

技術論文

海域環境適用を想定した製鋼スラグ資材の生物に対する安全性評価

Environmental Safety Evaluation of Steelmaking Slag Applied to Coastal Environment

加藤 敏朗*
Toshiaki KATO

小杉 知佳
Chika KOSUGI

福島 寿和
Toshikazu FUKUSHIMA

楠井 隆史
Takashi KUSUI

抄 録

鉄鋼スラグ製品を海域環境中で利用するに際し、環境に対する有害性の視点から安全性を適切に評価する取り組みを継続してきた。これまでに、水生環境有害性を評価する標準法である淡水生物を用いた急性毒性試験、海域環境への適用を想定した海産生物や有用水産生物を用いた急性毒性試験、さらにはスラグ製品を設置して長期間稼働させたメソコスム水槽内の海水について海産生物を用いた慢性毒性試験を行った。これまでに調べた範囲においてスラグ資材に起因した生物に対する急性毒性および慢性毒性は観察されておらず、スラグ資材を海域環境で用いた場合の水生環境有害性は極めて低いものと判断している。

Abstract

Steelmaking slag came to be used in a marine environment and safety issue of slag material is a matter of concern. We are trying to provide the safety information of the slag material. First of all, we evaluated the aquatic environmental toxicity of steelmaking slag material in acute toxicity tests using three types of freshwater organisms. We then evaluated the toxicity of the leachate from steelmaking slag material in acute toxicity tests using seven types of marine organisms and three types of fisheries resource organisms. Moreover, experimental facility with mesocosm aquarium tank, which integrated tidal flat area and shallow area, was constructed in order to evaluate the environmental impact. Long-term operation over the five years from 2012 to 2017 was carried out to evaluate the long-term safety of slag materials. We observed the acute and chronic toxicity of seawater in the aquarium tanks by using three kinds of aquatic marine organisms such as bioluminescent bacteria, micro algae and copepod. As the results, it was judged that there was extremely low effect of acute or chronic toxicity on organisms caused by slag material as far as we examined.

1. 緒 言

鉄鋼スラグ製品は、コンクリート用骨材、路盤材、簡易舗装材などの建設資材、軟弱地盤の土壌改良材、農業用の肥料や土壌改良材などのような陸域用途に限定されることなく、最近では海域においても環境の修復や改善につながる環境資材としても利用が進み始めている。

海域での利用技術として、鉄鋼スラグやそれを原料とした人工石材などを構造材として利用するばかりでなく、鉄鋼スラグの特性を生かした機能材としての利用も提案されており、例えば海藻の肥料としてのミネラル供給材や浚渫土を改質するカルシア改質材などが挙げられ、それらを単独ないしは複合的に活用することにより、藻場や浅場など

の沿岸海域環境の造成に貢献する技術開発が進められている。

工業製品である鉄鋼スラグ資材を実際の環境中で利用するに際しては、材料としての有用性や安定性以外に、そこに生育する水生生物や生態系への影響、いわば安全性について多くのデータを集積することが重要である。

安全性を判断するには、個別具体的に有害な成分を物理化学的な分析によって分離定量する方法と個々の成分を特定することなく各種の生物に対する有害影響を観測する生物試験方法とがある。前者には、適用先の海水の水質を対象とした環境基準や水産用水基準、材料に含まれるもしくは溶出する有害成分を対象とした土壌環境基準や水底土砂判定基準などがある。また、適用場に生育する魚介類その

* 日鉄環境(株) 技術本部 技術企画部長 博士(学術) 東京都中央区京橋 1-18-1 〒104-0031
(前 新日鉄住金(株) 先端技術研究所 環境基盤研究部 上席主幹研究員)

