Research Paper

Investigation of Biological Removal of Chromium (VI) Using the Isolated Bacteria from Industrial Wastewater of Mobarakeh Steel Complex in Isfahan

Ramezan Sadeghi[1], Mehraban sadeghi[2], Rahman Abdizadeh[3], Morteza Hashemzadeh Chaleshtori[4], Morteza Sedehi[5], Shahrbanou Parchami Barjui[6], Mohammad Rasoul Asadi Amirabadi[7*]

1. Assistant Professor, Environmental Health Engineering Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2. Professor, Environmental Health Engineering Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
3. Associate Professor, Parasitology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
4. Professor of Genetics Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
5. Associate Professor, Epidemiology and Biostatistics Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
6. Master of Biotechnology, Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
7. Master of Environmental Health Engineering, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Received: 2020/10/01 **Accepted:** 2020/11/05

Abstract

Introduction: Similar to some organic materials the heavy metals are not easily removed from the environment because of the toxic nature and form a class of stable and non-biodegradable pollutants. These elements enter the nature and the food chain as a result of natural activities such as eruptions of volcanoes and human activities such as mining, producing industrial and urban wastewaters and applying pesticides.

Materials and Methods: In this study, chrome (VI) -resistant bacteria were isolated from the industrial wastewater taken from Isfahan Mobarakeh Steel Complex. The isolated strains were identified and their resistance to chromium was determined and the strain with the highest resistance to chromium was used for its bioremediation. Data were analyzed using descriptive statistics and one way ANOVA.

Results: The results of this study led to the identification of five chrome resistant strains that the Micrococcus luteus SEHD031RS bacterium was detected as the best chrome resistant strain due to the minimum inhibitory concentration of 140 mgL^{-1} and minimum bactericidal concentration of 152 mgL^{-1}. In this study, the highest chromium removal rate of 82.5% was obtained at pH 4, concentration of 30 mgL^{-1} and 96 hours.

Conclusion: The results of this study indicate that the Micrococcus luteus SEHD031RS strain can be used as an effective microorganism in removing chromium from industrial wastewater or environmental bioremediation.

***Corresponding Author:** Mohammad Rasoul Asadi Amirabadi
Address: Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
Tel: 09132829815
E-mail: rasulasadi70@gmail.com

Keywords: Industrial wastewater, heavy metals, chromium (VI), Biological removal

How to cite this article: Sadeghi R., Sadeghi M., Abdizadeh R., Hashemzadeh Chaleshtori M., Sedehi M., Parchami Barjui S., Asadi Amirabadi M.R. Investigation of Biological Removal of Chromium (VI) Using the Isolated Bacteria from Industrial Wastewater of Mobarakeh Steel Complex in Isfahan, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2021; 28(6):982-994.

Copyright © 2021 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

Introduction

Industrial wastewater contains various pollutants among which heavy metals play a significant role in environmental pollution and human health. Metals are probably the oldest toxin detected by humans and naturally found in the Earth's crust. In general heavy metals refer to the metals with a density of higher than 5 gcm-2 and have the atomic weights within the range of 63.5-200.6 and heavily influence the environment and living organisms. Heavy metals are one of the most persistent and non-degradable biological pollutants that can find their way into the food chain through entering the environment Elements such as arsenic, cadmium, chromium, lead and mercury are of higher importance in public health because of high toxicity.

The earth's crust erosion and the leaching of heavy metals, volcanic eruptions, re-suspension of sediments and evaporation of metal from water sources to the soil and groundwater are among the natural ways of entering heavy metals into the environment. It is also reported that natural phenomena such as climatic conditions significantly contribute to contamination caused by heavy metals. Human-caused environmental pollution can occur through mine extraction, industrial wastewater, urban runoff, sewage discharge, insecticides and the disease control agents applied in the farms.

Accordingly several techniques are being used to remove or recover heavy metals from the polluted environments. The adsorption, coagulation and flocculation, chemical precipitation, electrochemical technics, evaporative recovery, ion exchange and fuzzy techniques are some common methods for the removal and recovery of heavy metals. However, these techniques are expensive, impractical or non-inclusive for the recovery of heavy metals. Most of these methods will not be effective when the metal concentration is less than 100 mgL^{-1}. Separation with physical and chemical techniques is also faced with many challenges due to the high solubility of most heavy metal salts in the solution. Therefore, it is required to evaluate alternative techniques to find a particular method and the method should be applicable based on local conditions and be able to meet the requirements.

Bioremediation is an innovative technique for the removal and retrieval of heavy metal ions from the polluted regions and involves the use of living organisms to reduce or recover of heavy metal pollutions as less hazardous types using the algae, bacteria, fungi or plants' activities. This method is used to strip heavy metals from the polluted wastewater and soils. It is also an attractive alternative to chemical and physical techniques and the use of microorganisms plays a significant role in the heavy metal treatment.

Chromium (VI) exists in the wastewater as anions of chromate (CrO42-) and dichromate (Cr2O72-) and does not easily precipitate by the physicochemical methods. In order to solve this problem the study on the removal of this element by the biosorption is intensified. There are some bacteria in the basins which using the collection of raw wastewater of Steel Factories of Isfahan Mobarakeh (SFIM) that can survive under heavy concentration of Cr^{+6}. Therefore, the bacteria strains were extracted from the precipitate of the basins and the most resistant strain was selected for this study as it can growth the presence of hexavalent chromium. In the present study the strain highest potential for the removal of chromium (VI) was reported. The effect of pH, initial Cr^{+6} concentration and exposure time on Cr (VI) reduction was reported.

Methodology

Sample collection and analysis

Wastewater and sludge samples were collected from the SFIM, Iran. In order to arrest the biological activity, the samples were stored at 4℃. The pH, temperature, TKN, BOD, COD, Cr^{+6}, Ni and Pb concentration of the wastewater were analyzed.

Isolation and identification of chromium resistance bacteria

In the present study, Brain Heart Infusion (BHI) agar and nutrient agar were purchased from QUELAB, Canada and MERCK, Germany, respectively. The steel wastewater sample was diluted from 10-1 to 10-7 in sterile distilled deionized water and plated on the BHI medium and incubated at 34±1℃ for 48 hr. Plates with sufficient quantity and appropriate colonies with different types of microscopy were selected and the linear culture method was used to isolate and purify various strains [15]. The type of stain was identified according to the Berey method [16]. Also, other biochemical and morphological characteristics of the strains including spore staining, glucose

fermentation, menthol fermentation, NaCl 6.5%, movement, catalase, oxidase, acid production from glucose, starch hydrolysis and citrate consumption were investigated.

Determining the resistance of strains

To determine chromium resistant strains, the nutrient agar medium containing hexavalent chromium concentrations of 1, 2, 3, 4 and 5 ppm were prepared from the stock solution of potassium dichromate. After culturing the released strains of the previous stage, the minimum inhibitor concentration and minimum bactericidal concentration of the strains was measured at high concentrations of chromium (VI) and best strains were selected.

