УДК 628.31:628.35

© И. И. Иваненко, канд. техн. наук, доцент
© А. М. Новикова, старший лаборант
(Санкт-Петербургский государственный
архитектурно-строительный университет)
E-mail: i5657@mail.ru, antonina.amin2016@yandex.ru

DOI 10.23968/1999-5571-2018-15-2-175-183

© I. I. Ivanenko, PhD in Sci. Tech., Associate Professor
© A. M. Novikova, senior laboratory assistant
(Saint Petersburg State University of Architecture
and Civil Engineering)
E-mail: i5657@mail.ru, antonina.amin2016@yandex.ru

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ Cr(6+) АЭРОБНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП¹

Cr(6+) BIOLOGICAL RECOVERY WITH AEROBIC MICROORGANISMS OF DIFFERENT TAXONOMIC GROUPS

Для повышения энергетической и экологической эффективности работы биоочистных сооружений возможно более широкое применение в технологии очистки сточных вод микроорганизмов, способных использовать в качестве терминальных акцепторов электронов химические элементы с переменной валентностью. Замена специально диспергируемого кислорода, используемого при традиционной аэробной обработке сточных вод, на химически связанный и уже присутствующий в стоках, позволит решать проблему очистки сточных вод. Почти все известные хроматредуцирующие бактериальные штаммы относятся к облигатным и факультативно анаэробным микроорганизмам, а также к аэробам, способным переходить к анаэробному дыханию. Исследована способность последних использовать хром (6+) как терминальный акцептор электронов вместо кислорода. Тест-объектами в исследованиях были неадаптированные к хрому (6+) штаммы бактерий рода *Pseudomonas*, не восстанавливающие нитрат и характеризующиеся как строгие аэробы. Сделаны выводы о том, что использовать хром (6+) в качестве терминального акцептора электронов при окислении органических соединений способны не только анаэробные бактерии, но и бактерии — облигатные аэробы, такие как *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., *Mycobacterium* sp., *Micrococcus* sp.

Ключевые слова: терминальные акцепторы электронов, аэробные и анаэробные микроорганизмы, способ дыхания, штаммы родов бактерий, восстановление хрома (6+), облигатный аэробизм.

One of the ways to improve the energy and ecology efficiency of biological treatment plants performance could be a wider application of microorganisms that are able to use the chemical elements with a variable valence as terminal electron acceptors in the technology of wastewater treatment from organic and mineral pollution. Replacing of specially dispersible oxygen used in the traditional aerobic wastewater treatment for chemically bonded or already present in drains oxygen will allow solving the problem of the of wastewater treatment. Basically all reported chromate-reducing bacterial strains belong to the obligatory or optionally anaerobic microorganisms as well as to the aerobes able to proceed to anaerobic respiration. In order to prove it, the capacity of the latter to use chrome (6+) as a terminal electron acceptor instead of a common oxidant - oxygen was investigated. The test objects of the research were the *Pseudomonas* bacteria strains unspecialized to chrome (6+) which are incapable to recover nitrate and characterized as the strict aerobes. The researches allow giving preliminary conclusions that the collection strains not only of aerobic bacteria but also bacteria which are traditionally regarded as the obligatory aerobes of such taxonomic groups like *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., *Mycobacterium* sp., *Micrococcus* sp. are able to use chrome (6+) as the terminal electron acceptor at the oxidation of organic compounds.

Keywords: terminal electron acceptors, aerobic microorganisms, respiration pattern, strains of bacterium genera, chrome (6+) recovery, obligatory aerobiosis.

Наиболее значимой частью решения проблемы сохранения водных экосистем является снижение негативного влияния на них промыш-

ленных сточных вод металлообработки, химических и других производств. Попадая в окружающую среду, органические и минеральные загрязнения, входящие в состав таких стоков, ухудшают качество воды, снижают самоочищаю-

¹ Научно-исследовательская работа выполнена по гранту СПбГАСУ.

