

Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Bazı Sentetik Direkt Boyarmaddelerin Mutajenik Etkisinin Umu-Testi ile Araştırılması

Ünal ENEL¹, Halil İbrahim SUR², Murat DEMİR¹

¹Ufuk Eğitim Kurumları, İstinye, Sarıyer, İstanbul

² İstanbul Üniversitesi, Deniz Bilimleri Enst. Fiziksel Oceanografi ve Deniz Biyolojisi ABD, İstanbul

Geliş Tarihi (Received) : 01.01.2012

Kabul Tarihi (Accepted) : 10.02.2012

ÖZET : Kontrolsüz olarak atılan boyarmaddeler ula tıkları ortamdan besin zinciri yoluyla insana kadar ulaşmakta ve insan sağlığını tehdit etmektedir. Tekstil endüstrisinde kullanılan sentetik boyarmaddelerin %10-20 miktarı boyama işlemi sonrası atık sularla kontrolsüz olarak de arj edilmektedir. Bu çalışmada, sentetik direkt boyarmaddelerin genotoksik özelli i, kısa zamanlı bakteriyel test sistemi olan umu-test (*Salmonella thyphimurium* TA1535/pSK1002) ile araştırıldı. Boyarmaddelerin 400 µg/ml, 120 µg/ml, 40 µg/ml ve 4 µg/ml konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanıp, S9 fraksiyonu kullanılarak boyarmaddelerin karaci er enzimleri varlığı nda organizmadaki biyotransformasyon etkilerine bakılmıştır. Çalışmada Direct Yellow 86, Direct Orange 39, Direct Blue 200, Direct Yellow 142 ve Direct Red 243 sentetik boyarmaddeleri araştırıldı. Araştırma sonucunda, Direct Blue 200, S9 fraksiyonu varlığı nda 400 µg/ml ve 120 µg/ml konsantrasyonda, Direct Blue 200'ün S9 fraksiyonu yoklu unda 400 µg/ml konsantrasyonda mutajenik etkiye sahip oldukları belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Genotoksik, Mutajenik, Direkt boyarmadde, *Salmonella thyphimurium*, Umu-Test

Investigation of Mutagenic Effects of Some Synthetic Direct Dyes in Textile Industry by Using Umu-Test

ABSTRACT: Dyes which are discharged without being controlled reach to the human beings by food chain and threaten their health. 10-20 percent of synthetic dyes are discharged without being controlled to the waste waters after the dyeing process. In this study, the genotoxicity of synthetic direct dyes are searched by umu test (*Salmonella thyphimurium* TA1535/pSK1002) which is short term bacterial test system. Concentrations of 400 µg/ml, 120 µg/ml, 40 µg/ml and 4 µg/ml of dye solutions are prepared. By using S9 fraction, the biotransformation effects of the dyes in an organism at the presence of liver enzymes are researched. In this study, Direct Yellow 86, Direct Orange 39, Direct Blue 200, Direct Yellow 142 ve Direct Red 243 synthetic dyes are studied. At the end of the study, Direct Blue 200 have mutagenic effects at the presence of S9 fraction at 400 µg/ml and 120 µg/ml concentration also Direct Blue 200 has mutagenic effect at the absence of S9 fraction at 400 µg/ml concentration.

Keywords: Genotoxicity, Mutagenic, Direct dyes, *Salmonella thyphimurium*, Umu-Test

GİRİŞ

Do adaki bütün canlılar doğal veya yapay olan kimyasal maddelerle karşılaşmaya gelmektedir. Kirlilik olarak adlandırılan, kontrollü veya kontrolsüz olarak çevreye terk edilen bu kimyasal maddelerin bir kısmının mutajenik veya karsinojenik olabilece i uzun yıllardır üzerinde tartışılan bir konudur (Tomatis, 1979). İnsanların doğaya saldıkları, kirliliğin temel etmeni olan bu maddeler birçok hastalığa sebep olmaktadır. Bu hastalıklardan bazıları; kalp hastalıkları, erken yaşlanma, katarakt, kalıtsal ve gelişimsel bozukluklarıdır. Bu hastalıkların yanı sıra, kanserin temel nedeni olduklarına ilişkin hipotez her geçen gün yeni destekçiler bularak kuvvet kazanmaktadır (Ames, 1973).

