真菌の成長による揮発性有機化合物の発生挙動と加湿器からの発生調査

EMISSION MECHANISMS OF VOC WITH GROWTH PROCESS OF FUNGUS
AND EMISSION FROM HUMIDIFIER ELEMENT鍵 直樹^{*1}, 柳 宇^{*2}

Naoki KAGI and U YANAGI

Microorganisms produce volatile organic compounds (microbial volatile organic compounds: MVOCs). This study aimed to measure volatile organic compounds emitted from fungi by the small chamber method. Furthermore, to investigate the emission compounds from HVAC systems in a building that had odor problems in summer season, the biological contaminants on the humidifier were identified.

As a result, MVOCs such as 3-methyl-1-butanol, 1-octen-3-ol were emitted from fungi in 2 weeks. From the chamber test for the humidifier element and fungi on agars, *Fusarium* sp. was detected on the elements and MVOC from *Fusarium* sp. could be identified as dimethyl disulfide.

Keywords : Microbial volatile organic compounds (MVOC), Fungi, Small chamber test

微生物由来揮発性有機化合物, 真菌, 小形チャンバー法

1. はじめに

主な室内空気汚染物質として真菌などの浮遊微生物が挙げられるが、微生物自体の健康影響だけではなく、微生物から発生する揮発性有機化合物 (Microbial Volatile Organic Compounds, MVOC) による目や喉への刺激作用など健康影響が懸念される¹⁾。MVOC と健康影響については、Kim ら²⁾がスウェーデンの小学校児童を対象に、健康状態のアンケート調査と MVOC 濃度などについて調査を行った。結果として室内の MVOC 濃度が高いとき、夜間の息切れやぜんそくが多く見られ、MVOC が子どものぜんそく症状の危険因子となる可能性について指摘した。Wälinder ら³⁾は、スウェーデンの 20 歳～54 歳の男女を対象に、清浄空気と MVOC の一つである 3-Methyl-furan をそれぞれ曝露する実験を行った。その結果、3-Methyl-furan を曝露後、目の表面を覆う涙液層が不安定になっていたこと、努力肺活量の減少が見られたことから、目、気道への影響を示唆した。Araki ら⁴⁾は、住宅の MVOC 濃度とアンケートにより居住者の症状を評価し、1-Octen-3-ol の濃度と鼻や目、のどの粘膜の炎症との関係があることから、粘液症状との関連を示唆した。以上のように、MVOC 単体の健康への影響は、化学物質の一つであることから、ある程度の濃度になれば、通常の化学物質と同様に問題となる可能性があるものの、MVOC の直接的な影響については不明な点が多い。

MVOC の発生については、培地に生育させた真菌から発生する MVOC の測定^{5,6)}を行っているものを始め、真菌の成長と生育場所

の関係⁷⁾、環境中の温湿度の違いによる発生特性⁸⁾などが報告されている。しかしながら、真菌の成長に伴う MVOC の発生物質、発生量について、生育環境による、例えば微生物の栄養源すなわち培地による発生物質の違い、真菌の共存状態における発生形態などについて検討したものは少ない。

そこで本研究では、生育環境による真菌の成長過程と MVOC の発生量との関係を明らかにすることを目的とし、真菌を生育させた培地を小形チャンバーに設置し、真菌から発生する MVOC の測定を行った。ここでは、真菌の違い及び栄養源となる培地の種類による発生物質の違い、培地に単一種を培養した場合と複数種を混合して培養した場合による違い、生育過程による MVOC の発生特性について検討することとした。

また空調機を有する建築物においては、空調機の適正な衛生管理を行わなければ、室内空気汚染物質の発生源となり、室内空気質の悪化につながることが懸念される⁹⁾。そこで、空調機の臭気の問題のあった気化式加湿器エレメント表面における微生物の付着状況、更に対象加湿器エレメントから発生する成分の分析を小形チャンバー法により行った。また、真菌の成長に伴う MVOC の発生特性を検討した手法を用いて、エレメント表面に存在した微生物から発生する MVOC の分析を行い、臭気の発生源が加湿器エレメントに増殖した真菌に起因するものであったかの検討を行った。

^{*1} 東京工業大学 准教授・博士(工学)

^{*2} 工学院大学 教授・博士(工学)

Assoc. Prof., Tokyo Institute of Technology, Dr.Eng.
Prof., Kogakuin University, Dr.Eng.

