Milica Puđa

Elektrohemijska i bio-degradacija boje metilensko plavo

Procesima elektrohemijske i hemijske razgradnje moguće je ukloniti boju metilensko plavo iz otpadnih voda iz tekstilne industrije. Ova boja, kada dospe u životnu sredinu, inhibira proces fotosinteze i dovodi do smrti bakterija. U ovom radu ispitivan je tok elektrohemijske i bio-degradacije ove boje. Za elektrohemijsku degradaciju kao anodni materijal korišćen je Pb/PbO₂, a kao katodni gvozdena pločica. Početna koncentracija boje održavana je konstantnom i iznosila je 100 mg/L. Varirani paramentri bili su gustina električne struje (25 i 35 mA/cm²) i pH vrednost rastvora boje (2.5, 5.0 i 6.9). Za biodegradaciju je korišćen bakterijski soj Pseudomonas sp. C2. Procesi biodegradacije odvijani su u minimalnom medijumu (medijum bez izvora ugljenika). Varirani su početna koncentracija boje (5, 10 i 20 mg/L) i pH vrednost rastvora boje (5.0, 7.0 i 8.0). Koncentracija boje zaostale nakon degradacije određivana je spektrofotometrijski. Najviši stepen elektrohemijske degradacije (98.7%) postignut je pri pH vrednosti 5.0 i gustini električne struje od 35 mA/cm², dok je najviši stepen biodegradacije boje postignut pri pH vrednosti 7.0 (91.0 %) i početnoj koncentraciji boje 20 mg/L.

tor, za dokazivanje sulfida, u biologiji kao marker za različite postupke bojenja tkiva (Steffen *et al.* 2014), a u medicini se koristi u terapiji kancera (Davis *et al.* 2013), malarije (Meissner *et al.* 2006), methemoglobinemije (Skold *et al.* 2011), kod trovanja cijanidima i ugljenik(II)—oksidom (Brooks 1933). Toksičnost afektuje inhibiciju procesa fotosinteze i dovodi do smrti bakterija, jer ima baktericidno dejstvo (Tabbaral i Jamal 2012). Procesima elektrohemijske i biodegradacije moguće je ukloniti ovu boju iz otpadnih voda (Cibulić *et al.* 2013).

Elektroliza je proces razlaganja supstanci pod dejstvom jednosmerne struje. Elektrohemijska ćelija je sistem koji pretvara hemijsku energiju redoks reakcije u električnu energiju. Elektrohemijska ćelija ima dve elektrode, anodu i katodu koje mogu biti metalne, staklene, grafitne ili druge. Elektrodne reakcije su oksido-redukcione reakcije na faznim granicama između elektrodnog materijala i elektrolita. Zbog proticanja struje kroz elektrolit, anjoni se kreću ka pozitivnoj elektrodi (anodi), a kationi se kreću ka negativno naelektrisanoj elektrodi (katodi). Na elektrodama se joni izdvajaju u obliku atoma ili molekula. Pri tome, anjoni predaju anodi višak elektrona (oksidacija), dok istovremeno na katodi katjoni primaju jednaku količinu elektrona (redukcija). Na ovaj način se kretanjem jona naelektrisanje prenosi sa jedne elektrode na drugu, čime se zatvara strujno kolo. Dimenziono stabilne anode (DSA) su elektrode kod kojih se

Uvod

Metilensko plavo, tiazinska boja, je heterociklično aromatično jedinjenje molekulske formule C₁₆H₁₈N₃SCl (slika 1). Na sobnoj temperaturi se javlja u obliku čvrstog, tamno-zelenog praha bez mirisa, koji se rastvara u vodi. Metilensko plavo se koristi u hemiji kao indika-

Milica Puđa (1996), Beograd, Borisavljevićeva 1, učenica 3. razreda Farmaceutsko-fizioterapeutske škole u Beogradu

MENTOR: Miljan Ćorović, student I godine Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Slika 1. Strukturna formula boje metilensko plavo