Türkiye, sanayisi gelişmekte olan bir ülkedir. Gelişmekte olan bu sanayi kuruluşlarının yanında tekstil endüstrisi gelişmektedir. Türkiye'nin birçok coğrafî bölgesinde, yoğun olarak da Marmara ve Ege bölgelerinde tekstil endüstrisi büyük bir hızla gelişmektedir. Tekstil endüstrisindeki bu hızlı gelişme, iç ve dış piyasalardaki talepleri karşılamak içindir. Fakat bu gelişme beraberinde kontrolsüz bir büyümeyi getirmiştir. Bu kontrolsüz büyümeye en fazla zarar

gören hiç şüphesiz, bu atıklarla kirlenen denizler, göller, nehirler ve içme suyu havzalarıdır. Buralarda yaşayan canlılar bu kirlenmeden etkilenmektedirler. Bununla beraber bu kirlenmenin sebebi olan maddeler besin zinciri yoluyla insana kadar ulaşmaktadır.

Dünya tekstil endüstrisinin önde gelen ülkelerinden biri olan Türkiye'de çok yüksek miktarlarda sentetik boyarmadde kullanılmaktadır. Boyarmaddelerin fabrikalarda kumaşa uygulanma sonrası %10-20 miktarı kumaşa tutunamadığı için atık sularla de arj edilmektedir (Chatterjee ve ark., 2001; Chen ve ark., 2001). Gomez ve ark. (2007), boyarmaddelerin testili boyama prosesi sırasında yaklaşık boyanın %10-15'nin atık su akımına geçtiğini hesaplamıştır. Tekstil endüstrisinde ürünlerin her kilogramı başına yaklaşık olarak 40-65 litre atık su meydana gelmektedir (Manu ve Chaudhari, 2002).

Özellikle tekstil atık sularının yüksek oranda sentetik boya içermelerinden dolayı, bu boyaların ısk geçirimini azaltması sonucu sucul yaamdaki fotosentetik aktivite de olumsuz yönde etkilemekte, bu durum canlı topluluklarına oldukça toksik etki yapmaktadır (Aksu, 2005).

Ticari olarak kullanılan sentetik boyaların büyük bir kısmını toksik, karsinojenik ve mutajenik özelliklere sahip olan azo boyalar olmaktadır (Seesuriyachana ve ark., 2007).

Fabrikalardan de arj edilen suların ula tı ı di er bir yer ise denizlerdir. Endüstriyel atıklarla kirletilen deniz ortamı direk veya dolaylı olarak insan sa lı nı tehdit edebilmektedir. Biyolojik testler göstermektedir ki; endüstriyel atık sularındaki toksik maddelerin kontrol altına alınması gerekmektedir (Al-Sabti, 2000).

Bu çalı mada, sentetik direkt boyarmaddelerden; Direct Yellow 86, Direct Orange 39, Direct Blue 200, Direct Yellow 142 ve Direct Red 243 kullanılmı tır. Bu boyarmaddelerin genotoksik özelli i, kısa zamanlı bir mutajenite testi olan *UMU-TEST* (*Salmonella thyphimurium* TA1535/pSK1002) sistemiyle ara tırlımı tır. Bu test sisteminde kullanılan S-9 rat karaci eri enzimlerinin yardımıyla, sentetik boyarmaddelerin canlı vücudunda metabolize olduktan sonraki durumları da ara tırlımı olacaktır. Böylece; Boyarmaddenin direk olarak genotoksik özelli i olup olmadığı, e er genotoksik özelli e sahipse, canlı metabolizmasına dâhil oldu unda burada bulunan enzimlerle muamelesi sonucu genotoksik özelli ini kaybedip kaybetmedi i, genotoksik özelli e sahip de ilse canlı metabolizmasına dahil oldu unda burada bulunan enzimlerle muamelesi sonucu genotoksik özellik kazanıp kazanmadı ı belirlenmi tir.

