

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：82670

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25850126

研究課題名(和文)担子菌由来の揮発性メタボライトをトレーサーにした新たな腐朽探知法の確立

研究課題名(英文)Development of a wood decay detection method using microbial volatile organic compounds produced by wood decay fungi

研究代表者

小沼 ルミ (KONUMA, Rumi)

地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・開発本部開発第二部環境技術グループ・副主任研究員

研究者番号：90463075

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：木材腐朽は、木材の強度低下による木造建造物の崩壊リスクの増加及び変色や着色による製品価値の低下につながり、経済的損失の主な原因と考えられる。微生物由来の揮発性代謝産物(MVOC)は隠れた場所の木材腐朽菌の検出に利用できる可能性がある。本研究では、3種類の分析手法によって木材腐朽菌が放散するMVOCを分析し、各々の分析手法の特徴を明らかにした。また、木材の腐朽段階と腐朽菌によって産生されるMVOCとの関係についての知見が得られた。これにより、木材腐朽の早期発見のために木材腐朽菌の存在を標識するトレーサーとしてMVOCを使用できることが示された。

研究成果の概要(英文)：Wood decay leads to a significant increase of the risk of collapse in wood structures such as wood houses and exterior wood constructions, and a reduction in commercial value of the material itself by discoloration and staining. Microbial volatile organic compounds (MVOCs) could be used to nondestructively detect hidden wood decay fungi in dwellings. In this study, MVOCs emitted from wood decay fungi were analyzed by three methods (GC/MS with a thermal desorption system, PTR/MS, and HS/SPME/GC/MS), and it was clarified that the characteristics of each analytical methods. The relationships between the stages of wood-decay and MVOCs produced by wood rotting fungi were also obtained. MVOCs can be used as a tracer for the presence of wood-decay fungi for early detection of wood decay.

研究分野：木材保存学

キーワード：木材腐朽 微生物由来揮発性有機化合物 褐色腐朽菌 白色腐朽菌 腐朽診断

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 木材は古くから建造物の骨組み等に広く利用されてきた。我が国には築年数 1000 年を越す木造建築物が複数存在することからも明らかな通り、木材は適切な環境下で使用され、また適宜メンテナンスを施すことによって、極めて長期間の使用にも耐え得る優れた材料である。

(2) その一方で、木材は火災や風雨、紫外線など様々な要因で劣化するという欠点を有する。特に、生物による劣化は木材を長期間使用する際に大きな問題となる。木材の生物劣化の中でも、真菌類をはじめとする微生物による木材劣化現象を腐朽と呼ぶ。この腐朽の原因菌は木材腐朽菌として知られているが、その中でも特に激しい強度低下を引き起こす腐朽菌に褐色腐朽菌および白色腐朽菌があり、いずれも担子菌類によって構成される分類群である。

(3) 褐色腐朽菌と白色腐朽菌の木材分解様式はそれぞれ異なるが、いずれも木造建造物の倒壊リスクの増大につながる重大な微生物汚染であることから、木材の強度低下が引き起こされる前にそのリスクを評価し対策を講じることが重要である。

(4) 木材腐朽の診断は視診や打診等の基本的手法に加えて、木材の物理的状态を測定する装置や、腐朽菌をターゲットとした生理学的または分子生物学的手法が検討されている。しかしながら、いずれの診断手法も調査部位を露出させて行う必要があり、床下や壁内部の測定が難しく腐朽を見逃す危険性がある。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究は、通常人目につかない建物の構造躯体で進行する木材腐朽を非破壊で精密に評価し、危険度把握および耐震対策を講じるための新たな腐朽診断法の開発を目指すものである。

(2) そのために、木材腐朽時に菌が産生するメタボライト、特に揮発性の有機化合物 (MVOC) に着目し、それをトレーサーとした腐朽診断法を開発するための基礎的情報を得ることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 木材腐朽菌が木材を腐朽する際に放散する MVOC に関する既往の研究はこれまでにあまり知られておらず、情報は限定的である。そこで、はじめに腐朽菌が産生する MVOC の分析手法について検討を行った。ポテト・デキストロース寒天培地で培養した褐色腐朽菌 *Fomitopsis palustris* (オオズラタケ) を供試菌として使用し、加熱脱着式ガスクロマトグラフィー質量分析法 (加熱脱着 GC/MS)、

プロトン移動反応質量分析法 (PTR/MS) およびヘッドスペース固相マイクロ抽出ガスクロマトグラフィー質量分析法 (HS/SPME/GC/MS) の 3 種類の分析手法による MVOC の測定を試みた。

