

水生生物を用いたスラグの環境影響評価技術

Ecotoxicological Assessment of Iron- and Steelmaking Slag Using Bioassays

八尾 泰子 YAO Yasuko JFE スチール スチール研究所 環境プロセス研究部 主任研究員 (課長)・博士 (農学)
井澤 智生 ISAWA Tomoo JFE スチール スラグ事業推進部 主任部員 (副部長)・Ph.D.

要旨

鉄鋼スラグの水生環境における利用や輸送においては、従来から評価されている有害重金属の含有量や溶出量に加えて、水生生物を用いたバイオアッセイで水生環境有害性の有無を確認して明示することが、国際条約の改正によって求められている。鉄鋼スラグの抽出液の藻類、甲殻類、魚類への影響を評価した結果、生育や繁殖に有意な影響は認められなかった。この試験結果を国際連合勧告に従って分類することにより、急性水生毒性ならびに慢性水生毒性がないことを証明し、鉄鋼スラグの水生環境への安全性をバイオアッセイによっても明らかにした。

Abstract:

Prior to being transported by sea and put to practical use in an aquatic environment, the ecotoxicity of iron- and steelmaking slag was assessed by bioassay in addition to the chemical analysis. The slag leachate assay results on algae, daphnia, and fish revealed no significant influence on the growth or propagation. Thus, acute and chronic toxicity data confirmed that iron- and steelmaking slag was categorized as non-hazardous to aquatic environments under the United Nations classification.

1. はじめに

鉄鋼スラグの安全性は、スラグの直接摂取やスラグからの溶出水を飲用することを想定し、有害重金属の含有量や水への溶出量で確認している。これは有害物質の溶出挙動を把握し、有害物質の濃度ごとの生物への影響と比較することで有害性を評価する方法である。しかしながら、これらの方法は水生環境における未規制の有害物質や、複数の物質が共存した状態での生物への影響を評価することはできない。そのため、従来からの物理的・化学的分析に追加して、スラグの生物学的な安全性評価を直接実施し、人の健康に対する有害性や環境毒性を評価する要求が増えてきた。

固体ばら積み貨物を安全に海上輸送するための規則 (IMSBCコード: International Maritime Solid Bulk Cargoes Code)¹⁾ は、海上人命安全条約に基づくもので、2011年1月1日以降、国際的に強制化された。規則は積み荷の偏りによる転覆リスクの回避と、船員が積載貨物から健康上の被害を受けないようにすることを目的としている。スラグを海上輸送する場合には、貨物であるスラグの水生生物ならびに人に対する影響が、国際連合勧告である化学品の分類および表示に関する世界調和システム (GHS: Globally Harmonized System of Classification and Labelling of

Chemicals)²⁾ に則して記載された安全データシート (SDS: Safety data sheet) で判断される。

また、2013年1月1日の海洋汚染防止条約 (MARPOL条約) 附属書V³⁾ の改正により、海洋環境に有害である貨物については、その船倉の洗浄水や残渣の海洋投棄が禁止された。荷主は貨物が海洋環境に有害か否を判定して、海送する船の船長に文書として通知することが求められる。スラグについても海洋環境に対する影響を文書にまとめる必要がでてきた。

以上により、鉄鋼スラグの SDS には、すでに記載されている物理的・化学的危険性情報に追加して、人に対する健康有害性や水生環境に対する有害性がないことを生物試験で証明して明記する必要がある。しかしながら、鉄鋼スラグの急性・慢性毒性、長期健康有害性、水生環境有害性については情報やデータが限られている⁴⁻⁶⁾。鉄鋼スラグ協会および協会の会員各社では、国際連合勧告 GHS²⁾ の要件に従った急性・慢性毒性や急性・慢性水生毒性の判定を進め、その結果に基づいて鉄鋼スラグの SDS を改訂している⁷⁾。