Identification of the bacterial isolates

16S rDNA gene sequencing was used to identify the superior strains. DNA extraction was done by boiling method. After quantitative testing by NanoDropTM the extracted solution was stored for molecular analyses. The PCR reaction consisted of 1.3 µL DNA, 8.2 µL sterilized distilled water, 10 µL Master mix, 0.3 µL of the reverse primer and 0.3 µL of forward primer.

The PCR reaction conditions included initial denaturation at 95 ° C for 5 minutes and then 35 cycles, 94 ° C for 30 seconds, 53°C for 40 seconds, 72°C for 40 seconds, and ultimate expansion at 72°C for 8 minutes. To check the quality of the primer, 2 µL of the product was transferred with Gel Read and Dy 6X onto agar gel 1.2% and PCR accuracy was confirmed by electrophoresis after an hour with a constant voltage of 120 V and observing bands of 1100 BP.

Determination of chromium removal by the bacterium

Chromium removal was examined using atomic absorption spectrophotometer (Varian 240). To 1 mL of the medium containing 11.2 mg of bacteria, 9 ml of a solution of chromium was added in a conical flask and was shaken on an incubator shaker at 150 rpm and 24 ± 1°C. The effect of different factors such as pH, concentration and contact time on chromium absorption was measured by the resistant strain. The contents of the flask were centrifuged for 10 minutes at 4500 rpm and the supernatant was measured to determine the residual chromium content. The pH of the medium was set using hydrochloric acid 0.1M or sodium hydroxide 0.1M. In all experiments the control specimens were examined without any bacterial cells.

Results

Isolation and screening of isolates

The selective enrichment of the samples collected from the SFIM led to the isolation of 30 morphologically different bacteria isolates in liquid medium containing from 1 to 5 mgL^{-1} of Cr^{+6}. All of 30 bacteria isolated from effluent samples were tested as combined for their ability to survive at the concentrations of higher than 5 mgL^{-1} of Cr^{+6} that led to the screen of 12 bacteria isolate. Minimum inhibitory concentration (MIC) of isolates were ranged from 2 to 140 mgL^{-1}. one were chosen for further evaluation based on their survival in the presence of Cr^{+6} concentrations higher than 30 mgL^{-1}. All of isolates were tested based on gram staining that led to out the four isolates from further evaluation because of their minus gram test [21-23] and the remain 9 isolates were tested separately by PCR That led to the identification of 5 isolates. Table 4 shows the biochemical and morphological features of Cr^{+6} resistant isolates.

Maximum and minimum inhibitory concentrations for isolates were related to Micrococcus luteus SEHD031RS with 140 mgL^{-1} and Bacillus firmus SEHD031MS and Paenibacillus lautus SEHD031RA with 40 mgL-1, respectively. According to Neito's studies which indicates that bacteria that have the ability to grow at a concentration of one mmol metals are called resistant bacteria [24], Therefore, all isolated strains in this study are resistant bacteria; however M. luteus (SEHD031RS) isolate (isolate number B10) was chosen for further evaluation in chromium removal experiments based on its highest MIC (140 mgL^{-1}).

Identification of M. luteus isolate

A bacterial strain was isolated from the SFIM's effluent, which could remove various concentrations of chromium efficiently under aerobic condition. In order to identify the strain SEHD031RS, the 16SrDNA gene was used to performance BLAST software with the database of NCBI Gen bank.

Idealization of chromium removal

The effect of different physicochemical conditions (pH, contact time and Cr^{+6} initial concentration) on the removal of Cr^{+6} was studied. pH adjustment is very important to obtain the maximum removal of chromium (VI). The removal of Cr^{+6} increases in range of pH from 2 to 4 from 48.5% to 74.6% (the maximum efficiency) but with

increasing pH further, the removal of Cr^{+6} decreases dramatically from 70% at pH 6 to 29.4% at pH 8 (variation in removal efficiency isn't significant in range of pH from 4 to 6). Despite the hypothesis that with increasing acidity, the bacterium surface has a more positive charge and can be more effective in absorbing negative ions, with increasing acidity (at pH 2), the chromium (VI) removal rate has dropped significantly due to the stopped growing and lack of bacterial survival. The removal reduction process continues by increasing pH (from pH 6) until the amount of chromium (VI) removal reaches its lowest level in the relatively alkaline (pH 8) region. Also, when the pH of the medium becomes acidic (pH<4), chromium (VI) removal efficiency decreases. Therefore, pHs (4-6) are the optimal pHs for the removal of Cr+6 by M. luteus SEHD031RS.

Discussion

The average pH affects metal solubility and ionization properties of metal functional groups such as carboxylates, phosphates and amine groups of cell wall and Extracellular Polymeric Substances (EPS). Carboxylate and phosphate groups have negative charge. According to Yingmin's study on chromium (VI) removal on the magnetic bacteria, the highest removal rate was reported at 77%. Congeevaram in a study on Micrococcus species showed the maximum chromium (VI) removal efficiency of 90% at pH 7 in 18h. The results of the Ziagova study on Arthrobacter sp. Sphe3, indicated the maximum chromium (VI) removal efficiency of 47% at pH 8. The results of Ozdemir's research on strains of Pantoea sp. TEM18 to remove chromium (VI) showed the highest and the lowest.

The results of Haq's research showed the highest chromium (VI) removal rate in Kocuria rhizophila bacterium at pH 4 with the amount of 14.4 mgg^{-1}. The effect of pH on chromium (VI) absorption can be attributed to the surface charge of the microbial cells and when the pH rises, the total surface charge becomes negative and decreases the absorption of chromium anion (VI). A.I Zouboulis's research on Bacillus laterosporus and Bacillus licheniformis showed the lowest chromium (VI) removal rate at pH 8.

In Zahoor's study which was conducted on Bacillus sp. JDM-2-1 and Staphylococcus capitis strains was shown that minimum chromium (VI) removal efficiency with 40 and 29% is at the concentration of 100 μgmL^{-1} in the 24-hour period and the maximum chromium (VI) removal efficiency with 85 and 81% is in 96-hour period. Initial concentration is another factor affecting the amount of removal. Figure 5 shows the effect of initial concentration on the removal percentage of Cr+6 for the optimum incubation time of 48 h (a) and maximum of 96 h (b). According to the MIC test the bacteria growth is limited by increasing the concentration. The maximum and minimum amounts of Cr^{+6} removal was respectively 81% at a concentration of 30 mgL^{-1} and 72% at a concentration of 50 mgL^{-1}, which may indicate a direct effect of concentration on the bacterial structure and metabolism. On the other hand, the decrease in the removal efficiency of Cr^{+6} by M. luteus SEHD031RS strain at higher initial concentrations can be attributed to toxicity of hexavalent chromium to bacterial cells and inhibition of metabolic activity. In the study conducted by Srivastava on Aspergillus niger algae to remove chromium (VI), the results showed that by increasing the concentration, the removal efficiency was reduced; also the highest removal efficiency was 90% in 90 days and the lowest removal efficiency rate was less than 40% in one day.

