

Research Article



CrossMark

Open Access

구연산철 환원 조건하에서 *Shewanella* sp. HN-41에 의한 6가 크롬의 환원

박혜민¹, 광진협^{2,3}, 이지훈^{1,3,4*}

¹전북대학교 대학원 농화학과, ²전북대학교 농업생명과학대학 지역건설공학과,
³전북대학교 농업과학기술연구소, ⁴전북대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과

Reduction of Hexavalent Chromium by *Shewanella* sp. HN-41 in the Presence of Ferric-Citrate

Hyemin Park¹, Jin-Hyeob Kwak^{2,3} and Ji-Hoon Lee^{1,3,4*} (¹Department of Agricultural Chemistry, Graduate School, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea, ²Department of Rural Construction Engineering, College of Agriculture & Life Sciences, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea, ³Institute of Agricultural Science & Technology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea, ⁴Department of Bioenvironmental Chemistry, College of Agriculture & Life Sciences, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea)

Received: 30 August 2023/ Revised: 6 September 2023/ Accepted: 13 September 2023

Copyright © 2023 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Hyemin Park

<https://orcid.org/0009-0001-7514-0978>

Jin-Hyeob Kwak

<https://orcid.org/0000-0001-7392-0287>

Ji-Hoon Lee

<https://orcid.org/0000-0001-8916-149X>

Abstract

In the environment, chromium often exists in a highly mobile and toxic form of Cr(VI). Therefore, the reduction of Cr(VI) to less toxic Cr(III) is considered an effective remediation strategy for Cr(VI)-contamination. In this study, the biological reduction of hexavalent chromium was examined at the concentrations of 0.01 mM, 0.1 mM, and 1 mM Cr(VI) by the dissimilatory metal-reducing bacterium, *Shewanella* sp. HN-41 in the presence of ferric-citrate. With the relatively condensed cell densities, the aqueous phase Cr(VI) was reduced at the proportions of 42%, 23%, and 31%, respectively for the 0.01 mM, 0.1 mM, and 1 mM Cr(VI) incubations,

while Fe(III)-citrate was reduced at 95%, 88%, and 73%, respectively. Although the strain HN-41 was not considered to reduce Cr(VI) as the sole electron acceptor for anaerobic metabolism in the preliminary experiment, it has been presumed that outer-membrane c-type cytochromes such as MtrC and OmcA reduced Cr(VI) in the presence of ferric-citrate as the electron acceptor. Since this study indicated the potential of relatively high cell density for Cr(VI) reduction, it might propose a bioremediation strategy for Cr(VI) removal from contaminated waters using engineered systems such as bioreactors employing high cell growths.

Key words: Biological Cr(VI) reduction, Fe(III)-reducing condition, Metal-reducing bacteria

*Corresponding author: Ji-Hoon Lee

Phone: +82-63-270-2546; Fax: +82-63-270-2550;

E-mail: jhlee2@jbnu.ac.kr

서론

중금속이나 준금속(metalloids)이 산업 폐수 등의 형태로 토양 및 다양한 수환경에 유출되었을 때 그 독성이 매우 강해 인간을 포함한 다양한 생물체를 위협할 수 있다[1]. 금속의 용해도와 이동성(mobility), 생물가용성(bioavailability)은 화학 결합특성과 산화상태에 따라 달라질 수 있고, 그에 따라 생물에 대한 독성이 크게 달라질 수 있다. 크롬은 그 산화상태에 따라 독성이 달라진다. 자연환경에서 대부분의 크롬은 0가, 3가, 6가의 산화상태로 발견된다. 그 중 3가 크롬은 환경에서 토양 표면에 흡착하거나 수산화물 형태로 침전되어 가장 안정적이고, 반면에 6가 크롬은 넓은 pH 범위에서 용해성이 커 높은 생물 독성을 나타낸다. 미국 환경청(USEPA)에서는 6가 크롬[Cr(VI)]을 그룹A 인간 발암성 물질로서 분류하였고, 주요 오염물질로서 분류하였다. 그래서 오염 및 독성 저감의 측면에서 Cr(VI)을 3가 크롬[Cr(III)]으로 환원시키는 것이 중요하게 고려되어 왔고, 많은 물리화학적 및 생물학적 환원 기술들이 연구되어 왔다[2,3]. 흡착, 이온교환, 전기투석과 같은 물리적인 방법, 제일철[Fe²⁺ 또는 Fe(II)], 황화이온 등에 의한 화학적 환원 등의 많은 오염저감 방법들이 있지만, 세균, 곰팡이, 효모, 조류, 식물과 같은 살아 있는 생물체를 활용하는 오염저감 기술이 중요한 친환경 기술로서 관심을 받아왔고, 이 중에서도 세균과 곰팡이를 사용하는 기술이 가장 큰 가능성을 제시해 주었다[4].