他水産物が食品に供される可能性がある場合には、それら水産物に取り込まれた有害成分の含有量を対象とした食品衛生法の基準や国際食品規格などがある。

一方、後者の生物試験には、評価の目的に応じて適切な生物種を選定して急性毒性や慢性毒性を評価する方法が提示されている。例えば、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) では、安全データシート (SDS: Safety Data Sheet) に示すべき有害性情報として健康に対する有害性と環境に対する有害性を規定しており、標準的な試験方法として経済協力開発機構 (OECD: Organization for Economic Co-operation and Development) のテストガイドライン (以下、TG と略す) が提示されている。健康に対する有害性がない材料であることが大前提であることは言うまでもないが、環境中で使用された場合に予期せぬ、あるいは何らかの副次的な原因で環境に対する有害な影響について常に留意する必要があると考えている。

以下、本報告においては、環境に対する有害性の視点から鉄鋼スラグ資材の安全性を評価してきたこれまでの取り組みについて述べる。

2. 生物学的手法による環境影響評価

自然環境に対する有害影響を評価するには、その生態系を構成する食物連鎖を想定した各階層の生物に対する影響を評価する視点が基本とされている。食物連鎖は図 1 に示すように、光合成による一次生産を担う“生産者(Producers)”，それを食することで生命を育む“消費者(Consumers)”，さらに、それらの死骸を分解して広義の物質循環を下支えする“分解者(Decomposers)”の 3 区分と捉えることができる。水生環境においては、例えば、分解者としては細菌類や底生生物、生産者としては藻類や植物プランクトン、消費者としては魚類、貝類、甲殻類、動物プランクトンなどが挙

げられる。

2.1 淡水生物 (Freshwater organisms) を用いた影響評価

2.1.1 試験方法および結果

前記した GHS において、水生環境に対する有害性を評価するための最も基本的な標準法としては、藻類、甲殻類 (ミジンコ)、魚類を用いた急性毒性試験が提案されているが、いずれも試験生物として淡水生物が検討されてきた。これは、河川、湖沼等の淡水域への影響評価を主題にしてきた欧米を中心に発展してきた事情からと思われる。

海域環境を想定した場合、淡水生物よりもむしろ海産生物を用いた影響試験が直接的であるが、海産生物を用いた試験は必ずしも一般化しているわけではないので、まずは水生環境有害性評価の標準法である前記 3 種の淡水生物を用いた急性毒性試験を実施した。

転炉系製鋼スラグ試料を 100 μ m 以下に破碎し、100mg/L となるように純水に添加して試験液を調製した。なお、スラグ試料は微粉といえども難水溶性の多成分物質であるため、分散溶解後にろ過して得た水溶性画分りを生物試験に供試した。なお、出所の異なる 2 件の製鋼スラグを評価した。また、試料が試験液に完全には溶解していない可能性を考慮し、毒性試験結果は負荷率 (調整に用いた試料重量/試験液量, mg/L) で表記した。

(1) 藻類生長阻害試験

OECD TG201²⁾に基づき、緑藻ムレミカヅキモ *Pseudokirchneriella subcapitata* を用いて実施した。試験液は公比 1.8 にて希釈列を調整し、試験に供した。試験液への曝露開始後 72 時間経過までの生長速度に基づいて半数生長阻害負荷率 (ErL₅₀: Effective loading rate that causes 50% reduction in algal growth rate) を算出した。結果は表 1 に示すように、2 件の試料ともに試験最高濃度での阻害率が 50% 未満であったため ErL₅₀ は 100mg/L よりも大きいと判断した。また、