Direkt boyarmaddeler genellikle sülfonik, bazen de karboksilik asitlerin sodyum tuzlarıdır. Yapıları bakımından direkt ve asit boyarmaddeler arasında kesin bir sınır yoktur. Boyama yöntemi bakımından gruplandırılır. Direkt boyarmaddeler, önceden bir i lem yapılmadan boyarmadde çözeltisinden selüloz veya yüne do rudan do ruya çekilirler. Elyafın iç misellerinde hiçbir kimyasal ba meydana getirmeksizin depo edilirler. Renkli kısımda bazik grup içeren direkt boyarmaddeler, sulu çözeltide hem anyonik hem de katyonik iyon ekinde bulunurlar.

Direkt boyarmaddelerin en önemli özellikleri, suda çözünmeleri ve herhangi bir özel i lem yapılmadan lif tarafından alınabilmeleridir. Bu yüzden direkt boyarmaddeler adını almı larıdır. Elyafa kar ı substantiviteyi yüksektir. Suda çözünmelerini yapılarındaki sülfü grupları, nadiren de karboksil grupları sa lar. Bu nedenle direkt boyarmaddeler, anyonik boyarmaddelerdir. Genellikle do al ve rejenere selüloz elyaf boyarmaddesi olan bu sınıfın bazı üyeleri; deri, yün, ipek, naylon elyafın boyanmasını da sa lar. Bu nedenle bu sınıfa “substantif boyarmaddeler” de denir. (Yakartepe ve Yakartepe, 1993).

Do al rejenere selülozik elyafı boyayabilen direkt boyarmaddelerin uygulanabilmesi için mordanlamaya gerek yoktur. Yani bir ön i leme gerek duyulmadan do rudan boyama yapılabilir. Mordanlamaya gerek duyulmamasının nedeni bu boyarmaddelerin elyafa kar ı substantiviteyi yüksek olmasıdır. Bu nedenle bu gruba substantif boyarmaddeler de denir. Bu

boyarmaddeler uygulanırken ortamın sıcaklı ı 80 C°’ ye kadar çıkartılır (Ba er ve nanıcı, 1991).

Türkiye, tekstil endüstrisinde dünyanın önde gelen ülkelerinin ilk sıralarında yer almaktadır. Fakat endüstride kullanılan kimyasallar ve bu kimyasalların de arj yöntemleri ile de arj yerleri insan sa lı nı tehdit edecek eklede kontrolsüzdür. Bu sebeple bu konuya dikkat çekilmek ve gerekli önlemlerin alınması için bir giri im olması da amaçlanmı tır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Genotoksisite, canlı hücredeki genetik materyalde (DNA), mutajenik veya karsinojenik olarak ifade edilen olumsuz bir etkidir. Genotoksisite, DNA ile bir ajanın reaksiyonu sonucu olu ur ve biyokimyasal olarak DNA’ daki hasarı yansıtan kısa dönemli testlerle ölçülebilir.

Umu-test, *Salmonella thyphimurium* TA1535/pSK1002 (gram negatif, fakültatif anaerobik (*Enterobacteriaceae*) mutant su unun kullanılması üzerine oturtulmu kısa zamanlı bir mutajenite testidir (Wittekindt, ve ark., 2000). *Umu*-test, Ekoloji ve Biyoloji Enstitüsü’ nde (Berlin Üniversitesi, Almanya) yapılan bir çalı ma ile Almanya standartları tarafından kabul görmü tür. Kabul numarası ISO/DIS 13829, 2000’ dir (Wittekindt ve ark., 2000). *Umu*-test, literatürde çe itli kimyasalların, metal tuzlarının ve atık suların mutajenik etkilerinin belirlenmesinde kullanılmı bir test sistemidir (Nakamura ve ark., 1990; Wittekindt ve ark., 2000; Yamamoto ve ark., 2001).

Umu-test, -galaktosidase aktivitesinin kolorometrik olarak spektrofotometre ile ölçülmesi sonucu mutajen ajanların kolayca belirlenebilece i bir test sistemidir. Test bakterinin hazırlanmasından sonra 3-4 saat içerisinde sonuç vermektedir.