제일철[Fe³⁺ 또는 Fe(III)]이나 망간(Mn⁴⁺) 이온을 이화적 대사의 최종전자수용체로 사용하여 혐기적 호흡을 수행할 수 있는 것으로 알려진 이화적 금속환원 세균(dissimilatory metal-reducing bacteria)은 비산염(arsenate), 우라늄[U(VI)O₂²⁺] 등의 다른 (준)금속염이나 철산화수산화물[ferric (oxy)hydroxide] 등의 고체상 광물도 최종전자수용체(terminal electron acceptor)로 사용하여 직접 환원시키거나 또는 간접적으로 환원시킬 수 있는 것으로 알려져 있다[5-8]. 이러한 이화적 금속환원 현상은 Cr(VI)에도 일부 세균에 의해 발생하는 것으로 보고되었다[9-11].

이 연구에서는 금속환원세균으로 알려진 균주를 이용해서 Cr(VI)의 환원을 알아보고자 하였다. 균주 HN-41이 Cr(VI)을 혐기적 대사의 단일 최종전자수용체로 사용하지 못한다는 것을 사전 시험에서 확인하여, 용해성 제일철 화합물인 ferric-citrate를 전자수용체로 사용하는 환경에서 Cr(VI)이 간접적으로 환원되는지 여부를 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

금속환원균주 및 배지, 배양

본 연구에는 실험실 culture collection으로부터 철환원균주로 알려진 *Shewanella* sp. HN-41를 사용하였다[6]. 배지는 M1 배지를 일부분 수정하여 다음 성분(g/L)으로 사용하였다[5]: NH₄Cl(1.5), KCl(0.1), NaH₂PO₄(0.6), NaHCO₃(2.52), NaCl(1.75), HEPES(7.15). 산소지시자로서 resazurin

을 최종 0.0001%(wt/wt) 사용하였고, 비타민 및 미네랄 용액 대신 yeast extract를 최종 0.005% 사용하였다. 배지의 pH는 약 7.5로 조정하였고, 액체배지를 100% N₂ 기체로 30분 동안 주입(purging)하였으며 head space도 100% N₂ 기체로 채웠다. 배양은 butyl rubber stopper를 사용한 100 mL serum bottle에 최종 20 mL의 배지를 구성하여 실험하였다.

혐기성 배양의 전자수용체로서 ferric-citrate를 최종 5 mM 농도가 되도록 사용하였고, 탄소원이자 전자공여체는 sodium lactate를 20 mM 농도가 되도록 사용하였다. 또한 실험 대상인 6가 크롬은 K₂CrO₄를 사용하여 최종 0.01 mM, 0.1 mM, 1 mM 농도가 되도록 세 종류의 배양실험을 하였다. 위 ferric-citrate 및 sodium lactate, potassium chromate 용액들은 혐기성 상태의 stock solution으로 만들어 사용하였다. 균주 HN-41은 TSB 액체 배지를 이용하여 30°C에서 호기적으로 16시간 배양하여 원심분리로 세포를 회수하고 M1 배지를 이용하여 세척하였다. 세포를 다시 M1 배지에 현탁하고 이를 탁도(OD at 600 nm)가 약 1.5 정도 되게 만들어, 실험 배양을 위한 serum bottle내의 배지에 10⁻¹(v/v)로 접종하여 30°C에서 정지 배양하였다. 실험은 균주 비접종 대조군 및 접종 실험군 각각 3반복 배양하였다.