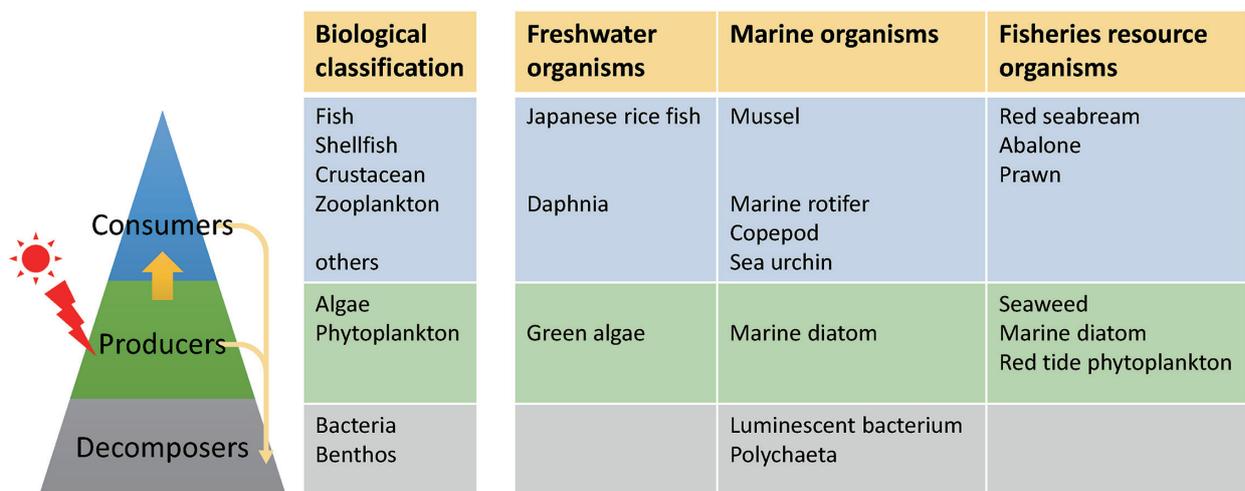


図 1 試験生物選定の考え方および検討した生物種
Selection of toxicity test organisms based on ecological pyramid

表 1 生態毒性評価のための水生生物急性毒性試験結果
Acute aquatic toxicity tests for evaluation of ecological safety

| Test name | Method | Test organism | Test period | Endpoint | Result #1 | Result #2 |
|---------------------------------------|-------------------|--|-------------|-------------------|-----------|-----------|
| Algal growth inhibition test | OECD TG201 (2009) | <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> | 72 hours | ErL ₅₀ | >100 mg/L | >100 mg/L |
| | | | | NOELRr | 56 mg/L | 18 mg/L |
| Daphnia sp. acute immobilisation test | OECD TG202 (2004) | <i>Daphnia magna</i> | 48 hours | EL ₅₀ | >100 mg/L | >100 mg/L |
| Fish, acute toxicity test | OECD TG203 (1992) | <i>Oryzias latipes</i> | 96 hours | LL ₅₀ | >100 mg/L | >100 mg/L |

対照区と比較して有意な生長阻害が認められなかった試験区の負荷率として、一方は 56mg/L、他方は 18mg/L であったことから、今回の試験結果ではその濃度を最大無影響負荷率 (NOELRr; No observed effect loading rate) と判断した。さらに、72 時間経過時の細胞の形態変化 (収縮, 膨張, 破裂等) や細胞凝集などは観察されなかった。

(2) オオミジンコ急性遊泳阻害試験

OECD TG202³⁾に基づき、オオミジンコ *Daphnia magna* を用いて実施した。1 条件当たり 20 頭のオオミジンコを試験液に曝露して 48 時間後に運動性を失った個体の割合で阻害率を判断した。2 件の試料ともに最大濃度においても遊泳阻害が観察されなかったことから、表 1 に示すように、半数遊泳阻害負荷率 (EL₅₀; Median effective loading rate) は 100mg/L よりも大きいと判断した。

(3) 魚類急性毒性試験

OECD TG203⁴⁾に基づき、ヒメダカ *Oryzias latipes* を用いて実施した。1 条件当たり 10 尾のヒメダカを試験液に曝露して 96 時間後の死亡個体の割合で致死率を判断した。2 件の試料ともに最大濃度においても致死個体が観察されなかったことから、表 1 に示すように、半数致死負荷率 (LL₅₀; Median lethal loading rate) は 100mg/L よりも大きいと判断した。