щую способность водоемов и приводят к деградации экосистем, снижая их ресурсную ценность [1–3, 7, 11]. Поэтому создание новых экономически выгодных и технологически осуществимых методов биологической очистки таких сточных вод является важной и неотложной задачей. Одним из путей повышения энергетической и экологической эффективности работы биологических очистных сооружений может быть более широкое применение в технологии очистки сточных вод от органических и минеральных загрязнений микроорганизмов, способных использовать в качестве терминальных акцепторов электронов, химические элементы с переменной валентностью [4–6]. Замена кислорода, используемого при традиционной аэробной обработке сточных вод, позволяет решать проблему очистки сточных вод, загрязненных различными веществами. Кроме того, это значительно сокращает эксплуатационные затраты на обработку воды, резко уменьшает объемы избыточного активного ила, который создает дополнительные экономические проблемы, а его утилизация является особой сложной задачей.

Практически все описанные в литературе хроматредуцирующие бактериальные штаммы относятся к облигатным и факультативно анаэробным микроорганизмам, а также к аэробам, способным переходить к анаэробному дыханию [7–23]. Представленная в этой статье научно-исследовательская работа базировалась на предположении авторов, что редукция Cr(6+) возможна штаммами псевдомонад, которые традиционно относятся к строго аэробным микроорганизмам. Для подтверждения этого предположения была исследована способность микроорганизмов использовать Cr(6+) как терминальный акцептор электронов вместо общеизвестного окислителя — кислорода, который традиционно считается единственным акцептором электронов, используемым облигатными аэробами. Работа состояла из нескольких этапов:

- на первом этапе были изучены неадаптированные к Cr(6+) штаммы бактерий рода *Pseudomonas*, которые не восстанавливают нитрат и характеризуются как строгие аэробы и денитрифицирующие, т. е. восстанавливающие нитрат микроорганизмы;

- на втором этапе в проведенных исследованиях авторов интересовали хроматредуцирующие свойства коллекционных аэробных штаммов рода *Pseudomonas*, которые не восстанавливают нитрат при денитрификации;

- на третьем этапе изучались аэробы других таксономических групп, которые, по литературным источникам, не способны восстанавливать нитрат и, следовательно, использовать связанный кислород для дыхания.

Тест-объектами в проведенных исследованиях 1-го этапа были неадаптированные к Cr(6+) штаммы бактерий рода *Pseudomonas*, которые не восстанавливают нитрат и характеризуются как строгие аэробы:

- *P. fluorescens* B-53; • *P. pseudoalcaligenes* B-167;
- *P. putida* B-117 и B-139; • *P. fragi* B-184;
- *P. alcaligenes* B-146; • *P. taetrolens* B-196;
- *P. rathonis* B-17.

Культивирование проводили в минеральной среде М9 (синтетическая среда, в которой источником энергии углерода является глюкоза, а азота — NH_4Cl) с микроэлементами. Источником органического питания бактерий и донором электронов служила глюкоза в концентрации 2 г/дм³. Растворенный кислород из жидкого раствора в колбах не удаляли в расчете на то, что после полного использования кислорода культуры станут восстанавливать шестивалентный хром (если имеют такое свойство). Контролем служила стерильная среда М9 с бихроматом без микроорганизмов. Прирост биомассы контролировали в аэробной среде без бихромата. Опыты проводили в плоскодонных колбах объемом 100 см³, куда вносили инокулированную соответствующей культурой питательную среду. Поверх раствора наносили двухсантиметровый слой стерильного вазелинового масла, которое препятствовало растворению кислорода из воздуха. Микроорганизмы выращивали на мясопептонном агаре (МПА) в чашках Петри. Оптическая плотность суспензии после внесения инокулюма составляла 0,05–0,06 единицы. Концентрация Cr(6+) в культуральной среде была 11, 16, 20 и 30 мг/дм³. Динамику концентрации Cr(6+) в среде культивирования аэробных бактерий рода *Pseudomonas* (не восстанавливающих нитрат) при его начальной концентрации

11 мг/дм³ и оптической плотности суспензии 0,03 ед. демонстрирует рис. 1.

