

住環境中にみる真菌の生物学的特性に関する研究

Biological Characteristics of Predominant Fungi in the Living Environment

9940416 木村千暁

1. はじめに

真菌による被害を最も身近にみる環境は住環境である。真菌は、アレルギー性疾患や住宅の劣化など、我々に影響を及ぼすため、その防御が望まれる。本研究では、真菌が発生し、汚染を広げるための条件として、特に重要と考えられる水分活性(Aw)、耐乾性、温度、基質の水素イオン濃度(pH)、紫外線(UV)耐性、基質を分解する酵素に着目した。これを、発育至適 Aw の観点で分類されている¹⁾各真菌群について検討したので報告する。

2. 材料および試験方法

2-1 供試菌

発育至適 Aw の観点から、4群に分類される各真菌群から Table 1 のように供試菌を選択した。これらは筆者らによって、生活環境下から分離同定したものである。

Table 1 供試菌の Aw 別分類

真菌の分類	供試菌
絶対好湿性真菌 (水系環境を好む)	<i>Trichoderma</i> (ツチアオカビ)
	<i>Rhizopus</i> (クモノスカビ)
	<i>Rhodotorula</i> (赤色酵母)
好湿性真菌 (湿っぽい環境)	<i>Cladosporium</i> (クロカビ)
	<i>Fusarium</i> (アカカビ)
	<i>Chaetomium</i> (ケタマカビ)
耐乾性真菌 (やや乾燥気味の環境)	<i>Aspergillus niger</i> (クロコウジカビ)
	<i>Paecilomyces</i> (ペシロミセスカビ)
	<i>A.ochraceus</i> (オクラセウスコウジカビ)
	<i>A.versicolor</i> (ベルジカラーコウジカビ)
好乾性真菌 (乾燥した環境)	<i>A.restrictus</i> (レストリクタスコウジカビ)
	<i>Eurotium</i> (カワキコウジカビ)
	<i>Wallemia</i> (アズキイロカビ)

2-2-a 水分活性(Aw)試験

Aw 値を 0.75~0.97 まで 10 段階に調整した各培地を作製し、菌液を一点接種後、25°C にて培養、経日的に2ヶ月後まで観察した。

2-2-b 耐乾性試験

滅菌 Paper Disk に菌液を 0.1ml 接種後、34°C の恒温器にて 24 時間乾燥させ、25°C の恒温器内に放置した。経日的に1ヶ月後まで希釈培養し、生菌数(CFU)の測定を行い、細胞活性の変化を見た。

2-2-c 発育温度試験

PDA(好乾性真菌は M40YA)培地に菌液を一点接種し、5~42°C まで 11 段階の恒温器内で培養した。経日的に1ヶ月後まで観察し、Aw 値との関連を考察した。

2-2-d 水素イオン濃度(pH)試験

ツアベック液体(Cz Broth)培地(好乾性真菌は 40% Sucrose Cz Broth)を pH2~11 まで1刻みで調整し、これに菌液を 0.1ml 接種し、25°C で培養した。経日的に1ヶ月後まで菌糸、孢子産生度、および性状などを観察した。

2-2-e UV 照射試験

真菌を一点接種した平板培地に 200 μW/cm² の UV 照

射を行い、99.9% 死滅するための照射量を求めた。

2-2-f 酵素活性試験 (セルラーゼ、プロテアーゼ活性)

真菌の酵素活性を明らかにするために、CMC 添加基礎培地(セルラーゼ試験用)、スキムミルク添加寒天培地(プロテアーゼ試験用)を作製した。各培地中央に供試菌を一点接種し、25°C で1~2週間培養した。コロニーの脱色域、透明体の有無により判定を行った。

3. 結果および考察

3-a Aw 試験

基質の Aw 値は、真菌の発育に大きく関与することが明らかになっている²⁾。本試験において最も発育良好である Aw 値は、4群全ての真菌で 0.93~0.97 であった。

絶対好湿性真菌では、0.90 以上で初めて発育が認められ、好乾性真菌になるほど低 Aw 値から広範囲にわたる発育が認められた。これより、住環境中で検出される場所と、発育可能 Aw 値に相関性が認められたといえる。