本報告では、水生生物を用いた影響評価方法 (バイオアッセイ) を鉄鋼スラグの水生環境に及ぼす影響評価に適用した結果についてまとめる。

2. スラグの水生環境への影響の評価法

2.1 簡易生態影響試験方法（バイオアッセイ）

物質の水生生物に対する毒性（水生毒性）評価は、水生環境に対する物質の有害性を特定する基礎である。国際連合勧告 GHS では、短期曝露により生物に有害性をもたらす急性水生毒性と、ライフサイクルに関連して決定された長期間曝露によって水生生物に悪影響を及ぼす慢性水生毒性を評価する必要がある²⁾。また、GHS では淡水生物種と海水生物種の毒性データは同等と見なすことができるため、海上輸送や海域利用においても淡水生物種の試験でスラグを評価する。

水生毒性の GHS 分類には、経済協力開発機構（Organization for Economic Co-operation and Development: OECD）テストガイドラインに従って得られたデータが受け入れられる。OECD テストガイドラインは、物質の物理化学的性質、ヒト健康影響、ならびに生態系への影響に関する知見を得るために国際的に合意された試験方法である。水生毒性に関する主な試験方法を表 1 に示す。環境影響を評価するための簡易生態影響試験では、食物連鎖を構成する捕食者、消費者、生産者の代表種として、それぞれ魚類、甲殻類、藻類を用いて急性毒性と慢性毒性を評価する。

2.2 GHS に基づく水生環境有害性の分類法

鉄鋼スラグの簡易生態影響試験では、実験生物の 50% に影響を与えるスラグ負荷率（試験液 1 l に対するスラグ重量比: mg/l）を求め、その濃度レベルに応じて毒性の強さを評価する。具体的には、魚類の 96 時間半数致死負荷率 LL₅₀（Median lethal loading rate: ヒメダカを 96 時間飼育したときにその死亡率が 50% 以上となるスラグ負荷率）、甲殻類の 48 時間半数遊泳阻害負荷率 EL₅₀（Median effective loading rate: オオミジンコを 48 時間飼育したときにその遊泳阻害率が 50% 以上となるスラグ負荷率）、そして藻類の 72 時間半数生長阻害負荷率 ErL₅₀（Effective loading rate that causes 50% reduction in algal growth rate: ムレミカヅキモを 72 時間飼育したときにその生長阻害率が 50% 以上となるスラグ

負荷率）を測定し、この 3 試験の結果から GHS に従い水生環境有害性を分類する²⁾。

急性水生毒性のデータにおいては、ヒメダカ 96 時間 LL₅₀、オオミジンコ 48 時間 EL₅₀、藻類 72 時間 ErL₅₀ のいずれかが 1 mg/l 以下の場合、その物質は非常に強い水生毒性があると考えられ、急性区分 1 または慢性区分 1 に分類される。また、慢性水生毒性のデータが得られる場合は、無影響濃度（No observed effect concentration: NOEC）が 0.1 mg/l 以下は慢性区分 1、1 mg/l 以下は慢性区分 2 に分類される。NOEC は対照区と比較して統計的に有意な差が認められない試験最高濃度である。

簡易生態影響試験より、急性区分 1、慢性区分 1 または慢性区分 2 の判定基準に適合する物質は、水生環境有害性があると分類される。

3. スラグの水生環境有害性の分類と SDS の改訂

鉄鋼スラグ協会では、代表的な鉄鋼スラグの水生毒性を魚類、甲殻類、藻類の 3 種の OECD テストガイドラインで評価し、これらの試験結果より、鉄鋼スラグの水生生物に対する有害性を GHS に従って分類した。その結果、急性区分 1、慢性区分 1、慢性区分 2 のいずれにも該当しなかった。

JFE スチールでは、鉄鋼スラグ協会で実施した GHS 分類に基づき、鉄鋼スラグ製品の安全データシート SDS を改訂した⁷⁾。SDS の環境影響情報に、急性水生毒性（魚類、甲殻類、藻類）ならびに慢性水生毒性（藻類）に該当しない試験結果を記載して、IMSBC コードの環境有害物質（水生環境）ならびに MARPOL 条約附属書 V の環境有害性のうち水生毒性に該当しないことを明記している。