На втором этапе изучалось восстановление Cr(+6) денитрифицирующими псевдомонадами. В проведенных исследованиях авторов интересовали хроматредуцирующие свойства коллекционных аэробных штаммов рода *Pseudomonas*, которые не восстанавливают нитрат при денитрификации. Тест-объектами в проведенных исследованиях 2-го этапа выступили:

- *P. stutzeri* P-19; • *P. fluorescens* var. *pseudo-iodinum* P-11;
- *P. rathonis* P-17; • *P. putida* P-15;
- *P. mendocina* P-13; • *P. aeruginosa* P-1.

Концентрацию Cr(6+) в растворе увеличили до 15 мг/дм³, начальную оптическую плотность суспензии оставили неизменной — 0,03 ед. Как видно на рис. 2, при культивировании не восстанавливающих нитрат *P. rathonis* P-17, *P. putida* P-15, *P. fluorescens* P-9 и денитрифицирующих *P. fluorescens* var. *pseudo-iodinum* P-11, *P. mendocina* P-13 полная редукция Cr(6+) про-

Рис. 1. Снижение концентрации Cr(6+) бактериями *Pseudomonas* ($D_0 = 0,03$) при начальной концентрации 12 мг/л

текает практически с одинаковой скоростью — за 5–7 суток. Значительно медленнее этот процесс протекает в присутствии бактерии *P. stutzeri* P-19 и *P. aeruginosa* P-1, так как на седьмые сутки в растворе осталась почти половина Cr(6+).

Полностью редукция 20 мг/дм³ Cr(6+) денитрифицирующей культурой *P. fluorescens* var. *pseudo-iodinum* P-11 при оптической плотности раствора 0,03 ед. осуществляется за 19 суток, а культурами, не восстанавливающими нитрат, — *P. rathonis* P-17, *P. putida* B-139, *P. fragi* B-184, — за 20–21 суток (рис. 3). Оптическая плотность суспензии в результате роста бактерий за этот период выросла до 0,09–0,11 ед. В контроле без Cr(6+) оптическая плотность увеличилась до 0,06–0,075 ед., вероятно, за счет использования клетками растворенного кислорода. Следовательно, в культуральной среде в присутствии двух окислителей — кислорода и Cr(6+) прирост микробной биомассы в 1,5 раза больше, чем в среде с одним лишь растворенным кислородом.

Остальные отобранные для исследований аэробные денитрифицирующие бактерии, которые традиционно относятся к облигатным аэробам, также восстанавливают Cr(6+), но значительно медленнее.

Повышение начальной концентрации биомассы до 0,06 ед. убыстряет хроматредукцию (рис. 4). Увеличение концентрации Cr(6+) до 30 мг/дм³ не влияет негативно на способность штаммов (которые не восстанавливают нитрат) использовать Cr(6+) как терминальный акцептор электронов. Более того, эти культуры осуществляют процесс несколько эффективнее денитрифицирующих псевдомонад (рис. 5).

На рис. 6 показано изменение окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) (определялся прибором лабораторным высокоточным для измерения рН, RedOx-потенциала и температуры РН-013; погрешность измерения — 1 мВ) питательной среды денитрифицирующей (*P. mendocina* P-13) и не способной восстанавливать нитрат (*P. rathonis* P-17) культур в процессе хроматредукции. Начальная оптическая плотность суспензии составляла 0,1 ед., концентрация Cr(6+) в питательной среде — 20 мг/дм³.