Aw0.75 ではどの真菌も強い発育抑制を受けていた。従って、相対湿度の管理によって生活環境中から真菌を大きく減少できる可能性が示唆された(Fig 1)。

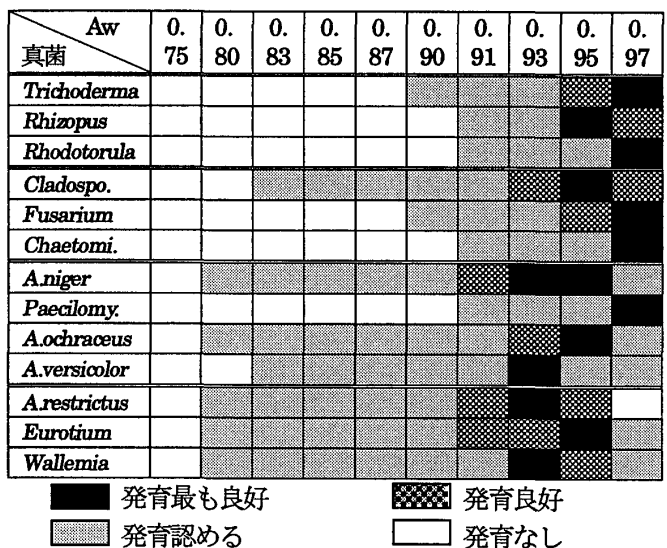


Fig 1 Aw 試験結果

3-b 耐乾性試験

真菌が場所や物に着生した後、汚染を広げる場合には、乾燥に対する耐乾性が問題となる。そこで、真菌に人工的な乾燥を施し、その後の活性状態を試験した。

絶対好湿性真菌、好湿性真菌ともに、乾燥前と比較して、乾燥直後(24時間)の CFU が大きく減少していることから、急激な乾燥に影響を受けやすいといえる。

好乾性真菌では高い耐乾性が観察され、乾燥後数ヶ月が経過しても高い確率で発育が認められた(Fig 2)。

以上の結果から、Aw 試験と耐乾性試験には相関性が認められ、好乾性の真菌は長期にわたる活性を維持で

きることが明らかになった。

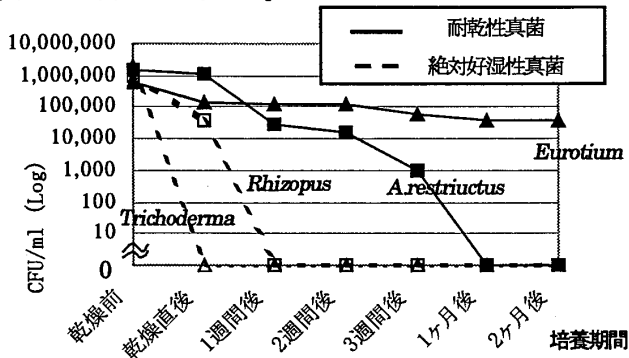


Fig 2 耐乾性試験結果

3-c 発育温度試験

近年の住宅は気密性が向上し、温度は比較的一定に近くなっているが、外気の影響を受け、また季節による変動がある。そのため、本試験では真菌ごとに適した温度域を明らかにし、また A_w 値との関連性を検討した。

どの真菌も発育良好な温度範囲が $20\sim 30^\circ\text{C}$ であることが明らかとなった。しかし、 5°C 、 42°C の過酷な条件でも発育可能である真菌も認められた。年間を通して真菌があらゆる箇所に発生する要因はここにあると考えられる。

次に、 A_w 別の分類では、同じ耐乾性真菌でも比較的高温を至適温度域とする *A.niger* や比較的低温度域を至適とする *A.ochraceus* など発育温度にばらつきが見られ、 A_w 別分類との相関性は低いことが明らかになった。

