

II-489

活性汚泥より分離した *Enterobacter cloacae* H01 による  
六価クロムの除去と回収に関する研究

建設省土木研究所 正 小森行也 正 中村栄一  
東大 応微研 戸田 清 大竹久夫

1. はじめに

重金属ストレスに対する細菌の主な防御機構は、毒性イオンの膜輸送の調節または交換機能と関係している。膜輸送の調節は重金属イオンの細胞内蓄積の低減または防止であり、交換の機能は酵素反応による毒性イオンの無害化を意味している。重金属ストレスに対する細菌の防御機能の解明は、環境改善技術への応用を考える上で、また、自然環境中での重金属による生物への影響や循環を理解する上で基本的に重要である。中でも六価クロムイオンに対する細菌の防御機能は、環境改善技術への応用の可能性からみると最も興味深い。細菌の六価クロムストレス防御機能は、六価クロムイオンの膜輸送の調節と交換の機能に関係している。六価クロムイオンは、細菌の硫酸イオン能動輸送系により細胞内に入り込みその強力な酸化力により細菌の増殖を阻害するが、六価クロム耐性プラスミド上の膜輸送調節型耐性遺伝子は六価クロムイオンの細胞内蓄積を防止する<sup>1)2)</sup>。また、活性汚泥より分離した *Enterobacter cloacae* H01 は、膜輸送調節型六価クロム耐性機構に加えて六価クロムの三価クロムへの還元による防御機能も有している<sup>3)</sup>。六価クロムは三価クロムに還元されると、その酸化力を失って毒性が著しく低下するばかりか、水酸イオンと反応して水酸化クロムの白色沈澱を形成する。

本研究では、活性汚泥より分離した *E. cloacae* H01 による六価クロムの除去と回収について検討したので報告する。

2. 実験方法

実験に用いた *E. cloacae* H01 は都市下水処理場の活性汚泥より分離し、表-1に示す KSC 培地(pH7)に  $K_2CrO_4$  を 0.5mM (25.5mgCr/l)となるように添加し、嫌気培養しているものである。六価クロムの測定はジフェニルカルバジドを用いた比色測定法により、全クロムの測定は原子吸光度計により行った。また、実験は 30℃の恒温水槽内で行った。

2. 1 イオン交換膜型リアクターを用いた実験

六価クロムは陰イオンであり、*E. cloacae* H01 により還元された三価クロムは陽イオンであるため、陰イオン交換膜による分離の可能性があり図-1に示すイオン交換膜型リアクターを考案した。A槽に添加した六価クロムは陰イオン交換膜を透過しB槽へ移動できるが *E. cloacae* H01 により還元された三価クロムは陰イオン交換膜を透過できずB槽に留まることになる。従ってA槽から六価クロムは除去され、B槽に三価クロムとして回収されることになる。

A、B各槽の内容積は 650ml の円筒型でありA、B各槽の間を陰イオン交換膜 (26cm<sup>2</sup>) で区切っている。実験はA槽に  $K_2CrO_4$  を含む KSC 培地 600ml を加え、B槽に KSC 培地に *E. cloacae* H01 を接種したものを 600ml 加えた。また、B槽には  $CrO_4^{2-}$  のカウンターイオンとして  $Cl^-$  を等量添加した。

2. 2 透析チューブを用いた実験

*E. cloacae* H01 により還元された三価クロムは水酸イオンと反応し、水酸化クロムの沈澱を生じることから透析チューブを用いた三価クロム回収実験を行った。半透膜でできた透析子

表-1 KSC 培地

Casamino Acids (Difco)	1g	$KH_2PO_4$	0.05g
sodium acetate	2g	NaCl	0.01g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1g	$FeCl_3$	0.005g
$NH_4Cl$	0.03g	$CaCO_3$	0.005g
$K_2HPO_4$	0.03g	tap water	100ml
		distilled water	900ml

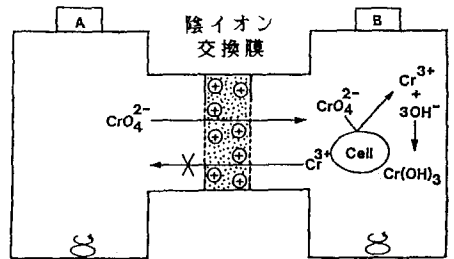


図-1 イオン交換膜型リアクター

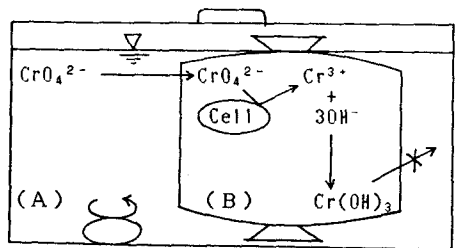


図-2 透析チューブによる方法

チューブは  $CrO_4^{2-}$  イオンを透過させるが粒子が大きい  $Cr(OH)_3$  や *E. cloacae* H01 は透過することが出来ないと考えられる。よって図-2の透析チューブを用い六価クロムの除去と回収を試みた。500ml の蓋付き容器に  $K_2CrO_4$  を含む KSC 培地 (A) を 300ml 入れ、そこに透析チューブに *E. cloacae* H01 を接種した KSC 培地 (B) 150ml を密封し (A) に沈めた。