2.1.2 試験結果に基づく水生毒性の判定

前記 3 種の急性毒性試験結果に基づいて急性水生毒性を判断することになるが、今回の試験結果は 2 種のスラグ試料に関してはいずれの試験ともに半数影響負荷率が 100mg/L を超えていたことから、GHS が規定している急性水生毒性物質に該当しないと判断できる。

なお、藻類生長試験での無影響濃度に基づいて慢性毒性 (長期間有害性) を評価できるとされており、今回の試験結果は GHS が規定している慢性水生毒性物質に該当しない。しかし、慢性水生毒性を厳密に判定するにはこれに加えて、甲殻類 (ミジンコ) 繁殖試験および魚類の初期生活段階毒性試験の試験結果を含めて総合的に判断する必要がある。

2.2 海産生物を用いた影響評価

2.2.1 海産生物 (Marine organisms) を用いた生態毒性の視点

海域環境への適用を想定した場合、より直接的には海産

生物に対する影響を評価すべきと考え、図 1 に示すような 7 種の生物を選定して検討を行った。それぞれの生物種について参考とすべき試験方法が提案されているが、スラグの評価に適用可能かどうか、また、影響が観測された場合にその原因や理由が供試材に起因したのか、あるいは試験方法の制約によるものかなどを追及する必要性を鑑み、試験方法の最適化を含め、独自に取り組んだ。検討を行った急性毒性試験は、①ムラサキガイ *Mytilus galloprovincialis* の 96 時間致死性、②海産ワムシ *Brachionus plicatilis* の 24 時間致死性、③シオダマリミジンコ *Tigriopus japonicus* の 48 時間遊泳阻害性、④ムラサキウニ *Heliocidaris crassispina* の卵受精阻害性、⑤海産珪藻 *Phaeodactylum tricornutum* の 72 時間生長阻害性、⑥海洋性発光細菌 *Vivrio fischeri* の発光阻害性、⑦ゴカイ *Hediste sp.* の 96 時間致死性を判断した。食物連鎖上の階層としては、①~④が消費者、⑤が生産者、⑥・⑦が分解者の想定である。

試験は、“スラグ類の化学物質試験方法 - 第 1 部: 溶出量試験方法 (JIS K 0058-1:2005)” に準拠して、各種の転炉系製鋼スラグを有姿のまま人工海水を溶媒として固液比 1:10 で溶出した液を調製し、それを供試液とした。本報告では結果の詳細は割愛するが、炭酸化処理した製鋼スラグの溶出液は pH 上昇が 9 程度と小さく、急性毒性はほとんど認められなかった。一方、未エージングの製鋼スラグの溶出液は pH が 12 程度まで上昇し、有害影響が観察されたが、pH を中和しても一部の試験で有害影響が残存したため、阻害要因を検討した結果、溶出時の pH 上昇に伴う海水中のイオン濃度の極端な濃度変化 (Ca 濃度上昇, Mg 濃度低下) の影響が推定⁵⁾され、スラグの有害性を評価するには試験方法の適否についても十分に配慮する必要があることがわかった。

2.2.2 水産資源 (Fisheries resource organisms) への影響評価の視点

スラグの適用先が漁業水域である場合、水産資源に対する資材の安全性を確認するために、従来の生態毒性とは異なる視点、すなわち水産資源として有用な魚介類に対する影響評価を実施する必要がある。そこで、(一財) 全国水産技術者協会からの助言に基づいて図 1 に示した 6 種の水産関連生物、すなわち、①クロマグロ *Pagrus major*、②クロアワビ *Haliotis discus*、③クルマエビ *Marsupenaeus japonicus*、④ササビノリ *Porphyra yezoensis*、⑤海産珪藻

