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

その2 合板におけるホルムアルデヒド放散量による真菌成長への影響

INDOOR AIR POLLUTION BY MICROBIAL VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS
IN INDOOR ENVIRONMENT

Part 2 Study on effect of formaldehyde emissions on fungal growth on plywood materials

朴 俊 錫*, 池 田 耕 一**

Jun-seok PARK and Koichi IKEDA

This study investigated the relation between formaldehyde emissions and fungal growth on plywood materials. In order to find out the effect of formaldehyde emissions on the growth of fungi species, four species, such as *aspergillus*, *cladosporium*, *penicillium* and *rhizopus* were grown on the surface of 11 different materials of which formaldehyde emission rate were tested before the their culture. From the results, it is found that formaldehyde emission rates significantly affect the biological activity of fungal spores on the materials. The spores are very active below about $20 \mu\text{g}/(\text{m}^2\text{h})$, formaldehyde emission rate. The activity of fungal species, however, becomes to weak at about $30 \mu\text{g}/(\text{m}^2\text{h})$, and then they are inactivated over about $560 \mu\text{g}/(\text{m}^2\text{h})$. This result demonstrates that fungal growth on the wooden materials depends on not only indoor air environmental conditions but also formaldehyde emissions rate.

Keywords : Indoor air quality, Formaldehyde emissions, Fungal growth and Plywood materials

室内空気質、ホルムアルデヒド放散、真菌成長、合板

1. はじめに

筆者らは微生物由来の有機化合物とその発生構造について調査^{1),2)}を行い、真菌からは特有の揮発性有機化合物(Microbial Volatile Organic Compounds、以下MVOCs)が発生し、その一部は強い刺激性を持っていることを報告した。また調査により菌の成長に伴って発生するMVOCsは、栄養源となる付着材料の化学的組成に大きく左右されることが明らかになった。最近ではシックハウス対策としてホルムアルデヒドの発生源を抑えるために内装材に低放散建材を使用することが増えている。しかし、筆者らの調査結果や化学物質としてのホルムアルデヒドが殺菌効果³⁾を持っていることを考えると、建材におけるホルムアルデヒドの含有量または放散量は、その表面に付着する真菌の成長に大きな影響を及ぼす可能性がある。

そこで本報では、居住空間内における真菌発生と室内化学物質空気汚染の関係に着目し、合板におけるホルムアルデヒド放散量と真菌成長の関係を明らかにすることを目的とし、実験を行った。以下にその実験結果を報告する。

2. 実験概要

2. 1 実験対象木質建材と真菌

実験では、日本農林規格⁴⁾(以下、JAS)によりホルムアルデヒ

ド放散量の等級区分が定まっている合板を実験対象建材とした。表1に実験対象サンプルと真菌を示す。全ての合板サンプルは厚み約5mmで防菌処理を行っていないものを販売店より直接に購入した。サンプルAとBはJASにより等級されたもので、Fc₀とFc₁に相当するものであった。サンプルC、DとEは等級されていないものであり、その中でDとEは輸入品であった。実験対象真菌は前報²⁾で用いた真菌のなかから、好・中湿性菌として室内に多く存在し、MVOCsを発生する菌を選んで実験を行った。実験対象真菌は*Aspergillus*(コウジカビ)、*Cladosporium*(クロカワカビ)、*Penicillium*(アオカビ)と*Rhizopus*(クモノスカビ)であった。なお、*Rhizopus*は属まで分類された菌を用いて実験を行った。

表1 実験対象木質建材と真菌

対象建材		対象真菌
種類	サンプル*	
合板	A (Fc ₀)	<i>Aspergillus. Flavus</i> (A. f)
	B (Fc ₁)	<i>Cladosporium. Sphaerospermum</i> (Cl. s)
	C **	<i>Penicillium. Oxalicum</i> (P. o)
	D **	<i>Rhizopus. sp</i> (Rh. sp)
	E **	

* : () の中はサンプルに表記されJAS等級区分

** : 等級区分がないもの

* 韓国漢陽大学校建築工学部 助教授・博士(工学)

** 国立保健医療科学院建築衛生部 部長・工博

Assist. Prof., Division of Architectural Engineering, Han Yang Univ., Dr. Eng.
Director, Dept. of Architect. Hygiene Eng. and Housing, National Institute of Public Health, Dr. Eng.