배양 모니터링 및 화학 분석

균주에 의한 철의 환원은 제일철[Fe(III)]이 환원되어 생성되는 제일철[Fe(II)]을 ferrozine 분석법으로 분석하였다[12]. serum bottle 배양에서 주사기를 이용해서 배양액을 회수하고, 동일 부피의 1 N HCl 용액과 혼합하여 0.5 N HCl에 용해되는 Fe(II)를 준비하였다. 그 후 ferrozine 용액을 처리하고 562 nm로 흡광도를 측정하여 농도를 계산하였다. total Fe는 NH₂OH·HCl을 이용하여 Fe를 Fe(II)로 환원시켜 측정하였으며, 이를 이용해 Fe(III) 농도를 계산하였다.

6가 크롬의 분석은 USEPA의 1,5-diphenylcarbohydrazide 방법을 사용하였다. HACH사의 Method 8023 파우더 키트를 사용해 540 nm에서 흡광도를 측정해 농도를 계산하였다. 표준 농도 용액은 K₂CrO₄로 제조하여 사용하였다. 배양액을 주사기로 회수해서 0.45 μm 주사기 필터로 여과하여 분석에 사용하였다.

결과 및 고찰

제일철(Fe³⁺) 및 6가 크롬(Cr⁶⁺)의 환원

금속환원균주 HN-41는 용존 Cr(VI)을 혐기적 대사의 최종 전자수용체로 사용하는 것이 사전 실험으로부터 확인되지 않았다. 그래서 최종전자수용체로서 ferric-citrate를 사용하였고, Cr(VI)을 세 종류의 농도(0.01 mM, 0.1 mM, 1 mM)로 실험하였다. ferric-citrate는 환원되어 생성하는 Fe(II)를 모니터링한 결과, 0.01 mM Cr(VI) 사용 배양에서는 초기 약 5 mM의 ferric citrate[4.89±0.11 mM Fe(III)]에서 4일 후 4.63±0.06 mM Fe(II)가 생성되고 안정화되어 평균 약 94.7%가 환원되었다(Fig. 1A). 그와 상대적으로 균주를 접종하지 않은 대

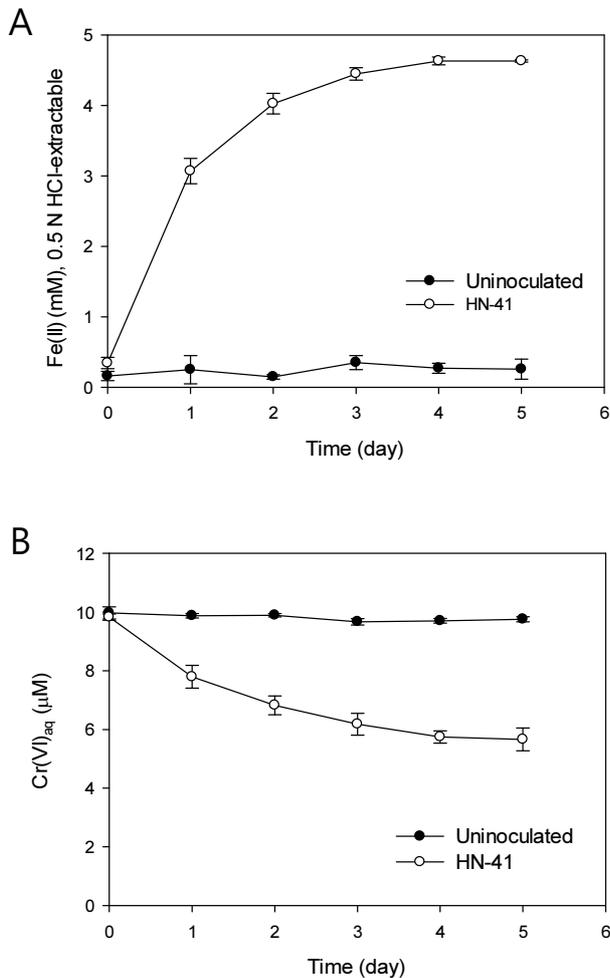


Fig. 1. Bacterial reduction of Cr(VI) at 0.01 mM in the presence of 5 mM Fe(III)-citrate. (A) Concentrations of 0.5 N HCl-extractable Fe(II); (B) Concentrations of aqueous phase Cr(VI).