Проведенные исследования показали, что восстановление Cr(6+) бактериями рода

Рис. 2. Снижение концентрации Cr(6+) бактериями *Pseudomonas* ($D_0 = 0,03$) при начальной концентрации 15 мг/л

Pseudomonas проходит в диапазоне значений ОВП культуральной среды от 400 до 50 мВ. Штаммы, которые не восстанавливают нитрат и традиционно относятся к облигатным аэробам, кроме кислорода, способны использовать Cr(6+) как терминальный акцептор электронов при окислении органических веществ. Поэтому они могут с таким же успехом, как анаэробные и факультативно анаэробные бактерии, использоваться в технологическом процессе биологической очистки сточных вод от такого токсичного элемента, как Cr(6+), а отнесение их к строго об-

лигатным аэробным микроорганизмам вызывает сомнение. Проведенные исследования также показали способность коллекционных штаммов некоторых видов бактерий рода *Pseudomonas*, которые не восстанавливают нитрат, использовать хром (6+) как терминальный акцептор электронов при дыхании.

На третьем этапе исследований была изучена способность бактерий, которые идентифицируются как облигатные аэробы других таксономических групп, использовать Cr(6+) как терминальный акцептор электронов при окислении органических веществ. Были отобраны культуры:

- *Bacillus megaterium* B-5;
- *B. pumilus* B-12;
- *Azotobacter vinelandii* Z-2;
- *A. chroococcum* Z-1;
- *Mycobacterium chelonae* Y-1;
- *M. marinum* Y-2;
- *M. luteus*.

Перед проведением опытов все отобранные культуры были проверены на способность восстанавливать нитрат. Такое свойство у них не было обнаружено. Результаты проведенных экспериментов показали, что все исследованные штаммы разных родов и видов бактерий, которые не способны использовать нитрат как терминальный акцептор электронов, восстанавливают хром (6+) в хром (3+) при культивировании в среде с глюкозой, из которой не удаляли растворенный кислород (рис. 7–10).

Проведенные исследования позволяют сделать предварительные выводы о том, что использовать Cr(6+) в качестве терминального акцептора электронов при окислении органических соединений способны коллекционные штаммы

Рис. 3. Снижение концентрации Cr(6+) бактериями из рода *Pseudomonas* ($D_0 = 0,03$)

Рис. 4. Снижение концентрации Cr(6+) бактериями из рода *Pseudomonas* ($D_0 = 0,06$) другого видового состава при начальной концентрации 20 мг/л

Рис. 5. Снижение концентрации Cr(6+) облигатно-аэробными и денитрифицирующими бактериями из рода *Pseudomonas* ($D_0 = 0,06$) при начальной концентрации 30 мг/л

Рис. 6. Изменение окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) среды в процессе микробной хроматредукции

Рис. 7. Изменение концентрации Cr(6+) бактериями различных таксономических групп при начальной концентрации Cr(6+) 15 мг/дм³

Рис. 8. Изменение оптической плотности среды в процессе восстановления Cr(6+) бактериями

Рис. 9. Изменение концентрации Cr(6+) бактериями различных таксономических групп при начальной концентрации Cr(6+) 30 мг/дм³

Рис. 10. Изменение оптической плотности среды в процессе восстановления Cr(6+) аэробными бактериями

не только анаэробных бактерий, но и бактерий, которые традиционно относят к облигатным аэробам, из таких таксономических групп, как *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., *Mycobacterium* sp., *Micrococcus* sp. Следовательно, термин «облигатные аэробные бактерии», т. е. бактерии, которые употребляют в качестве акцептора электронов исключительно кислород и ничего кроме кислорода, требует проверки и уточнения. Результаты исследований по изучению способности некоторых коллекционных облигатно-аэробных штаммов разных родов бактерий, использованных в опытах, использовать Cr(6+) как терминальный акцептор электронов, вызывают сомнения относительно традиционного определения облигатного аэробизма. Для подтверждения или опровержения этого сомнения на последующих этапах планируется изучение возможности облигатно-аэробных бактерий восстанавливать четырехвалентный марганец.