4. 各種スラグの藻類生長抑制試験による評価

異なる工程で発生するスラグの水生生物への影響とその影響要因の推定は、JFE スチールで藻類生長抑制試験を実施し、急性ならびに慢性水生毒性を評価した。藻類試験は、

表 1 簡易生態影響試験方法
Table 1 Ecotoxicity test method

| Test organism | Fish | | Crustacea | | Algae |
|------------------|---------------------|--|-------------------|------------------------------------|-------------------|
| | | Rice fish <i>Oryzias latipes</i> | | Water flea <i>Daphnia magna</i> | |
| | Secondary consumers | | Primary consumers | | Producers |
| Toxicity | Acute | Chronic | Acute | Chronic | Acute, Chronic |
| Effect parameter | Mortality | Early-life stage mortality and abnormality | Immobilisation | Reproduction and adult mortality | Growth inhibition |
| OECD Guideline | 203 | 210 | 202 | 211 | 201 |

OECD: Organization for Economic Co-operation and Development

表1に示すように、同一試験で急性毒性と慢性毒性を評価することができるため、各種スラグの評価に適用した。スラグから溶出する成分の藻類生長への影響も評価し、スラグの水生環境での利用において留意すべき点があるか考察した。

4.1 試験方法

高炉水砕スラグ、高炉徐冷スラグ、溶銑脱リンスラグ、転炉スラグの4種を、OECDテストガイドライン201⁸⁾に準拠した藻類の生長抑制試験で評価した。スラグの水性画分に藻類を72時間暴露させて細胞数を測定し、藻類の増殖に及ぼす影響を72時間ErL₅₀と無影響濃度NOECとして求めた。試験概要を図1に示す。

スラグは難水溶性の多成分物質であるため、スラグの構成成分の一部が水に溶解している水性画分(Water Accommodation Fraction: WAF)を試験液として藻類に暴露した⁹⁾。WAF調製時のスラグと水の重量対容積比である負荷率を5, 11, 22, 47, 100 mg/lとし、100 μm以下に粉碎したスラグを温度22°Cで攪拌しながら48時間溶出させた。水性画分の化学成分は高周波誘導結合プラズマ(ICP)発光分光分析法で分析した。

前もって培養した単細胞緑藻類ムレミカツキモ *Pseudokirchneriella subcapitata* を、最終濃度5×10³ cells/mlになるように、水性画分(試験区)または培地(対照区)が100 ml入った250 ml三角フラスコに添加した。試験は各条件で3回繰り返して(対照区は6回繰り返し)実施し、振とう100 min⁻¹、温度22±1°C、照度86±8.6 μmol・m⁻²・s⁻¹で毎日インキュベーター内の場所を変えながら、72時間暴露した。試験終了時に細胞数を濁度(Optical density: OD)750 nmで測定した。OD750 nmと細胞数は相関があることは確認済である。