(2) 褐色腐朽菌オオズラタケおよび白色腐朽菌 *Trametes versicolor* (カワラタケ) を供試菌として使用し、木材腐朽時に放散される MVOC について加熱脱着装置付き GC-MS による分析を行い、褐色腐朽と白色腐朽という腐朽様式の異なる 2 菌種が放散する MVOC を比較した。さらに、木材腐朽時に特異的な MVOC を探索するため、培養基質として木材試料 (ブナ辺材) に加えてポテト・デキストロース寒天培地を用いて異なる培養条件で産生される MVOC の分析を行った。また、腐朽段階に依存した MVOC を明らかにするため、木材腐朽時に供試菌が産生する MVOC 組成の経時変化、および各揮発性化合物の濃度変化を調査した。

(3) 日本の木造住宅の構造躯体には針葉樹材が多く用いられており、その中でもスギは最も多くの構造部位に用いられる樹種のひとつである。針葉樹材の主な腐朽原因となるのが褐色腐朽菌であることが知られている。そこで、褐色腐朽菌オオズラタケおよび全ゲノム配列が公開され褐色腐朽菌の世界的スタンダードである *Postia placenta* を供試菌とし、木材腐朽時に放散される MVOC を HS-SPME-GC-MS によって分析した。腐朽対象となる木材にはスギ辺材を用いた。共試菌としては、褐色腐朽菌 2 菌種を用いることで、褐色腐朽菌が針葉樹材を腐朽する際の MVOC の経時変化を調べ、褐色腐朽菌間での MVOC の差異を調査した。また、腐朽菌の MVOC 代謝メカニズムについても考察した。

### 4. 研究成果

(1) 加熱脱着 GC-MS 分析によって、オオズラタケが放散する 26 種の MVOC を特定することに成功した。本法では空気中の MVOC を吸着剤で濃縮するため、微量な MVOC が検出可能であったと考えられる。したがって、本法は木材腐朽菌により放散される MVOC の詳細分析に極めて有効である。

PTR-MS 法は、同じ質量数の化合物は区別することができないため、多種多様な化合物を含む MVOC の分析には適さない。しかし、リアルタイム分析が可能であるという点は大きな利点であり、ある特定の化合物を標的とした放散挙動分析などに威力を発揮すると考えられた。

HS-SPME-GC-MS 分析によって、少量の空気から MVOC を検出することができた。加熱脱着 GC/MS と比較すると、検出可能な成分は

限られるが、サンプリングから分析までを自動化できるため、一次スクリーニングなどの簡易分析に適していると思われる。

(2)

オオウズラタケおよびカワラタケをブナ材上で生育させた際の MVOC 測定を行い、ポテト・デキストロース寒天培地で生育させたものとの比較を試みた。その結果、両菌共にポテト・デキストロース寒天培養時と比較して木材腐朽時には、より多種類の MVOC を放散することを明らかにした。

供試菌 2 菌種の MVOC を構成している化合物の種類を比較したところ、オオウズラタケとカワラタケとでは、大きく異なる化合物を放散していることが明らかとなった。

腐朽の進行段階と放散される MVOC 種との関連性を検討することにより、腐朽が活発なステージにおいて MVOC 放散量の顕著な増加が観察された。さらに、腐朽が活発なステージでは放散される MVOC の種類も多様化することを突き止めた。

(3)

褐色腐朽菌オオウズラタケおよび *Postia placenta* の 2 菌種は、それぞれポテト・デキストロース寒天培地での培養時には見られない、スギ材腐朽時に特異的な MVOC を放散することを明らかにした。

オオウズラタケと *Postia placenta* は同じ褐色腐朽菌であるにもかかわらず、2 菌種から放散される MVOC は半数以上が異なる化合物であったことから、菌種特異的に放散される MVOC が多く存在することが示唆された。一方、2 菌種に共通して放散される MVOC のうち、スギ材上での培養で一貫して放散される MVOC が 4 種あったことから、これらの化合物が褐色腐朽菌の生育を示すマーカー物質となる可能性を見出した。

オオウズラタケによるスギ材腐朽の初期段階で 2,4-hexadien-1-ol が検出された。褐色腐朽菌が木材成分を分解するメカニズムのひとつに過酸化水素と 2 価の鉄イオンによるフェントン反応で生じるヒドロキシラジカルが関与した酸化分解が提唱されており、過酸化水素の生成経路の一つとして、不飽和第一級アルコールと酸素を基質としたアリルアルコールオキシダーゼによる酸化還元反応が提案されている。本研究においてオオウズラタケから検出された 2,4-hexadien-1-ol は不飽和第一級アルコールであり過酸化水素の供給源として、フェントン反応ベースの木材分解に関与する可能性が示唆された。