Conclusion

Among 30 isolated strains from the wastewater of Steel Factories of Isfahan Mobarakeh 5 Chromium (VI) resistant bacteria were identified. Among these five strains, Micrococcus luteus SEHD031RS bacterium with Accession Number MG011739 was recognized as the most chromium (VI) resistant strain of due to the minimum inhibitory concentration of 140 mgL^{-1} and minimum bactericidal concentration of 152 mgL^{-1}. This study demonstrated that isolated Micrococcus luteus SEHD031RS was able to remove Cr+6 for supplying the standard of effluent discharge to the receiving environment Furthermore, the strain SEHD031RS shows a good potential in industrial wastewater treatment and the cleanup of heavy metals from polluted environment.

Acknowledgment

The researchers thank all the patients who participated in this study and made this research possible.

Conflict of Interest: None declared.

مقاله پژوهشی

بررسی حذف بیولوژیکی کروم (VI) با استفاده از باکتری‌های جدا شده از فاضلاب صنعتی مجتمع فولاد مبارکه اصفهان

رمضان صادقی[۱]، مهربان صادقی[۲]، رحمان عبدی‌زاده[۳]، مرتضی سدهی[۴]، مرتضی هاشم‌زاده چالشتری[۵]، شهربانو پرچمی[۶]، محمدرسول اسدی امیرآبادی[۷*]

۱. استادیار گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲. استاد گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. دانشیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴. دانشیار گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۵. استاد ژنتیک، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۶. کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۷. کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۵

* نویسندهٔ مسئول: محمدرسول اسدی امیرآبادی
نشانی: گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
تلفن: ۰۹۱۳۲۸۲۹۸۱۵
رایانامه: rasulasadi70@gmail.com
شناسه ORCID: 0000-0001-7200-640X
شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0002-3257-4215

چکیده

زمینه و هدف: فلزات سنگین به دلیل ماهیت سمی همانند برخی مواد آلی، در محیط پاک‌سازی نمی‌شوند و دسته‌ای از آلاینده‌های پایدار و غیرقابل‌تجزیه بیولوژیکی را تشکیل می‌دهند. این عناصر در نتیجه فعالیت‌های طبیعی مانند فوران آتشفشان‌ها و فعالیت‌های انسانی مثل استخراج معادن، تولید پساب‌های صنعتی، فاضلاب‌های شهری و برخی از آفت‌کش‌ها وارد محیط می‌شوند و می‌توانند به زنجیره غذایی راه پیدا کنند.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، باکتری‌های مقاوم به کروم (VI) از فاضلاب صنعتی مجتمع فولاد مبارکه اصفهان جداسازی شدند. سویه‌های جداسازی شده، شناسایی شدند و میزان مقاومت آنها نسبت به کروم تعیین گردید و از سویه‌ای که بالاترین مقاومت را به کروم نشان داد به‌منظور حذف زیستی کروم استفاده شد. روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از آمار توصیفی و واریانس یک‌طرفه یا ANOVA می‌باشد.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه منجر به شناسایی پنج سویه مقاوم به فلز کروم شد که باکتری Micrococcus luteus SEHD031RS به دلیل حداقل غلظت بازدارندگی ۱۴۰ میلی‌گرم بر لیتر و حداقل غلظت کشندگی ۱۵۲ میلی‌گرم بر لیتر، برترین سویه مقاوم به کروم شناخته شد. در این مطالعه بالاترین میزان حذف فلز کروم در pH=۴، غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر و مدت زمان ۹۶ ساعت، ۸۲/۵ درصد حاصل شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که سویه Micrococcus luteus SEHD031RS می‌تواند به‌عنوان یک میکروارگانیسم مؤثر در حذف کروم از فاضلاب‌های صنعتی یا پاک‌سازی محیط استفاده شود.

کلیدواژه‌ها:
فاضلاب‌های صنعتی، فلزات سنگین، کروم (VI)، حذف زیستی

۱. مقدمه

پساب خروجی صنایع، حاوی آلاینده‌های مختلفی است که در این میان فلزات سنگین نقش قابل‌ملاحظه‌ای در آلودگی محیط‌زیست و سلامت انسان دارند. از میان عناصر جدول تناوبی حدود ۸۰ عنصر به دلیل خصوصیات ویژه از جمله چگالی بالا در گروه فلزات واقع شده‌اند (۱). فلزات سنگین به دلیل ماهیت سمی

Copyright © 2021 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

مجلهٔ علمی ـ پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۸، شمارهٔ ۶، بهمن و اسفند ۱۴۰۰، ص ۹۹۴-۹۸۲
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

همانند برخی مواد آلی در محیط، پاک‌سازی نمی‌شوند و دسته‌ای از آلاینده‌های پایدار و غیرقابل‌تجزیه بیولوژیکی را تشکیل می‌دهند. این ترکیبات می‌توانند جایگزین فلزات ضروری شوند (۲). بسیاری از فلزات سنگین، در نتیجه فعالیت‌های صنعتی از قبیل آبکاری، باطری‌سازی و ذوب فلز وارد محیط می‌شوند (۱،۳). این آلاینده‌ها می‌توانند در محیط‌زیست به آب و خاک وارد شوند و بدین ترتیب وارد زنجیره غذایی گردند (۴،۵). تجمع بیش‌ازحد فلزات سنگین می‌تواند باعث تأثیرات نامطلوبی بر کارکرد ارگانیسم‌های بدن و همچنین باعث ایجاد سرطان در بافت‌های مختلف بدن گردد (۶)؛ بنابراین در بسیاری از کشورهای جهان ازجمله ایران، قوانینی در رابطه با میزان فلزات سنگین در فاضلاب‌های صنعتی پیش از رهاسازی به طبیعت وجود دارد که برای دستیابی به این هدف می‌توان روش‌های معمول برای حذف فلزات سنگین از پساب‌های صنعتی شامل رسوب‌دهی شیمیایی، تعویض یونی، ترسیب شیمیایی، اسمز معکوس و روش‌های بیولوژیکی اشاره کرد (۴،۵،۷،۸). در هریک از این روش‌ها، انعطاف‌پذیری، مؤثر بودن فرایند، هزینه، مشکلات تکنیکی و نگهداری با یکدیگر متفاوت است (۹). هنگامی که غلظت فلزات سنگین در پساب خروجی کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر باشد، هیچ‌کدام از روش‌های فیزیکوشیمیایی مؤثر و اقتصادی نیستند (۱۰). بنابراین صاحبان صنایع به دلیل مشکل تولید لجن حاصل از رسوبات شیمیایی تمایل زیادی به استفاده از این روش‌ها ندارند (۱۱). چنین مشکلاتی سبب شده است که روش‌های بیولوژیکی از قبیل استفاده از قارچ‌های رشته‌ای، جلبک‌ها، باکتری‌ها و مخمرها به‌عنوان گزینه‌های اقتصادی و سازگار با محیط‌زیست مورد توجه قرار گیرند (۳،۱۲،۱۳). ازجمله مزایای جذب بیولوژیکی می‌توان به انتخابی بودن حذف، تولید نشدن لجن حاوی فلز، مقرون‌به‌صرفه بودن، امکان احیای جاذب‌ها و استفاده مجدد از فلزات و نیاز نداشتن به مواد مغذی اشاره کرد (۱۴،۱۵).