Библиографический список

1. Квасников Е. И., Ключникова Т. М., Касаткина Т. П. Бактерии, восстанавливающие тяжелые металлы в природе // *Микробиология*. 1988. Т. 57, № 4. С. 680–685.
2. Квасников Е. И., Ключникова Т. М., Касаткина Т. П. Резистентность бактерий к соединениям тяжелых металлов // *Микробиологический журнал*. 1988. Т. 50, № 6. С. 24–27.
3. Фомин И. В. Эколого-биохимические закономерности биологической очистки воды активным илом и иммобилизованными микроорганизмами: дис. ... канд. биол. наук. Самара, 2004. 178 с.
4. Иваненко И. И. Редокс-последовательность при дыхании бактерий // *Вестник гражданских инженеров*. 2017. № 3 (62). С. 155–159.
5. Убайдуллаева А. К. Роль гетеротрофных бактерий в восстановлении элементов с переменной валентностью: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Алматы, 1993. 19 с.
6. Романенко В. И., Кореньков В. Н. Чистая культура бактерий, использующих хроматы и бихроматы в качестве акцептора водорода при развитии в анаэробных условиях // *Микробиология*. 1977. Т. 46, № 3. С. 414–417.
7. Елисеева Г. С., Ключникова Т. М., Касаткина Т. П., Серпокрылов Н. С. Восстановление тяжелых металлов микроорганизмами в средах с непищевыми и пищевым растительным сырьем // *Химия и технология воды*. 1991. Т. 13. С. 72–76.
8. Fujie K., Hu H.-Y., Huang X., Tanaka Y., Urano K., Ohtake H. Optimal operation of bioreactor system developed for the treatment of chromate wastewater using *Enterobacter cloacae* HO-1 // *Water Science and Technology*. 1996. Vol. 34, № 5–6. Pp. 173–182.
9. Дмитренко Г. Н., Овчаров Л. Ф. и др. Использование биотехнологии очистки сточных вод от ионов тяжелых металлов // *Химия и технология воды*. 1997. Т. 19, № 5. С. 544–548.
10. Chirwa E. M. N., Wang Y.-T. Hexavalent chromium reduction by *Bacillus* sp. in packed-bed bioreactor // *Environmental Science and Technology*. 1997. Vol. 31, № 5. Pp. 1446–1451.

11. Карначук О. Е. Влияние шестивалентного хрома на образование сероводорода сульфатредуцирующими бактериями // Микробиология. 1995. Т. 64, № 3. С. 315–319.

12. Lovley D. R., Phillips E. J. P. Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and its c_3 cytochrome // Appl. Environ. Microbiol. 1994. Vol. 60, № 2. Pp. 726–728.

13. Ohtake H., Fujii E., Toda K. Reduction of toxic chromate in an industrial effluent by use of a chromate-reducing strain of *Enterobacter cloacae* // Environ. Technol. Lett. 1990, Vol. 11. Pp. 663–668.

14. McLean J., Beveridge T. J. Chromate reduction by a pseudomonad isolated from a site contaminated with chromated copper arsenate // Appl. Environ. Microbiol. 2001. Vol. 67, № 3. Pp. 1076–1084.

15. Pettrilli F. L., De Flora S. Toxicity and mutagenicity of hexavalent chromium on *Salmonella typhimurium* // Appl. Environ. Microbiol. 1977. Vol. 33, № 4. Pp. 805–809.

16. Shen H., Pritchard P. H., Sewell G. W. Microbial reduction of Cr(VI) during anaerobic degradation of benzoate // Envir. Sci. and Technol. 1996. Vol. 30, № 5. Pp. 1667–1674.

17. Shen H., Wang Y. T. Characterization of enzymatic reduction of hexavalent chromium by *Escherichia coli* ATCC 33456 // Appl. Environ. Microbiol. 1993. Vol. 59, № 11. Pp. 3771–3777.

18. Shen H., Wang Y. T. Simultaneous chromium reduction and phenol degradation in a culture of *Escherichia coli* ATCC 33456 and *Pseudomonas putida* DMP-1 // Appl. Environ. Microbiol. 1995. Vol. 61, № 7. Pp. 2754–2758.

