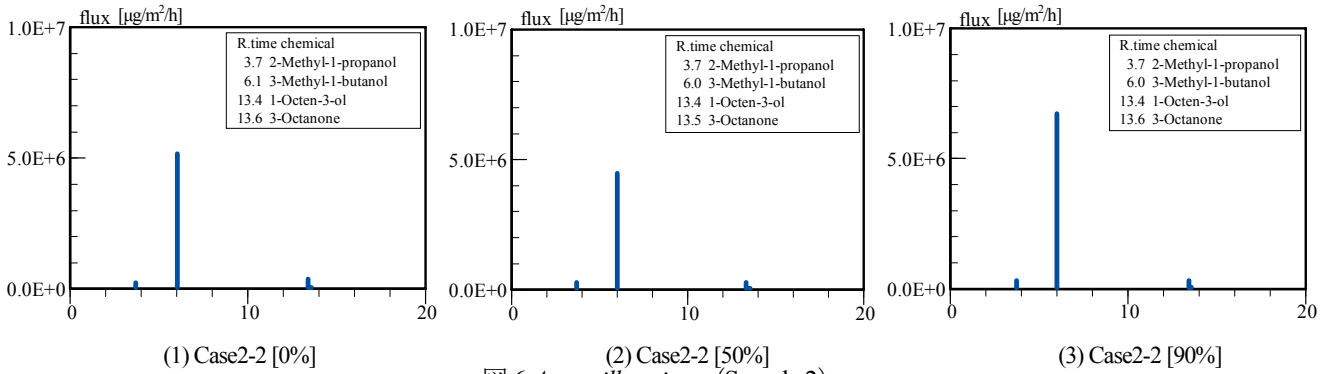


図 6 *Aspergillus niger* (Sample 2)

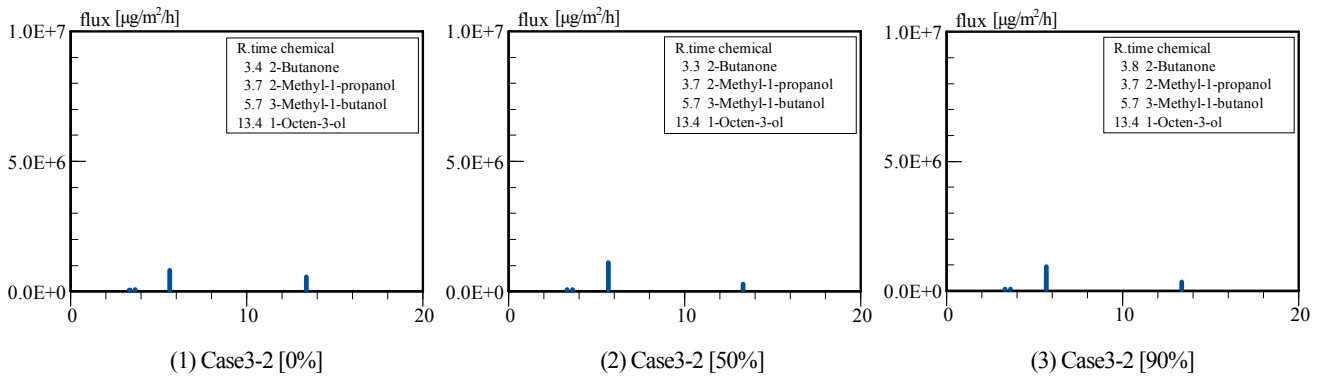


図 7 *Penicillium citrinum* (Sample 2)

一レ面積 ($6.1 \times 10^3 \text{ m}^2$) 当たりの MVOC 放散量に換算すると、最大で $19.3 \text{ [mg/h, Toluene 換算値]}$ となる。

6. 結論

- (1) 耐乾性の 3 種類の真菌から放散される MVOC 成分の定性分析を行うと共に、Toluene 換算値として放散フラックス値を推定した。
- (2) *Aspergillus penicillioides* と *Aspergillus niger* は、1 回目のサンプル(Sample1)において、湿度依存性が確認されたが、その他の実験ケースでは MVOC 放散フラックスに関して、湿度依存性は明確には観察されない結果となった。
- (3) 今後、更に MVOC 放散フラックスの温湿度依存性を明確にするため、真菌増殖が活発な初期を対象とした実験を実施する予定である。

参考文献

- [1] 朴俊錫, 池田耕一: 居住空間における真菌由来揮発性有機化合物による室内空気汚染に関する研究、付着材料別における真菌からの MVOCs 放散特性: 日本建築学計画系論文集, 561 号, pp.61-, 2002
- [2] 中島大介他: 室内に成育する微生物から発生する揮発性有機化合物 (MVOC) の検出法: 室内環境学会総会講演集, vol6, NO2, P276-277, 2003 年 12 月
- [3] 水野 優, 伊藤一秀, 熊谷一清: 室内環境中の微生物発育速度・MVOC 放散のモデリングと数値予測手法の開発 (その 1) *Eurotium Alternaria* および *Aspergillus* を対象とした MVOC 放散量の測定: 日本建築学会年次大会, 2005.9, D-2, pp963-964
- [4] 中村美咲, 水野 優, 伊藤一秀, 熊谷一清: 室内環境中の微生物発育速度・MVOC 放散のモデリングと数値予測手法の開発 (その 2) 各種真菌由来の MVOC 放散量の湿度依存性に関する検討: 日本建築学会年次大会, 2005.9, D-2, pp965-966
- [5] 水野 優, 伊藤一秀, 熊谷一清: 室内環境中の微生物発育速度・MVOC 放散のモデリングと数値予測手法の開発 (その 3) 5 種類の真菌を対象とした MVOC 放散量の測定: 室内環境学会総会講演集, 2005.11, pp206-207