پساب مجتمع فولاد مبارکه اصفهان حاوی مقدار قابل‌توجه فلز کروم است. این ترکیب در لیست فلزات سنگین خطرناک قرار دارد (۳). کروم از طریق نشت یا روش‌های دفع نادرست در محیط رها می‌شود و به دو حالت اکسید شده، کروم ۳ ظرفیتی و ۶ ظرفیتی و فلز عنصری است (۱،۱۶).

کروم سه ظرفیتی، پایدارترین شکل کروم است. این ترکیب به‌ندرت در طبیعت یافت می‌شود و به‌طور عمده از طریق فعالیت‌های صنعتی تولید می‌شود. کروم شش ظرفیتی جزء گروه A مواد سرطان‌زا، تقسیم‌بندی شده است. این ترکیب می‌تواند به اجزای سلول ازجمله DNA صدمه بزند و ناهنجاری‌های کروموزومی و تغییرات ژنی را درپی داشته باشد (۱۷،۱۸).

کروم شش ظرفیتی در فاضلاب به شکل آنیون‌های کرومات (CrO_4^{-2}) و دی‌کرومات ($Cr_2O_7^{-2}$) وجود دارد و به‌راحتی با استفاده از روش‌های فیزیکوشیمیایی رسوب نمی‌دهد (۱۹،۲۰). با توجه به این مشکل، مطالعه در زمینه حذف این ترکیبات به وسیله بیوجذب به‌عنوان روشی مؤثرتر شدت گرفته است (۴). هدف از این تحقیق، شناسایی باکتری مقاومی برای حذف فلز کروم از پساب مجتمع فولاد مبارکه اصفهان می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

این طرح با کد اخلاق در پژوهش IR.SKUMS.REC.1396.28تصویب گردید.

نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌ها: در این مطالعه، نمونه‌گیری از پساب و لجن در ظروف سترون، از تصفیه‌خانه شیمیایی مجتمع فولاد مبارکه اصفهان انجام گرفت. نمونه‌ها در شرایط استریل پس از حمل در جعبه یخ، فوراً به مجموعه آزمایشگاهی و کارگاهی گروه مهندسی بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد منتقل شدند (۲۱).

آماده‌سازی نمونه‌ها، کشت و جداسازی اولیه سویه‌ها: نمونه‌های پساب و لجن پس از رقیق‌سازی از 10^{-1}-10^{-7} روی پلیت‌های حاوی محیط کشت Brain Heart Infusion agar (BHI) کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۱±۳۴ درجه سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری شدند. سپس ریخت‌شناسی پرگنه‌ها مطالعه گردید (۲۲).

تشخیص افتراقی سویه‌ها: باکتری‌های خالص شده مطابق با روش برگی شناسایی شدند، آزمون‌ها شامل رنگ‌آمیزی گرم، ریخت‌شناسی، اسپور،گلوکز، مانیتول، نمک ۶/۵ درصد، حرکت، اندول، H2S، کاتالاز، اکسیداز، تولید اسید از گلوکز، هیدرولیز نشاسته، مصرف سیترات، حداقل غلظت بازدارندگی Minimal Inhibitory Concentration (MIC) و حداقل غلظت کشندگی Minimal Bactericidal Concentration (MBC) بود (۲۷-۲۳).

بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها: برای تعیین مقاومت سویه‌های جدا شده از چهار آنتی‌بیوتیک پرمصرف در ایران شامل آموکسی سیلین، سفیکسیم، آزیترومایسین و سفالکسین استفاده شد (۲۸).

شناسایی مولکولی واکنش زنجیره پلیمراز سویه‌ها با روش 16SrDNA و تعیین توالی آنها: برای شناسایی سویه‌های برتر از آزمون تعیین توالی 16SrDNA استفاده شد. استخراج ماده ژنتیکی

با استفاده از روش جوشاندن انجام گرفت. واکنش PCR شامل ۱/۵ میکرولیتر DNA، ۸ میکرولیتر آب مقطر سترون استریل، ۱۰ میکرولیتر Master mix، ۰/۲۵ میکرولیتر پرایمر برگشت و ۰/۲۵ میکرولیتر پرایمر رفت بود (۲۹).

شرایط واکنش PCR شامل دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل، ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه بود. برای تعیین توالی محصول PCR، آمپلیکون‌ها توسط آزمایشگاه Sequetech Company در ایالات متحده آمریکا تعیین توالی شد. سپس تشابه توالی‌های به‌دست‌آمده از آمپلیکون‌ها با توالی‌های موجود در بانک ژنی National Center for Biotechnology Information با استفاده از نرم‌افزار BLAST بررسی گردیدند و ایزوله‌ها شناسایی شدند.

تعیین میزان تأثیر زمان تماس، غلظت و pH در حذف کروم (VI): برای انجام عملیات حذف، ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت نوترینت براث حاوی ۹/۶ میلی‌گرم باکتری با ۹ میلی‌لیتر محلول حاوی فلز کروم (VI)در ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری، مخلوط و روی شیکر انکوباتور با دور ۲۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد تکان داده شد. تأثیر عوامل مختلف نظیر pH، غلظت و زمان تماس در جذب نیکل (II) توسط سویه مقاوم بررسی گردید. روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از آمار توصیفی و واریانس یک‌طرفه یا ANOVA می‌باشد (۳۰). محتویات فلاسک به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ و محلول رویی به‌منظور تعیین میزان کروم (VI) باقی‌مانده به کمک دستگاه اسپیکتوفتومتر جذب اتمی (مدل Varian 240) سنجیده شد (۲۴،۳۱).

۳. یافته‌های پژوهش

آنالیز شیمیایی شامل کروم (VI) نیکل (II)، سرب، BOD، COD، TKN و pH روی نمونه‌های گرفته شده از مجتمع فولاد مبارکه اصفهان انجام گرفت، نتایج حاصل از آنالیز شیمیایی در جدول ۱ آمده است. تعیین حداقل غلظت بازدارنده و حداقل غلظت کشندگی روی باکتری‌های استخراج شده از مجتمع فولاد مبارکه اصفهان انجام گرفت که حداقل غلظت بازدارنده، برای باکتری Micrococcus luteus SEHD031RS به میزان ۱۴۰ میلی‌گرم بر لیتر و حداقل غلظت کشندگی برای باکتری Paenibacillus lautus SEHD031MRA به میزان ۱۶۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. نتایج حاصل از MIC و MBC در جدول ۲ آمده است. خصوصیات بیوشیمیایی و مورفولوژی ایزوله‌های مقاوم به نیکل (II) شامل آزمون‌های رنگ‌آمیزی گرم، مشاهده مورفولوژی سویه‌ها، رنگ‌آمیزی اسپور، تخمیر گلوکز، تخمیر مانیتول، مقاومت به NaCL ۶/۵ درصد، حرکت، کاتالاز، اکسیداز، تولید اسید از گلوکز، هیدرولیز نشاسته، مصرف سیترات، حداقل غلظت بازدارنده و حداقل غلظت کشندگی بررسی گردید که نتایج در جدول ۲ آمده است. آزمون مقاومت به آنتی‌بیوتیک ۵ سویه فوق انجام گرفت که نتایج حاصل از آن در جدول ۳ آمده است. تشابه توالی‌های به‌دست‌آمده از آمپلیکون‌ها با توالی‌های موجود در بانک ژنی National Center for Biotechnology Informatio با استفاده از نرم‌افزار BLAST با روش 16 s rDNA بررسی گردید و ایزوله‌ها شناسایی شدند که منجر به دریافت پنج Accession Number از بانک جهانی ژن شد. تأثیر عوامل مختلف نظیر pH با دامنه ۲، ۴، ۶، ۸ غلظت با رنج ۳۰، ۴۰، ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و مدت زمان تماس با دامنه ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت در جذب کروم (VI) توسط سویه Micrococcus luteus SEHD031RS انجام شد که نتایج حاصل از بازده حذف در جدول ۵ و ۶ و نمودارهای ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است.