Figure 1. Methylene blue structure

matriks, koji se najčešće sastoji od grafita, titana, cirkonijuma ili talijuma, termički oblaže tankim slojem plemenitog metala, kao što je rutenijum, ili oksidom metala kao što je olovo(IV)-oksid, kalaj(IV)-oksid, titanijum(IV)-oksid ili iridijum(IV)-oksid (Sujitha *et al.* 2009). Korišćenjem ovih anoda postižu se visoki procenti degradacije supstanci iz otpadnih voda uz manju vrednost gustine električne struje (20–40 mA/cm²) (Chen i Huang 2012).

Pseudomonas je rod Gram-negativnih aerobnih bakterija. Neke bakterije iz roda *Pseudomonas* imaju sposobnost konzumacije aromatičnih jedinjenja kao jedinog izvora ugljenika i energije. One se koriste za biodegradaciju organskih supstanci rastvorenih u otpadnim vodama, kao i za bioremedijaciju zagađenog zemljišta (Chen *et al.* 2007). U ovom radu su korišćene bakterije *Pseudomonas* sp. C2.

Biodegradacija boje predstavlja hemijsku razgradnju supstanci bakterijama ili drugim biološkim materijalima. Ovom metodom je moguće izvršiti razgradnju početne komponente do jednostavnijih, kao što su CO₂, H₂O, NH₃ ili drugih mineralnih supstanci. Bakterije koje mogu vršiti biodegradaciju su sposobne da koriste ispitivanu boju kao osnovni izvor ugljenika. To su bakterije iz rodova Bacillus sp (Zhang et al. 2013), Pseudomonas sp, Acinetobacter sp (Wang et al. 2007), Achromobacter sp. Ovi mikroorganizmi su osetljivi na povišene koncentracije boja, u čijem prisustvu dolazi do inhibicije porasta mikroorganizama (Chen et al. 2007). Enzim azo-reduktaza, koji sintetišu bakterije, je odgovoran za bio-degradaciju boja. Ovaj enzim katalizuje kidanje azo-veze prisutne u strukturama mnogih tekstilnih boja. Njegova aktivnost zavisi od pH vrednosti sredine, on je najaktivniji u slabo baznoj i neutralnjoj sredini (pH 7–8) (Jadhav et al. 2013).

Cilj ovog rada je utvrđivanje efikasnosti i međusobno poređenje elektrohemijske i biodegradacije boje metilensko plavo u različitim uslovima sredine i koncentracijama boje korišćenjem električne struje različite gustine.

Materijal i metode

U radu su za elektrohemisjku degradaciju boje metilensko plavo korišćene, kao anoda DSA Pb/PbO2 elektroda, a kao katoda gvozdena pločica. Ispitivan je uticaj vrednosti gustine električne struje (25 i 35 mA/cm²) i pH vrednosti sredine (2.5, 5.0 i 6.9). Za bio-degradaciju boje korišćen je soj bakterija *Pseudomonas* sp. C2. Biodegradacija je odvijana u minimalnom medijumu. Ispitivan je uticaj pH vrednosti sredine (5.0, 7.0 i 8.0) i početne koncentracije boje (5, 10 i 20 mg/L). Tokovi elektrohemijske i bio-degradacije su praćeni spektrofotometrijski, na 662 nm (λ_{max} metilenskog plavog). Svi eksperimenti su ponovljeni tri puta, izračunati su standardna devijacija i koeficijenti varijacije.