藻類の生長速度μは、t時の細胞濃度N_tより

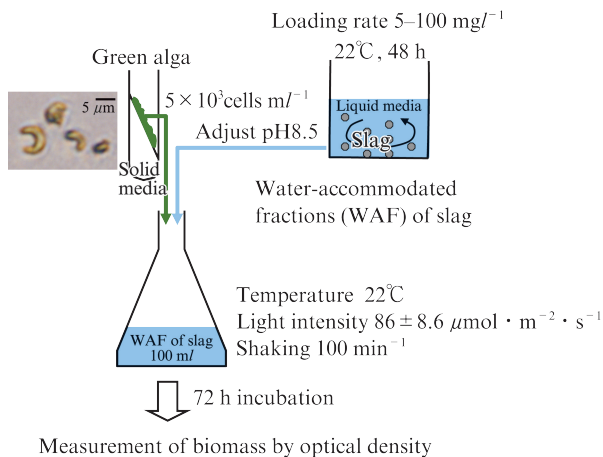


図1 藻類ムレミカツキモ生長抑制試験

Fig. 1 Ecotoxicological bioassay for *Pseudokirchneriella subcapitata*

$$\mu_{0-72h} = (\ln N_{72h} - \ln N_{0h}) / (72 h - 0 h)$$

で求めた。72時間の暴露期間を通じて藻類の生長を50%阻害するスラグ負荷率を藻類72時間半数生長阻害負荷率ErL₅₀とした。試験区と対照区の生長速度が等分散かF検定で検証後、スチューデントのt検定で対照区との有意差を5%で検定し、対照区と比較して統計的に有意な差が認められない試験最高濃度を無影響負荷率(No observed effect loading rate: NOELR)とした。

4.2 各種スラグの影響評価結果

転炉スラグの藻類生長抑制試験結果を図2に示す。各スラグ負荷率(0~100 mg/l)における72時間生長速度は平均値±標準偏差で表し、*は対照区との有意水準5%のt検定で統計的に有意な差があることを示している。転炉スラグは上限負荷率100 mg/lでも藻類の生長を50%阻害せず、ErL₅₀>100 mg/lであった。また負荷率47 mg/lで対照区と有意な生長抑制が認められたので、NOELR=22 mg/lと決定した。GHSの判定基準²⁾に照らし合わせると、転炉スラグのErL₅₀は1 mg/lより大きく、かつNOELRも1 mg/lより大きいいため、急性水生毒性も慢性水生毒性もないことが証明された。

同様の試験で、高炉水砕スラグ、高炉徐冷スラグ、溶銑

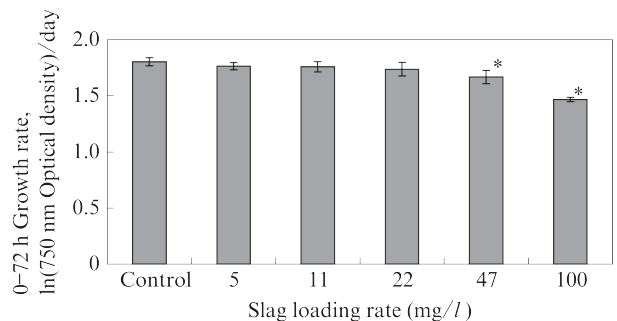


図2 転炉スラグのムレミカツキモの生長に及ぼす影響

Fig. 2 Effect of converter slag leachate on growth of *Pseudokirchneriella subcapitata*

表2 各種スラグの急性ならびに慢性影響負荷率

Table 2 Acute and chronic effective loading rate of various slags

| Slag | ErL _{50(0-72h)} (mg-slag l ⁻¹) | NOELR _(0-72h) (mg-slag l ⁻¹) |
|------------------------|--|--|
| Granulatedblastfurnace | > 100 | 47 |
| Air-cooledblastfurnace | > 100 | 22 |
| Pre-treatment | > 100 | 22 |
| Converter | > 100 | 22 |

ErL₅₀: Effective loading rate that causes 50% reduction in algal 0-72 h growth rate

NOELR: No observed effect loading rate in algal 0-72 h growth

表3 転炉スラグ水性画分の化学成分
Table 3 Composition of converter slag WAF

| Loading rate | (mg/l) | | | | | | | |
|--------------|--------|-----|------|------|--------|--------|-------|--------|
| | Ca | Mg | Mn | Al | Fe | Cr | Zn | Ni |
| 0 | 5.2 | 3.0 | 0.12 | 0.04 | < 0.01 | < 0.03 | < 0.4 | < 0.04 |
| 22 | 8.8 | 3.0 | 0.09 | 0.14 | < 0.01 | < 0.03 | < 0.4 | < 0.04 |
| 100 | 22.4 | 4.1 | 0.01 | 0.44 | < 0.01 | < 0.03 | < 0.4 | < 0.04 |