Umu-Test’in prensibi, DNA’ ya hasar veren ve kanserojen potansiyeline sahip ajanları umu operon tarafından tanınmasıdır. *E. coli* CSH26/pSK1002 su undan pSK1002 plasmidi (umuC’-‘lacZ geni ta ıyor) hazırlanıp, önce *S. thyphimurium* SJ10002 su una modifiye edilmi olup, sonrasında hazırlanan plazmid *S. thyphimurium* TA1535 (hisG46, rfa, uvrB) su una transforme edilerek *S. thyphimurium* TA1535/pSK1002 su u elde edilmi tir. TA1535/pSK1002 su u üretti i bir bile ik gen ile -galactosidase aktivitesini, umu operon ekspresyonunun seviyesini ölçebilmektedir. UmuC’-‘lacZ bile ik geninde; umu operon, DNA-hasar ajanları tarafından etkilenerek recA ve lexA genleri tarafından genetik olarak düzeltilir (Ono ve ark., 2000).

Metodun uygulanması için; Umu -Test kit (JIMRO), D-glukoz 6-fosfat (Merck), -NADP (Sodyum tuzu) (Merck), D-biyotin (Merck), Ampisilin trihidrat (Merck), Dimetilsülfoksit (Merck), L-Histidin-HCL monohidrat (Merck), Bacto-yeast ekstrakt (Oxoid), Bacto Agar (Oxoid), Bacto tryptone (Oxoid), Nutrient broth (Oxoid), O-Nitrophenil- -D-galactopyranoside (ONPG) (JIMRO), 2 Aminoantrasen (2AA) (JIMRO), Furilfuramid (AF-2) (JIMRO), kimyasal maddeleri kullanılmı tır.

Test için; Spektrofotometre (Shimadzu-uv1208), Hassas Terazi (Shimadzu-libror-aeg-120), Derin dondurucu (U ur), nkübatör (Heraeus), Buhar sterilizatörü (Erna), Distile su cihazı, Çalkalayıcı su banyosu (Nüve-st-402), Çekerocak, Karı tırmalı ısıtıcı (Elektomag), Pipet yıkama cihazı, Vorteks (Elektromag), Otomatik pipet, Pipetler, Öze, Bunzenbeki, Pipet uçları cihaz ve gereçleri kullanılmı tır.

Bakterinin deney için hazırlanması

Salmonella thyphimurium TA1535/pSK1002 su u, Umu-test kiti içinde 1 ml hacimde liyofilize halde bulunmaktadır. Bakteri su u, çalı maya ba lamadan 6 saat önce, saklama artı olan -20°C 'den çıkartıldı. Üzerine 2 ml TGA (JIMRO, Japonya) ortamı eklendi. 3 saat 37°C 'de bekletildi. Bakteri kültüründen 100 µl alındı ve 10 ml Nutrient Broth' a ekim yapıldı. 18 saat 37°C 'de bırakıldı. Bekleme sonrası bakterinin absorbansı 0,06'ya (OD_{600}) ayarlandı (Yamamoto, ve ark., 2001). Bakteri su u stok amaçlı olarak 2ml TGA içerisine 100 µl ekilerek 3 saat 37°C 'de bekletildi ve DMSO (%10) eklenerek -20°C 'ye konuldu. Absorbansı 0,06'ya (OD_{600}) ayarlanan *Salmonella thyphimurium* TA1535/pSK1002 su unun gecelik kültüründen alınan örnekler kullanılarak üzerinde bulunan genetik özellikler kontrol edildi (Yamamoto ve ark., 2001).