جدول ۱. خصوصیات شیمیایی پساب و لجن مجتمع فولاد مبارکه اصفهان

نوع فاضلاب / مشخصات	پساب	لجن
کروم شش ظرفیتی (میلی‌گرم بر لیتر)	۲۳/۹۲	۴۴/۹۰
نیکل دو ظرفیتی (میلی‌گرم بر لیتر)	۰/۰۰۶	۳/۰۱۸
سرب (میلی‌گرم بر لیتر)	۰/۰۶	۱/۹۱
BOD (میلی‌گرم بر لیتر)	۱۷۰	-
COD (میلی‌گرم بر لیتر)	۳۲۰۰۰	-
pH	۴/۹۲	۸/۲۵
TKN (میلی‌گرم بر لیتر)	۱/۸۷۵	-

جدول ۲. نتایج بیوشیمیایی، ریخت‌شناسی، حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی (برحسب میلی‌گرم بر لیتر) سویه‌های مقاوم به کروم (VI) جدا شده از فاضلاب مجتمع فولاد مبارکه اصفهان

ویژگی / باکتری	گرم رنگ‌آمیزی	ریخت‌شناسی	اسپور	حرکت	کاتالاز	اکسیداز	هیدرولیز نشاسته	سیترات مصرف	نمک ۶/۵ درصد	گلوکز	گلوکز از اسید تولید	مانیتول	اندول	سولفید هیدروژن	حداقل غلظت بازدارندگی (mg/l)	حداقل غلظت کشندگی (mg/l)
Micrococcus luteus SEHD031RS	مثبت	کوکس	−	+	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−	۱۴۰	۱۵۲
Bacillus cereus SEHD031MH	مثبت	باسیل	+	+	+	−	+	−	+	+	−	+	−	−	۷۰	۹۰
Bacillus safensis SEHD031RA	مثبت	باسیل	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	۶۰	۸۰
Bacillus firmus SEHD031MS	مثبت	باسیل	+	−	+	+	−	+	+	+	−	+	−	−	۴۰	۱۰۰
Paenibacillus lautus SEHD031MRA	مثبت	باسیل	+	+	−	−	+	−	+	+	−	+	−	−	۴۰	۱۶۰

جدول ۳. نتایج آزمون مقاومت سویه‌ها جدا شده از مجتمع فولاد مبارکه اصفهان به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین، سفیکسیم، آزیترومایسین و سفالکسین براساس قطر هاله برحسب سانتی‌متر

باکتری / آنتی بیوتیک	قطر هاله برحسب سانتی‌متر: Micrococcus luteus SEHD031RS	Bacillus cereus SEHD031MH	Bacillus safensis SEHD031RA	Bacillus firmus SEHD031MS	Paenibacillus lautus SEHD031MRA	غلظت آنتی‌بیوتیک mcg per disc
آموکسی سیلین	۲/۸	۲/۶	مقاوم	۲/۱	مقاوم	۲۵
سفیکسیم	۱/۱۵	۱/۹	۱/۶	۱/۲۵	مقاوم	۵
آزیترومایسین	۲/۹	۱/۲۵	۱/۸۵	۲/۵۵	۱/۱۵	۱۵
سفالکسین	۲/۶۵	۱/۲۵	۲/۶	۲/۵	۰/۸	۳۰

جدول ۴. شناسایی مولکولی باکتری‌های جدا شده از فاضلاب مجتمع فولاد مبارکه اصفهان

Accession Number	primers F 5-3	Primers R 5-3	Bacterial	درصد تشابه
MG011739	ATCGGTGCGTTCCTCTCC	CGTGTCCGACCACTGTTC	Micrococcus luteus	97
MF927592	AGATTTGATCMTGGCTCAG	TACGGYTACCTTGTTACGACTT	Paenibacillus lautus	91
MF928402			Bacillus firmus	97
MF927595			Bacillus safensis	98
MF927571			Bacillus cereus	98

جدول ۵. تأثیر pHهای مختلف بر بازده حذف کروم (VI) با سویه Micrococcus luteus SEHD031RS برحسب درصد (سرعت اختلاط: ۱۵۰ دور بر دقیقه)

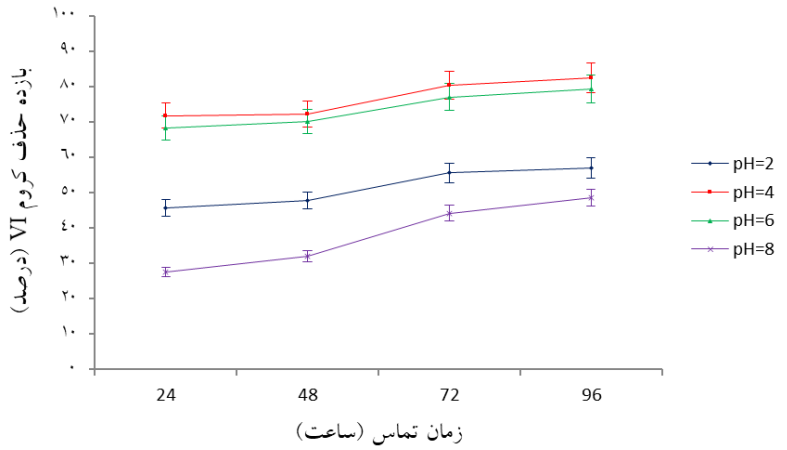
pH	۲	۴	۶	۸	p value
انحراف معیار± میانگین بازده حذف	۴۸/۰±۵۷/۰۷۲۶۶	۷۴/۰±۵۴/۰۵۵۸۷	۷۰/۰±۰۴/۰۵۸۷۴	۲۹/۰±۴۲/۱۱۱۸۷	۰/۰۰۰

جدول ۶. تأثیر زمان تماس مختلف بر بازده حذف کروم (VI) با سویه Micrococcus luteus SEHD031RS برحسب درصد (سرعت اختلاط: ۱۵۰ دور بر دقیقه)