19. Wang P.-C., Mori T., Komori K., Sasatsu M., Toda K., Ohtake H. Isolation and characterization of an *Enterobacter cloacae* strain that reduces hexavalent chromium under anaerobic conditions // Appl. Environ. Microbiol. 1989. Vol. 55, № 7. Pp. 1665–1669.

20. Chirwa E. M. N., Wang Y. T. Chromium (VI) reduction by *Pseudomonas fluorescens* LB300 in fixed-film bioreactor // Journal of Environ. Engineering. 1997. Vol. 123, № 8. Pp. 760–766.

21. Chirwa E. M. N., Wang Y. T. Simultaneous Cr(VI) reduction and phenol degradation in an anaerobic consortium of bacteria // Water Research. 2000. Vol. 34, № 8. Pp. 2376–2384.

22. Shen H., Wang Y. T. Modeling hexavalent chromium reduction in *Escherichia coli* ATCC 33456 // Biotechnol. Bioengineering. 1994. Vol. 43, № 4. Pp. 293–300.

23. Chirwa E. M. N., Wang Y. T. Simultaneous chromium (VI) reduction and phenol degradation in a fixed-film coculture bioreactor: reactor performance // Water Research. 2001. Vol. 35, № 8. Pp. 1921–1932.

References

1. Kvasnikov E. I., Klyushnikova T. M., Kasatkina T. P. *Bakterii, vosstanavlivayushchie tyazhelye metally v prirode* [Bacteria that repair heavy metals in nature]. *Mikrobiologiya – Microbiology*, 1988, vol. 57, no. 3, pp. 680–685.

2. Kvasnikov E. I., Klyushnikova T. M., Kasatkina T. P. *Rezistentnost' bakteriy k soedineniyam tyazhelykh metallov* [Resistance of bacteria to heavy metal compounds]. *Mikrobiologicheskij zhurnal – Microbiological journal*, 1988, vol. 50, no. 6, pp. 24–27.

3. Fomin I. V. *Ehkologo-biokhimicheskie zakonomernosti biologicheskoy ochistki vody aktivnym ilom i immobilizovannymi mikroorganizmami. Diss. kand. biol. nauk* [Ecological and biochemical regularities of biological water purification by activated sludge and immobilized microorganisms. PhD in Sci. Bio. diss.]. Samara, 2004, 178 p.

4. Ivanenko I. I. *Redoks-posledovatel'nost' pri dykhanii bakteriy* [Redox sequence during respiration of bacteria]. *Vestnik grazhdanskikh inzhenerov – Bulletin of Civil Engineers*, 2017, no. 3 (62), pp. 155–159.

5. Ubaydullaeva A. K. *Rol' geterotrofnikh bakteriy v vosstanovlenii ehlementov s peremennoy valentnost'yu. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [The role of heterotrophic bacteria in the restoration of elements with variable valence. Author's thesis of PhD in Sci. Bio. diss.]. Almaty, 1993, 19 p.

6. Romanenko V. I., Koren'kov V. N. *Chistaya kul'tura bakteriy, ispol'zuyushchikh khromaty i bikhromaty v kachestve akseptora vodoroda pri razvitii v anaerobnykh usloviyakh* [Pure culture of bacteria utilizing chromates and bi-chromates as hydrogen acceptor during the development of anaerobic conditions]. *Mikrobiologiya – Microbiology*, 1977, vol. 46, no. 3, pp. 414–417.

7. Eliseeva G. S., Klyushnikova T. M., Kasatkina T. P., Serpokrylov N. S. *Vosstanovlenie tyazhelykh metallov mikroorganizmami v sredakh s nepishchevym pishchevym rastitel'nym syr'em* [Recovery of heavy metals by microorganisms in environments with non-food plant raw materials]. *Khimiya i tekhnologiya vody – Chemistry and water technology*, 1991, vol. 13, pp. 72–76.