2. 2 実験方法

表2に実験概要及び条件を示す。各実験は温湿度の調節が可能なラージチャンバー内で行った。まず実験Ⅰでは、JASのデシケータ試験法に従い、各サンプルのデシケータ値を測定した。各サンプルからJAS法に従って試験体を作り、その試験体をデシケータ内に設置した後、蒸留水に溶けたホルムアルデヒド濃度をAHMT法により測定した。

次に実験Ⅱでは、実験Ⅰ終了後に試験体を置いた状態でデシケータ内部を十分に換気させた後、デシケータを小型チャンバーとして利用し、各サンプルからのホルムアルデヒド放散量を測定した。実験Ⅱにおける試験体の数は実験Ⅰ条件と同じであった。デシケータの換気にはラージチャンバーの清浄空気をを用いて0.5l/minの流量で行った。ホルムアルデヒドのサンプリングは、DNPHカートリッジを用いてデシケータの排気口から3時間間隔(24時間)で行った。DNPHカートリッジに捕集されたホルムアルデヒドは、アセトニトリルにより抽出し、高速液体クロマトグラフィ(HPLC)を用いて分析を行った。

実験Ⅲでは、各サンプルの試験体表面に実験対象真菌を付着させた後、ホルムアルデヒド放散量と真菌成長の関係について実験を行った。菌の付着では、まず液体トリプトソイブイオン培地により実験対象真菌の胞子を個別に希釈し、次に各サンプルの試験体片表面の12ヶ所に希釈した培地、0.1mlを個別に付着させた。菌の付着後には、各試験体をデシケータ内に設置して4日間培養した。実験Ⅲでは実験Ⅱと同じく0.5l/minの流量で換気を行った。またデシケータの換気の際には加湿装置を用いてデシケータ内の相対湿度を90±5%に維持した。4日間の培養後には真菌を付着させた12ヶ所においてコロニーが形成された場所の数を目視によりカウントした。図1には液体トリプトソイブイオン培地を用いた真菌付着直後と培養後の例を示す。実験Ⅲでは付着菌の成長における再現性を確認するため、各サンプルと真菌について2回ずつ実験を繰り返した。

3. 実験結果

3-1 デシケータ値とホルムアルデヒド放散量

図2に各サンプルにおけるJAS法によるデシケータ値とチャンバー法によるホルムアルデヒド放散量を示す。ここでチャンバー法によるホルムアルデヒド放散量(ER)は、デシケータ内のホルムアルデヒド濃度が定常に達した9時間以降の濃度から下記により求めた。

$$ER = \frac{Q \times C}{A} \quad \text{式(1)}$$

ここで、Cはデシケータ内のホルムアルデヒド濃度[μg/m³]、Qはデシケータの換気量[m³/h]、Aはデシケータ内に設置した全試験体の6面表面積の総和[m²]である。

各サンプルのホルムアルデヒド放散量は、11.3～561.2 μg/(m²・h)の分布を示し、二つのサンプルでホルムアルデヒド放散量が300 μg/(m²・h)を超えていた。JAS法によるデシケータ値は0.3～10.8mg/Lであった。JAS法による等級区分に従うとサンプルAはFc₀、サンプルBは表示された等級より低いFc₀、サンプル

表2 実験概要及び条件

実験区分	実験条件
実験Ⅰ (デシケータ値実験)	JAS規準 温度：21±1℃, 相対湿度：50±10% デシケータ値：AHMT法
実験Ⅱ (放散量実験)	換気量：0.5l/min 温度：25±1℃, 相対湿度：50±10% サンプラー：DNPH カートリッジ サンプリング間隔：3時間 分析機器：HPLC-DAD (Diode Array Detector)
実験Ⅲ (真菌成長実験)	換気量：0.5l/min 温度：27±1℃, 相対湿度：90±5% 培養期間：4日間 (96時間)