2. 真菌から発生する MVOC の発生量試験

2.1 試験方法

2.1.1 対象とする真菌及び栄養源

本研究では、培地上で生育する真菌からの MVOC を検出するために、室内に存在する真菌の中から、*Cladosporium cladosporioides* (NBRC6348), *Penicillium pinophilum* (NBRC 6345), *Aspergillus niger* (NBRC 6341) を対象とした。栄養源となる培地としてポテトデキストローズ寒天培地 (PDA 培地) 及びジクロラン-グリセロール寒天培地 (DG18 培地) を用意した¹⁰⁾。なお DG18 には、成長を抑制してコロニーを計数しやすくするためにグリセロールが用いられるが、本研究では添加していない。これらの培地は真菌の測定によく用いられるが、得意とする真菌や生育速度などに多少違いがある⁷⁾。

それぞれの真菌胞子を 10⁴ cell/mL 程度に調整し、3 枚の培地にスパイラルプレーター (IUL 製, Eddy Jet) によりシャーレー面に 50 µL 塗抹した。また、混合試料については、上記の試料を 1/3 として混合したものを同様に培地に塗抹した。

2.1.2 MVOC の発生量測定方法

MVOC の発生量の測定には幾つかの方法が試みられている。培地上及び建材上で生育させた真菌について、20~500 mL 程度のバイアル及びガラスフラスコなどに入れ、SPME (Solid Phase Microextraction) で気相部分の分析を行っている¹¹⁾が、発生量の定量が難しい。アンダーセンサンプラーを応用した方法⁹⁾では、培地を各段に設置し、発生物質を濃縮することが可能であるものの、表面気流が速いために培地上の真菌の飛散などの影響が考えられる。気流制御型小形チャンバーを用いた方法¹²⁾では、建材上の真菌から適切な気流状態で MVOC の発生量を測定することが可能であるが、平面部材などが対象となり、培地を使用した試験には向かない。そこで、本研究では JISA 1901 で規定している 20 L 小形ステンレスチャンバーを用いて行うこととした。培地の設置量が少なくなり、微量な発生量に対しては不利ではあるが、真菌への気流の影響が少ないこと、温湿度制御が比較的簡便なこと、一般環境に近いこと、培地や建材などからの MVOC の発生量測定も可能であることなどが有利な点として挙げられる。

本研究では、Fig. 1 に示すような小形チャンバー内に上記の試験体シャーレを 3 枚ずつ設置した。また、チャンバー内の測定条件は Table 1 に示すように、湿度を 70~90% に保ち、温度を 25℃ とすることで、真菌の生育に適した温湿度環境とした。MVOC の測定は、培養 1, 2, 3, 4, 7, 11, 14 日後を基本として、一部のサンプルでは追加した日程で行った。捕集には、Tenax 捕集剤と DNPH カートリッジを用いて、Tenax は 60 分間で 10 L、DNPH では 90 分で 15 L を捕集し、Table 2 に示す条件で加熱脱着装置 (TDS) を有する GC/MS 及び HPLC を用いて定性・定量を行った。なお、ブランクとして同条件

における小形チャンバー内及び真菌の塗抹のない培地シャーレを設置した空気には、MVOC に関係する物質が検出していないことを確認した。

2.1.3 真菌観察方法

真菌の生育状態については、上記の捕集後、チャンバーからシャーレを一旦取り出し、デジタルカメラにより外観の記録を行った。その後、シャーレをチャンバー内に戻し、引き続き次の捕集に備えた。

2.2 真菌の観察結果及び実験結果

2.2.1 真菌の観察結果

Fig. 2 に各真菌・各培地の成長の様子について示す。いずれも 2 日目に菌糸の成長が認められ、その後 3 又は 4 日目以降に胞子の色づきが確認された。*P.pinophilum* については、7 日目以降に更に青く色づいた。また、培地による生育速度の違いは *C.cladosporioides* 及び *P.pinophilum* についてはコロニーの密度により若干異なるもののほぼ同様で、*A.niger* については DG18 の方が遅い傾向となった。混合試料については、PDA 培地では *A.niger* の成長が培地表面のほぼ全面に、DG18 培地では *P.pinophilum* が 3/4 程度で支配的であった。

