

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：32659

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23510034

研究課題名(和文) レジン酸を用いたタイヤ摩耗粉塵の新規環境影響評価手法の提案

研究課題名(英文) Evaluation of Hydrogenated Resin Acids as Molecular Markers for Tire-wear Debris in Urban Environments

研究代表者

熊田 英峰 (Kumata, Hidetoshi)

東京薬科大学・生命科学部・助教

研究者番号：60318194

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,500,000円、(間接経費) 1,350,000円

研究成果の概要(和文)：タイヤ中のレジン酸類のうち、ジヒドロレジン酸について着目して研究を行った。タイヤゴムや環境試料中に存在するレジン酸類の定量的分析方法を確立した。その分析方法を用いて、タイヤゴムへの起源特異性、環境分布、環境中での安定性、環境動態を明らかにすることができた。この成果によって、現在未規制であるタイヤ摩耗粉塵の環境影響を評価するための化学的手段として、ジヒドロレジン酸をマーカー物質として用いることが可能であることを示した。

研究成果の概要(英文)：To identify new molecular markers for tire-dust (TD) emissions, four dihydroresin acids (H2RAs), 8-isopimaren-18-oic acid (I), 8-pimaren-18-oic acid (II), 13beta(H)-abieten-18-oic acid (III), and 13alpha(H)-abiet-8-en-18-oic acid (IV), were identified and investigated for source specificities, distributions, and environmental stabilities. Absence of I-IV in natural sources and the linear correlations between H2RAs with different skeletons in tires and in environmental samples demonstrated that I-IV are specific markers for synthetic rubbers. The physicochemical properties and photolysis experiments suggested that I-IV can set lower limits for TD contributions to environmental loads of particulate matter and PAHs with MW is or larger than 202.

These features of H2RAs are suitable for monitoring spatial and temporal variations of direct emissions from vehicle wear, which would be of help in conducting efficient traffic and air-quality management.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学 環境影響評価・環境政策

キーワード：ジヒドロレジン酸 タイヤ摩耗粉塵 大気エアロゾル マーカー物質 浮遊粒子状物質

1. 研究開始当初の背景

(1) 緒言

自動車の走行によって発生するタイヤ摩耗粉塵 (TD) は呼吸器内に吸引、吸着可能なサイズに粒経極大を示す。タイヤゴムには、多環芳香族炭化水素 (PAHs) や亜鉛等、ヒトおよび水生生物に負影響を及ぼす化学物質が含まれている[1]。近年ではタイヤ中のラテックス成分と呼吸器系疾患との関連性も指摘されている[2]。従ってこれらの化合物や TD 自体が環境に与えるインパクトを定量的に評価することが重要である。タイヤに起源特異的なマーカーを利用することができればこのような影響評価に役立てることができ

(2) Molecular Marker Approach とは

種々の人間活動が環境に与える影響を評価するために、特定の化学物質をマーカー物質として利用する方法である。このためには、以下の要件を満たす物質をマーカーに選ぶことが望ましい[3]。

- 着目する発生源 (あるいは人間活動) に特異的であること、
- 大量かつ広範囲に使用され、環境中で十分高濃度に存在すること、
- 環境中での安定性が明らかであること

(3) TD マーカー物質

これまでに提案された TD のマーカー物質に、ベンゾチアゾールアミン類 (BTs : 2-(4-morpholinyl)-benzothiazole と N-cyclohexyl-2-benzothiazolamine) がある[4]。BTs はタイヤ製造で用いられる加硫促進剤に不純物として含まれる。

申請者はこれまでに、BTs の定量的な分析方法を開発し、様々な環境における粒子負荷や PAHs 負荷への TD 寄与の評価に応用してきた[5-8]。しかし BTs はタイヤおよび環境中濃度が低い、高極性であるために分析が困難、など指標として利用するうえでの制約が大きかった。

このため、これまでの応用例は、路上粉塵や河川堆積物など大量の試料を用いることの容易な環境コンパートメントに限られており、エアロゾルなど大気環境試料への TD 影響の解析はほとんどなされていない。

そこで、タイヤ中の存在量が多く、かつ容易に分析できるマーカー物質の探索が重要な課題としてクローズアップされる。本研究ではタイヤ摩耗粉塵マーカーの候補物質として、レジジン酸類に着目する。