(a) 付着直後

(b) 4日間培養後

図1 試験体における真菌付着と培養の例

図2 各サンプルにおけるJAS法によるデシケータ値とチャンバー法によるホルムアルデヒド放散量

ルDはFc₁に相当するものであった。またサンプルCとDは等級区分外のものであった。

3-2 試験体における真菌成長

表3には実験Ⅲにおける真菌成長の結果を示す。低放散量のサンプルでは、4日後にほとんどの付着菌が12ヶ所でコロニーを形成していた。一方、放散量が高いサンプルC、DとEでは、1回目と2回目の実験でコロニーが形成される場所は異なっていたものの、コロニー形成場所の数はサンプルAとBに比べて大きく減っていた。

各試験体では、*Aspergillus*、*Cladosporium*と*Penicillium*ともに1回目と2回目の実験でほぼ同じ結果を示し、付着菌の成長に再現性が確認された。しかし、*Rhizopus*の場合、全てのサンプルでコロニーの形成にバラツキが大きく、1回目と2回目の実験結果からは再現性はみられなかった。クモノスカビ類は好湿性菌であり、今回の実験条件であった相対湿度、90±5%では試験体表面を十分に濡らすことが出来なかったために、付着菌の成長にバラツキがみられたと考えられる。この菌成長におけるランダムなバラツキにより、今回の調査では*Rhizopus*菌におけるホルムアルデヒド放散量と菌成長との関係を把握することは困難であった。

3-3 ホルムアルデヒド放散量と真菌成長の関係

*Rhizopus*菌を除いた実験結果をもとにホルムアルデヒド放散量と真菌成長の関係について分析を行った。図3にその結果を示す。

ここでコロニー発生割合は、真菌を付着させた12ヶ所においてコロニー形成が目視により確認された場所の数を百分率で表したものである。またコロニー発生割合は実験Ⅲの1回目と2回目の両実験結果の平均値を用いた。*Aspergillus*、*Cladosporium*と*Penicillium*ともにホルムアルデヒド放散量が大きくなるに従ってほぼ同程度にコロニー発生割合が低くなっている。

ホルムアルデヒド放散量が最も高かったサンプルEでは、全ての付着菌が成長していなかった。放散量段階別にみると、放散量が15 μg/(m²・h)以下では放散量による真菌成長への影響が全くみられないものの、放散量がそれ以上になると、付着菌の成長に変化がみられはじめた。放散量が330 μg/(m²・h)では付着菌の約半分だけが成長し、放散量が560 μg/(m²・h)を超えると全ての付着菌の成長が抑えられていた。また30~560 μg/(m²・h)の間では放散量に対する付着菌の成長割合は指数関数的関係を示した。

図4にJAS法におけるデシケータ値と真菌成長の関係を示す。JAS法の等級区分からみれば、Fc₀レベルではホルムアルデヒド放散量による付着菌の成長への影響はなく、全ての付着菌がコロニーを形成することが確認された。しかし、放散量がFc₁とFc₂レベルになると、付着菌の成長に変化がみられ、Fc₂では、Fc₀に比べてコロニーの数が約半分程度になっていた。等級区分の対象外ではあるが、デシケータ値が10.8mg/Lを超えると付着菌の成長はみられなかった。

合板のホルムアルデヒド放散量と各真菌の成長割合の指数関数的な関係から、非線型最小二乗法 (Nonlinear Least Square

表3 実験Ⅲの結果

サンプル名	付着真菌コロニー形成場所の数 (1回目実験/2回目実験) [箇所]			
	<i>Aspergillus.Flavus</i> (A.f)	<i>Cladosporium.Sphaerospermum</i> (Cl.s)	<i>Penicillium.Oxalicum</i> (P.o)	<i>Rhizopus.sp</i> (Rh.sp)
A	12/12	12/11	12/12	12/1
B	12/12	12/12	12/12	6/10
C	7/6	4/5	3/5	0/12
D	9/9	6/6	8/8	0/0
E	0/0	0/0	0/0	0/0