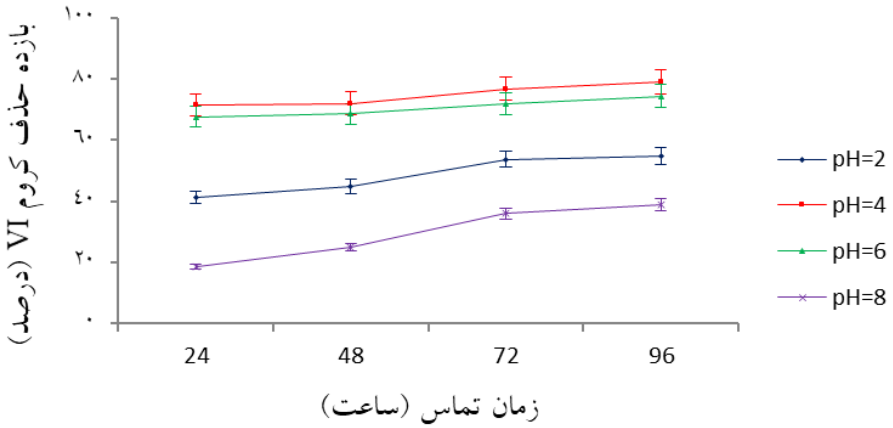
زمان تماس (ساعت)	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	p value
انحراف معیار± میانگین بازده حذف	۴۹/۰±۲۵/۲۱۶۵۱	۵۲/۰±۰۴/۱۹۵۰۸	۵۹/۰±۶۳/۱۷۶۷۱	۶۱/۰±۶۵/۱۷۶۶۵	۰/۰۱۹

جدول ۷. تأثیر غلظت‌های مختلف بر بازده حذف کروم (VI) با سویه Micrococcus luteus SEHD031RS برحسب درصد (سرعت اختلاط: ۱۵۰ دور بردقیقه)

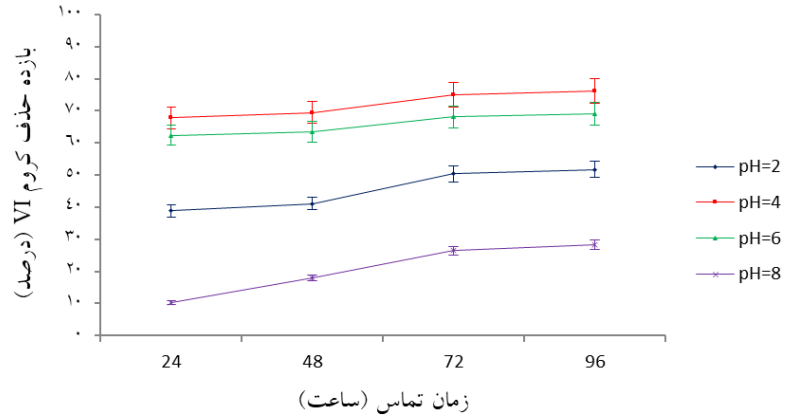
غلظت (میلی‌گرم بر لیتر)	۳۰	۴۰	۵۰	p value
انحراف معیار± میانگین بازده حذف	۵۹/۰±۹۴/۱۷۶۵۴	۵۵/۰±۹۳/۱۹۵۲۸	۵۱/۰±۰۶/۲۱۰۹۵	۰/۰۸۵



نمودار ۱. تأثیر زمان تماس و pHهای مختلف بر بازده حذف کروم (VI) با سویه Micrococcus luteus SEHD031RS در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر برحسب درصد (سرعت اختلاط: ۱۵۰ دور بر دقیقه)



نمودار ۲.اثر زمان تماس و pHهای مختلف بر بازده حذف کروم (VI) با سویه Micrococcus luteus SEHD031RS در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر برحسب درصد (سرعت اختلاط: ۱۵۰ دور بر دقیقه)



نمودار ۳. تأثیر زمان تماس و pHهای مختلف بر بازده حذف کروم (VI) با سویهMicrococcus luteus SEHD031RS در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر برحسب درصد (سرعت اختلاط: ۱۵۰ دور بر دقیقه)

٤. بحث و نتیجه گیری

نتایج نشان داد که به‌ترتیب باکتری‌های Micrococcus luteus SEHD031RS، Bacillus cereus SEHD031MH، Bacillus safensis SEHD031RA و Bacillus firmus SEHD031MS و Paenibacillus lautus SEHD031MRA بیشترین MIC را داشتند. تحقیقات Neito بیان می‌دارند که باکتری‌هایی که توانایی رشد در غلظت یک میلی‌مول فلزات را داشته باشند، باکتری‌های مقاوم نامیده می‌شوند (۳۲). بنابراین تمام سویه‌های جداسازی شده در این مطالعه جزو باکتری‌های مقاوم قرار می‌گیرند ولی با توجه به اینکه در این مطالعه بالاترین MIC ملاک بوده است؛ باکتری Micrococcus luteus SEHD031RS، برترین سویه مقاوم به کروم (VI) شناخته و برای بررسی میزان حذف کروم (VI) انتخاب شد.

در این مطالعه، بالاترین میزان حذف فلز کروم (VI) در pH=۴، غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر در مدت ۹۶ ساعت، ۸۲/۵ درصد و کم‌ترین میزان حذف فلز کروم (VI) درpH هشت، غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در مدت زمان ۲۴ ساعت، ۱۰/۳۳ درصد برای سویه فوق به‌دست آمد.

مواجهه سویه Micrococcus luteus SEHD031RS با غلظت‌های مختلفی از کروم (VI) در شرایط محیطی متفاوت نشان داد که تغییرات pH و زمان تماس بر فرایند حذف کروم (VI) تأثیرگذار می‌باشد و می‌توانند بر رشد باکتری‌ها مؤثر باشند. در نمودار ۱ مشخص است میزان حذف کروم (VI) در محیط‌های نسبتاً اسیدی (pH=۴ و pH=۶) از مقدار بیشتری برخوردار است و با افزایش قدرت اسیدی (pH=۲) علی‌رغم این فرضیه که با افزایش قدرت اسیدی، سطح باکتری از بار مثبت بیشتری برخوردار می‌شود و می‌تواند در جذب یون‌های منفی مؤثرتر واقع شود ولی به دلیل متوقف شدن رشد و احتمال غیر زنده بودن باکتری میزان حذف کروم (VI) به‌شدت کاهش یافته است. روند کاهش حذف با افزایش pH (از pH=۶) ادامه می‌یابد، تا در ناحیه نسبتاً قلیایی (pH=۸) میزان حذف کروم (VI) به کمترین میزان خود می‌رسد. نتایج مشابهی را برای غلظت‌های۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌توان مشاهده کرد (نمودار ۲ و ۳)، با این تفاوت که وقتی pH محیط قلیایی می‌شود (pH=۸)، بازده حذف کروم (VI) کاهش می‌یابد ولی در pHهای اسیدی، تغییرات محسوسی در میزان حذف رخ نمی‌دهد. نتایج تحقیقات Ozdemir که روی سویه Pantoea sp. TEM18 برای حذف کروم (VI) انجام گرفت نشان داد بالاترین میزان حذف در pH سه و کم‌ترین میزان حذف در pH هشت بود (۲۴).