(4) レジジン酸とは

マツ科植物の樹脂を構成するジテルペノイド骨格を持つ有機酸類の総称である。天然樹脂の揮発油分を除去して得られるガムロジンを、不均化反応によって不均化ロジンとしたものは、自動車用タイヤを始めとする

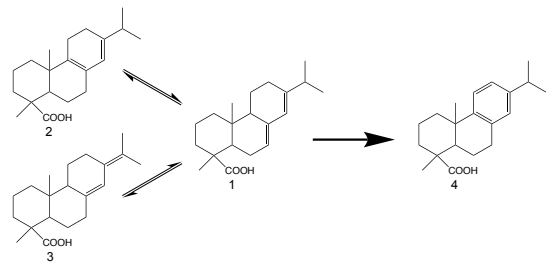


Fig.1 ロジン→不均化ロジンの不均化反応

ガムロジン中には主成分アビエチン酸 1 の他に 2, 3 など 1 の共役ジエン酸が共存する。これらが重合反応を妨害するため、金属触媒下で不均化反応を行い、デヒドロアビエチン酸 4 として安定化させる。このとき副産物として 1 の二水素化物が生成される。

合成ゴム製品の製造過程で乳化重合用乳化剤として使用される。このため、タイヤ製品中には不均化ロジンの主成分 4 や、ジヒドロレジン酸 (Fig.1 キャプション参照) が含まれる[9, 10]。

他方、レジジン酸は熱によっても変成する。例えばマツ科の樹木が燃焼すると熱 (>300°C) による脱水素反応を経て 4→1-methyl-7-isopropyl-phenanthrene (レテン) に変わる。つまり、環境中のレジジン酸 1~3 は植物樹脂から、4 はバイオマス燃焼からの寄与を受けていることになる。

これに対し、ロジンの不均化によって生成されるジヒドロレジン酸 (H2RA) は、天然には存在せず、タイヤのマーカー物質になる可能性がある。Rogge や Nolte らの研究[9, 10]では、タイヤだけでなく路上粉塵にも H2RA が存在することが報告されているが、その詳細な同定や、環境中での分布、安定性、動態は明らかとされておらず、マーカー物質としての有用性も評価されていない。

2. 研究の目的

本研究の具体的ゴールは、

- (1) タイヤおよび環境試料中に存在するレジジン酸類の同定を明らかにし、その定量的な分析方法を確立すること、
 - (2) 都市環境中のレジジン酸類の濃度、組成分布を明らかにすること、
 - (3) 同定したレジジン酸の起源特異性、物理化学的性質・安定性を明らかにすること、
- の3点である。

これらの達成を通じて、レジジン酸類のタイヤマーカー物質としての有用性を評価することが可能となる。また、起源が多岐にわたるため汚染源が明確でない亜鉛などの金属元素や PAHs、ブラックカーボンについても環境分布、動態を合わせて調査することで、これらの汚染物質に対する TD の寄与を明確にすることも狙う。

3. 研究の方法

(1) タイヤおよび環境試料中に存在するレジジン酸類の同定

市販のタイヤゴムを有機溶媒で抽出し、分画精製後、GC/MS でレジジン酸類を測定する。マススペクトルや保持指標を上で得た標準品と比較し、化合物を同定する。タイヤの入手にあたっては、市場シェアを調査の上、国内で広く用いられているメーカーのタイヤを網羅するものとする。また環境試料についても同様に化合物同定を実施する。

(2) タイヤおよび環境試料中に存在するレジジン酸類の定量的分析方法の確立

レジジン酸はC20程度の疎水部分とカルボキシル基を有する一塩基酸である。同様の化学構造を持つ脂肪酸の分析方法が適用できると予想される。ただし、ゴム重合用乳化剤として用いられるレジジン酸は、遊離酸もしくはアルカリ金属塩であり、脂質脂肪酸とは化学形態も存在状態 (= 包含するマトリックス) も異なる。このため、抽出方法や分画・精製法を最適化する。検討には、タイヤ抽出物および環境試料を用いる。

(3) 都市環境中のレジジン酸類の濃度、組成分布の解明

大気エアロゾル、路上粉塵、河川堆積物などから試料を採取、分析し、環境分布を解析する。分析項目は、レジジン酸の他に、多環芳香族炭化水素 (PAHs) 等も対象とする。各々の環境コンパートメントにおいて、地理的 (地形的) に交通起源のインプットの受けやすさと、レジジン酸その他の成分の存在度、組成の関連を解析し、自動車交通がこれらの成分の環境分布に及ぼす影響を明らかとする。