図3 ホルムアルデヒド放散量と真菌成長の関係

図4 JAS法によるデシケータ値と真菌成長の関係

Method)を用いて放散量と真菌成長の関係の近似式を作成した。パラメータ推定には修正Marquardt法⁶⁾を用いた。図5に推定結果と測定値の関係を示す。推定式と測定値では、重相関係数、0.89と有意な推定式が得られた。以下に今回の測定で得られた近似式を示す。

$$FGR = \frac{1}{1 + 0.4965 \times FER^{1.5}} \quad \text{式(2)}$$

ここでFGR(Fungal Growth Rate)は、付着真菌の成長率[%]を、FER(Formaldehyde Emission Rate)は合板のホルムアルデヒド放散量[$\mu\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$]を表す。菌種によって多少差はあるものの、今回の実験対象真菌では、付着菌の成長率がホルムアルデヒド放散量の1.5乗に反比例していることが示された。

4. 考察

建築物における真菌汚染による健康への影響^{5), 6)}から、菌が付着する建材の物理的構造や使用期間などと真菌汚染の関係^{7), 8), 9)}が報告されている。図3に示した本研究の実験結果によると、合板におけるホルムアルデヒド放散量がその表面に付着する真菌の成長に大きな影響を与えていることは明らかである。またこのような放散量による付着菌の成長への影響は、合板以外の木質建材においても同様な現象が起こると考えられる。

建材の使用期間の側面からみれば、木質建材では時間経過と共にホルムアルデヒド放散量が減衰することが知られており^{10), 11), 12)}、高放散量の木質建材でも放散量減衰に従って真菌汚染が起こりやすくなると考えられる。図4に示したJASによる等級区分からは、Fc₀レベルの建材で結露または湿気問題が発生すると他のレベルの建材よりも真菌汚染のリスクが高くなっていることがわかる。

ホルムアルデヒド放散量は周辺の温度や湿度など環境因子により大きく変化し¹³⁾、結露または湿気問題が発生した場合、局部的に放散量が高くなると考えられる。実験Ⅲではデシケータ内を相対湿度、90±5%に維持しており、付着菌は図3に示したホルムアルデヒド放散量よりも高いレベルのホルムアルデヒドに曝露されていたと推測される。従って図5と式(2)で示した近似式は、通常の状態におけるホルムアルデヒド放散量と、結露または湿気問題が発生した後の付着菌成長の関係を示しているものであると考えられる。また今回の実験ではチャンバー法により各サンプルのホルムアルデヒド放散量を求めており、実験Ⅱで示した放散量は菌を付着させたサンプル表面の正確な放散量を示すものではない。実験ⅡではJAS法に従った試験体を設置しており、試験体の側面を含めた6面表面積の総和を考慮すると、通常のチャンバー法よりもローディングファクター¹³⁾(試験体表面積対換気量比)が大きくなっていた。なお、各実験では設定温度が異なり、温度変化による放散量への影響も含まれていると考えられる。今後は、FLEC(Field and Laboratory Emission Cell)¹⁴⁾などを用いて材料表面近傍のホルムアルデヒド濃度を正確に測定するとともに、その他有機化合物放散による付着菌成長への影響を踏まえた上で実際の居住空間内における化学物質空気汚染と真菌