Pozitif ve negatif kontrollerin hazırlanması

Pozitif kontroller için 2-Aminoantrasen (2AA) ve Furilfuramid (AF-2) kullanıldı. Bu maddeler kit içerisinde 1'er ml hacimde bulunmaktadır. 2-Aminoantrasen 300 µg/ml, Furilfuramid ise 9 µg/ml miktarlarda bulunmaktadır. Pozitif kontroller dilüsyon yöntemi ile DMSO kullanılarak seyreltildi. 2-aminoantrasenin 10 µg/ml, 5 µg/ml ve 1 µg/ml çözeltileri hazırlandı. Furilfuramidin ise 100 ng/ml, 50 ng/ml ve 10 ng/ml çözeltileri hazırlandı. 2-Aminoantrasen, metabolik aktivitenin belirlenmesinde pozitif kontrol olarak kullanıldı. Furilfuramid ise metabolik olmayan aktivitede pozitif kontrol olarak kullanıldı (Yamamoto ve ark., 2001). Negatif kontrol olarak ise steril distile su kullanıldı.

Boyarmaddelerin farklı konsantrasyonlarının test için hazırlanması Boyarmadde numuneleri lteks A. ' den temin edilmi tir. Umu-testte kullanılacak test örneklerinin ve kontrollerin miktarı 10 µl' dir. Bu sebeple boyarmaddelerin farklı konsantrasyonları hazırlanırken 100 ml hacimler kullanılarak hata payı azaltılmaya çalı ıldı. 100 ml hacimdeki distile su dolu kaplara, hassas terazi ile tartılan boyarmaddelerden 40 mg eklendi ve iyice karı tırıldı. Otoklavda 121°C de 20 dakika steril edildi. 15 ml' lik hacimdeki steril tüpler içerisine 10 ml konuldu. Böylece birinci basamak olan 400 µg/ml' lik konsantrasyon elde edildi.

Di er konsantrasyonlar 400 µg/ml' lik konsantrasyon kullanılarak elde edildi. Steril tüplerden birincisine 7 ml, ikincisine 9 ml ve üçüncüsüne de 9 ml distile su konuldu. 400 µg/ml' lik konsantrasyondan

3ml hacim alınarak birinci tüpe eklendi ve 120 µg/ml' lik konsantrasyon sa landı. kinci tüpe ise 400 µg/ml' lik konsantrasyondan 1 ml eklendi ve 40 µg/ml' lik konsantrasyon sa landı. Üçüncü tüpe ise ikinci tüpten 1 ml hacim alınarak eklendi ve 4 µg/ml' lik konsantrasyon sa landı.

Sitotoksosite ara tırması

Boyarmaddelerin sitotoksisiteleri ara tırıldı. Genotoksisiteleri ara tırılacak olan örneklerin farklı konsantrasyonlarından 10 µl alınarak kuyucuklara konuldu. Absorbansı 0,06'ya (OD_{600}) ayarlanan bakteri kültüründen 100 µl eklendi. 2 saat 37°C 'de bekletildi. Bekleme sonrası 100 µl ONPG ilave edildi ve 2. kez 1 saat 37°C 'de beklemeye bırakıldı. Reaksiyonu durdurmak için 100 µl DMSO eklendi. 620 nm' de absorbans ölçüldü. Negatif kontrol grubuyla kar ıla tırıldı. Sitotoksik olmayan en yüksek konsantrasyon olarak 400 µg/ml belirlendi.

S-9 Rat karaci er enzimleri hazır olarak temin edilmi tir (Jimro, Japonya).

Deney Prosedürü

Umu-test için 96 kuyulu, steril tek kullanımlık kuyucuk taba ı alındı. Kuyuların A1-A5 arası S-9 fraksiyonu için metabolik aktivitede bir boyarmaddenin mutajenitesini, A6-A10 arası metabolik aktivite olmayan ortamda mutajeniteyi belirlemek için belirlendi. Böylece 5 farklı boyarmaddenin bir konsantrasyonu için kuyucuklar tespit edildi. Di er kuyucuklara ise pozitif ve negatif kontroller için yer belirlemesi yapıldı.