2.2.2 MVOC の種類と発生量変化

Table 3 に各真菌・各培地から検出された MVOC の成分について示す。各真菌、各培地共に Acetaldehyde, Acetone 及び 3-Methyl-1-butanol が検出された。条件によっては検出下限以下であった物質があるが、PDA でのみ検出された物質は、*C.cladosporioides* の 3-Methyl-

Fig. 1 Small chamber method in this study

Table 1 Conditions of the small chamber method

Chamber volume	20 L	
Temperature	25℃	
Humidity	70~90%Rh	
Air volume	0.167 L/min. (0.5 -/h)	
Measurement period	For 14 days	
Sampling volume	Tenax:10 L	DNPH:15 L
Sampling time	Tenax:60 min.	DNPH:90 min.

Table 2 Analysis conditions for GC/MS, TDS and HPLC

GC/MS	HP 6890	TDS	Gestel TDSA	HPLC	HP 1100
Column	InertCap 5MS/Sil 0.25mmφx 60 m x 0.25 µm	Desorp. temp.	270℃	Column	20RBAX Eclips XDB-C18(4.5x250mm)
Oven temp.	40℃(5min.)-(10℃/min.)-250℃(10min.)	Desorp. time	10min.	Injection	10 µL
Carrier gas	He	Cryo temp.	-50℃	Detector	UV 365 nm
Gas flow	1.0 mL/min.	Trap temp.	270℃	Flow	1 mL/min.
Anal. mode	SCAN (30-450)	Trans. temp.	280℃	Column temp.	35℃
				Mobile phase	CH ₃ CN/H ₂ O=65/35

Fig. 2 Observations of each fungal growth of *C. cladosporioides*, *P. pinophilum*, *A. niger* and mix sample on PDA and DG18 agar

3-buten-1-ol, *Ppinophilum* の 3-Methyl-1-buten-1-ol, 2-Octanone, 2-Octanol, *A.niger* の 3-Methyl-3-buten-1-ol 及び 2-Methyl-furan となり, DG18 培地では *Ppinophilum* の 3-Octanol, *A.niger* の 1-Octen-3-ol, 3-Octanone, 3-Octanol となった。

Fig. 3 に各試料の MVOC 発生量と経過日数の関係を示す。なお, ここでの発生量は, 試験体シャーレ 3 枚の蓋を開けて静置した全体の発生量とした。傾向として, 菌糸のみが確認できる 2 日目でも Acetaldehyde 又は Acetone が検出され, 胞子が色づいて見える 3, 4 日目に VOCs のピークを持ち, 成長が停止する 7 日目以降は低い発生量の傾向となった。培地別には, *C.cladosporioides* を除き, 発生量の値は異なるものの同様の傾向となっている。*C.cladosporioides* では, 3-Methyl-1-butanol が PDA で 3 日目に DG18 で 4 日目に, *Ppinophilum* では, 色が変化する 7 日目以降に 1-Octen-3-ol の他, 2-Octanone, 3-Octanol など検出された。また, *A.niger* は, 2-Methyl-1-propanol 及び 3-Methyl-1-butanol が 3 日目にピークを持った。混合試料については, PDA では *A.niger* の成長が支配的で, この単体での発生量も少なかったことから MVOC の発生量が少なくなったものと考えられる。一方 DG18 培地では, *Ppinophilum* の生育が支配的であったことから, *Ppinophilum* から発生した Acetone, Acetaldehyde 及び 3-Methyl-1-butanol の発生量が同様に大きく, 色づく 7 日目以降に検出された 1-Octen-3-ol が混合試料でも遅れて検出された。

2 日目にはどの真菌も胞子が色づいておらず, 目には見え難い菌糸の成長段階でも MVOC が発生し, 発生量のピークは各真菌コロニーが色づく段階と一致し, その後減衰する傾向であった。その後