(4) レジジン酸の起源特異性、物理化学的性質・安定性

上記の環境中のレジジン酸類の濃度・組成分布の解明は、「TD 中ジヒドロレジジン酸の主要発生源が道路交通である」かどうかを検証する作業でもある。これに加えて、マツ科植物の燃焼実験を行い、発生するレジジン酸類の組成を調べる。さらに、初年度のマツ科植物樹脂の測定結果も合わせて、都市環境中のレジジン酸類の起源 (ジヒドロレジジン酸の起源特異性) を評価する。

環境試料の分析と並行して、レジジン酸類の物理化学的性質を評価する。TD 中のレジジン酸に着目した場合、気体{粒子間および水{粒子間の急脱着平衡が、環境中での運命に影響する。また、太陽光による直接光分解や、オキシダントによる間接的な分解も環境中での運命に影響する。これらのパラメーターについて、標品を用いた実験と、TD や路上粉塵などの実際の環境試料を用いた実験を行い、明らかとする。

4. 研究成果

(1) タイヤおよび環境試料中に存在するレジジン酸類の同定

①ジヒドロレジジン酸の精製、単離、構造解析
レジジン酸の不均化混合物を和光純薬工業から得た。ELSD は導入後、溶媒リークセンサーの異常により安定して使用することができなかつたため、これを使用せず、メチル誘導体化した混合物をGC/MSで分析しEIスペクトルを解析、さらに相対保持指標を文献値と比較し、暫定的に化合物を同定した。その結果、8-isopimaren-18-oic acid (I), 8-pimaren-18-oic acid (II), 13β(H)-abieten-18-oic acid (III), and 13α(H)-abiet-8-en-18-oic acid (IV)の4種のジヒドロレジジン酸が含まれることが確認された (Fig.2)。

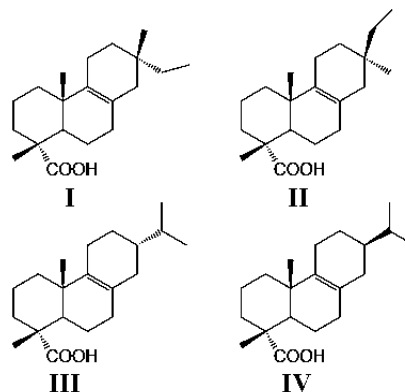


Fig. 2 タイヤ由来ジヒドロレジジン酸 (H₂RAs) の構造

(2) タイヤおよび環境試料中に存在するレジジン酸類の同定

市販のタイヤゴムや路上粉塵を有機溶媒で抽出し、分画精製後、GC/MS でレジジン酸類を測定した。ほぼ全ての試料にデヒドロアビエチン酸(V)、アビエチン酸(VI)の他に上記I-IVのジヒドロレジジン酸が含まれることが明らかとなった。

(2) タイヤおよび環境試料中に存在するレジジン酸類の定量的分析方法の確立

環境試料中に存在するレジジン酸をジクロロメタン/MeOHを用いて超音波抽出し、抽出液をBSTFAでトリメチルシリル化してGC/MSで分析する方法を確立した。繰返し再現性は、I-Vで6.8-10.4% (n=5)、全環境試料を分析する際のクリーンアップスパイク (オクタデカン酸-d₃₅) の添加回収率は78-136%だった。

分析方法のさらなる高精度化を目指して、抽出方法とレジジン酸類のカルボキシル基のキャッピング方法を検討した。

その結果、ジクロロメタンを用いて加圧溶媒抽出することで、十分な抽出効率を得られることを確認し、抽出操作時間と使用溶媒量の削減を達成した。抽出液をアルカリ鹼化後にメチル誘導体化し、シリカゲルカラムでモノカルボン酸エステルを分離する方法を確立した。分析対象とするジヒドロレジジン酸 (H₂RA) I-IV およびデヒドロアビエチン酸 (DHA) のRSDは8-10%、クリーンアップスパイク (¹³C 標識オクタデカン酸) の回収率は平均104%だった。キャッピングをメチ