در محدوده pH موردمطالعه (pH 2 الی ۸ برای غلظت‌های ۵۰،۴۰،۳۰ میلی‌گرم بر لیتر) حداکثر میزان حذف کروم (VI) در pH=۴ ، زمان تماس ۹۶ ساعت و غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد که برابر با ۸۲/۵ درصد و حداقل میزان حذف کروم در pH=۸، زمان تماس ۲۴ ساعت در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد که برابر با ۱۰/۳۳ درصد مشاهد شد. نتایج تحقیقات Haq، بالاترین میزان حذف کروم (VI) در باکتری Kocuria rhizophila را در pH چهار به میزان ۱۴/۴ میلی‌گرم بر گرم نشان داد (۲۲). تأثیر pH بر جذب کروم (VI) می‌تواند به بار سطح سلول‌های میکروبی نسبت داده شود و زمانی که pH افزایش یابد، بار کلی سطح در سلول‌ها منفی می‌شود و منجر به کاهش جذب آنیونی کروم (VI) می‌شود (۳۳). تحقیقات A.I Zouboulis که بر روی باکتری‌های Bacillus laterosporus و Bacillus licheniformis انجام گرفت، کمترین میزان حذف کروم (VI) را در

pH هشت نشان داد (۳۴).

در این مطالعه حداکثر حذف در pH=۴ و pH=۶ مشاهده شد که احتمالاً نمی‌توان pH را تنها عامل مؤثر بر حذف در نظر گرفت بلکه رشد باکتری و زمان تماس را هم می‌توان در حذف کروم (VI) مؤثر دانست. نتایج این تحقیق بیشترین بازده حذف را در ۹۶ ساعت در pHهای متفاوت و در غلظت‌های مختلف و کمترین بازده حذف را در مدت زمان ۲۴ ساعت نشان داد. در این تحقیق دو جهش در حذف کروم (VI) یکی در بازه زمانی صفر تا ۲۴ ساعت و دیگری در بازه زمانی ۴۸ تا ۷۲ ساعت مشاهده شد که احتمالاً به مکانیسم سمیت‌زدایی باکتری اشاره دارد؛ به گونه‌ای که باکتری در این دو بازه زمانی با کاهش غلظت اولیه و مکانیسم سمیت‌زدایی شروع به رشد دوباره می‌کند به گونه‌ای که در این دو بازه زمانی، حذف قابل‌توجهی مشاهده شد. در مطالعه Zahoor که بر دوسویه Bacillus sp. JDM-2-1 و Staphylococcus capitis انجام گرفت نشان داد کمترین بازده حذف کروم (VI) در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در مدت زمان ۲۴ ساعت به‌ترتیب ۴۰ و ۲۹ درصد و بالاترین بازده حذف در مدت زمان ۹۶ ساعت به‌ترتیب ۸۵ و ۸۱ درصد نشان داده شد (۳۵). در مطالعه Srivastava که در مورد جلبک Aspergillus niger و به‌منظور حذف کروم (VI) انجام گرفت نتایج نشان داد که با افزایش غلظت، بازده حذف کاهش پیدا کرده است، همچنین بالاترین بازده حذف در مدت هفت روز به میزان ۹۰ درصد و کمترین میزان حذف طی یک روز و با راندمان کمتر از ۴۰ درصد نشان داده شد (۳۶).

در این تحقیق در pH بالاتر از چهار حذف کروم (VI) به‌مرور کاهش پیدا می‌کند و در pH بالاتر از شش میزان حذف، کاهش چشم‌گیری داشت که این کاهش حذف را احتمالاً می‌توان به منفی شدن سطح باکتری در اثر تغییرات pH نسبت داد. مطالعه‌ای که Congeevaram بر روی Micrococcus species انجام داد، بالاترین بازده حذف کروم (VI) را در pH هفت، مدت زمان ۱۸ ساعت ۹۰ درصد گزارش کرد (۳۸،۳۷).

غلظت یکی از عواملی است که می‌تواند بر میزان حذف کروم (VI) دخالت داشته باشد. با توجه به انجام آزمایش MIC با افزایش غلظت، رشد باکتری موردمطالعه محدود شد. میزان حذف کروم (VI) در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر بالاترین بازده و برابر با ۵۹/۹۴ درصد و در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کمترین بازده و برابر با ۵۱/۰۶ درصد را نشان داد که احتمالاً می‌تواند نشان‌دهنده تأثیر مستقیم غلظت بر ساختار و متابولیسم باکتری باشد. در پژوهشی که Mubashar بر روی میکروارگانیسم‌های Bacillus cereus، Bacillus pumilis و Pantoea agglomerans برای حذف کروم (VI) انجام داد نتایج مشابهی مشاهده شد به گونه‌ای که بالاترین میزان حذف برای سویه‌های Bacillus cereus وBacillus pumilis در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌ترتیب ۸۶/۷۹ و ۸۷/۷۹ درصد و برای سویه Pantoea agglomerans در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر۸۷ درصد گزارش شده است. همچنین در این تحقیق کمترین میزان حذف در ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شده است (۳۳).

از ۳۰ سویه جدا شده از پساب و لجن فولاد مبارکه اصفهان پنج باکتری مقاوم به کروم (VI) شناسایی شدند. از میان این پنج سویه، باکتری Micrococcus luteus SEHD031RS با شماره الحاقی MG011739 به دلیل حداقل غلظت بازدارنده ۱۴۰ و حداقل غلظت کشندگی ۱۵۲ میلی‌گرم بر لیتر، برترین سویه مقاوم به کروم (VI) شناخته شد. در این مطالعه بالاترین میزان حذف فلز کروم (VI) در pH=۴، غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر در مدت زمان ۹۶ ساعت، ۸۲/۵ درصد و کمترین میزان حذف فلز کروم (VI) درpH هشت، غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در مدت زمان ۲۴ ساعت، ۱۰/۳۳ درصد برای سویه فوق به‌دست آمد. این مطالعه ثابت کرد که از Micrococcus luteus SEHD031RS می‌توان به‌عنوان یک میکروارگانیسم، در حذف کروم (VI) از فاضلاب‌های صنعتی و پاک‌سازی محیط استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولین فولاد مبارکه اصفهان و مسئولین آزمایشگاه دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که ما را در انجام این مطالعه پشتیبانی کرده‌اند سپاسگزاری می‌کنیم.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References

[1]. Elabbas S, Mandi L, Berrekhis F, Pons MN, Leclerc JP, Ouazzani N. Removal of Cr(III) from chrome tanning wastewater by adsorption using two natural carbonaceous materials: Eggshell and powdered marble. Journal of environmental management. 2016;166:589-595 .

[2]. Fawzy MA, Issa AA. Bioremoval of heavy metals and nutrients from sewage plant byAnabaena oryzaeandCyanosarcina fontana. International Journal of Phytoremediation. 2015;(18)4:321-328 .

[3]. Hemambika B, Kannan VR. Intrinsic characteristics of Cr(6)(+)-

resistant bacteria isolated from an electroplating industry polluted soils for plant growth-promoting activities. Applied biochemistry and biotechnology. 2012;167(6):1653-67.

[4]. Kiran MG, Pakshirajan K, Das G. Heavy metal removal from multicomponent system by sulfate reducing bacteria: Mechanism and cell surface characterization. Journal of Hazardous Materials. 2017;324:62-70 .