Table 3 MVOCs emitted from each sample

	<i>C. cladosporioides</i>		<i>P. pinophilum</i>		<i>A. niger</i>		<i>Mix</i>	
	PDA	DG18	PDA	DG18	PDA	DG18	PDA	DG18
Acetaldehyde	○	○	○	○	○	○	○	○
Acetone	○	○	○	○	○	○	○	○
2-Methyl-furan					○	○	○	○
2-Methyl-1-propanol			○	○	○	○	○	○
3-Methyl-3-buten-1-ol	○		○	○	○	○	○	○
3-Methyl-1-butanol	○		○	○	○	○	○	○
3-Methyl-2-buten-1-ol			○	○				
1-Octen-3-ol	○	○	○	○		○	○	○
2-Octanone			○	○				
3-Octanone				○		○		○
3-Octanol			○	○		○		○
2-Octanol			○					

成長が止まると, 発生が低減されることが明らかとなった。培地上での真菌の成長については, 培地への真菌胞子の接種の方法により異なる。例えば培地中央に 1 点接種すると, 培地表面に真菌が周囲に広がりながら成長を続ける。今回の条件では, 培地上に均一に接種しているため, 各コロニーが同時に成長し, 培地表面に拡大できる場所がなくなると成長が止まることから, MVOC の発生にピークが存在し, その後減衰する傾向となったものと考えられる。以上より, 真菌の成長の度合いに応じて, MVOC の種類, 発生量が異なることが明らかとなった。

3. 気化式加湿器ろ材からの MVOC の発生

3.1 対象建物設備の概要と汚染原因

対象とした建物については, 夏期に居住者から空調吹き出し口からの臭気に関する苦情が発生し, 空調機内部の気化式加湿器エレメ

Fig. 3 MVOC emission changes for each fungus (Left: PDA, Right: DG18)

ントの汚染が原因と推定されたことから、このエレメント表面における微生物の付着及び MVOC の発生について検討を行った。この建物の空調方式は各階方式で、対象とした空調機は外気を処理する外調機であった。

通常空調機からの臭気の問題については、朝や月曜日の運転開始直後に、空調機内部に蓄積した汚染物質が一気に放出されることによる要因が大きい。空調機内部の温湿度環境は微生物の生育に好ま

しく¹³⁾、特に夏期の冷却コイルや冬期の加湿器エレメント表面など、機器の動作中においては適切な維持管理が汚染の予防が必要となる。また、気化式加湿器については、加湿中において加湿水中や加湿器エレメント表面に微生物が繁殖し、室内微生物汚染の原因となることが考えられている^{14,15)}。よって、夏期の加湿器が動作していない際には、加湿器エレメント表面は比較的乾燥しており、微生物が繁殖する危険性は少ないものと考えていた。

しかし今回対象とした建物の空調内部においては、夏期の冷房運転期間において、気化式加湿器エレメント表面での濡れを確認し、この部分において微生物が繁殖することにより臭気の発生源となっていることが疑われた。冷房運転により加湿器エレメントが濡れた原因として、空調の運転によってこの空調機内部の冷却コイル上の凝縮水がエレメントに飛散したこと、冷却コイルと加湿器ケーシングとの熱橋によってケーシングが冷却され、その表面での結露水がエレメント表面に到達したことなどが考えられる。更に、エレメントが濡れていた空調機は、外調機であり夏期には高湿度の空気を取り込んでいること、空調機の発停などの運転条件など、様々な因子が重なったことによるものと考えられる。

そこで、この加湿器エレメントの表面付着菌及び VOC の発生の調査を行うこととした。

3.2 測定方法の概要

3.2.1 表面付着菌の測定方法

エレメント表面の付着微生物の調査には、蒸留水を 10 mL 入れたストマック袋に、対象建物にあった加湿器エレメントを 5×6 cm に切り出したものを 2 枚入れ、表面の付着成分を抽出した。抽出した溶液は、スパイラルプレーターを用い、細菌の分析のためソイビーン-カゼインダイジェスト培地 (SCD 培地)、真菌のため PDA 培地及び DG18 培地にて培養を行った。培養条件は、SCD 培地では 32℃ で 2 日間、PDA 及び DG18 培地では 25℃ で 5 日間とした。培養後、コロニー数の計数を行い、加湿器エレメント表面積あたりの付着数を算出した。

3.2.2 エレメント及び付着菌からの VOC の測定方法

加湿器エレメントからの VOC 発生については、実際に使用していた加湿器のエレメントを 150 cm 角に切り出し、この表面全体に蒸留水を霧吹きにて流れ出ない程度に噴霧することで常時湿らせ、前章で示した小形チャンバーによる MVOC の測定と同様に、温度 25℃、相対湿度 70～90% の環境に設置した。そしてこの試験体を設置してから、1, 3, 7, 14 日目に発生物質のサンプリングを行い、VOC の測定を行った。同様に汚染されていない新品のエレメントについても、同様の条件で発生する VOC の測定を行った。なお、VOC の捕集・分析条件は、前章と同様に行った。

