

Farklı Ortam Koşullarının *Micrococcus* sp. Ekzopolisakkarit Üretimine Etkisi

Nur Koçberber KILIÇ^{1*}, Gönül DÖNMEZ¹

¹Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Beşevler, 06100, Ankara, TÜRKİYE.

*nrkili@ankara.edu.tr. ID: <http://orcid.org/0000-0003-2668-3789>

gdonmez@ankara.edu.tr. ID: <http://orcid.org/0000-0001-7972-5570>

Geliş Tarihi: 31.01.2018

; Kabul Tarihi: 25.02.2019

Öz

Endüstriyel atık suların izole edilen *Micrococcus* sp. ile yapılan çalışmada, farklı pH değerlerinin, Remazol Blue konsantrasyonlarının, sıcaklık derecelerinin ve inkübasyon sürelerinin bakterinin ürettiği ekzopolisakkarit (EPS) miktarına etkisi araştırılmıştır. Remazol Blue bulunan ortamlarda farklı pH'larda (pH 6-9) 30 °C de gerçekleştirilen deneylerde, pH 6'da yüksek miktarda EPS üretildiği belirlenmiştir. Bakteri 100-400 mg/l arasındaki başlangıç Remazol Blue konsantrasyonlarında (pH 6, 30 °C) en iyi EPS üretimini, 200 mg/l Remazol Blue konsantrasyonunda 234.8 mg/l olarak yapmıştır. Artan sıcaklık derecelerinin *Micrococcus* sp. tarafından üretilen EPS miktarlarına etkisinin araştırıldığı denemelerde ise en yüksek EPS üretimine 40 °C'de ulaşıldığı görülmüştür. İnkübasyon süresinin üretilen EPS miktarına etkisi araştırıldığında, artan inkübasyon süresinin EPS üretimini azalttığı, en yüksek EPS üretimine biyokütle üretiminin yeni başladığı 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda ulaşıldığı belirlenmiştir. Denemeler sonunda en yüksek EPS üretimi, pH 6' da, 100 mg/l Remazol Blue içeren ortamda, 40 °C'de ve 48 saat inkübasyon süresi sonrasında 257.2 mg/l olarak elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler

Micrococcus sp.,
Ekzopolisakkarit (EPS),
Remazol Blue, Atık su

The effect of different environmental conditions on exopolysaccharide production of *Micrococcus* sp.

Abstract

The effect of different pH values, temperature degrees, Remazol Blue concentrations and incubation periods on exopolysaccharide (EPS) production of the bacteria was investigated in this study which was performed with *Micrococcus* sp. isolated from industrial wastewater. In trials at 30 °C including Remazol Blue with different pH (pH 6-9), the production of high amount of EPS was found at pH 6. At initial Remazol Blue concentrations between 100-400 mg/l (pH 6, 30 °C), the bacteria was produced the maximum EPS production at 200 mg/l Remazol Blue as 234.8 mg/l. In trials to investigate the effect of increasing temperature degrees on EPS amount produced by *Micrococcus* sp., it is observed that the maximum EPS production was reached at 40 °C. When the effect of incubation period on production of EPS was investigated, increasing incubation period was decreased EPS production, the highest EPS production was determined at the end of 48 h incubation period in which biomass production has just begun. At the end of the trials, the maximum EPS production was found at pH 6, in media including 100 mg/l Remazol Blue at 40 °C and at the end of 48 h incubation period as 257.2 mg/l.

Keywords

Micrococcus sp.,
Exopolysaccharide
(EPS), Remazol Blue,
Wastewater

1. Giriş

Tekstil, deri ve kağıt endüstri kollarının oluşturduğu atık sular kontrolsüz bir şekilde akarsulara ve denizlere deşarj edildiğinde bu sularda yaşayan canlı topluluklarına oldukça toksik etki yapmaktadırlar.