Skeletonema costatum, ⑥赤潮プランクトン *Heterosigma akashiwo* について急性毒性試験等を実施した。具体的には、漁場造成・再生用資器材として開発したビバリー® シリーズ、および、漁場環境修復技術として開発したカルシア改質材について評価を行い、いずれの生物種に対しても有害な影響が観察されなかったことから、有用かつ安全な利用技術として認定されるに至った⁶⁾。

3. メソコスム水槽を用いた環境影響評価⁷⁾

スラグ製品を自然の海域環境中で長期間使用するためには、長期的な安全性や生物に対する慢性毒性についてのデータを取り続けることが重要である。我々は、2011年に干潟浅場一体型のメソコスム水槽設備を開設した。予備実験の後に、カルシア改質した浚渫土（以下、カルシア改質土という）を用いて水槽内に干潟と浅場を造成し、干潟にはアサリを投入し、浅場にはアマモを移植した。この水槽を2012年から2017年までの5年間にわたって長期稼働させ、水槽内の水質や生物の変化を観測するとともに、水槽内の海水について複数種の海産生物を用いた急性および慢性の生物影響評価を実施することで長期安全性評価を目指した。

3.1 水槽実験⁸⁾

実験に用いた干潟浅場一体型のメソコスム水槽は干潟ゾーンと浅場ゾーンのある扇型的水槽であり、造波と潮汐を設定した。また、実験水槽は窓のない屋内に設置しており、水槽上部に設置した人工照明にて昼夜を再現し、さらに、夏場の海水温上昇を回避するため、海水冷却装置を付帯している。実験水槽を2式用意し、一方は浚渫土のみを基盤材として施工した対照区（以下 A 区）とし、他方はカルシア改質土を基盤材として施工した実験区（以下 B 区）とした。浅場ゾーンの基盤材にはアマモを植生し、干潟ゾーンにはアサリを投入した。本実験水槽を設置した千葉県富津市の研究施設の地先から採取した東京湾の海水を通水し、2012年9月から2017年8月までの5か年にわたって長期稼働させた。

3.2 水生生物試験

2013年11月、2014年7月、および2015年1月に水槽内の海水およびその時の流入海水を採取し、3種の生物影響試験に供した。

(1) 海洋性発光細菌試験

海洋性発光細菌 *Vibrio fisheri* を用いた試験法で、他の毒性試験の結果との相関が比較的高く、短時間で結果が得られるために簡易毒性スクリーニング法として世界中で用いられている。ここでは、市販キット（米国 Strategic Diagnostics Inc. 社製マイクロトックス毒性試験システム、装置：Microtox5000）を用い、試験は付属のマニュアルに従って

行った。なお、実験水槽に流入する天然海水（東京湾海水）をブランク海水として比較に用いた。

3回の評価の結果、ほぼ同様の傾向が得られたため、2014年の試験結果を典型例として図2⁷⁾に示した。ブランク海水、A区、B区のいずれの試料についても濃度の増加とともに発光量が増加する傾向が認められた。これは試験に用いる発光細菌液が2%塩化ナトリウム溶液であるのに対して、天然海水はカルシウムイオンを含んでいることから、供試海水の添加に応じてカルシウムイオン濃度が高まり、発光量が高まったものと考えられる⁹⁾。一方、いずれの供試海水についても濃度依存的な発光量の低下傾向は認められないことから、今回の試料中には発光細菌の活性を阻害する成分は含まれていないと判断される。

(2) 藻類生長阻害試験

珪藻 *Chaetoceros gracilis* を用いて海産藻類生長阻害試験の公定法⁹⁻¹¹⁾に準拠して実施した。72時間培養時の生長速度を算出し、ブランク海水のそれと比較して生長阻害の程度を判定した。

3回の評価結果を図3⁷⁾に示した。いずれの試験においても対数増殖が認められ、ブランク海水についての生長速度は2013年、2014年、2015年でそれぞれ 1.79 ± 0.02 , 1.54 ± 0.02 , 1.60 ± 0.05 /日であった。2013年の試験および