조건에서는 Fe(II)의 생성은 무시할 정도의 농도였다. Cr(VI)는 초기 약 0.01 mM이 사용되었고 1일 후 0.0078 ± 0.0004 mM로 수용액 농도가 줄어들었고, 5일 후 0.0057 ± 0.0004 mM로 약 42.4%가 Cr(III)로 환원된 결과를 보였다(Fig. 1B).

0.1 mM의 Cr(VI)이 사용된 배양에서는 ferric-citrate는 5일 후 4.29 ± 0.18 mM의 Fe(II)가 생성되어 약 87.8%가 환원되었지만(Fig. 2A), 농도가 안정되지 못하고 증가의 경향이 있어 배양이 더 진행되었다면 환원이 더 일어날 수 잠재성이 있었고, 이는 0.01 mM Cr(VI)을 사용한 배양보다 조금 느린 Fe(III) 환원 양상을 보인 것이다. Cr(VI)은 초기 $0.099.3 \pm 0.001.8$ mM에서 점진적인 감소를 보이며 5일 후 $0.076.5 \pm 0.002$ mM로 약 23.0%가 Cr(III)로 환원된 것으로 보였다(Fig. 2B). 1 mM의 Cr(VI)이 사용된 배양에서는 위의 두 배양 조건보다 더 느린 Fe(III) 환원 양상이 나타났다. 배양 1일 후 Fe(II)는 2.47 ± 2.0 mM의 농도가 검출되었고, 이후 점진적인 증가를 나타내서 5일 후 3.57 ± 0.08 mM의 Fe(II)가 검출되어 약 73.1%의 ferric-citrate가 환원되었다(Fig. 3A). 이는 Cr(VI)이 0.01 mM와 0.1 mM 농도로 사용된 배양에서 보다

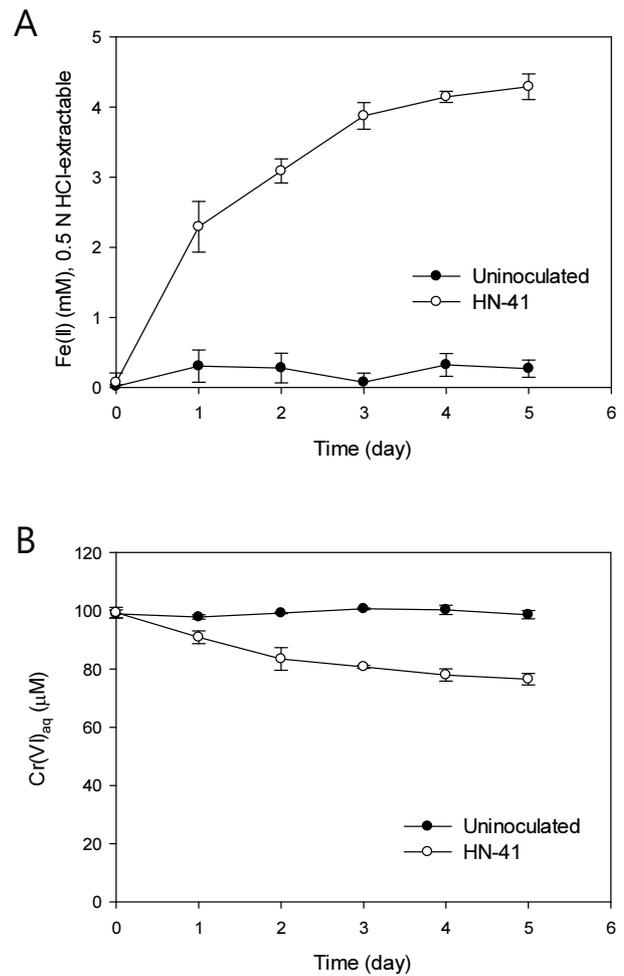


Fig. 2. Bacterial reduction of Cr(VI) at 0.1 mM in the presence of 5 mM Fe(III)-citrate. (A) Concentrations of 0.5 N HCl-extractable Fe(II); (B) Concentrations of aqueous phase Cr(VI).