Ayrıca, tekstil endüstrisi atık sularındaki sentetik boyar maddeler, ışığın geçmesini engelleyerek akuatik yaşamdaki fotosentetik aktiviteyi negatif yönde etkilemektedir (Aksu, 2005). Bu tip sular bahsedilen özelliklerinden artırmalıdır. Boya

içeren atık suların arıtımı ile ilgili birçok farklı teknik kullanılmaktadır. Bunlar arasında biyolojik arıtım, çöktürme-floklaştırma, elektrokimyasal işlemler, ozon arıtımı, ters ozmoz ve mikrofiltrasyon gibi yöntemler bulunmaktadır (Allegre *et al.* 2006, Crini, 2005).

Daha önce yapılan çalışmalarda, biyolojik arıtım yoluyla boya giderimi yapabilen mikroorganizmalar izole edilmiştir (Aksu and Dönmez 2005, Khehra *et al.* 2006, Sadettin and Dönmez 2006, Kılıç *et al.* 2007, Lodato *et al.* 2007, Bouraie and Din 2016, Mishra and Maiti 2018). Mikroorganizmalarca üretilen EPS, bakterilerin birlik oluşturarak flokleşmesinde, biyofilm üretmesinde ve bu yapının stabil kalmasını sağlamada korucuyu bir tabaka gibi görev görür (Flemming *et al.* 2016). Bu özelliği ile EPS, toksik kontaminantların endüstriyel atık sularından biyogideriminde etkili olmaktadır (Aksu 2005, Khehra *et al.* 2006, Zhang *et al.* 2006). Daha çok ağır metal gibi iyonlara karşı üretildiği ve metal kelasyonu (Iyer *et al.* 2004, Guibaud *et al.* 2005, Ozdemir *et al.* 2003, Mohite *et al.* 2017, Gupta and Diwan 2017) ile ilgili olarak bilinen EPS'nin, bahsedilen özelliklerinden reaktif boyar maddelere karşı da oluşturulabileceği düşünülmektedir.

Ağır metallerin EPS yardımı ile ortamdan uzaklaştırılmaları birçok çalışmada açıklandığı halde, reaktif boyar maddeler ve buna karşı oluşturulan EPS üretimi konusunda çok az çalışma yapılmıştır. Boyar maddelerin biyolojik yollarla giderimleri *Pseudomonas luteola* (Chen 2002) ve *Stenotrophomonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.* (Khehra *et al.* 2006) gibi mikroorganizmalarca gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, *Paenibacillus polymyxa*, *Micrococcus luteus* ve *Micrococcus sp.* gibi üç mikroorganizmanın karıştırılarak kullanıldığı bir karışımla da boyar maddelerin ortamdan uzaklaştırıldığı belirtilmiştir (Moosvi *et al.* 2007).

Boya giderimi yapan bazı mikroorganizmaların EPS ürettikleri bilinmektedir (Shah *et al.* 1999, Chen 2002, Lodato *et al.* 2007). Fakat bu çalışmalarda toksik boyalara karşı ne miktarda EPS üretildiği belirlenmemiş ve EPS'nin hangi çevresel koşullardan ne derece etkilendiği belirtilmemiştir. Yapılan çalışmada, farklı pH derecelerinin, sıcaklığın,

başlangıç Remazol Blue konsantrasyonlarının ve inkübasyon süresinin *Micrococcus sp.* tarafından üretilen EPS miktarına etkisi araştırılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1 Bakteri kültürü

Deri sanayi atık sularından (Sepiciler Deri Fabrikası, İzmir) izole edilerek kullanılan bakteri, araştırmacıların daha önceki bir çalışmasında *Micrococcus sp.* olarak tanımlanmıştır (Kılıç and Dönmez 2007).

2.2 Boya solüsyonu

Çalışmada kullanılan boya (Remazol Blue) Aytemizler Tekstil Fabrikası'ndan (Ankara) saf halde alınmıştır. Stok solüsyon, toz haldeki kimyasalın %2 (w/v) konsantrasyon olacak şekilde distile suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Stok solüsyondan istenilen konsantrasyonlar, Nutrient Agar besiyerine eklenmiştir.

2.3 EPS üretimi

EPS üretiminin belirlenmesi için bakteri kültürü petrielerde hazırlanmış Nutrient Agar besiyerlerinde geliştirilmiştir. Besiyerleri başka şekilde belirtilmediği sürece 30 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir (Memmert BE600, Germany).