一方、エレメントに付着した真菌からの MVOC 発生の確認については、加湿器エレメント表面より分離した真菌を 2.1.2 で行った手法と同様に PDA 培地に塗布した。なお、この時の真菌の孢子数は確認できていない。培養 2, 4, 7, 14 日後に上述と同様に小形チャンバーを用いて、発生した MVOC の捕集を行った。VOC の捕集、分析条件についても、前章と同様である。

3.3 調査結果

3.3.1 加湿器エレメント表面付着菌

Table 4 に対象とした加湿器エレメント表面付着菌の測定結果を示す。SCD 培地による細菌数に比べ、PDA, DG18 培地による真菌数の方が格段に多くなった。また、真菌の中では *Fusarium* sp. が主に検出された。PDA 及び DG18 培地は共に同様の傾向であったことから、この加湿器エレメントは、*Fusarium* sp. により汚染されており、これから発生した成分が室内の臭気の原因になった可能性がある。

Table 4 Microorganisms on element surface of humidifier

		[cfu/cm ²]		
SCD		PDA		DG18
Gram-positive coccus	5	<i>Fusarium</i> sp.	748	648
Endospore	5	<i>Cladosporium</i> sp.	5	1
		<i>Alternaria</i> sp.	5	12

Fig. 4 VOC emission changes from humidifier elements

Fig. 5 MVOC emission from *Fusarium* sp. on agar medium

3.3.2 加湿器エレメントから発生する VOC

加湿器エレメントの新品及び対象とした空調機に使用されていたサンプルから発生した VOC については、両者に大きな違いはなく、シール材などで使用されている低分子シロキサン類(LMCS)などが検出された。主に加湿器エレメントを構成する材料から発生した成分が検出されたことによるものと考えられる。使用したエレメントのみから発生した物質として、微量ではあるが Dimethyl disulfide が検出された。既往の研究¹⁶⁾において、*Fusarium oxysporum* から Dimethyl disulfide の生成が確認されている。なお、Dimethyl disulfide については環境省悪臭防止法において特定悪臭物質に特定され、「腐ったキャベツのような臭い」と表現されている。実際の使用したエレメントについては、上述の臭いとは確認できなかったものの悪臭を感じた。

Fig. 4 に、それぞれのエレメントから発生した Formaldehyde と Dimethyl disulfide の発生量の経時変化を示す。Formaldehyde は材料自体から発生しているものと考えられ、時間と共に徐々に減少している傾向となっており、通常材料から発生する VOC の低減と同様の発生形態となった。一方、Dimethyl disulfide については、新品エレメントでは検出されなかったのに対し、汚染されたエレメント

では、1日目から検出され、3日目で最大となり、その後も検出され続けた。新品エレメント表面では *Fusarium* sp.が付着していないため、Dimethyl disulfide が検出されなかったのに対し、表面に *Fusarium* sp.が付着しているエレメントからは Dimethyl disulfide が検出されたこと、更に時間の経過と共に増加し、発生が続くことから、使用した加湿器エレメント表面に付着していた *Fusarium* sp.が Dimethyl disulfide の発生源であることが示唆された。

3.3.3 *Fusarium* sp.から発生する MVOC

小形チャンバーを用いて *Fusarium* sp.から発生した MVOC を確認したところ、Acetone 及び使用済みのエレメントと同様に微量であるが Dimethyl disulfide が検出された。Fig. 5 に *Fusarium* sp.から発生した Acetone 及び Dimethyl disulfide の発生速度の経時変化を示す。PDA 培地上の *Fusarium* sp.の成長は、培養後 2 日目程度で菌糸が生成し、5 日目には胞子が形成され、それ以降成長が停止している状態であった。発生量の経時変化としては、Acetone が 2 日目の早い段階でピークとなり、その後減少した。一方 Dimethyl disulfide については、5 日目にピークとなり、その後減少する傾向となり、両者の発生量のピークには違いがあった。前章においても、菌糸と胞子の成長のタイミングと検出された MVOC によって、同様に異なる発生量のピークを持つ傾向となっていた。よって、*Fusarium* sp.の成長により発生する MVOC として Dimethyl disulfide があり、汚染されたエレメントからも同様に検出されたことから、エレメントに付着していた *Fusarium* sp.から Dimethyl disulfide が発生したものと考えられる。