図5 合板におけるホルムアルデヒド放散量と付着菌成長の関係の推定結果

汚染の関係を検討する必要があると考えられる。

5. まとめ

本研究では合板におけるホルムアルデヒド放散量と付着真菌成長の関係を明らかにすることを目的として実験を行い、以下の結果を得た。

- 1) 合板におけるホルムアルデヒド放散量は、その表面に付着した *Aspergillus* (コウジカビ)、*Cladosporium* (クロカワカビ) と *Penicillium* (アオカビ) の成長に大きな影響を与えていることが明らかになった。放散量別にみると、 $15 \mu\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ 以下では放散量による真菌成長への影響が全くみられないものの、放散量がそれ以上になると付着菌の成長に変化がみられ、 $560 \mu\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ を超えると全ての付着菌の成長が抑えられていた。
- 2) 日本農林規格 (JAS) によりホルムアルデヒド放散量の等級区分から、Fc₀レベルではホルムアルデヒド放散量による付着菌の成長への影響はなく、全ての付着菌がコロニーを形成することが確認された。等級区分Fc₁とFc₂レベルになると、付着菌の成長に変化がみられ、Fc₂では、Fc₀に比べてコロニーの数が約半分程度になっていた。
- 3) ホルムアルデヒド放散量と付着菌成長の近似式により、菌種によって多少差はあるものの、今回の実験対象真菌では、付着菌の成長率がホルムアルデヒド放散量の1.5乗に反比例していることが示された。

謝辞

本研究は、財団法人トステム建材産業振興財団 (いわゆるシックハウス対策を実施した住戸におけるカビ・結露のメカニズムと住まい方について調査研究) の助成により実施されたものである。また実験でご協力を頂いた日本工業大学の卒研究生及び関係各位に深甚なる謝意を表す次第である。

参考文献

- 1) 朴俊錫、川尻第貴、池田耕一、藤井修二、真菌由来揮発性有機化合物による空気調和機汚染に関する研究、日本建築学会計画系論文集、No. 552、pp. 43-48、2002. 2
- 2) 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、付着材料汚染における真菌からのMVOCs放散特性、日本建築学会計画系論文集、No. 561、pp. 61-66、2002. 11
- 3) 山崎省二、環境微生物の測定と評価、オーム社、2001
- 4) 日本農林規格：普通合板の日本農林規格とホルムアルデヒド放散量試験法
- 5) Spengler J., Neas L., Nakai S. et al., Respiratory symptoms and housing characteristics, Indoor Air Vol.4, pp.72-82, 1994,
- 6) Glantz Stanton A. and Slinker Bryan K., Primer of applied regression and analysis of variance, McGraw-Hill Edition, 1990
- 7) Wessen Bengt, Strom Gunmmar and Palmgren Urban, Microbial Problem Buildings-Analysis and Verification, Indoor Air 99, Vol.4, pp.875-879, 1999
- 8) Kildeso J, Wurtz H and Nielsen KF. et al, The release of fungal spores from water damaged building materials, Proceeding of Health buildings, Vol. 1, pp. 313-318, 2000
- 9) Murtoniemi T., Nevalainen A., Suutari M. and Hirvonen M. R., Effect of liner and core materials of plasterboard on microbial growth, Spore-induced cytotoxicity and production of TNF in macrophages, Proceeding of Indoor Air 2002, Vol. 1, pp.366-370, 2002
- 10) Wolkoff P., Clausen P. A., Nielsen P. A. and Molhave L. (1991), The Danish twin Apartment study; Part I: Formaldehyde and long-term VOC measurements, Indoor Air, Vol. 4, 479-490
- 11) 東実千代、新谷恵、八木成江、守屋好文、疋田洋子、戸建て住宅におけるホルムアルデヒドおよび揮発性有機化合物濃度の継続的実測調査、日本建築学会計画系論文集、No. 552、pp. 29-35、2002. 2
- 12) 山田裕巳、林 基哉、田辺新一、実験住宅を用いたホルムアルデヒド気中濃度予測法の研究、日本建築学会計画系論文集、No. 553、pp. 55-62、2002. 3
- 13) 朴俊錫、藤井修二、建材からの揮発性有機化合物の発生ガス特性、その1環境条件による発生ガスへの影響に関する研究、日本建築学会計画系論文集、No. 536、pp. 49-54、2000. 10
- 14) Wolkoff P., Clausen PA, Nielsen PA, Gustafsson H., Jonsson B., and Rasmussen E, Field and Laboratory Emission Cell: FLEC, Proceeding of Healthy Buildings 1991, pp.160-165

(2003年 6 月 9 日原稿受理、2003年12月11日採用決定)