2.4 Başlangıç pH derecelerinin EPS üretimine etkisi

En yüksek EPS üretiminin yapıldığı optimum pH'ın bulunması için 100 mg/l boya içeren ortam pH'ları 6, 7, 8 ve 9 değerlerine ayarlanmıştır.

2.5 Başlangıç Remazol Blue konsantrasyonlarının ve farklı sıcaklık derecelerinin EPS üretimine etkisi

Artan Remazol Blue konsantrasyonlarının EPS üretimine etkisinin araştırıldığı deneylerde, *Micrococcus sp.* daha önce belirlenen optimum pH derecesinde ayarlanmış ve 100 mg/l, 200 mg/l, 300 mg/l ve 400 mg/l Remazol Blue içeren besiyerlerinde inkübe edilmiştir.

Farklı başlangıç Remazol Blue konsantrasyonlarının ve sıcaklık derecelerinin *Micrococcus sp.* tarafından

üretile EPS miktarına birlikte etkisini görmek için 100-400 mg/l Remazol Blue içeren ve içermeyen Nutrient Agar besiyerleri hazırlanmıştır. Sıcaklık dereceleri 20, 30 ve 40 °C'lere ayarlanarak bakteri bu ortamlarda geliştirilmiştir.

2.6 Farklı inkübasyon sürelerinin EPS üretimine etkisi

İnkübasyon süresinin EPS üretimine etkisinin araştırılması için bakteri, en yüksek EPS ürettiği ortamda (pH 6; 100 mg/l Remazol Blue; 40 °C) 48, 72, 96, 120, 144 ve 168 saat boyunca geliştirilmiştir. EPS analizleri bu inkübasyon sürelerinin sonunda gerçekleştirilmiştir.

2.7 Analitik yöntemler

2.8 EPS izolasyon ve ölçümü

EPS izolasyonu, Cérantola *et al.* (2000) yaptığı çalışmaya göre gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla agar yüzeyindeki koloniler cam çubukla toplanmış, tartılmış (0.1 g) ve fizyolojik tuzlu ortama alınmıştır. Süspansiyon 100 °C'de 15 dakika kaynatılmıştır. Karışıma soğutulduktan sonra, son hacim %4 (w/v) olacak şekilde trikloroasetik asit (TCA) eklenmiştir. Bu aşamadan sonra, 10,000 x g'de ve 4 °C'de 30 dakika boyunca santrifüj yapılmıştır. Süpernatant alınarak soğuk etanol ile karıştırılmıştır. Bu karışım 10,000 x g'de ve 4 °C'de 30 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. İzolasyon bir kez daha tekrarlanmıştır. Çökelti alınarak distile suda çözülmüştür. EPS içindeki karbohidrat içeriği fenol-H₂SO₄ metodu kullanılarak, glukoz standartına göre bulunmuştur (Dubois *et al.* 1956).

2.9 İstatistik analizleri

Bütün denemeler, üçlü tekrarlar halinde gerçekleştirilmiştir. Veriler, standart sapmaların hesaplanıp belirtilmesiyle ifade bulunmuştur (\pm SE).

3. Bulgular

3.1 Başlangıç pH derecelerinin EPS üretimine etkisi

Remazol Blue içeren ortamların pH'ları 6-9 aralığında değiştirilerek, pH'ın *Micrococcus sp.* tarafından üretilen EPS miktarına etkisi incelenmiştir. Ortamın alkalilik derecesi arttıkça bakteri tarafından üretilen EPS miktarının azaldığı Çizelge 1'de gösterilmiştir. En yüksek EPS oluşumunun pH 6'da 189.7 mg/l olduğu bulunmuştur. Ortamın pH derecesi 9'a çıkarıldığında EPS üretiminin 104.3 mg/l'ye düştüğü gözlemlenmiştir.