(각각 94.7%, 87.8%의 Fe(III) 환원), 같은 시점에서 상당히 낮은 정도의 환원이 진행된 것으로서, 6가 크롬의 독성과 세포의 생장 및 대사 정도와 관계가 있을 것으로 추정할 수 있다. 수용액상의 Cr(VI)은 배양 1일 후 0.71 ± 0.04 mM로 감소하여 31.0%가 Cr(III)로 환원되었고, 점진적으로 감소하여 배양 5일 후에는 0.46 ± 0.06 mM의 농도로 검출되어 약 55.2%의 Cr(VI)이 Cr(III)로 환원되었음을 확인할 수 있었다(Fig. 3B).

동일 세포 농도를 사용하여 동일 시간의 배양으로 0.01 mM, 0.1 mM, 1 mM의 Cr(VI)이 다른 정도의 환원을 보였고, 이는 위에서 언급하였듯이 Cr(VI)이 혐기적 대사의 최종 전자수용체로 사용되지 못함에 기인하며, 미생물 세포에 대한 Cr(VI) 독성도 영향을 미쳤을 것으로 여겨진다. 최종 배양에 세균 세포가 약 0.15 정도의 OD₆₀₀ (2×10^8 cells/mL)로 비교적 높은 농도로 사용되었기 때문에 1 mM 농도의 Cr(VI) 독성에서도 더 낮은 농도의 배양과 유사한 비율의 Cr(VI) 환원이 관찰된 것으로 판단된다. Fe(III)의 환원 정도도 Cr(VI) 농도의 증가에 따라 그 정도가 감소한 것을 확인할 수 있었는데 (94.7%, 87.8%, 73.1%), 이것 또한 Cr(VI)의 독성에 따른 세

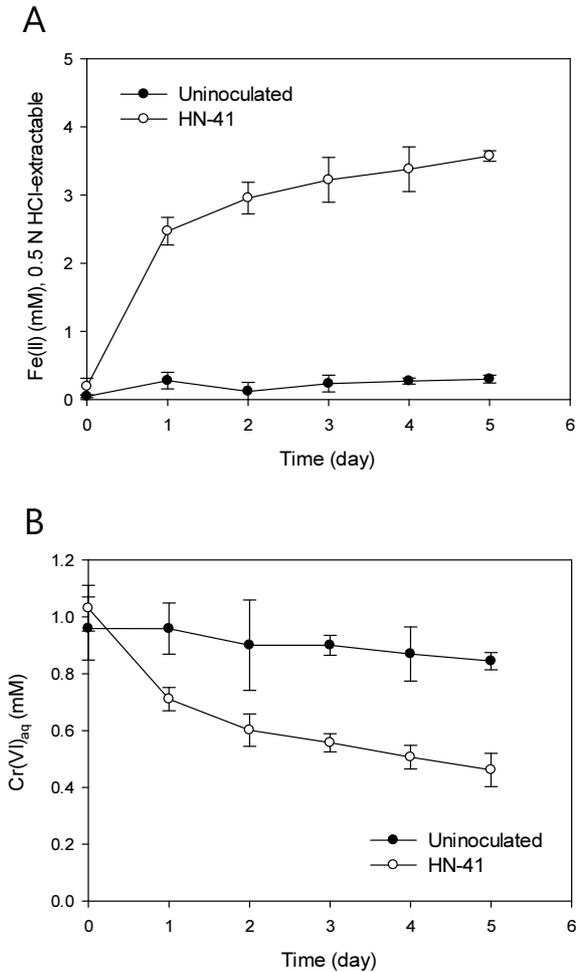


Fig. 3. Bacterial reduction of Cr(VI) at 1 mM in the presence of 5 mM Fe(III)-citrate. (A) Concentrations of 0.5 N HCl-extractable Fe(II); (B) Concentrations of aqueous phase Cr(VI).

포 생장 및 대사 정도의 감소로 그 원인을 추정할 수 있을 것이다.