Priprema Pb/PbO2 elektrode. Elektrodepozicijom (postupak taloženja čvrstog materijala na elektrodnu površinu procesom elektrolize) je izvršeno taloženje sloja PbO₂ na olovnoj pločici. Pločica je mehanički očišćena abrazivnim papirom od sukcesivnih neravnina i onda isprana u dva petnaestominutna koraka u ultazvučnom kupatilu acetonom i destilovanom vodom. Zatim je isprana rastvorom sumporne kiseline (25%) u cilju otklanjanja površinskih nečistoća. Elektrodepozicioni eksperimenti su sprovedeni pomoću dve elektrode, gde je Pb pločica korišćena kao anoda a gvozdena pločica kao katoda. Razmak između katode i anode je podešen na 2 cm. Kao elektrolit korišćen je rastvor Pb(NO₃)₂ (16.7 g u 1 L rastvora 0.1 mol/L HNO₃). Elektrodepozicija sloja PbO₂ se odvijala po reakcijama:

A⁺:
$$Pb^{2+} + 2H_2O - 2e^- \rightarrow PbO_2 + 4H^+$$

 $2H_2O - 4e^- \rightarrow O_2 + 4H^+$
K⁻: $3Pb^{2+} + 6e^- \rightarrow 3Pb^0$

Sloj PbO₂ je generisan nakon 2 h, pri 20 mA/cm², na 25°C, uz konstantno mešanje magnetnom mešalicom.

Elektroliza boje metilensko plavo. Elektroliza boje metilensko plavo, koncentracije

100 mg/L, odvijana je u 30 mL rastvora Na₂SO₄ koncentracije 0.1 mg/L. Temperatura i početna koncentracija boje su održavane konstantnim i to 25°C, odnosno 100 mg/L. Elektrohemijska degradacija je trajala 2 sata. Uzimani su alikvoti elektrolitičkog rastvora zapremine 100 μL u prvih 30 minuta na svakih 5 minuta, a kasnije na svakih 15 minuta, radi praćenja stepena degradacije, odnosno smanjenja koncentracije boje. Promena apsorbance boje je praćena spektrofotometrijski. Uzorci su pre analize razblaženi do 1 mL rastvorom Na₂SO₄ koncentracije 0.1 mol/L. Procenat degradacije boje, odnosno efikasnost elektrolize računat je po formuli:

Efikasnost obezbojavanja (%) =
$$\frac{100(A_0 - A)}{A_0}$$
.

Spektrofotometrijska analiza. Apsorbanca je merena na spektrofotometru ISKRA AM 5923, osim snimanja celog spektra koji je snimljen na spektrofotometru Thermo Scientific 60 S UV-Visible. Snimanjem spektra boje metilensko plavo određen je maksimum apsorbcije na talasnoj dužini 662 nm.

Biodegradacija boje metilensko plavo. Biodegradacija boje metilensko plavo vršena je tako što je suspenzija bakterija zapremine 1 mL u Lysogeny broth (LB) medijumu centrifugirana i resuspendovana u minimalnom medijumu. U minimalnom medijumu, varirana je koncentracija rastvorene boje (5, 10 i 20 mg/L). 1 L minimalnog medijuma sadrži 4.36 g K₂HPO₄, 3.45 g NaH₂PO₄, 1.00 g NH₄Cl, 0.91 g MgSO₄×6H₂O. pH ovog rastvora je podešen na 7.0 pomoću rastvora NaOH koncentracije 2 mol/L. U litar ovog medijuma je dodat 1 mL bazalnog rastvora soli. Količina od 100 mL bazalnog rastvora soli sadrži: 4.77 g CaCl₂×2H₂O, 0.37 g FeSO₄× ×7H₂O, 0.37 g CoCl₂×6H₂O, 0.10g MnCl₂× ×4H₂O, 0.02 g Na₂MoO₄×2H₂O. Biodegradacija je praćena na pH vrednostima 3.0, 7.0 i 8.0 koje su podešavane pomoću rastvora HCl i NaOH koncentracija 0.1 mol/L. U procesu biodegradacije za kultivisanje bakterija korišćen je minimalni medijum da bi molekuli boje bili jedini izvor ugljenika za bakterijsku ćeliju. Biodegradacija je praćena 8 časova, tako što je na svakih sat vremena alikvotirana zapremina od 1 mL.

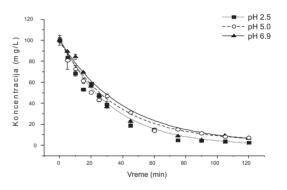
Rezlutati i diskusija

Procesom elektrodepozicije generisan je sloj PbO₂.