3-d pH 試験

住環境中には様々な建材が使用され、その pH は異なる。真菌が実際に菌糸を伸ばしていく上での、基質の pH による発育の差を検討した。

多くの真菌が至適発育 pH 値を 6 と示したが、耐酸性、耐アルカリ性の真菌も多かった。また、 A_w 別分類ごとの傾向は特に認められなかった。

試験終了後、多くの真菌で培地の pH が弱酸性にシフトしている現象が認められた。この理由として、有機酸、アルカリ成分を酵素により分解したことが考えられるが、真菌は自ら基質の pH を変化させ、発育しやすい環境を作り出しているといえる。住環境中で、目地などの強アルカリ部分でも真菌発生が見られるのはこのためであると考えられる。

3-e UV 耐性

真菌は UV に対する感受性が高いことが知られており、UV 滅菌が有効とされている。そこで、各真菌の UV 感受性と A_w による分類との関連を検討した。

多くの真菌が UV 照射量 $200\text{mW}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ 以下で不活化することが明らかになり、UV 滅菌は有効といえる。しかし、中には、 $1000\text{mW}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ を超える *Stachybotrys* や *Alternaria* など、極めて抵抗性の強い真菌も認められ、非常に差がある。この理由としては、多細胞性、褐色細胞

であること、細胞壁が厚いことなどが考えられる。

3-f 酵素活性

真菌が場所や物を分解、汚染する際には分解酵素を産生することが知られている。住環境中には、洗剤などの添加剤、塗料やカーペットなどの塗布適性向上・保水性向上剤としてセルロース誘導体が多用されている。そのため、多くの真菌についてセルラーゼ活性が認められることが予想されたが、本試験で認められたのは *Trichoderma*、*Rhizopus*、*A.niger* の 3 菌のみであった。これらの真菌は、拮抗作用が強いという共通点も有しており、住環境中での検出頻度も高い。

一方、人体、ペットから発生するフケ、アカ、毛髪、また、洗剤などに保護剤として含まれるタンパク源を分解するプロテアーゼ活性を示したのは 13 菌中 9 菌であった。また、特に *Aspergillus* 属に属する全ての真菌で活性が認められた。これより、住環境中のタンパク源が真菌汚染の大きな要因となる可能性が示唆されたといえる。

4. 総括

本研究において、以下の結論を得た。

- 住環境中にみる真菌は A_w に強く影響を受け、 $0.93\sim 0.97$ で良好で、 0.75 以下では発育抑制がみられた。
- 耐乾性下では、絶対好湿性真菌と好湿性真菌の多くは短期に死滅し、好乾性真菌は長期にわたり、細胞活性を維持した。
- 多くの真菌の発育良好な温度範囲は $20\sim 30^\circ\text{C}$ であるが、 5°C 、 42°C でも緩慢ながら発育が認められた。
- pH にみる発育域は pH3 \sim 9 と広く、また多くの真菌で培地の pH が弱酸性にシフトする現象が認められた。
- 感受性は強いが、多くの真菌が UV 照射量 $200\text{mW}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ 以下で不活化することが明らかになった。
- 酵素活性をみると、真菌はプロテアーゼ活性が高く、タンパク源が真菌汚染の大きな要因となる可能性が示唆された。

以上より、住環境にみる真菌はそれぞれの環境に適応したかたちで生息可能で、特有の活性を有しながら生息、分布しているものと結論された。

【謝辞】本研究を実施するにあたり、国立医薬品食品衛生研究所高島浩介先生のご指導ご助言を得た。記して謝意を表す。

【参考文献】1) 高島浩介: 一目でわかる図説かび検査・操作マニュアル、(株)テクニシステム(1991) 2) 内山有紀ら: 真菌胞子の発芽に及ぼす糖濃度の影響 J. Antibact. Antifung. Agents Vol.20, No.10, pp531 \sim 535, 1992 【発表状況】1) 住宅における真菌の動態調査とその環境要因、第 17 回空気清浄協会大会、1999.4(東京) 2) 居住環境中の真菌の年間動態調査及びその測定法について、日本防菌防黴学会第 26 回年次大会、1999.5(大阪) 3) 居住環境におけるカビの量の評価基準、第 52 回日本家政学会大会、2000.5(東京) 4) 環境中にみる真菌の生物学的特性に関する研究、平成 12 年度空気調和衛生工学会学術講演会、2000.9(盛岡)

(指導教官 田中辰明)