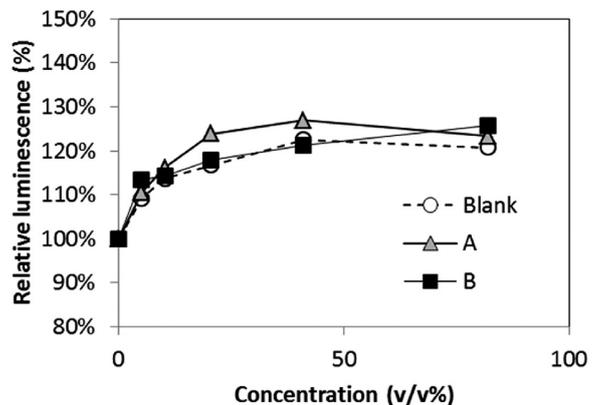


図2 海洋性発光細菌の発光阻害試験結果⁷⁾
Example of results of luminescent bacteria test⁷⁾

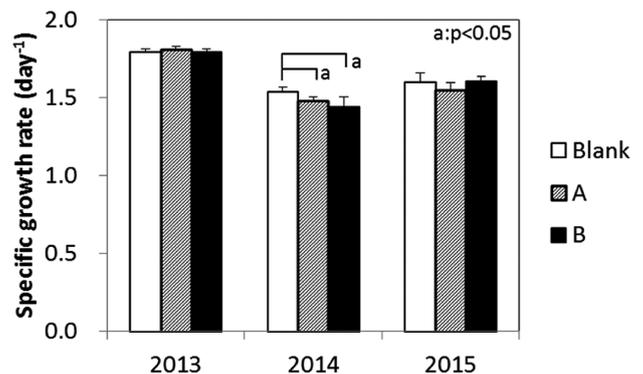


図3 藻類生長阻害試験結果⁷⁾
Results of algal growth inhibition test⁷⁾

2015年の試験についてはブランク海水、A区(対照区)、B区(実験区)の3条件でそれぞれ有意差がなかった。一方、2014年の試験において、ブランク海水とA区(対照区)、ブランク海水とB区(実験区)の間で有意水準5%の有意差が観察され、ブランク海水を基準とした場合の生長阻害率はA区で4.3%、B区で6.4%であった。しかし、A区とB区の間で有意差が認められなかったことから、スラグ資材に起因した藻類生長阻害は認められないと判断した。

(3) カイアシ類繁殖阻害試験

カイアシ類(橈脚類, copepoda)は、ワムシ類同様、食物連鎖においては消費者(動物プランクトン)として、生産者(藻類)と高次消費者(魚類等)の中間に位置し生態学的に重要な役割を担っている。ここではまず、水産庁で検討されたシオダマリミジンコ *Tigriopus japonicus* (以下、チグリオプス)を用いた急性毒性試験¹²⁾に準拠した方法を実施し、次に、水産庁ガイドライン⁹⁾のチグリオプスの繁殖阻害試験方法に準拠して、慢性毒性試験法を実施した。

チグリオプスは受精卵から孵化し、ノープリウス幼生と呼ばれる初期幼生となり、複数回の脱皮を繰り返したのち、コペポデイドと呼ばれる成体へと変態する。水産庁のガイドライン⁹⁾では、24時間ないしは48時間の試験期間における致死性で急性毒性を判断しているが、我々は、21日間にわたる曝露試験を実施して毒性影響を評価した。まず、試験開始初期の8日目までの致死性とノープリウス幼生からコペポデイドへの変態を指標として亜慢性毒性を判断した。さらに、その後の21日目まで、判定項目として、ノープリウス幼生からコペポデイドへの変態に要した日数、雌個体が試験開始から初回の抱卵および産卵まで要した日数、1個体の雌が試験期間中に産仔した回数・1回あたり