今回、建物内における空気質の測定を行っていないため、室内における臭気の原因物質で MVOC に関係する物質が Dimethyl disulfide であったかは明確ではないが、エレメント表面に付着した微生物由来の MVOC が臭気に関連していた可能性が高いと考えられる。

加湿を行っていない夏期において、結露水により加湿器エレメントが濡れたことが、今回の臭気の発生の原因となっていたものと考えられることから、濡れを排除することが夏期の加湿器汚染による室内空気質の維持に重要となる。全ての空調機で問題となっているとは限らないが、今回は熱交換器からの結露水の飛散、熱橋による加湿器ケーシングの結露などが考えられた。また、空調機の運転状況によっても、結露の状況が変わるものと考えられる。結露水の飛散防止やケーシングの断熱などの対策が考えられるが、夏期には使用しない加湿器エレメントを一時期取り外すことでも、汚染のリスクを減らすことになり、有効な方法であると考えられる。

4. まとめ

真菌からの MVOC 発生量について、真菌の成長との関連を考慮に入れ、小形チャンバーを用いてその関係について把握した。さらに、空調機から発生した臭気の原因究明として、加湿器エレメント表面における微生物の付着状況、加湿器エレメントから発生する成分の分析及びエレメント表面に存在した微生物の MVOC の分析を行い、以下のような知見を得た。

1) 培地の違いによる MVOC の発生について、PDA でのみ測定された物質は、*P.pinophilum* の 3-Methyl-1-buten-1-ol, 2-Octanone, 2-Octanol, *A.niger* の 3-Methyl-3-buten-1-ol 及び 2-Methyl-furan となり、DG18 培地では *P.pinophilum* の 3-Octanol, *A.niger* の 1-Octen-3-ol, 3-Octanone,

3-Octanol が検出され、培地により MVOC 発生が若干異なることが示された。

2) 菌糸及び胞子の成長段階で、Acetaldehyde 及び 3-Methyl-1-butanol などの MVOC が多く検出された。また、後半に 1-Octen-3-ol, 2-Octanone, 3-Octanol などの物質が検出された。さらに、各真菌のコロニーが色づく段階と MVOC の発生量のピークが一致し、成長が止まると MVOC の発生もなくなる傾向となった。

3) 対象とした外調機の加湿器エレメント表面付着菌の測定では、*Fusarium* sp.が多く検出された。加湿器エレメントからの VOC の測定の結果、Dimethyl disulfide が検出され、また時間の経過と共に増加する傾向があったことから、加湿器エレメント表面に付着していた *Fusarium* sp.が Dimethyl disulfide の発生源であることが考えられた。

4) 培地に培養した *Fusarium* sp.から発生する MVOC を測定した結果、加湿器エレメントから発生した Dimethyl disulfide が検出された。更に菌糸と胞子の成長のタイミングと、*Fusarium* sp.から発生した Dimethyl disulfide の発生の傾向からも *Fusarium* sp.由来の MVOC であることが明らかになった。よって、今回の加湿器エレメント表面においては、*Fusarium* sp.により汚染され、これによる MVOC の発生が臭気の原因であることを示唆した。

謝辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金(地域健康危機管理研究事業)により行われた。記してここに感謝の意を表す。