ル化に変更したことで低濃度試料のレジジン酸組成の精度を上げることに成功した。

(3) 都市環境中のレジジン酸類の濃度、組成分布の解明

① 国内試料の分析

確立した分析法を用いて、タイヤ、2005–2008年に採取したトンネル内、トンネル外の路上粉塵、大気浮遊粉塵（SPM）のアーカイブ試料を分析した結果、いずれからもI-VIが検出された。各種環境試料中のレジジン酸濃度をFig.3に比較した。I-IVは環境試料（路上粉塵、エアロゾル、河川堆積物）から検出されたが、植物試料のゴムロジンやマツ科植物燃焼生成粒子からは検出されなかった。I-IV, DHAの各濃度はいずれも、路上粉塵ではトンネル内>トンネル外、大通り>裏通り、エアロゾルでも道路近傍>道路遠方と、交通の影響を強く受けた地点ほど高い濃度で存在する事が明らかとなった。以上の結果は、環境中のI-IVが主に交通由来であることを示唆している。

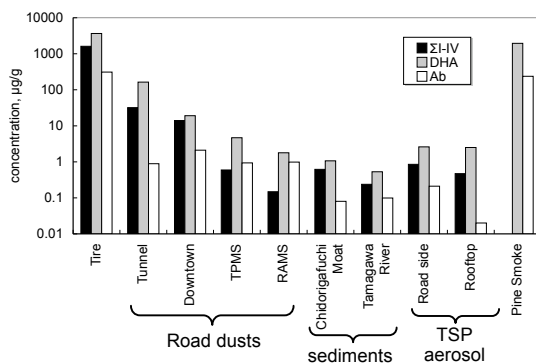


Fig. 3 起源物質および環境試料中のジヒドロレジジン酸 I-IV の合計 (ΣI-IV)、デヒドロアビエチン酸 (DHA)、およびアビエチン酸 (Ab) の濃度分布

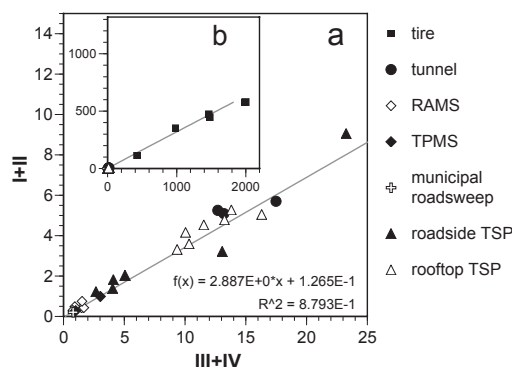


Fig. 4 ピラン骨格を有する H2RA (I+II: y-軸) とアビエチン骨格を有する H2RA (III+IV: x-軸) の濃度相関図
環境中の H2RA 組成がタイヤと酷似していることが示された。

また、路上粉塵とエアロゾル試料中の (I+II)/(III+IV) の濃度比は一定で、タイヤ中の (I+II)/(III+IV) 比ともほぼ一致した (Fig.4)。こ

れらの結果は、H2RA I-IV がタイヤゴムに起源特異的であり、その TD 指標としての有用性を強く示唆している。

また、国内の広範囲の都府県で採取した路上粉塵についてもレジジン酸分析を実施した。濃度は様々に異なり、交通量との相関も認められなかったが、分析した全ての都府県試料でタイヤゴムと酷似した H2RA の組成を示すことが確認された。

② 海外試料の分析

ハノイ（ベトナム）、北京（中国）で採取した粉塵やエアロゾル試料を分析した結果、全試料から H2RA、DHA およびその他のレジジン酸類が検出された。都市により、H2RA とその他のレジジン酸類のタイムトレンドの類似性に差異が認められた。

H2RA の組成は不均化ロジンを使用したゴム製品と類似していることを確認した。これにより海外においてもタイヤ摩耗粉塵をはじめとするゴム製品の環境放出のマーカースとして H2RA が有効であることが示唆された。また、海外のエアロゾル試料については、タイヤゴム由来と従来考えられている Zn などの金属元素のタイムトレンドを把握するために、XDXRF 装置を用いた元素分析を行った。

(4) レジジン酸の起源特異性、物理化学的性質・安定性

① レジジン酸の起源特異性

マツ科植物樹脂、その工業変性物である不均化ロジン、マツ科植物燃焼煙などの分析結果から、ジヒドロレジジン酸 I-IV が不均化ロジンを使用した工業製品に特異的な成分であることを確認した。

② 物理化学的性質・安定性

大気に放出されたタイヤ摩耗粉塵 (TD) は、地表面への沈着と再懸濁による浮遊を繰り返す。このような TD の移動プロセスにおいて、TD マーカーであるジヒドロレジジン酸 (H2RAs) の濃度や組成は、分解・揮発・溶出等によって変化すると考えられる。