の産仔幼生数・累積産仔幼生数に基づいて、慢性毒性を評価した。

まず、亜慢性毒性試験の結果を表2⁷⁾に示した。2013年のB区、2014年のブランク海水、2015年のブランク海水およびA区において試験に供した24個体中の1~3個体の致死が観察された。一方、いずれの試験区についても8日目まで生存していた個体はすべて成体へ変態した。

次いで、慢性毒性試験の結果を図4⁷⁾に示した。幼生から成体への変態に要した平均日数(図4(a))では、2013年と2015年のB区においてブランク海水に対して有意な遅延(有意水準はそれぞれ1%未満、5%未満)が認められ、有害成分の存在、あるいは、有用成分の欠如を示唆しているが、平均変態日数自体は同時期に実施した他の天然海水と差がなかったため、軽微な影響であると判断した。最初の抱卵までに要した平均日数(図4(b))では、2013年のA区でブランク海水に対して有意な遅延(有意水準5%未満)が認められたが、B区で有意差が見られなかった。最初の産仔までに要した平均日数(図4(c))についてはいずれの年次についてもA区、B区における有意な遅延が観察されなかった。雌1個体の1回あたりの平均産仔数(図4(d))については、2014年のA区でブランク海水に対して有意差(有意水準5%未満)が認められたが、B区で有意差が

表2 カイアシ類繁殖阻害試験結果⁷⁾
Results of sub-chronic toxicity test with marine copepods⁷⁾

| Year | 8 days mortality (%) | | | 8 days metamorphosis (%) | | |
|------|----------------------|-----|-----|--------------------------|-----|-----|
| | Blank | A | B | Blank | A | B |
| 2013 | 0 | 0 | 2.9 | 100 | 100 | 100 |
| 2014 | 2.9 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| 2015 | 2.9 | 8.6 | 0 | 100 | 100 | 100 |