[5]. Munoz AJ, Espinola F, Moya M, Ruiz E. Biosorption of Pb(II) Ions by Klebsiella sp. 3S1 Isolated from a Wastewater Treatment Plant: Kinetics and Mechanisms Studies. BioMed research international. 2015;2015:719060

[6]. Ng YS, Sen Gupta B, Hashim MA. Performance Evaluation of Two-Stage Electrokinetic Washing as Soil Remediation Method for Lead Removal using Different Wash Solutions. Electrochimica Acta. 2014;147:9-18.

[7]. Li H, Huang S, Zhang Y. Cr(VI) removal from aqueous solution by thermophilic denitrifying bacterium Chelatococcus daeguensis TAD1 in the presence of single and multiple heavy metals. Journal of Microbiology. 2016 ;54(9):602-10.

[8]. Murugavelh S, Mohanty K. Bioreduction of hexavalent chromium by free cells and cell free extracts of Halomonas sp. Chemical Engineering Journal. 2012;203:415-22.

[9]. Gupta S, Babu BV. Utilization of waste product (tamarind seeds) for the removal of Cr(VI) from aqueous solutions: Equilibrium, kinetics, and regeneration studies. Journal of environmental management. 2009;90(10):3013-22.

[10]. Park JH, Chon HT. Characterization of cadmium biosorption by Exiguobacterium sp. isolated from farmland soil near Cu-Pb-Zn mine. Environmental science and pollution research international. 2016;23(12):11814-22.

[11]. Qambrani NA, Hwang JH, Oh SE. Comparison of chromium III and VI toxicities in water using sulfur-oxidizing bacterial bioassays. Chemosphere. 2016;160:342-8.

[12]. Puyen ZM, Villagrasa E, Maldonado J, Diestra E, Esteve I, Solé A. Biosorption of lead and copper by heavy-metal tolerant Micrococcus luteus DE2008. Bioresource Technology. 2012;126:233-7.

[13]. Şahin Y, Öztürk A. Biosorption of chromium(VI) ions from aqueous solution by the bacterium Bacillus thuringiensis. Process Biochemistry. 2005;40(5):1895-901.

[14]. Sun H, Brocato J, Costa M. Oral Chromium Exposure and Toxicity. Current environmental health reports. 2015;2(3):295-303.

[15]. Wise SS, Holmes AL, Liou L, Adam RM, Wise JP, Sr. Hexavalent chromium induces chromosome instability in human urothelial cells. Toxicology and applied pharmacology. 2016;296:54-60.

[16]. Elahian F, Moghimi B, Dinmohammadi F, Ghamghami M, Hamidi M, Mirzaei SA. The Anticancer Agent Prodigiosin Is Not a Multidrug Resistance Protein Substrate. DNA and Cell Biology. 2013;32(3):90-7.

[17]. .Singh R, Gautam N, Mishra A, Gupta R. Heavy metals and living systems: An overview. Indian journal of pharmacology. 2011;43(3):246-53.

[18]. Kumar R, Singh R, Kumar N, Bishnoi K, Bishnoi NR. Response surface methodology approach for optimization of biosorption process for removal of Cr (VI), Ni (II) and Zn (II) ions by immobilized bacterial biomass sp. Bacillus brevis. Chemical Engineering Journal. 2009;146(3):401-7

[19]. Qu Y, Zhang X, Xu J, Zhang W, Guo Y. Removal of hexavalent chromium from wastewater using magnetotactic bacteria. Separation and Purification Technology. 2014;136:10-7.

[20]. Vijayaraghavan K, Yun YS. Bacterial biosorbents and biosorption. Biotechnology advances. 2008;26(3):266-91.

[21]. Association APH Association AWW Federation WPC Federation WE. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22th ed. Am Publ Health 2017; P.201-70.

[22]. Haq F, Butt M, Ali H, Chaudhary HJ. Biosorption of cadmium and chromium from water by endophyticKocuria rhizophila: equilibrium and kinetic studies. Desalination and Water Treatment. 2015;57(42):19946-58.

[23]. Holla G, Yeluri R, Munshi AK. Evaluation of minimum inhibitory and minimum bactericidal concentration of nano silver base inorganic anti-microbial agentagainst streptococcus mutans. Contemp Clin Dent 2012 3: 288-93.doi: 10.4103/0976-237X.103620

[24]. Ozdemir G. Biosorption of chromium(VI), cadmium(II) and copper(II) by Pantoea sp. TEM18. Chemical Engineering Journal. 2004;102(3):249-53.

[25]. Ayangbenro AS, Babalola OO. A New Strategy for Heavy Metal Polluted Environments: A Review of Microbial Biosorbents. International journal of environmental research and public health. 2017 ;14(1):94.

[26]. Barakat MA. New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. Arabian Journal of Chemistry. 2011;4(4):361-77.

[27]. Vos P, Garrity G, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Springer Science & Business Media. 2011.

[28]. Zeng X-x, Tang J-x, Liu X-d, Jiang P. Isolation, identification and characterization of cadmium-resistant Pseudomonas aeruginosa strain E1. Journal of Central South University of Technology. 2009;16(3):416-21.

[29]. Elahian F, Moghimi B, Dinmohammadi F, Ghamghami M, Hamidi M, Mirzaei SA. The Anticancer Agent Prodigiosin Is Not a Multidrug Resistance Protein Substrate. DNA Cell Biol. 2013;32(3):90-7.

[30]. .Savvaidis I, Hughes MN, Poole RK. Copper biosorption by Pseudomonas cepacia and other strains. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2003;19(2):117-21.

[31]. Molazadeh P, Khanjani N, Rahimi MR, Nasiri A. Adsorption of Lead by Microalgae Chaetoceros Sp. and Chlorella Sp. from Aqueous Solution. Journal of Community Health Research. 2015;4(2):114-27.

[32]. Nieto J, Fernandez-Castillo R, Marquez M, Ventosa A, Quesada E, Ruiz-Berraquero F. Survey of metal tolerance in moderately halophilic eubacteria. Applied and Environmental Microbiology. 1989; 55(9): 2385-90.

[33]. Mubashar K, Faisal M. Uptake of toxic Cr (VI) by biomass of exo-polysaccharides producing bacterial strains. African Journal of Microbiology Research. 2012;6(13): 3329-36.

[34]. Zouboulis AI, Loukidou MX, Matis KA. Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. Process Biochemistry. 2004;39(8):909-16.

[35]. Zahoor A, Rehman A. Isolation of Cr(VI) reducing bacteria from industrial effluents and their potential use in bioremediation of chromium containing wastewater. Journal of Environmental Sciences. 2009;21(6):814-20.

[36]. Srivastava S, Thakur IS. Biosorption potency of Aspergillus niger for removal of chromium (VI). Current microbiology. 2006;53(3):232-7.

[37]. Gavrilescu M. Removal of Heavy Metals from the Environment by Biosorption. Engineering in Life Sciences. 2004;4(3):219-32.

[38]. Congeevaram S, Dhanarani S, Park J, Dexilin M, Thamaraiselvi K. Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates. Journal of Hazardous Materials. 2007;146(1-2):270- 7.