Rezultati elektrohemijske degradacije boje pri gustini struje od 25 mA/cm² i različitim pH vrednostima prikazani su na slici 2, a stepen degradacije boje za poslednji alikvot, izražen u procentima, u tabeli 1.

Tabela 1. Stepen elektrohemisjke degradacije boje pri različitim pH vrednostima i gustini struje od 25 mA/cm²

pH vrednost elektrolitičkog rastvora	Stepen degradacije boje (%)
2.5	97.4
5.0	92.2
6.9	93.4



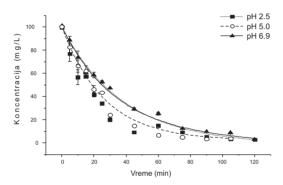
Slika 2. Elektrohemijska degradacija boje pri gustini struje od 25 $\rm mA/cm^2$

Figure 2. Electrochemical degradation of dye at current intensity of 25 mA/cm²

Stepen degradacije boje na sve tri pH vrednosti, pri gustini struje od 25 mA/cm² je preko 90%. Najviši stepen degradacije se javlja pri elektrolizi u veoma kiseloj sredini, pH 2.5 (97.4%), zatim pri elektrlolizi na pH 6.9 (93.4%), dok najniži stepen degradacije boje se javlja pri elektrolizi na pH 5.0 (92.2%). Razlika između procenata degradacije iz poslednjih alikvota na sve tri pH

vrednosti je minimalna, iz čega sledi da variranje pH vrednosti nema veliki uticaj na elektrohemijsku degradaciju boje, što nije u skladu sa dosadašnjim ispitivanjima. Sa slike 2 se može primetiti da se brzina elektrohemisjke degradacije boje menja u zavisnosti od vremena. Degradacija je najbrža u prvih 30 minuta, i u tom periodu se koncentracija boje smanjila sa 100 na 40 mg/L što je u skladu sa dosadašnjim istraživanjima iz ove oblasti (Awad i Galwa 2005).

Rezultati elektrohemijske degradacije boje pri različitim pH vrednostima i gustini struje od 35 mA/cm² prikazani su na slici 3, a stepen degradacije boje za poslednji alikvot u tabeli 2.



Slika 3. Elektrohemijska degradacija boje pri gustini struje od 35 mA/cm²

Figure 3. Electrochemical degradation of dye at current intensity of 35 mA/cm²

Tabela 2. Stepen degradacije boje pri različitim pH vrednostima i jačini struje od 35 mA/cm²

pH vrednost elektrolitičkog rastvora	Stepen degradacije (%)
2.5	97.2
5.0	98.7
6.9	96.6

Stepen degradacije boje na sve tri pH vrednosti, pri jačini struje od 35 mA/cm² je, takođe veoma visok, preko 90%. Najviši stepen degradacije se javlja pri elektrolizi u umereno kiseloj

sredini, pH 5.0 (98.7%), zatim pri elektrlolizi na pH 2.5 (97.2 %), dok se najniži stepen degradacije boje javlja pri elektrolizi na pH 6.9 (96.9%). Razlika između procenata degradacije iz poslednjih alikvota na sve tri pH vrednosti je minimalna, iz čega ponovo proizilazi da variranje pH vrednosti nema veliki uticaj na stepen degradacije boje. Obezbojavanje rastvora, odnosno degradcija boje, najbrža je u prvih 20 minuta od početka elektrolize, kada se koncentracija boje smanjila sa 100 na 30 mg/L. Stepen degradacije boje je viši pri višoj gustini električne struje, jer se sa povećanjem gustine struje povećava i produkcija kiseoničnih radikala. Usled povećane produkcije kiseoničnih radikala dolazi do brže i potpunije degradacije boje.

Vrednosti koeficijenata varijacije rezultata elektroliza pri različitim pH vrednostima i gustinama električne struje prikazane su u tabeli 3.

