



Title	ENRICHMENT, ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF CHEMOLITHOAUTOTROPHIC ARSENITE OXIDIZING BACTERIA FOR REMOVAL OF ARSENIC FROM WATER PHASE
Author(s)	Nguyen, Ai Le
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/54441
rights	©2012. This manuscript version is made available under the CC-BY-NC-ND 4.0 license.
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【176】

氏 名	グエン アイ レ NGUYEN AI LE
博士の専攻分野の名称	博 士（工学）
学 位 記 番 号	第 2 6 2 4 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 25 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科環境・エネルギー工学専攻
学 位 論 文 名	ENRICHMENT, ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF CHEMOLITHOAUTOTROPHIC ARSENITE OXIDIZING BACTERIA FOR REMOVAL OF ARSENIC FROM WATER PHASE （水相からのヒ素の除去を目指した化学合成独立栄養亜ヒ酸酸化細菌の 集積、単離、及び特徴付け）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教 授 池 道彦 （副査） 教 授 西嶋 茂宏 准教授 惣田 訓

論 文 内 容 の 要 旨

Arsenic contamination in groundwater has caused severe health problems throughout the world. Developing cost effective processes for arsenic removal is an emerging issue. Because As(III) is predominant in groundwater and is more difficult to remove than As(V), oxidation of As(III) to As(V) is necessary to improve

overall arsenic removal. This study was undertaken to enrich arsenite oxidizing bacteria under the autotrophic condition and isolate and characterize facultative chemolithoautotrophic arsenite-oxidizing bacteria (CAOs) that can oxidize As(III) effectively to As(V).

In Chapter 1, the general introduction about arsenic contaminated groundwater problems around the world and recent arsenic removal methods were reviewed. The aim and scope of this study were also laid out.

In Chapter 2, an enrichment culture which adapted wide As(III) concentrations and completely oxidized 12 mM As(III) within 4 days under the autotrophic condition was established and maintained by repeated subculturing with providing NaHCO_3 and As(III) as the sole carbon and energy sources, respectively. Furthermore, distinct CAOs that were well-adapted to a given As(III) concentration became dominant, and also that other CAOs that do not play a major role in oxidizing As(III) at certain As(III) concentrations can survive without complete disappearance in the enrichment culture.

In Chapter 3, six of ten isolated strains (B1, B2, C, D, E1 and E2) were CAOs, belonged to *β -Proteobacteria*, and commonly contained the *aoxB* genes encoding the arsenite oxidase large subunit. These isolated CAOs were considerably different in their As(III) oxidation capabilities. Strains B1, B2, E1, and E2 efficiently oxidized 1–10 mM As(III). The others showed efficient oxidation at 1–5 mM As(III). The $V_{\max}$ and K_m values of the six CAO strains ranged from 0.22–0.28 mmol As(III)/(mg cell hr) and 0.51–0.73 mmol/L, respectively.

In Chapter 4, the ability of CAO strain B1 in oxidizing As(III) at both initial concentrations of 0.1 and 1.0 mM in model contaminated Rokko and Contrex waters which represent low and high hardness natural waters, respectively were elucidated. The adsorption of 75 to 1000 $\mu\text{g/L}$ As(III) (before bacterial oxidation) and As(V) (after bacterial oxidation) by AA in model waters well obeyed the Langmuir and Freundlich isotherms with correlation coefficients (r^2) higher than 0.971, and the $Q_{\max}$ values were higher for As(V) resulting from As(III) microbial oxidation than for As(III) originally added into model waters, confirming that the microbial oxidation can certainly enhance the arsenic removal from low and high hardness model natural waters by adsorption with AA.

In chapter 5, the results of this study were summarized and concluded. The results of this study suggest that the pre-treatment is an effective method in promoting the overall arsenic removal from contaminated water with a variety of matrices. The combination of microbial As(III) oxidation using CAOs and AA adsorption would improve the reliability of the As treatment and maintain As level within the acceptable drinking water standards, making it an essential strategy in the future. Further investigation is needed for the full scale application of this system to achieve a long-term operation with sufficient performance.