TD 中の有機成分の挙動に影響を与え得る物理化学的性質を Table 1 に比較した。Table 1 のデータは、揮発や水への溶出によって TD からレジジン酸類が失われることを示している。しかし TD 中に高濃度で含まれる PAHs の一部の化合物 (ピレン) の物性との比較では、従来 TD 指標として利用されてきた BTs よりも物性が近い、すなわち TD 由来のピレンの指標として優れていると言える。

また、太陽光シミュレーターによる路上粉塵への照射時の I-IV の分解速度はピレンよりも速かった (Fig.5)。

以上より、I-IV を TD 自体の指標とする場合は揮発、溶出、光分解によって、TD 由来ピレンの指標とする場合は溶出と光分解に

よって、それぞれ寄与の上限值を与えると判断できる。

Table. 1 Physico-chemical properties of resin acids, benzothiazolamines and selected PAHs

	log[1/P ⁰] (atm)	K _H (unitless)	solubility in water (mol/L)
<i>resin acids</i>			
dihydroresin acids (I-IV)	8.3-9.1 ^{ab}	2.9x10 ^{-4c}	na
DHA	9.9 ^a	7.3x10 ^{-6c}	1.70x10 ^{-6d}
<i>benzothiazolamines*</i>			
24MoBT	~12	2.3x10 ⁻¹¹	~1x10 ⁻⁹
NCBA	~11	2.3x10 ⁻⁸	~4x10 ⁻⁵
<i>PAHs</i>			
Pyrene	9.1 ^a	3.4x10 ^{-4c}	2.1x10 ^{-6e}
Benzo[a]pyrene	12.7 ^a	3.3x10 ^{-6c}	6.1x10 ^{-9e}

a: estimated by multiplying K_H by the solubility in water. b: upper and lower limits were set by using the range of water solubility of resin acids reported by Peng and Roberts (ref-6). c: estimated by using ChemDrawUltra, Cambridge Soft Corp. d: from Peng and Roberts (ref-6). e: from Beilstein Database. *: from ref-2.

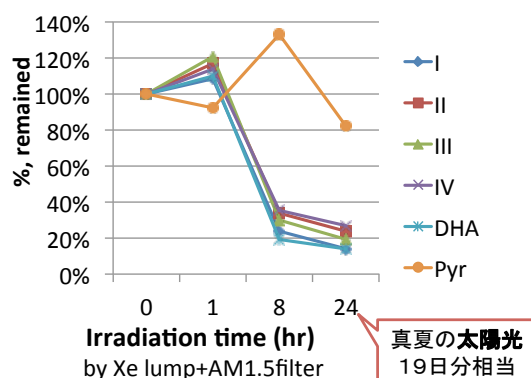


Fig. 5 太陽光シミュレーターで路上粉塵へ光照射したときのレジジン酸およびピレンの濃度変化

本研究ではまた、環境中で TD が水と接触することで起こるレジジン酸濃度、組成の変化を定量化することを目的として溶出実験を行った。まず、レジジン酸が溶出するかの検討をするため、マツ葉粉末と路上粉塵 (RD) を用いて 24 時間攪拌の溶出実験を行い、天然レジジン酸、人為起源の H2RAs それぞれについて、水-粒子間分配係数 (K_p) を求めた。K_p と植物組織や RD の一般的な有機炭素含有率 (foc) を用いて水-有機炭素間分配係数 (K_{oc}) を推定した。推定した K_{oc} 値は化合物毎にそれぞれ異なったが、既に TD 指標として広く利用されている化合物の 24MoBT、NCBA と比べて、同等の分配挙動を示すことが分かった。水との接触時間を極端に短くした実験では、K_p、K_{oc} 共に 24 時間攪拌より高値になるものと、それほど変わらないものがあり、化合物によって傾向が異なった。以上より、植物組織片や TD が環境中に放出された後、雨水等との接触によってレジジン酸の濃度、組成が変化することが定量的に明らかになった。また、溶出した RAs は土壌浸透すると考えられるので土壌中の動態についても明らかにする必要がある。

[引用文献リスト]