Tabela 3. Srednje vrednosti koeficijenata varijacije rezultata elektrohemijske degradacije boje pri različitim pH vrednostima i jačinama električne struje

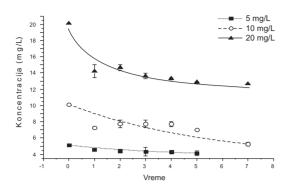
Gustina električne struje (mA/cm²)	pH=2.5	pH=5.0	pH=6.9
25	7.29	5.40	4.82
35	6.12	6.66	8.34

Rezultati biodegradacije boje različitih koncentracija pri pH 5.0 prikazani su na slici 4, a stepen degradacije boje za poslednji alikvot u tabeli 4.

Tabela 4. Stepeni degradacije boje pri pH 5

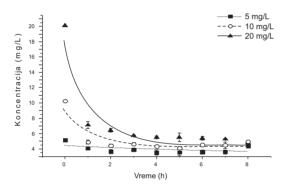
Koncentracija boje (mg/L)	Stepen degradacije (%)
5	21.5
10	54.8
20	37.1

Rezultati biodegradacije različitih koncentracija boje pri pH 7.0 prikazani su na slici 5, a stepen degradacije boje za poslednji alikvot u tabeli 5.



Slika 4. Biodegradacija boje pri pH 5.0

Figure 4. Biodegradation of dye at pH 5.0

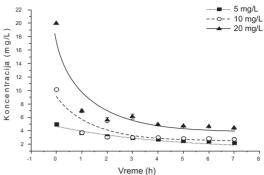


Slika 5. Biodegradacija boje pri pH 7.0

Figure 5. Biodegradation of dye at pH 7.0

Tabela 5. Stepeni degradacije boje pri pH 7.0		
Koncentracija boje (mg/L)	Stepen degradacije (%)	
5	21.4	
10	57.8	
20	91.0	

Rezultati biodegradacije različitih koncentracija boje pri pH 8.0 prikazani su na slici 6, a stepen degradacije boje za poslednji alikvot u tabeli 6.



Slika 6. Biodegradacija boje pri pH 8.0

Figure 6. Biodegradation of dye at pH 8.0

Tabela 6. Stepeni degradacije boje pri pH 8.0		
Koncentracija boje (mg/L)	Stepen degradacije (%)	
5	58.8	
10	75.0	
20	78.0	

Bio-degradacija boje metilensko plavo pomoću bakterijskog soja Pseudomonas sp. je najefikasnija pri pH 7.0, pri koncentraciji boje od 20 mg/L (91.0%). Pri neutralnoj pH vrednosti efikasnost enzima azo-reduktaze je veća u odnosu na kiselu i baznu sredinu, pa je i stepen degradacije boje viši. Pri pH vrednostima 5.0 i 8.0 stepen degradacije boje je niži pri svim koncentracijama boje, jer dolazi do inhibicije kapaciteta bio-degradacije metilenskog plavog u kiseloj i baznoj sredini. Razlog inhibicije kapaciteta biodegradacije jeste smanjena efikasnost enzima azo-reduktaze u kiseloj (pH 5.0) i baznoj sredini (pH 8.0). Takođe, pri pH vrednostima 7.0 i 8.0, u prvih sat vremena degradacije dolazi do najintezivnijeg obezbojavanja rastvora pri višim početnim koncentracijama boje. Tako je pri pH 7.0 od 10, odnosno 20 mg/L degradaralo 58 %, odnosno 64.5 % boje, dok je pri pH 8.0 od 10, odnosno 20 mg/L degradiralo 62 %, odnosno 65 % boje.

Tako pri pH 7.0 ostaje 4.2 od 10 mg/L, odnosno 7.1 od 20 mg/L, dok pri pH 8.0 ostaje 3.8 od 10 mg/L, odnosno 7.0 od 20 mg/L.