参考文献

- 1) Nilsson, A., Kihlström, E., Lagesson, V., Wessén, B., Szponar, B., Larsson, L. and Tagesson, C.: Microorganisms and volatile organic compounds in airborne dust from damp residences, *Indoor Air*, Vol. 14, No. 2, pp. 74-82, 2004.4
- 2) Kim, J.L., Elfman, L. Mi, Y., Wieslander, G., Smedje, G. and Norbäck, D.: Indoor molds, bacteria, microbial volatile organic compounds and plasticizers in schools – associations with asthma and respiratory symptoms in pupils, *Indoor Air*, Vol. 17, No. 2, pp. 153-163, 2007.4
- 3) Wälinder, R., Ernstgård, L., Johanson, G. Norbäck, D., Venge, P. and Wieslander, G.: Acute effects of a fungal volatile compound, *Environ Health Perspectives*, Vol. 113, pp. 1775-1778, 2005.12
- 4) Araki, A., Kawai, T., Eitaki, Y., Kanazawa, A., Morimoto, K. Nakayama, K., Shibata, E., Tanaka, M., Takigawa, T., Yoshimura, T., Chikara, H., Saijo, Y. and Kishi, R.: Relationship between selected indoor volatile organic compounds, so-called microbial VOC, and the prevalence of mucous membrane symptoms in single family homes, *Science of the Total Environment*, Vol. 408, pp. 2208-2215, 2010.4
- 5) Park, J.S., Kawajiri, D., Ikeda, K. and Fujii, S.: Study on volatile organic compounds emissions from fungi in HVAC system, *Journal of Architecture, Planning and Environmental Engineering (Transactions of AIJ)*, Vol. 67, No. 552, pp. 43-48, 2002.2 (in Japanese)
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, 第67巻, 第552号, pp.43-48, 2002.2
- 6) Park, J.S. and Ikeda, K.: Indoor air pollution by microbial volatile organic compounds in indoor environment Part 2 Study on effect of formaldehyde emission on fungal growth on plywood materials, *Journal of Environmental Engineering (Transactions of AIJ)*, Vol. 69, No. 577, pp. 27-31, 2004.3 (in Japanese)
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 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, 日本建築学会環境系論文集, 第69巻, 第577号, pp. 27-31, 2004.3

- 7) Fieldler, K., Schütz, E. and Geh, S.: Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials, *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, Vol. 204, pp. 111-121, 2001
- 8) Polizzi, V., Adams, A., Saeger, S. D., Peteghem C. V., Moretti, A. and Kimpe, N.: Influence of various growth parameters on fungal growth and volatile metabolite production by indoor molds, *Science of the Total Environment*, Vol. 414, pp. 277-286, 2012.1
- 9) Liu, Z., Ma, S., Cao, G., Meng, C., He, B.: Distribution characteristics, growth, reproduction and transmission modes and control strategies for microbial contamination in HVAC systems: A literature review, *Energy & Buildings*, 177, pp. 77-95, 2018.
- 10) Yanagi U: Comparison between PDA and DG18 medium for measurement of fungi, *Clean Technology*, Vol. 17, No. 11, pp. 30-33, 2007.11
柳宇: カビ測定における PDA と DG18 培地の比較, *クリーンテクノロジー*, Vol. 17, No. 11, pp. 30-33, 2007.11
- 11) Wady L., Bunte, A., Pehrson, C. and Larsson, L.: Use of gas chromatography-mass spectrometry/solid phase microextraction for the identification of MVOCs from moldy building materials, *Journal of Microbiological Methods*, Vol. 52, No. 3, pp. 325-332, 2003
- 12) Hirose, M., Murakami, S., Kato, S., Ooka, R., Seo, J.H. and Abe, K.: Measurement of MVOCs (microbial volatile organic compounds) emissions from fungi on building materials, *Summaries of Technical Papers of Annual Meeting, Architectural Institute of Japan, Environmental Engineering-II, D- II*, pp. 895-896, 2006.7 (in Japanese)
弘瀬将光, 村上周三, 加藤信介, 大岡龍三, 徐長厚, 阿部恵子: 建材における真菌起源揮発性有機化合物(MVOC)の放散量の測定, *日本建築学会大会学術講演梗概集, D- II*, pp. 895-896, 2006.7
- 13) Yanagi, U. and Ikeda, K.: Research on the behavior and control of microbial contamination in an air conditioning system Part 1 Growth environment and contamination on status of microbes, *Journal of Environmental Engineering (Transactions of AIJ)*, Vol. 70, No. 593, pp. 49-53, 2005.7 (in Japanese)
柳宇, 池田耕一: 空調システムにおける微生物汚染の実態と対策に関する研究 第 1 報微生物の生育環境と汚染実態, *日本建築学会環境系論文集*, 第 70 巻, 第 593 号, pp. 49-56, 2005.7
- 14) Katsui, N., Nakata, H., Sakamoto, M., Nishikawa, F. and Kita, E.: Experimental study on the microbial contamination of evaporating-Type humidifiers, *Transactions of the Society of Heating, Air-Conditioning Sanitary Engineering in Japan*, Vol. 21, No. 61, pp. 37-44, 1996.4 (in Japanese)
勝井則明, 中田春男, 坂本雅子, 西川文子, 喜多英二: 気化式加湿器の微生物汚染に関する実験的研究, *空気調和・衛生工学会論文集*, Vol. 21, No.61, pp. 37-44, 1996.4
- 15) Yanagi, U., Kagi, N. and Ikeda, K.: Research on the behavior and control of microbial contamination in an air conditioning system Part 4 Investigation for a mold smell source related to an individual air conditioning system, *Journal of Environmental Engineering (Transactions of AIJ)*, Vol. 75, No. 654, pp. 721-726, 2010.8 (in Japanese)
柳宇, 鍵直樹, 池田耕一: 空調システムにおける微生物汚染の実態と対策に関する研究 第 4 報個別方式における「かび臭」原因究明のための調査, *日本建築学会環境系論文集*, Vol. 75, No. 654, pp. 721-726, 2010.8
- 16) Auger, J. Arnault, I., Diwo-Allain, S., Ravier, M., Molia, F. and Pettiti, M.: Insecticidal and fungicidal potential of Allium substances as biofumigants, *Agroindustria*, No.3, pp. 5-8, 2004.1