- [1] Gualtieri, M. et al., Particle and Fibre Toxicology, **2**, doi: 10.1186/1743-8977 -2-1, (2005).
- [2] Dorsey, T.F. et al., J. Occupational and Environ. Medicine **48** 1321, (2006).
- [3] Eganhouse, R.P. "Molecular markers and environmental organic geochemistry: an overview." ACS Symp. Ser., **671**, 1-20, (1997).
- [4] Kumata, H. et al., Environ. Sci. Technol., **34**, 246, (2000).
- [5] Kumata, H., Takada, H. and Ogura, N., Anal. Chem., **68**, 1976, (1996).
- [6] Kumata, H. et al., Environ. Sci. Technol., **36**, 702, (2002).
- [7] Zakaria, M.P. et al., Environ. Sci. Technol., **36**, 1907, (2002).
- [8] Ni, H.-G. et al., Environ. Sci. Technol., **42**, 1892, (2008).
- [9] Rogge, W.F. et al., Environ. Sci. Technol., **27**, 1892, (1993).
- [10] Nolte, C.G. et al., Environ. Sci. Technol., **36**, 4273, (2002).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. 内田昌男, 熊田英峰, 放射性炭素同位体を用いた環境中多環芳香族炭化水素の起源解明, エアロゾル研究, **29** (S), 133-141, (2014)
2. Okuda, T., Takada, H., Kumata, H., Nakajima, F., Hatakeyama, S., Uchida, M., Tanaka, S., He, K., Ma, Y., Inorganic chemical characterization of aerosols in four Asian mega-cities, *Aerosol and Air Quality Research*, **13**(2), 436-449, (2013)
3. 熊田英峰, 半揮発性有機化合物パッシブエアサンプラーの理論的背景, ぶんせき, **2012**(11), 652-653, (2012)
4. Kumata, H., Mori, M., Takahashi, S., Takamiya, S., Tsuzuki, M., Uchida, T., Fujiwara, K., Evaluation of Hydrogenated Resin Acids as Molecular Markers for Tire-wear Debris in Urban Environments, *Environ. Sci. Technol.*, **45**(23), 9990-9997, (2011), doi: 10.1021/es202156f

[学会発表] (計 7 件)

1. 小泉 僚平, 熊田 英峰, 藤森 英治, 青木 元秀, 梅村 知也, PM_{2.5} サンプリング

方法が PAHs の濃度, 組成に及ぼす影響の評価, 第 23 回環境化学討論会, 京都大学, 京都, 2014/5/14-16

2. 中島 寿大, 熊田 英峰, 青木 元秀, 梅村 知也, 都市大気微小粒子状物質中タイヤ由来ジヒドロレジン酸の粒度分布, 第 23 回環境化学討論会, 京都大学, 京都, 2014/5/14-16
3. 齊藤 祥一, 熊田 英峰, 奥田 知明, 中島 典之, 高田 秀重, 畠山 史郎, 内田 昌男, 青木 元秀, 藤原 祺多夫, 東アジア大都市大気エアロゾル中 PAHs の環数分離と組成解析, 東京農工大学 (農), 東京, 第 22 回環境化学討論会, 2013/7/31-8/2
4. 熊田 英峰, 青木 真里, 奥田 知明, 中島 典之, 高田 秀重, 畠山 史郎, 内田 昌男, 青木 元秀, 藤原 祺多夫, アジア大都市の大気エアロゾル中人為起源水素化レジン酸濃度・組成の比較, 東京農工大学 (農), 東京, 第 22 回環境化学討論会, 2013/7/31-8/2
5. 吉田伸一郎, 熊田英峰, 青木元秀, 藤原祺多夫, HPLC/MS/MS による畑土壤中リン脂質の一斉分析: 千葉県銚子市農地でのケーススタディー, 神戸大 (農), 日本土壌日生物学会 2012 年度大会, 2012/06/23-24
6. 斎藤祥一, 熊田英峰, 青木元秀, 藤原祺多夫, 多様な環境マトリックスからの PAH 単離方法の検討, 愛媛, 第 21 回日本環境化学討論会, 2012/07/11-13
7. 伊藤麻南実, 熊田英峰, 中島典之, 高田秀重, 畠山史郎, 奥田知明, 内田昌男, 青木元秀, 藤原祺多夫, パッシブエアサンプラー (PAS) を用いた東京都心および郊外大気中 PAHs の季節変動観測, 愛媛, 第 21 回日本環境化学討論会, 2012/07/11-13

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊田 英峰 (Kumata, Hidetoshi)
東京薬科大学・生命科学部・助教
研究者番号 : 60318194