8. Fujie K., Hu H.-Y., Huang X., Tanaka Y., Urano K., Ohtake H. Optimal operation of bioreactor system developed for the treatment of chromate wastewater using *Enterobacter cloacae* HO-1. *Water Science and Technology*, 1996, vol. 34, no. 5–6, pp. 173–182.

9. Dmitrenko G. N., et al. *Ispol'zovanie biotekhnologii ochistki stochnykh vod ot ionov tyazhelykh metallov* [Use of biotechnology for wastewater treatment of heavy metal ions]. *Khimiya i tekhnologiya vody – Chemistry and technology of water*, 1997, vol. 19, no. 5, pp. 544–548.

10. Chirwa E. M. N., Wang Y.-T. Hexavalent chromium reduction by *Bacillus* sp. in packed-bed bioreactor. *Environmental Science and Technology*, 1997, vol. 31, no. 5, pp. 1446–1451.
11. Karnachuk O. E. Vliyanie shestivalentnogo khroma na obrazovanie serovodoroda sul'fatredutsiruyushchimi bakteriyami [Effect of hexavalent chromium on the formation of hydrogen sulfide by sulfate-reducing bacteria]. *Mikrobiologiya – Microbiology*, 1995, vol. 64, no. 3, pp. 315–319.
12. Lovley D. R., Phillips E. J. P. Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and its c_3 cytochrome. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994, vol. 60, no. 2, pp. 726–728.
13. Ohtake H., Fujii E., Toda K. Reduction of toxic chromate in an industrial effluent by use of a chromate-reducing strain of *Enterobacter cloacae*. *Environ. Technol. Lett.*, 1990, vol. 11, pp. 663–668.
14. McLean J., Beveridge T. J. Chromate reduction by a pseudomonad isolated from a site contaminated with chromated copper arsenate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, vol. 67, no. 3, pp. 1076–1084.
15. Pettrilli F. L., De Flora S. Toxicity and mutagenicity of hexavalent chromium on *Salmonella typhimurium*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1977, vol. 33, no. 4, pp. 805–809.
16. Shen H., Pritchard P. H., Sewell G. W. Microbial reduction of Cr(VI) during anaerobic degradation of benzoate. *Envir. Sci. and Technol.*, 1996, vol. 30, no. 5, pp. 1667–1674.
17. Shen H., Wang Y. T. Characterization of enzymatic reduction of hexavalent chromium by *Escherichia coli* ATCC 33456. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, vol. 59, no. 11, pp. 3771–3777.
18. Shen H., Wang Y. T. Simultaneous chromium reduction and phenol degradation in a culture of *Escherichia coli* ATCC 33456 and *Pseudomonas putida* DMP-1. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, vol. 61, no. 7, pp. 2754–2758.
19. Wang P.-C., et al. Isolation and characterization of an *Enterobacter cloacae* strain that reduces hexavalent chromium under anaerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1989, vol. 55, no. 7, pp. 1665–1669.
20. Chirwa E. M. N., Wang Y. T. Chromium (VI) reduction by *Pseudomonas fluorescens* LB300 in fixed-film bioreactor. *Journal of Environ. Engineering*, 1997, vol. 123, no. 8, pp. 760–766.
21. Chirwa E. M. N., Wang Y. T. Simultaneous Cr (VI) reduction and phenol degradation in an anaerobic consortium of bacteria. *Water Research*, 2000, vol. 34, no. 8, pp. 2376–2384.
22. Shen H., Wang Y. T. Modeling hexavalent chromium reduction in *Escherichia coli* ATCC 33456. *Biotechnol. Bioengineering*, 1994, vol. 43, no. 4, pp. 293–300.
23. Chirwa E. M. N., Wang Y. T. Simultaneous chromium (VI) reduction and phenol degradation in a fixed-film coculture bioreactor: reactor performance. *Water Research*, 2001, vol. 35, no. 8, pp. 1921–1932.