Cr(VI)은 대부분 크롬산염(CrO_4^{2-})의 산소산 음이온(oxy-anions) 형태로 존재하여 황산염이나 인산염과의 구조적 유사성으로 박테리아의 멤브레인(membranes)을 비교적 통과하기 쉽다고 알려져 있는 반면[13], Cr(III)은 그 화합물의 불용성이 높아 세균의 멤브레인을 통과하기 어려운 것으로 알려져 있다[14]. 이러한 Cr(VI)이 일단 멤브레인을 통과해 세포 내부로 들어오면, NADH, FADH₂, 시스테인 등의 환원제들에 의해 Cr(III)로 환원이 일어날 수 있다. 이러한 기작들에 의해 강한 독성의 Cr(VI)에 저항 기작을 갖는 세균들이 잘 알려져 있다. 세균이 갖는 많은 금속 저항 기작들이 플라스미드 유전자에서 유래하듯이, *Shewanella* sp. ANA-3는 플라스미드에 Cr(VI) 저항을 유도하는 유전자(*chrBAC*)를 갖고 있는 것이 보고되었다[15]. 이러한 Cr(VI)의 환원에 의해서만이 아니라, 세균은 독성의 Cr(VI)에 저항하는 방법으로 catalase나 superoxide dismutase 같은 일반적인 활성산소 제거 효소에 의하거나, DNA 손상에 대응하는 효소에 의해, 또는 철을 흡수해 Fenton

반응을 통해 수산화 라디칼 생성을 방지하는 방법으로 Cr(VI)에 의한 산화적 스트레스를 줄일 수 있는 방법이 있는 것으로 알려져 있다. 이 연구의 strain HN-41에 대해서는 Cr(VI) 저항 유전자 연구가 선행되지 않았지만, 혐기적 호흡에 관계하지 않을지라도 무독화(detoxification)를 위한 위와 같은 기능을 하는 유전자를 기대해 볼 수 있을 것이며, HN-41이 어느 정도 농도의 Cr(VI)에서 생존하고 배양될 수 있는 것을 고려하면 일부의 저항 기작을 갖는 것으로 추정할 수 있을 것이다.

Cr(VI)의 환원은 부수적인 또는 이차적인 환원으로 여겨진다. 비균질적(heterogenous) 환원에 우수한 고체 표면의 Fe(II)와 달리[16], 이 실험에서 생성된 수용액상의 Fe(II)에 의한 간접적인 환원은 그 정도가 크지 않을 것으로 추정되었다. Cr(VI) 초기 농도 0.01 mM, 0.1 mM, 1 mM을 사용하였을 때, Cr(VI) 환원 비율은 각각 42.4%, 23.0%, 55.2%를 보였다(Fig. 1B, Fig. 2B, Fig. 3B). 또한 위에 언급하였듯이 Fe(III)의 환원 정도는 94.7%, 87.8%, 73.1%로서 Cr(VI) 농도 증가에 따라 감소하였다. 이는 Fe(III)의 환원은 Cr(VI) 독성의 증가에 따른 대사의 저감으로 추정할 수 있으며, Cr(VI)의 환원은 비대사적인 반응으로서 세 종류의 배양실험에서 유사한 정도의 세포 농도가 갖는 유사한 농도의 효소들에 의한 반응으로, Michaelis-Menten kinetics에서 말하는 초기의 더 높은 기질(substrate, 여기서는 Cr)로 인한 더 높은 반응(환원)이 일어난 것으로 추정한다. 이러한 반응에는 금속환원세균 특유의 세포 표면 멤브레인 시토크롬(outer membrane cytochromes)이 부수적인 역할을 했을 것으로 여겨진다[17]. 본 연구에 사용된 *Shewanella* sp. HN-41균주에 의해 Cr(VI)이 혐기적 대사의 최종전자수용체로 사용되지 않는 것으로 추정되지만, 아주 가까운 균주인 *Shewanella oneidensis* MR-1 균주에서 제시되었듯이 멤브레인 시토크롬인 MtrC와 OmcA에 의해 Cr(VI)이 Cr(III)로 환원되었을 잠재성이 크다[18].