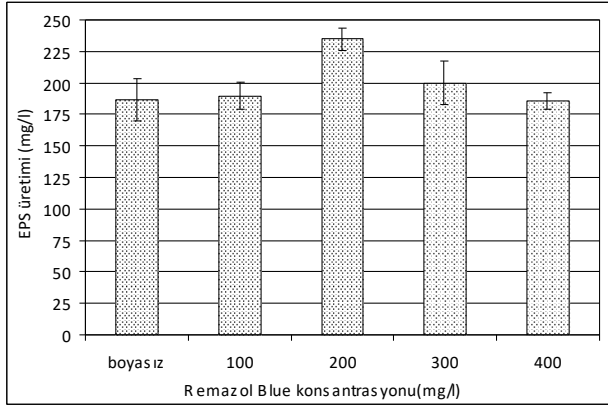
Çizelge 1. Farklı pH derecelerinin *Micrococcus sp.* tarafından üretilen EPS miktarına etkisi (Başlangıç Remazol Blue konsantrasyonu: 100 mg/l; T: 30 °C; inkübasyon süresi: 48 saat)

pH	EPS (mg/l)
6	189.7 \pm 6.0
7	140.6 \pm 9.1
8	116.0 \pm 2.5
9	104.3 \pm 11.5

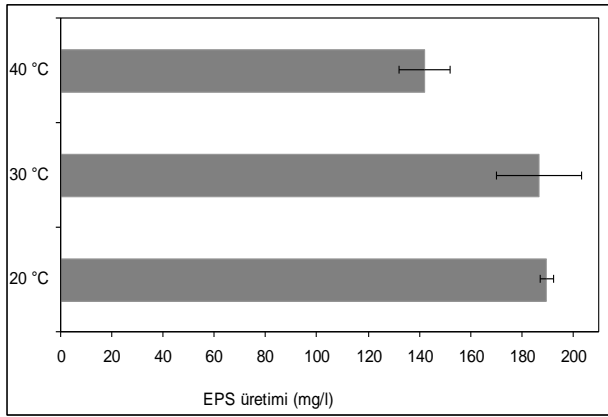
3.2 Başlangıç Remazol Blue konsantrasyonları ve farklı sıcaklık derecelerinin EPS üretimine etkisi

Başlangıç Remazol Blue konsantrasyonlarının *Micrococcus sp.* tarafından üretilen EPS miktarına etkisi, 30 °C ve pH 6'da yapılan denemelerle belirlenmiştir. Artan Remazol Blue konsantrasyonlarının EPS üretimine etkisi Şekil 1'de verilmiştir. Bu deneylerde, Remazol Blue konsantrasyonunun artmasıyla bakteri tarafından oluşturulan EPS miktarı da artmıştır. Boya içermeyen ortamda üretilen EPS miktarı 186.7 mg/l olarak tespit edilirken, EPS oluşumu Remazol Blue konsantrasyonunun 200 mg/l'ye kadar arttırılmasıyla artmıştır. *Micrococcus sp.* tarafından oluşturulan en yüksek EPS miktarları, 100 mg/l Remazol Blue bulunan ortamda, 189.7 mg/l; 200 mg/l Remazol Blue bulunan ortamda, 234.8 mg/l olarak bulunmuştur. Remazol Blue konsantrasyonu

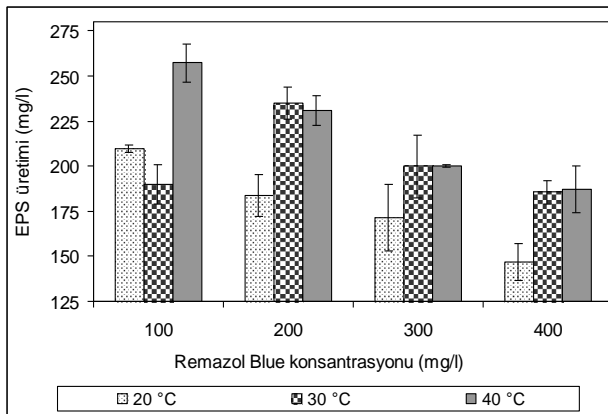
daha da arttırıldığında üretilen ekstrasellüler polimer miktarı azalmıştır.