論文審査の結果の要旨

ヒ素による地下水の汚染は世界中で深刻な健康被害をもたらしており、低コストなヒ素汚染浄化技術の開発が熱望されている。ここで、地下水中でのヒ素の主な存在形態である亜ヒ酸 (As(III)) は、ヒ酸 (As(V)) と比較して凝集沈殿や吸着による除去が困難であることから、浄化の前処理法として、安価かつ効率的に As(III) を As(V) に酸化する手法を確立することが重要な課題となっている。As(III) の酸化にはオゾンなどの酸化剤が用いられているが、化学的酸化は高コストであり、薬剤や反応副産物が処理水中に残存する懸念もあることから、その代替技術として、栄養塩以外を添加することなく、低コストで特異的に As(III) 酸化を触媒する独立栄養亜ヒ酸酸化細菌 (CAOs) の活用を提案することができる。

本論文は、安価な As(III) 酸化プロセスの構築を最終的な目標に見据え、水中の As(III) を効率的に酸化することのできる CAOs の取得と特徴付けを行った一連の研究を取りまとめたものであり、5 章構成となっている。

第 1 章では、世界の地下水のヒ素汚染の現状を概観するとともに、現在実用化されている地下水のヒ素汚染浄化技術について整理し、それらの問題点を明確にするとともに、本研究の目的を設定している。

第 2 章では、幅広い濃度の As(III) を酸化し得る CAOs の集積培養系の取得を試みている。その結果、ヒ素汚染土壌から、独立栄養条件下において 4 日間で 12 mM の As(III) を As(V) にまで完全に酸化することのできる極めて効率的な As(III) 酸化微生物集積系を構築している。また、その微生物群集構造を解析し、集積系内には、12 mM という極めて高濃度の As(III) に適応して優占化している CAOs のみでなく、その条件下では必ずしも As(III) 酸化に中心的な役割を果たしていないと考えられる多様な CAOs も少数ながら存在していることを明らかにしている。

第 3 章では、集積系より単離した 6 株 (B1, B2, C, D, E1, E2) の CAOs を特徴付け、いずれもが β -Proteobacteria

に属し、As(III) 酸化酵素の large subunit をコードする *aoxB* 遺伝子を共通して保持していることを示している。これらの CAOs は As(III) 酸化能力がそれぞれ異なっており、B1 株、B2 株、E1 株、および E2 株は 1–10 mM の As(III) を効率的に酸化する一方、C 株および D 株はやや低濃度の 1–5 mM の As(III) を効率的に酸化することを示し、これら 6 株の As(III) に対する最大比酸化速度および半飽和定数が、それぞれ 0.22–0.28 mmol/(mg-cell $\cdot$ hr) および 0.51–0.73 mM の範囲にあることも明らかにしている。

第 4 章では、B1 株の As(III) 酸化能力を軟水および硬水を模擬した 2 種のモデル地下水中で調べている。その結果、いずれの硬度のモデル地下水中においても、適量の栄養塩類 (窒素およびリン) を添加するだけで、B1 株が効率的に 0.1 mM または 1 mM の初期濃度の As(III) を酸化できることを明らかにしている。また、両モデル地下水において、B1 株による As(III) 酸化を行うことによって、活性アルミナによる水相からのヒ素の吸着除去率が大幅に向上することを確認している。

第 5 章では、以上の成果を総括し、ここで取得した CAOs の集積培養系や分離菌株を用いることで、多様な化学組成を持つ地下水中の As(III) を効率的に酸化し、凝集沈殿や吸着によるヒ素の除去率を安価に向上できることを結論付けるとともに、今後の実用技術開発へ向けての課題を述べている。

以上のように、本論文は環境・エネルギー工学、特に、ヒ素汚染地下水の浄化技術の開発に寄与するところが大きい。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。