Vrednosti koeficijenata varijacije rezultata biodegradacija pri različitim pH vrednostima i koncentracijama boje za poslednji alikvot prikazane su u tabeli 7.

Tabela 7. Srednje vrednosti koeficijenata varijacije pri različitim pH vrednostima i koncentracijama boje

Koncentracija boje (mg/L)	pH=5.0	pH=7.0	pH=8.0
5	4.85	6.30	3.37
10	3.48	4.09	4.27
20	2.08	3.99	2.87

Zaključak

Postupci elektrohemijske i bio-degradacije mogu se uspešno primenjivati za snižavanje koncentracije metilenskog plavog u otpadnim vodama koje potiču iz tekstilne i drugih industrija.

Rezultati istraživanja pokazuju da pH vrednost ne utiče značajno na tok elektrohemijske degradacije, što ukazuje da se ovaj vid razgradnje boje može primeniti u tretmanu otpadnih voda, nezavisno od njihove pH vrednosti u kiseloj sredini. Primenom većih gustina električne struje (35 mA/cm²) došlo je do potpunije elektrohemisjke degradacije (98.7%), u poređenju sa gustinom struje od 25 mA/cm² (92.2 %). Brzina degradacije boje u početnoj fazi se povećava sa porastom gustine struje sa 25 na 35 mA/cm² sa 60 mg/L razgrađene boje u 30 minuta na 70 mg/L u toku 20 minuta.

Ustanovljeno je da pH vrednost sredine veoma utiče na stepen bio-degradacije boje. Pri visokoj početnoj koncentraciji boje (20 mg/L) najveći stepen degradacije javlja pri pH 7.0 (91.0%), dok je pri niskoj početnoj koncentraciji boje (5 mg/L) najveće obezbojavanje rastvora ustanovljeno pri pH 8.0 (58.8%). Niska pH vrednost (5.0) nepovoljno utiče na tok bio-degradacije i rezultira degradiranjem 21 do 55% boje pri variranju početne koncentracije boje od 5 do 20 mg/L. Brzina degradacije boje u prvih sat vremena procesa je najveća pri pH 8.0 gde je od 10, odnosno 20 mg/L degradiralo 62%, odnosno 65% boje.

Kada govorimo o ekonomičnosti metoda degradacije boje iz otpadnih voda, metoda izbora je elektrohemisjka metoda, jer kraće traje i stepen degradacije boje je viši. S druge, ekološke strane, metoda izbora je bio-degradacija boje, prvenstveno zato što se vrši pomoću bakterijskog soja koji se može izolovati iz prirode, kao i mogućnosti primene ove metode u radu sa realnim uzorcima u prirodi.

Zahvalnost. Ovom prilikom želim da se zahvalim svom mentoru Miljanu Ćoroviću, stručnim saradnicima Ivanu Mrkiću i Aleksandri Margetić, studentima saradnicima Stevanu Vlajinu, Marinu Kuntiću, Zlatku Jončevu i Filipu Iliću na pomoći oko eksperimentalnog rada i profesorki Veri Raičević i saradniku Daliboru Stankoviću koji su obezbedili potreban material za realizaciju eksperimenata.

Literatura

Awad H. S., Galwa A. N. 2005. Electrochemical degradation of acid blue and basic brown dyes on Pb/PbO₂ electrode in the presence of different conductive electrolyte and effect of various operating factors. *Chemosphere*, **61** (9): 1327.

Brooks M. M. 1933. Methylene blue as antidote for cyanide and carbon monoxide poisoning. *Journal of the American Medical Association*, **100** (1): 59.

Cibulić V. V., Stamenković J. L., Veljković D. N., Staletović M. N. 2013. Dynamics of the process of colour adsorption from waste waters after dyeing textile fibres on natural zeolites. *Chemical Industry*, **67** (1): 41.

Chen C. C., Liao H. J., Cheng C. Y. Yen C. Y., Chung Y. C. 2007. Biodegraation of crystal violet by Pseudoonasputida. *Biotechology Letters*, **29**: 391.