Şekil 1. Başlangıç Remazol Blue konsantrasyonlarının *Micrococcus sp.* tarafından üretilen EPS miktarına etkisi (pH: 6; T: 30 °C; inkübasyon süresi: 48 saat)



Şekil 2. Farklı başlangıç sıcaklıklarının Remazol Blue içermeyen ortamda *Micrococcus sp.* tarafından üretilen EPS miktarına etkisi (pH: 6; inkübasyon süresi: 48 saat)



Şekil 3. Başlangıç Remazol Blue konsantrasyonlarının ve sıcaklık derecelerinin *Micrococcus sp.* tarafından üretilen

EPS miktarına birlikte etkisi (pH: 6; inkübasyon süresi: 48 saat)

Farklı sıcaklık derecelerinin EPS üretimine etkisi pH'sı 6'ya ayarlanmış, Remazol Blue içeren ve içermeyen ortamlarda belirlenmiştir (Şekil 2 ve 3).

Şekil 2'de özetlendiği gibi, Remazol Blue bulunmayan besiyerinde geliştirilen bakteri, en düşük sıcaklık derecesinde (20 °C), 189.8 mg/l olarak ölçülen miktarda EPS üretmiştir. Sıcaklık derecesi arttırıldığında mikroorganizma tarafından oluşturulan polimerin azaldığı tespit edilmiştir. Sıcaklık 30 °C olduğunda üretilen EPS bir miktar azalarak 186.7 mg/l olarak bulunmuştur. Ortamın sıcaklığı daha da arttırıldığında (40 °C) bakterinin yaptığı EPS, 142.2 mg/l olarak tespit edilmiştir.

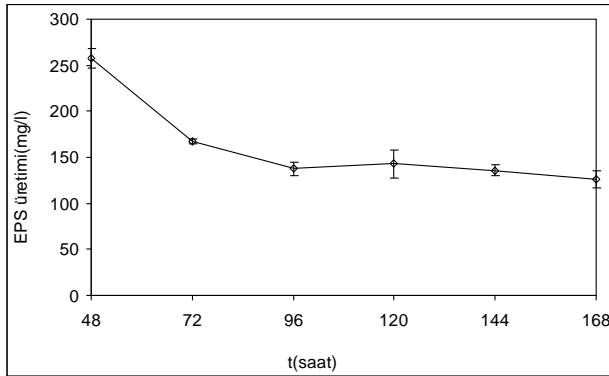
Başlangıç Remazol Blue konsantrasyonlarının ve sıcaklık derecelerinin *Micrococcus sp.* tarafından üretilen EPS miktarına birlikte etkisi Şekil 3'te özetlenmiştir. Sıcaklık derecesi 20 °C olduğunda, artan Remazol Blue konsantrasyonlarında bakteri en yüksek EPS üretimi 100 mg/l Remazol Blue konsantrasyonda hazırlanan Nutrient Agar besiyerinde yapmıştır (209.6 mg/l). Bu sıcaklıkta yapılan denemelerde, Remazol Blue konsantrasyonunun 100 mg/l'den daha da arttırılması ile üretilen EPS miktarı artan boya konsantrasyonlarından olumsuz yönde etkilenmiştir. Oluşturulan polimerin miktarı kirleticinin arttırılmasıyla azalmış ve 200 mg/l Remazol Blue içeren ortamda 183.9 mg/l olarak; 300 ve 400 mg/l Remazol Blue içeren ortamlarda sırasıyla 171.2 mg/l ve 146.7 mg/l olarak belirlenmiştir. Ortam sıcaklığının 30 °C olduğu besiyerinde geliştirilen *Micrococcus sp.* en yüksek miktarda ekstrasellüler polimeri 200 mg/l Remazol Blue içeren ortamda üretmiştir (234.8 mg/l). Aynı sıcaklık koşulunda yapılan denemelerde, 20 °C'de gerçekleştirilen denemelere benzer olarak kirletici miktarının daha da arttırılması ile üretilen EPS miktarı da azalmıştır. Sıcaklığın 30 °C olduğu ortamlarda, Remazol Blue konsantrasyonu 300 mg/l olduğunda üretilen EPS miktarı 200.0 mg/l olarak, 400 mg/l olduğunda da ise 185.5 mg/l olarak tespit edilmiştir.