WAF: Water accommodation fraction

脱リンスラグを評価した。ErL₅₀とNOELRを表2にまとめた。いずれのスラグでもErL₅₀は試験上限負荷率に設定されている100 mg/lより大きいことがわかり、急性水生毒性はないと判定した。また、NOELRも22~47 mg/lと1 mg/lより大きいため、慢性水生毒性もないことがわかった。異なる4種類のスラグの藻類生長抑制試験結果から、鉄鋼スラグには水生毒性はないと判定した。

4.3 スラグからの溶出成分の影響評価結果

鉄鋼スラグには急性ならびに慢性水生毒性がないことが証明されたが、転炉スラグの高負荷率区では藻類の生長速度がやや抑制されたため、スラグからの溶出成分の影響についてさらに検討を進めた。

転炉スラグを各負荷率で水に22℃で48時間溶出させた水性画分を分析して、スラグからの溶出成分濃度を培地の成分濃度と比較した。その結果、表3に示すように、Ca, Mg, Alがスラグから溶出していた。逆に培地中のMn濃度はスラグの添加で低下していた。これは、スラグの添加で培地中のMnが沈殿したと考えられる。なお、Mn試薬を培地に溶解させた実験でMn減少は藻類生長への影響はないことを確認している。異なる濃度のCa, Mg, Alを含有する培地はCaCl₂・2H₂O, MgCl₂・6H₂O, Al(NO₃)₃・9H₂Oを用いて調製し、スラグを添加していない培地中の濃度(Ca 5.2 mg/l, Mg 3.0 mg/l, Al 0.04 mg/l)を対照として、藻類生長抑制試験を実施した。

結果を図3に示す。72時間生長速度は平均値±標準偏差で表し、*は対照区との有意水準5%のt検定で統計的に有意な差があることを示している。スラグの主成分であるCaは多量の溶出が想定されるので、最大負荷率として80 mg/lまで試験したところ、いずれの濃度区の生長速度には対照区との有意差はなかった。Mgも12 mg/lまで試験したが、対照区との有意差は認められなかった。一方、Alは0.2 mg/l濃度区で72時間藻類生長速度が7%抑制され、有意水準5%で対照区と有意差があった。100 μm以下に粉碎した転炉スラグの水性画分のAl濃度は、生長速度が抑制されたスラグ負荷率100 mg/lで0.44 mg/lであったことから、高負荷率の転炉スラグ水性画分が藻類の生長を抑制した原因は、スラグから溶出したAlである可能性が示された。

Alは水質環境基準の項目ではないが、酸性から中性環境

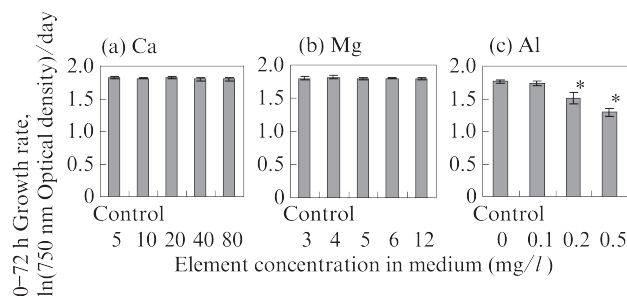


図3 Ca, Mg, Alのムレミカツキモの生長に及ぼす影響

Fig. 3 Effects of Ca, Mg, and Al on growth of *Pseudokirchneriella subcapitata*

下では植物や藻類への生長阻害作用が報告されている¹⁰⁻¹²⁾。一方、実際のスラグを考えてみると、多量に存在するスラグのCaO(水和物であるCa(OH)₂、炭酸化物であるCaCO₃が共存)は水に触れると周辺水はアルカリ性になる。藻類生長抑制試験では硝酸溶液にAlを溶解して高濃度条件を実現したが、スラグが存在するアルカリ性の条件ではAlは溶解しにくく、また利用形態である数十ミリメートルの塊状スラグからはさらに溶解しにくくなることから、実際にスラグを使用する環境では、スラグからのAlの溶解は促進されないと考えられる。