환경오염에 대한 의의

광물 Fe(III)의 환원으로 생성된 Fe(II)는 광물표면에서 비균질한(heterogenous) 반응을 매우 잘 일으키는 것으로 알려져 있고[8,16], 이는 Cr(VI)의 환원에도 크게 기여할 수 있는 것으로 보고되었다[19]. 하지만 수용액상의 Fe(II)는 그 환원성이 크게 줄어들어 Cr(VI)에도 효과가 아주 미미할 것으로 추정할 수 있다. 그렇지만 세포의 외부 멤브레인 시토크롬의 역할로 인해 Se(IV), Tc(VII), U(VI) 같은 용해된 금속이온들이 환원될 수 있듯이 Cr(VI)도 Cr(III)로 환원되는 것이 잘 알려져 있고[20], 이 연구에서의 Cr(VI) 환원은 고체상이나 수용액상의 Fe(II)에 의한 비생물학적인 이차적 환원보다는 미생물학적 기작에 의해 환원되었다고 추정된다. 수용액상의 Cr(VI)은 미생물 환원에 의해 독성이 낮은 고체 형태의 Cr(OH)₃이나 Cr₂O₃ 등으로 세포 표면에 침전되는 것으로 보고되었다[19]. 이는 이러한 미생물이 환경에 존재하여 오염된 수용액상의 Cr(VI)을 고체상의 Cr(III)로 침전시켜 오염 농도 및 환경독성을 줄일 수 있는 잠재성을 제시해 준다. 또한 이 연구에서의 ferric-citrate는 이러한 금속환원세균이 사용하기 쉬운 혐기적

최종전자수용체로 사용될 수 있어서, 생물반응기(bioreactor) 등의 미생물의 인위적인 생장을 통한 오염물질 저감 및 환원 시스템 개발에 적용할 수 있을 것이다. 폐수처리 시설 등의 실제 현장 적용은 아니지만, Zheng et al.[21]은 영가의 철(zero-valent iron)에 코팅된 Fe(III)-환원 세균(*Morganella* sp.)을 이용하여 Cr(VI)을 효과적으로 제거하는 column 실험 결과를 제시하였고, 이는 이러한 미생물에 의한 환원을 이용한 시스템이 Cr(VI)으로 오염된 폐수처리에 응용될 수 있는 잠재성을 보여준 것이라고 할 수 있다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This study was supported by research funds of Jeonbuk National University and in part funded by the Cooperative Research Programs for Agricultural Science and Technology Development (Project No. PJ015716032023 or RS-2021-RD009903), Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Gupta N, Yadav KK, Kumar V, Krishnan S, Kumar S, Nejad ZD, Majeed Khan MA, Alam J (2021) Evaluating heavy metals contamination in soil and vegetables in the region of North India: Levels, transfer and potential human health risk analysis. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 82, 103563. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103563>.
- Chen JM, Hao OJ (1998) Microbial Chromium (VI) reduction. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 28, 219-251. <https://doi.org/10.1080/10643389891254214>.
- Dhal B, Thatoi HN, Das NN, Pandey BD (2013) Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 250-251, 272-291. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.01.048>.
- Plestenjak E, Kraigher B, Leskovec S, Mandic Mulec I, Marković S, Ščančar J, Milačič R (2022) Reduction of hexavalent chromium using bacterial isolates and a microbial community enriched from tannery effluent. *Scientific Reports*, 12, 20197. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24797-z>.
- Lee J-H, Kennedy DW, Dohnalkova A, Moore DA, Nachimuthu P, Reed SB, Fredrickson JK (2011) Manganese sulfide formation via concomitant microbial manganese oxide and thiosulfate reduction. *Environmental Microbiology*, 13, 3275-3288. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02587.x>.
- Lee J-H, Roh Y, Kim K-W, Hur H-G (2007) Organic acid-dependent iron mineral formation by a newly isolated iron-reducing bacterium, *Shewanella* sp. HN-41. *Geomicrobiology Journal*, 24, 31-41. <https://doi.org/10.1080/01490450601134291>.
- Fredrickson JK, Romine MF, Beliaev AS, Auchtung JM, Driscoll ME, Gardner TS, Neelson KH, Osterman AL, Pinchuk G et al. (2008) Towards environmental systems biology of *Shewanella*. *Nature Reviews Microbiology*, 6, 592-603. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1947>.
- Peretyazhko T, Zachara JM, Heald SM, Jeon BH, Kukkadapu RK, Liu C, Moore D, Resch CT (2008) Heterogeneous reduction of Tc(VII) by Fe(II) at the solid-water interface. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72, 1521-1539. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2008.01.004>.
- Ahmad WA, Venil CK, Nkhalambayausi Chirwa EM, Wang Y-T, Sani MH, Samad AFA, Kamaruddin MFA, Donati ER, Urbietta MS et al. (2021) Bacterial reduction of Cr(VI): Operational challenges and feasibility. *Current Pollution Reports*, 7, 115-127. <https://doi.org/10.1007/s40726-021-00174-8>.
- Liu C, Gorby YA, Zachara JM, Fredrickson JK, Brown CF (2002) Reduction kinetics of Fe(III), Co(III), U(VI), Cr(VI), and Tc(VII) in cultures of dissimilatory metal-reducing bacteria. *Biotechnology and Bioengineering*, 80, 637-649. <https://doi.org/10.1002/bit.10430>.
- Khanal A, Hur H-G, Fredrickson JK, Lee J-H (2021) Direct and indirect reduction of Cr(VI) by fermentative Fe(III)-reducing *Cellulomonas* sp. strain Cellu-2a. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31, 1519-1525. <https://doi.org/10.4014/jmb.2107.07038>.
- Stookey LL (1970) Ferrozine - A new spectrophotometric reagent for iron. *Analytical Chemistry*, 42, 779-781. <https://doi.org/10.1021/ac60289a016>.
- Daulton TL, Little BJ, Jones-Meehan J, Blom DA, Allard LF (2007) Microbial reduction of chromium from the hexavalent to divalent state. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71, 556-565. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2006.10.007>.