3. 結果と考察

3.1 イオン交換膜型リアクターを用いた実験

実験結果を図-3に示した。先ず、実験1としてA、B各槽に蒸留水 600ml を入れ、A槽に  $K_2CrO_4$  1mM、B槽に KCl 2mM を添加し  $CrO_4^{2-}$  イオンの膜透過速度を確認した。図-3に示すとおり約24時間でA、B両槽は平衡濃度に達している。この実験に対しA槽に  $K_2CrO_4$  1mM を含む KSC 培地、B槽には KSC 培地に *E. cloacae* H01 を接種し KCl 2mM を添加した実験2では、A槽の六価クロムは徐々に減少しているが、B槽から六価クロムはほとんど検出されない。即ち、当初考えたとおり六価クロムはA槽からB槽へ移動し *E. cloacae* H01 により還元されていることを裏づけている。全クロムの測定結果から2日経過で 93% のクロムがA槽から除かれB槽に回収されたことがわかった。また、EPR (電子スピン共鳴) 解析によりB槽のクロムは三価であることを確認している。

3.2 透析チューブを用いた実験

溶液 (A) の六価クロム濃度の経時変化を測定し (A) の六価クロムが検出限界以下 (0.005mM) になるまでに要した時間とその時点の (A) の全クロム濃度を表-2に示した。(A) の六価クロムが検出限界以下になった時点でも全クロムは検出されているが、これは (A) の六価クロムが (B) に移動し *E. cloacae* H01 により還元され三価クロムになり、その後 (A) に戻ったものと考えられる。水酸イオンと反応し水酸化クロムの沈澱となったあとは透析チューブを透過することはないと考えられるため  $Cr^{3+}$  イオンに還元された後、 $Cr^{3+}$  イオンの状態で透過したのと考えられる。また、本実験での全クロムの除去率 (回収率) は 72~91% であった。

4. まとめ

これまで六価クロムの除去あるいは回収については物理化学的方法が主であったが、本研究のように微生物による六価クロムの還元を利用して六価クロムを除去あるいは回収する方法は初めてである。上記した方法以外に *E. cloacae* H01 を用いた六価クロムの除去方法は多数あると考えられるが、今後の課題として処理すべき廃液が他の重金属と共存する場合や種々の有機物を含有している場合等、六価クロムの除去に及ぼす影響を更に検討する必要がある。

参考文献

- 1) H.Ohtake, C.Cervantes and S.Silver : J.Bacteriol. 169,3853-3856(1987)
- 2) C.Cervantes and H.Ohtake : FEMS Microbiology Letters 56,173-176(1988)
- 3) P-C Wang, T.Mori, K.Komori, M.Sasatu, K.Toda and H.Ohtake : Appl.Environ.Microbiol. (投稿中)

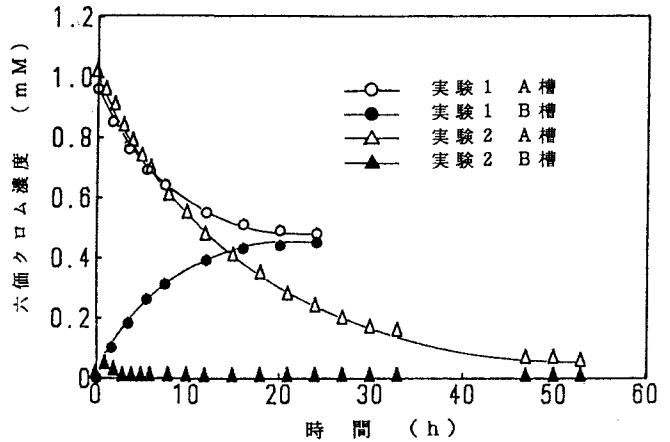


図-3 イオン交換膜型リアクターを用いた実験結果

表-2 透析チューブを用いた実験結果

六価クロム濃度	六価クロム完全除去に要した日数	六価クロム除去後の全クロム濃度(A)溶液	全クロムの除去率
1mM	1.5日	0.12mM	89%
2mM	2日	0.19mM	91%
3mM	3日	0.38mM	88%
4mM	4日	0.52mM	86%
5mM	7日	1.42mM	72%