(4) 今後の展望：本研究を通じて、供試した

いずれの条件区の木材腐朽菌においても、その木材腐朽時に特異的な MVOC が放散されていることを見出した。このことは、腐朽検出のためのマーカーとして MVOC が利用可能であることを示唆している。また、腐朽菌生育時に恒常的に放散される MVOC も複数見出されたことから、これらの MVOC については木材腐朽菌の生育を示すマーカーと成り得ると考えられた。ただし、MVOC を指標とする木材腐朽診断技術の実用化に向けては、まだまだクリアすべき課題は多く残されている。実際の測定現場では木材腐朽菌が放散する MVOC の他に、カビおよび細菌由来の MVOC、または木材、その他生活臭など多種多様な揮発性成分が夾雑物として存在することは容易に予測される。その多様な夾雑物の中で、腐朽マーカーとなり得る MVOC を特異的に捕らえるためには、特異性や検出感度などをより高めていくことが特に重要な課題であろう。その他、測定にかかるコスト、結果を得るまでに要する時間、現場での作業性、MVOC のサンプリング手法などについても検討する余地が多い。しかしながら、MVOC というガスを腐朽のマーカーにすることで、調査することが難しい床下や壁の内部、その他診断が困難な場所で進行する腐朽を検出できる可能性を有する本手法は、これまで測定者の感覚や経験に依るところが大きい建物全体を対象にした腐朽のスクリーニングに代わる全く新しい腐朽診断技術になり得る。また、揮発性代謝産物が腐朽の目印として利用可能となれば、腐朽調査部位に対して非接触で測定が可能となるため、みだりに触れることのできないような木質文化財における腐朽診断などへの適用も可能になると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

小沼 隼三, 真菌類に由来する揮発性有機化合物の木材保存への可能性, 木材保存, 査読有, 42 巻, 1 号, 2016, pp. 2 - 11

Rumi Konuma, Kiwamu Umezawa, Atsushi Mizukoshi, Kensuke Kawarada, Makoto Yoshida, Analysis of microbial volatile organic compounds produced by wood-decay fungi, Biotechnology Letters, 査読有, Vol. 37, No.9, 2015, pp. 1845 - 1852  
DOI: 10.1007/s10529-015-1870-9

小沼 隼三, 水越 厚史, 瓦田 研介, 吉田 誠, 褐色腐朽菌オオウズラタケが放散する揮発性有機化合物の分析手法の検討, 木材保存, 査読有, 41 巻, 3 号, 2015, pp. 108 - 118

〔学会発表〕(計6件)

小沼 ルミ 他, 褐色腐朽菌によるスギ材腐朽時に放散される揮発性有機化合物の測定, 日本木材保存協会, 2016年5月24日~2016年5月25日, メルパルク東京(東京都・港区)

小沼 ルミ 他, スギ材の普及に伴って放散される揮発性有機化合物(MVOC)の測定, 室内環境学会, 2015年12月3日~12月4日, 沖縄コンベンションセンター(沖縄県・宜野湾市)

小沼 ルミ 他, Characterization of volatile metabolites emitted by wood decay fungi, Forest Products Society, 2014年8月10日~2014年8月14日, ケベック・シティー(カナダ)

小沼 ルミ 他, 木材腐朽菌が放散する揮発性代謝産物の分析手法の検討, 日本木材保存協会, 2014年5月27日~2014年5月28日, メルパルク東京(東京都・港区)

小沼 ルミ 他, 木材腐朽菌が放散した揮発性メタボライト(MVOC)の解析, 日本木材学会, 2014年3月13日~2014年3月15日, 愛媛大学城北キャンパス(愛媛県・松山市)

小沼 ルミ 他, 住環境中の微生物由来揮発性有機化合物(MVOC)の分析, 日本きのこ学会, 2013年9月12日~2013年9月13日, 県立広島大学広島キャンパス(広島県・広島市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小沼 ルミ(KONUMA, Rumi)  
地方独立行政法人 東京都立産業技術研究センター・開発本部開発第二部 環境技術グループ・副主任研究員  
研究者番号: 90463075

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

吉田 誠(YOSHIDA, Makoto)  
東京農工大学, (連合)農学研究科(研究院), 准教授  
研究者番号: 30447510

水越 厚史(MIZUKOSHI, Atsushi)  
近畿大学, 医学部, 助教  
研究者番号: 50520318

瓦田 研介(KAWARADA, Kensuke)  
地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター, その他の部局等, 主席研究員  
研究者番号: 10463069

飯田 孝彦(IIDA, Takahiko)  
地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター, 開発本部開発第二部, 上席研究員  
研究者番号: 00463068