14. Nickens KP, Patierno SR, Ceryak S (2010) Chromium genotoxicity: A double-edged sword. *Chemico-Biological Interactions*, 188, 276-288.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.04.018>.
15. Aguilar-Barajas E, Paluscio E, Cervantes C, Rensing C (2008) Expression of chromate resistance genes from *Shewanella* sp. strain ANA-3 in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*, 285, 97-100.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01220.x>.
16. Peretyazhko T, Zachara JM, Heald SM, Kukkadapu RK, Liu C, Plymale AE, Resch CT (2008) Reduction of Tc(VII) by Fe(II) sorbed on Al (hydr)oxides. *Environmental Science & Technology*, 42, 5499-5506.
<https://doi.org/10.1021/es8003156>.
17. Hartshorne RS, Reardon CL, Ross D, Nuester J, Clarke TA, Gates AJ, Mills PC, Fredrickson JK, Zachara JM et al. (2009) Characterization of an electron conduit between bacteria and the extracellular environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 22169-22174.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0900086106>.
18. Belchik SM, Kennedy DW, Dohnalkova AC, Wang Y, Sevinc PC, Wu H, Lin Y, Lu HP, Fredrickson JK et al. (2011) Extracellular reduction of hexavalent chromium by cytochromes MtrC and OmcA of *Shewanella oneidensis* MR-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 4035-4041.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02463-10>.
19. Mohamed A, Yu L, Fang Y, Ashry N, Riahi Y, Uddin I, Dai K, Huang Q (2020) Iron mineral-humic acid complex enhanced Cr(VI) reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1. *Chemosphere*, 247, 125902.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.125902>.
20. Shi L, Dong H, Reguera G, Beyenal H, Lu A, Liu J, Yu H-Q, Fredrickson JK (2016) Extracellular electron transfer mechanisms between microorganisms and minerals. *Nature Reviews Microbiology*, 14, 651-662.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.93>.
21. Zheng B, Ye Y, Hu B, Luo C, Zhu Y (2019) Enhanced removal of chromium(vi) by Fe(iii)-reducing bacterium coated ZVI for wastewater treatment: batch and column experiments. *RSC Advances*, 9, 36144-36153.
<https://doi.org/10.1039/C9RA06516D>.