Mikroorganizmanın, denenen diğer sıcaklıklara göre sıcaklığın 40 °C olduğu deneylerde en fazla miktarda EPS ürettiği tespit edilmiştir. Bu sıcaklıkta geliştirilen

Micrococcus sp., Remazol Blue konsantrasyonunun 100 mg/l olduğu besiyerinde en yüksek kapasite ile EPS üretmiştir (257.2 mg/l). Remazol Blue konsantrasyonu 200 mg/l olduğunda oluşan ekstrasellüler polimer miktarı 230.9 mg/l, boya miktarı 300 mg/l'ye çıkarıldığında ise bu değer 200.0 mg/l olarak tespit edilmiştir. En yüksek boya konsantrasyonunda (400 mg/l) ve 40 °C'deki denemelerde, aynı kirletici konsantrasyonundaki diğer sıcaklıklarda oluşturulan EPS miktarına göre daha fazla miktarda ekstrasellüler polimer üretildiği belirlenmiştir (187.0 mg/l). Boya konsantrasyonunun artmasıyla, test bakterisi toksik kirleticiden olumsuz yönde etkilenmiş ve daha az miktarda EPS üretmiştir.

3.3 Farklı inkübasyon sürelerinin EPS üretimine etkisi

İnkübasyon süresinin EPS üretimine etkisini belirlemek için 6 farklı inkübasyon süresi (48-168 saat) denenmiştir. Bakteri, en yüksek miktarda polimer oluşturduğu ortamda (pH 6, 40 °C, 100 mg/l Remazol Blue konsantrasyonu) farklı inkübasyon sürelerinde geliştirilmiştir. Altı farklı inkübasyon süresi sonunda ölçülen EPS miktarları Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Farklı inkübasyon sürelerinin *Micrococcus sp.* tarafından üretilen EPS miktarına etkisi (pH: 6; T: 40 °C; 100 mg/l Remazol Blue; inkübasyon süresi: 48-168 saat)

Micrococcus sp. en yüksek miktarda polimer oluşumunu 48 saat inkübasyon süresi sonunda gerçekleştirmiştir (257.2 mg/l). Yetmişiki saat sonunda bakteri tarafından üretilen EPS miktarı 167.0 mg/l, 96 saat inkübasyon süresi sonunda ise

137.5 mg/l olarak belirlenmiştir. İnkübasyon süresinin daha da arttırılması ile üretilen EPS miktarı az miktarda artsa da (142.9 mg/l), süre uzadığında polimer üretiminin değişmeden kaldığı tespit edilmiştir. Denenen diğer iki inkübasyon süresi sonunda da (144 ve 168 saat) üretilen EPS miktarları sırasıyla 135.9 mg/l ve 126.1 mg/l olarak ölçülmüştür.

4. Tartışma ve Sonuç

Ekstrasellüler polimerler bakteriler için koruyucu bir bariyer gibi görev yapmaktadırlar. EPS üretim miktarı, ağır metal konsantrasyonu, tuz iyonları, pH derecesi, sıcaklık, oksijen konsantrasyonu veya besiyeri bileşimi gibi birçok farklı koşullardan etkilenmektedir (Nicolaus *et al.* 2002, Leppard *et al.* 2003, Guibaud *et al.* 2005, Nandal *et al.* 2005, Velasco *et al.* 2006, Gupta and Diwan 2017).

Yapılan çalışmada da *Micrococcus sp.* Remazol Blue gibi bir toksik kirletici varlığında hem gelişmekte hem de fazla miktarda EPS üretmektedir. Boyasız ortama göre sentezlenen EPS miktarının boya içeren ortamlarda artması bakterinin kirleticiye karşı koyduğunu, toksik etkiden kurtulmak ve canlılığını devam ettirmek için ekstrasellüler polimer üretimini arttırdığını göstermektedir (Şekil 1).