Chen T. S., Huang K. L. 2012. Electrochemical detection and degradation of acetaminophen in aqueous solution. *International Journal of Electrochemical Science*, **7**: 6877.

Davis A. L., Cabello C. M., Qiao S., Wondrak A., Wondrak G. T. 2013. Phenotypic Identification of the redox dye methylene blue as an antagonist of heat shock response gene expression in metastatic melanoma cells. *International Journal of Molecular Sciences*, **14** (2), 185.

Jadhav S. B., Surwase S. N., Phugare S. S., Jadhav J. P. 2013. Response surface methodology mediated optimization of Remazol Orange decolorization in plain distilled water by Pseudomonas aeruginosa BCH. International Journal of Environmental Science and Technology, 10 (1): 181.

Meissner E. P., Mandi G., Coulibaly B., Witte S., Tapsoba T., Mansmamm U., Rengelshausen J., Schiek W., Jahn A., Walter-Sack I., Mikus G., Burhenne J., Riedel K. D., Schirmer H., Kouyate B., Muller O. 2006. Methylene blue for malaria in Africa: results from a dose-findingstudy in combination with chloroquine. *Malaria Journal*, **5** (1): 84.

Skold A., Cosco D., Klein R. 2011. Methemoglobinemia: pathogenesis, diagnosis, and managemeny. *Southern medical journal*, **104** (11): 757.

Steffen J., Rice J., Lecuona K., Carrara H. 2014. Identification of ocular surface squamous neoplasia by in vivo staining with methylene blue. *British Journal of Ophthalmology*, **98**: 13.

Sujitha S., Jeevitha R. R., Palanivelu K. 2009. A Study on the degradation of 2,4-dichlor-phenol by electrochemical oxidation using TiO₂ modified graphite electrode. *Science of Advances Materials*, **1** (2): 186.

Tabbaral M. A., Jamal E. M. M. 2012. A kinetic study of the discoloration of methylene blue by Na₂SO₃, comparation with NaOH. *Journal of University of Chemical Technology and Metallurgy*, **43** (7): 275.

Wang Y., Tian Y., Han B., Zhao H., Bi J., Cai B. 2007. Biodegradation of phenol by free and

immobilized Acinetobacter sp. strain PD12. *Journal of Environmental Science*, **19** (2): 222.

Zhang Y., Lu D., Ju T., Wang L., Lin S., Zhao Y., Wang C., He H., Dui Y. 2013. Biodegradation of phenol using Bacillus cereus WJ1 and evaluation of degradation efficiency based on a grapheme-modified electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, **8** (1): 504.

Milica Puđa

Electrochemical and Bio-Degradation of the Dye Methylene Blue

Methylene blue, thiazine dye, is a heterocyclic aromatic compound with the molecular formula C₁₆H₁₈N₃SCl. It is toxic for living organisms. It prevents photosynthesis and leads to the death of bacterial cells. By application of electrochemical and bio-degradation this dye can be removed from waste water originating from textile industry. For electrochemical degradation, a Pb/PbO₂ plate was used as an anode, while an iron plate was used as a cathode. The initial dye concentration was 100 mg/L, the variation of the electric current intensity was (25 and 35 mA/cm²) and the pH of the dye electrolyte solution was (2.5, 5.0 and 6.9). For bio-degradation, the bacterial strain *Pseudomonas* sp. C2 was used. Each biodegradation process was performed in a minimal medium. The initial dye concentration was varied over 5, 10 and 20 mg/L, while the pH value of the dye solutions for biodegradation was varied over 5.0, 7.0 and 8.0. All samples were analyzed spectrophotometrically at 662 nm (λ_{max} methylene blue) and the concentration of residual color after degradation was determined using the calibration curve. The highest level of electrochemical degradation (98.74%) was found at pH 5.0 and the intensity of electric current of 35 mA/cm², while the highest degree of biodegradation of color achieved at pH 7.0 (91.00%) and the initial dye concentration of 20 mg/L.