EMISSION MECHANISMS OF VOC WITH GROWTH PROCESS OF FUNGUS AND EMISSION FROM HUMIDIFIER ELEMENT

Naoki KAGI^{*1} and U YANAGI^{*2}

^{*1} Assoc. Prof., Tokyo Institute of Technology, Dr.Eng.

^{*2} Prof., Kogakuin University, Dr.Eng.

Fungi as a microbial contamination of indoor environments may cause a complex spectrum of health effects. Spores of fungi may cause allergies, asthma and sometimes contain mycotoxins. Microorganisms also produce many volatile organic compounds (microbial volatile organic compound (MVOC)). The toxicological aspect of MVOCs may be negligible because of low concentrations in indoor spaces, however MVOCs sometimes attribute an unpleasant smell.

This study aimed to measure volatile organic compounds emitted from fungi by the small chamber method and investigate emission patterns of MVOCs as fungal growth processes. Furthermore, to investigate the emission compounds from HVAC systems in a building that had odor problems in the room in summer season, the biological contaminants on the humidifier were identified and the small chamber tests for emissions from the humidifier element and biological contaminants were carried out.

The *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium pinophilum*, *Aspergillus niger* and mixture of these three fungi on the PDA (potato dextrose agar) medium and DG18 (dichloran glycerol) agar without glycerol were installed in the stainless small chamber (20L), and the emitting volatile organic compounds were sampled with DNPH cartridge and Tenax sampler during 2 weeks. The temperature and humidity inside the chamber were kept at 25 °C and 70-90 %, respectively. The samples were analyzed with a high performance/pressure liquid chromatography (HPLC) and a gas chromatograph / mass spectrometer (GC/MS). The sampling of emitting MVOCs and observation of the fungal growth under a microscope were carried out at fixed intervals for 2 weeks.

Fungal threads of all samples invisibly grew until 2 days, and growth and changing color of spores to black or yellow were occurred after 3 or 4 days. *P. pinophilum* changed its color to blue after 7 days again. The relationships between the growth of the fungal threads and spores, and MVOC emitting rates were investigated. Fungi could not be visible but grew their thread, however invisible fungi emit MVOCs such as acetaldehyde, acetone, 2-methyl-1-propanol and etc. When the fungi grew with their spores and change their color, other MVOCs such as 3-methyl-1-butanol, 1-octen-3-ol were emitted in 2 weeks. Then as stopping growing, MVOC emissions decreased.

From the chamber test for the humidifier element and fungi on agar mediums, *Fusarium* sp. was detected on the elements and MVOC from *Fusarium* sp. could be identified as dimethyl disulfide. Since dimethyl disulfide was also detected from the humidifier element by the chamber method, the source of the odor in the room could be the humidifier element surface contaminated by *Fusarium* sp.

(2019 年 3 月 6 日原稿受理, 2019 年 7 月 22 日採用決定)