Micrococcus sp. tarafından üretilen EPS miktarı farklı ortam koşullarından etkilenmiştir. *Rhizobium sp.* ile yapılan bir çalışmada, sıcaklık derecesi arttırıldığında mikroorganizma tarafından üretilen EPS miktarının da arttığı gösterilmiştir (Nandal *et al.* 2005). Yapılan çalışmada da Remazol Blue gibi toksik bir kirletici bulunan ortamda sıcaklığın 20 °C'den 30 °C ve 40 °C'lere arttırılması ile bakteri tarafından oluşturulan ekstrasellüler polimer artmıştır. EPS miktarının bu şekilde artması, *Micrococcus sp.*'nin yüksek sıcaklık ortamında yaşayabilme toleransının çok fazla olduğunu göstermektedir (Şekil 3).

Daha önce *Micrococcus sp.* ile yapılan bir diğer çalışmada, Cr(VI) gibi bir kirleticiye maruz bırakılan bakterinin EPS üretim miktarı belirlenmiştir (Kılıç and Dönmez 2008). Aynı çalışmada en yüksek EPS üretiminin 100 mg/l Cr(VI) içeren ortamda 72 saat

inkübasyon süresi sonunda olduğu, inkübasyon süresinin daha da arttırılmasıyla EPS oluşumunun azaldığı belirlenmiştir. Remazol Blue gibi toksik bir kirlenici ile gerçekleştirilen bu çalışmada da, inkübasyon süresinin uzaması ile bakteri tarafından üretilen EPS miktarının azaldığı görülmüştür.

Çalışmada elde edilen veriler, deri sanayii atık sularından izole edilen *Micrococcus* sp. bakterisinin yüksek konsantrasyonda boya ve yüksek sıcaklık gibi stres koşullarında arttırdığı EPS üretimi ile kolaylıkla canlılığını sürdürebildiğini göstermiştir. Bu özellikleri ile *Micrococcus* sp.'nin boyalı atık suların biyolojik arıtımında kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