以上の結果より、スラグの主成分であるCaやMgが溶出しても藻類ムレミカツキモへの影響はないが、Alが溶出する環境、つまり酸性河川などでスラグを使用する場合は水生生物への影響を留意する必要があることがわかった。スラグの海域利用や海上輸送においては、海水は弱アルカリ性でスラグからのAlの溶出は促進されないことから、スラグに含有されるAlは藻類の生長に影響しないと考えている。

5. おわりに

海上輸送の国際条約の改正により、鉄鋼スラグの物理的・化学的な評価に加えて、人の健康および環境を保護するための生物的な評価も求められている。海域利用や海上輸送に必須な情報である鉄鋼スラグの水生環境有害性を、簡易生態影響試験方法(バイオアッセイ)で評価した。

(1) 鉄鋼スラグ協会では、鉄鋼スラグの水生毒性を魚類、ミジンコ類、藻類の3種のOECDテストガイドライン

で評価し、国際連合勧告 GHS の分類より急性ならびに慢性水生毒性がないことを証明した。

この結果を受けて、JFE スチールは、鉄鋼スラグ製品安全データシート SDS を改訂し、環境影響情報にスラグが水生環境有害物質に該当しないことを明記した。

- (2) 異なる製造工程で発生する高炉水砕スラグ、高炉徐冷スラグ、溶銑脱リンスラグ、転炉スラグを藻類生長抑制試験で評価した結果、4 種とも急性水生毒性ならびに慢性水生毒性は認められなかった。

また、スラグの主成分である Ca, Mg が溶出しても藻類に影響しないが、Al が溶出しやすい酸性河川などでスラグを使用する場合は水生生物への影響を留意する必要がある。

参考文献

- 1) IMSB コード未掲載の固体ばら積み貨物の審査について. 国土交通省. <http://www.mlit.go.jp/maritime/safetyenv/kotaishinsa/kotaishinsatop.html>.
- 2) United Nations. Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals(GHS). 5th revised ed., 2013.
- 3) 港湾における船内廃棄物の受入に関するガイドライン(案). 国土交通省. http://www.mlit.go.jp/kowan/kowan_tk6_000014.html.
- 4) Julli, Moreno. Ecotoxicity and chemistry of leachates from blast furnace and basic oxygen steel slags. Australas. J. Ecotoxicol. 1999, vol. 5, p. 123-132.
- 5) Proctor, Deborah M. et al. Assessment of human health and ecological risks posed by the uses of steel-industry slags in the environment. Hum. Ecol. Risk Assess. 2002, vol. 8, p. 681-711.
- 6) Wendling, Laura A. et al. Geochemical and ecotoxicological assessment of iron-and steel-making slags for potential use in environmental applications. Environ. Toxicol. Chem. 2013, vol. 32, p. 2602-2010.
- 7) たとえば, JFE スチール. 安全性データシート製鋼スラグ.
- 8) OECD guidelines for the testing of chemicals 201, Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test. 2006.
- 9) OECD guidance document No. 23, Guidance document on aquatic toxicity testing of difficult substances and mixtures. 2000.
- 10) 佐々木貴史ほか. 付着藻類の指標としたアルミニウムの河川生態系への影響に関する基礎研究. 環境工学研究論文集. 2006, vol. 43, p. 493-499.
- 11) Lindemann, J. et al. The impact of aluminium on green algae isolated from two hydrochemically different headwater streams, Bavaria, Germany. Environ. Pollut. 1990, vol. 67, p. 61-77.
- 12) Helliweli, Stuart. et al. Speciation and toxicity of aluminium in a model fresh water. Environ. Sci. Technol. Lett. 1983, vol. 4, p. 141-144.



八尾 泰子



井澤 智生