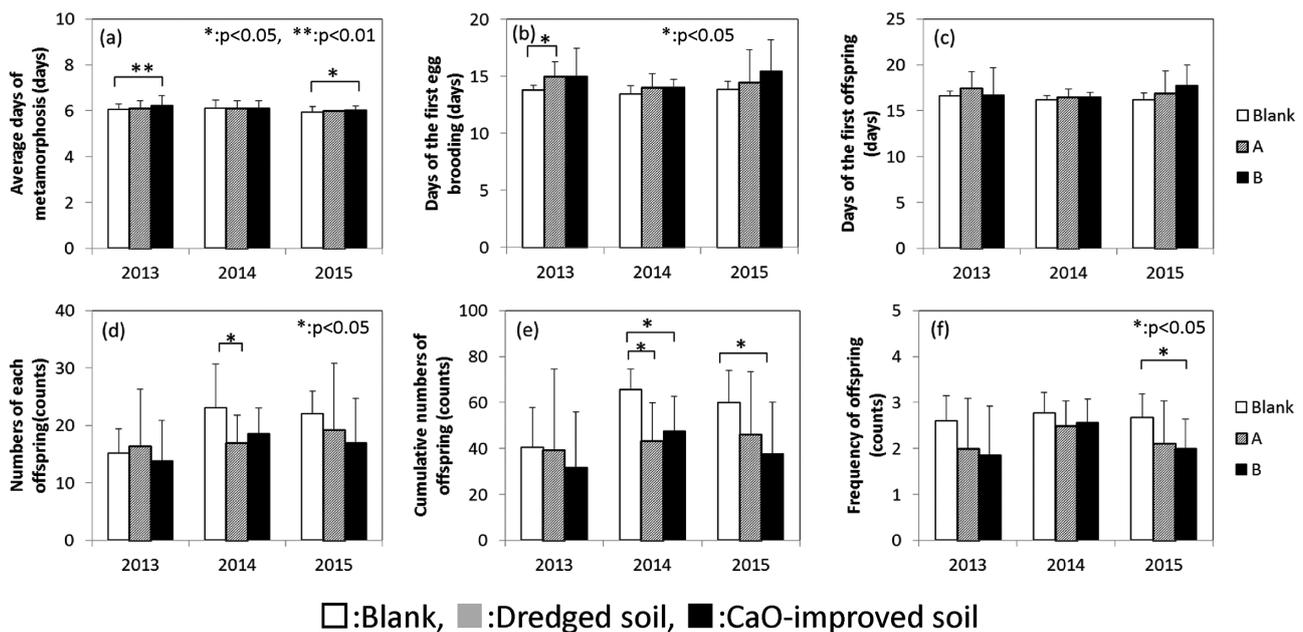


図4 カイアシ類繁殖阻害試験結果⁷⁾
Results of chronic toxicity test with marine copepods⁷⁾

認められなかった。雌1個体の平均累積産仔数(図4(e))については、2014年のA区およびB区、また、2015年のA区でそれぞれブランク海水との有意差(有意水準5%未満)が認められたが、いずれの年次ともA区とB区との間で有意差は認められなかった。雌1個体の平均産仔回数(図4(f))については、2015年のB区でブランク海水との有意差(有意水準5%未満)が認められたが、いずれの年次ともA区とB区との間で有意差は認められなかった。

以上の結果から、ブランク海水とB区の海水との間で有意差が観察されることがあったが、A区とB区との間で有意差が観察されることがなかったことから、スラグ資材に起因したカイアシ類に対する亜慢性および慢性毒性影響は認められないと判断した。

4. 結 言

鉄鋼スラグ製品を水産用資材として海域環境中で利用するに際し、環境に対する有害性の視点から鉄鋼スラグ資材の安全性を適切に評価する取り組みを継続してきた。GHSが規定している水生環境有害性を評価するための淡水生物を用いた急性毒性試験を手始めに、次いで、海域環境への適用を想定した海産生物や有用水産生物を用いた急性毒性試験を行い、さらには海域環境を模擬したメソコスム水槽でスラグ製品を設置して長期間稼働させ、水槽内の海水について海産生物を用いた慢性毒性試験を行った。これまでに調べた範囲においてスラグ資材に起因した生物に対する

急性毒性および慢性毒性は観察されておらず、スラグ資材を海域環境で用いた場合の水生環境有害性は極めて低いものと判断している。

参考文献

- 1) OECD: Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixture, 2000
- 2) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test, 2009
- 3) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 202: *Daphnia sp.* Acute Immobilization Test, 2004
- 4) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test, 1992
- 5) 三木理 ほか: 水環境学会誌. 33 (9), 141 (2010)
- 6) 加藤敏朗 ほか: 新日鉄住金技報. (399), 85 (2014)
- 7) 加藤敏朗 ほか: 鉄と鋼. 106 (1), 50 (2020)
- 8) 小杉知佳 ほか: 日本製鉄技報. (417), 52 (2021)
- 9) 海産生物毒性試験指針, 水産庁, 東京, 2010
- 10) ASTM E 1218-04:2004, Standard Guide for Conducting Static Toxicity Tests with Microalgae
- 11) ISO10253:2006(E), Water quality—Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*
- 12) 魚介類水質環境基準検討調査総合報告書(海産生物毒性試験指針), 水産庁, 東京, 2000



加藤敏朗 Toshiaki KATO
日鉄環境(株)
技術本部 技術企画部長 博士(学術)
東京都中央区京橋1-18-1 〒104-0031
(前 新日鉄住金(株) 先端技術研究所
環境基盤研究部 上席主幹研究員)



小杉知佳 Chika KOSUGI
先端技術研究所 環境基盤研究部
主幹研究員 博士(水産科学)



福島寿和 Toshikazu FUKUSHIMA
先端技術研究所 環境基盤研究部
主幹研究員 博士(環境学)



楠井隆史 Takashi KUSUI
富山県立大学 名誉教授 工学博士