5. Kaynaklar

- Aksu, Z., 2005. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. *Process Biochemistry*, **40**, 997-1026.
- Aksu, Z. and Dönmez, G., 2005. Combined effects of molasses sucrose and reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of *Candida tropicalis*. *Process Biochemistry*, **40**, 1437-44.
- Allegre, C., Moulin, P., Maisseu, M. and Charbit, F., 2006. Treatment and reuse of reactive dyeing effluents. *Journal of Membrane Science*, **269**, 15-34.
- Bouraié, M.E., Din, W.S.E., 2016. Biodegradation of reactive black 5 by *Aeromonas hydrophila* strain isolated from dye-contaminated textile wastewater. *Sustainable Environment Research* **26**(5), 209–216.
- Cérantola, S., Bounéry, J., Segonds, C., Marty, N. and Montrozie, H., 2000. Exopolysaccharide production by mucoid and non-mucoid strains of *Burkholderia cepacia*. *FEMS Microbiology Letters*, **185**, 243-46.
- Crini, G. 2006., Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. *Bioresource Technology*, **97**, 1061-85.
- Chen, B. 2002., Understanding decolorization characteristics of reactive azo dyes by *Pseudomonas luteola*: toxicity and kinetics. *Process Biochemistry*, **38**, 437-46.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956., Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, **28**, 350-56.
- Flemming, H-C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Scott A. Rice, S.A. and Kjelleberg, S., 2016. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, **14**, 563-75.
- Guibaud, G., Comte, S., Bordas, F., Dupuy, S. and Baudu, M., 2005. Comparison of the complexation potential extracellular polymeric substances (EPS), extracted from activated sludges and produced by pure bacteria strains, for cadmium, lead and nickel. *Chemosphere*, **59**, 629-638.
- Gupta, P. and Diwan, B. 2017. Bacterial Exopolysaccharide mediated heavy metal removal: A review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. *Biotechnology Reports*, **13**, 58-71.
- Iyer, A., Mody, K. and Jha, B., 2004. Accumulation of hexavalent chromium by an exopolysaccharide producing marine *Enterobacter cloacae*. *Marine Pollution Bulletin*, **49**, 974-77.
- Khehra, M.S., Saini, H.S., Sharma, D.K., Chadha, B.S. and Chimni, S.S., 2006. Biodegradation of azo dye C.I. Acid Red 88 by an anaerobic sequential bioreactor. *Dyes and Pigments*, **70**, 1-7.
- Kılıç, N. and Dönmez, G., 2007. Hexavalent chromium by *Micrococcus* sp. isolated from tannery wastewaters. *Fresenius Environmental Bulletin*, **16**(12a), 1571-1577.
- Kılıç, N.K., Nielsen, J.L., Yüce, M. and Dönmez, G., 2007. Characterization of a simple bacterial consortium for effective treatment of wastewaters with reactive dyes and Cr(VI). *Chemosphere*, **67**, 826-31.
- Kılıç, N. and Dönmez, G., 2008. Environmental conditions affecting exopolysaccharide production by *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus* sp., *Ochrobactrum* sp. *Journal of Hazardous Materials*, **154**, 1019-24.
- Leppard, G.G., Droppo, I.G., West, M.M. and Liss, S.N., 2003. Compartmentalization of metals within the diverse colloidal matrices comprising activated sludge microbial flocs. *Journal of Environmental Quality*, **32**, 2100-08.
- Lodato, A., Alfieri, F., Olivieri, G., Di Donato, A., Marzocchella, A. and Salatino, P., 2007. Azo-dye conversion by means of *Pseudomonas* sp. OX1. *Enzyme and Microbial Technology*, **41**, 646-652.
- Mishra, S. and Maiti, A., 2018. The efficacy of bacterial species to decolorise reactive azo, anthraquinone and triphenylmethane dyes from wastewater: a review. 2018. *Environmental Science and Pollution Research* (2018) **25**, 8286–8314.
- Mohite, B.V., Koli, S.H., Narkhede, C.P., Patil, S.N., Patil, S.V., 2017. Prospective of Microbial Exopolysaccharide for Heavy Metal Exclusion. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **183**, 582–600.
- Moosvi, S., Kher, X., Madamwar, D., 2007. Isolation, characterization and decolorization of textile dyes by a mixed bacterial consortium JW-2. *Dyes and Pigments* **74**, 723-729.

- Nicolaus, B., Lama, L., Panico, A., Moriello, V.S., and Romano, I., 2002. Production and characterization of exopolysaccharides excreted by thermophilic bacteria from shallow, marine hydrothermal vents of flegrean areas (Italy). *Systematic and Applied Microbiology*, **25**, 319-325.
- Nandal, K., Sehrawat, A.R., Yadav, A.S., Vashishat, R.K. and Boora, K.S., 2005. High temperature-induced changes in exopolysaccharides, lipopolysaccharides and protein profile of heat-resistant mutants of *Rhizobium* sp. (Cajanus). *Microbial Bioresearch*, **160**, 367-373.
- Ozdemir, G., Ozturk, T., Ceyhan, N., Isler, R. and Cosar, T., 2003. Heavy metal biosorption by biomass of *Ochrobactrum anthropi* producing exopolysaccharide in activated sludge. *Bioresource Technology*, **90**, 71-74.
- Sadettin, S. and Dönmez, G., 2006. Bioaccumulation of reactive dyes by thermophilic cyanobacteria. *Process Biochemistry*, **41**, 836-841.
- Shah, V., Garg, N. and Madamwar, D., 1999. An integrated process of textile dye removal and hydrogen evolution using cyanobacterium, *Phormidium valderianum*. *World of Journal Microbiology and Biotechnology*, **17**, 499-504.
- Velasco, S., Arsköld, E., Paese, M., Grage, H., Irastorza, A., Radström, P. and van Niel, E.W.J., 2006. Environmental factors influencing growth of and exopolysaccharide formation by *Pedococcus parvulus* 2.6. *International Journal of Food Microbiology*, **111**, 252-258.
- Zhang, D., Wang, J. and Pan, X., 2006. Cadmium sorption by EPSs produced by anaerobic sludge under sulfate-reducing conditions. *Journal of Hazardous Materials*, **B138**, 589-593.