Belirlenen kuyucuklara önce 10 µl boyarmaddelerden, pozitif ve negatif kontrollerden konuldu. Her kuyucu a absorbansı 0,06 (OD_{600}) ayarlanan bakteriden 100 µl eklendi. Bakteri eklenen boyarmaddeler 2 saat 37°C 'de bekletildi. Bekleme sonrası çıkartılan bakteri-test karı ımı üzerine 100 µl O-Nitrophenil- -D-galactopyranoside ilave edildi. Tekrar 1 saat 37°C 'de ikinci defa bırakıldı. kinci beklemeden sonra her kuyucu a 100 µl DMSO ilave edildi. DMSO sayesinde enzimatik reaksiyon durduruldu. Absorbans ölçümü 620 nm'de yapıldı. Testten elde edilen karı ımın hacmi 310 µl oldu. Umu-testten elde edilen karı ımın hacmi 310 µl oldu undan sa lıklı ölçüm yapılabilmesi için hacim 2 ml'ye tamamlandı. Spektrofotometre kuyucuklarına 1,69 ml distile su konuldu. 310 µl'lik karı ım da bunun üzerine eklendi. Toplam hacim 2 ml' ye tamamlandı. Her bir karı ımın absorbansı 620 nm'de okundu ve kaydedildi. Umu-test her bir boyarmaddenin belirtilen konsantrasyonları için bir hafta ara ile 3 kere tekrarlandı ve ortalama de erleri alındı.

BULGULAR

Umu-test sonuçlarının kar ıla tırılaca ı pozitif ve negatif kontrollerin sonuçları Çizelge 1.'de verilmi tir.

2-Aminoantrasen' in konsantrasyona ba lı absorbansde erleri ekil 1'de, furylfuramid' in

konsantrasyona ba lı absorbands de erleri ekil 2' de verilmi tir.

Direkt boyarmaddelerinin konsantrasyonlara ba lı metabolik ve metabolik olmayan *Umu*-test bulgularının absorbands de erleri (OD₆₂₀) Çizelge 2' de verilmi tir.

Bu bulgulara ba lı olarak; Direct Yellow 86 boyarmaddesi metabolik ve metabolik olmayan durumlarda mutajen de ildir. Direct Yellow 86 boyarmaddesinin absorbands de erlerini gösteren grafik ekil 3' de verilmi tir. Direct Orange 39 boyarmaddesi metabolik ve metabolik olmayan durumlarda mutajen de ildir. Direct Orange 39 boyarmaddesinin absorbands de erlerini gösteren grafik ekil 4' de verilmi tir. Direct Blue 200 boyarmaddesi metabolize olmadı ı durumda

400 µg/ml konsantrasyonda mutajen etkiye sahiptir. Metabolize oldu unda da 400 µg/ml ve 120 µg/ml konsantrasyonlarda mutajen etkisini devam ettirdi i belirlenmi tir. Direct Blue 200 boyarmaddesinin absorbands de erlerini gösteren grafik ekil 5' da verilmi tir. Direct Yellow 142 boyarmaddesi metabolik ve metabolik olmayan durumlarda mutajen de ildir. Direct Yellow 142 boyarmaddesinin absorbands de erlerini gösteren grafik ekil 6' da verilmi tir. Direct Red 243 boyarmaddesi metabolik ve metabolik olmayan durumlarda mutajen de ildir. Direct Red 243 boyarmaddesinin absorbands de erlerini gösteren grafik ekil 7' de verilmi tir.

Çizelge 1. Pozitif ve negatif kontrollerin absorbands de erleri

Kontrol maddeleri	Test miktarı (µl)	Konsantrasyon	Absorbans De erleri (OD ₆₂₀)			
			S-9 (+)	K*S-9 (+) X ±SD	S-9(-)	K*S-9 (-) X ± SD
2-Aminoantrasen	10	10 µg/ml	0,065	0,419 ± 0,133	-	-
	10	5 µg/ml	0,050	0,325 ± 0,045	-	-
	10	1 µg/ml	0,030	0,198 ± 0,026	-	-
Furylfuramid	10	100 ng/ml	-	-	0,045	0,289 ± 0,074
	10	50 ng/ml	-	-	0,039	0,253 ± 0,058
	10	10 ng/ml	-	-	0,019	0,12 ± 0,024
Distile Su	10	10 µg/ml	0,015	0,097 ± 0,037	0,019	0,122 ± 0,023

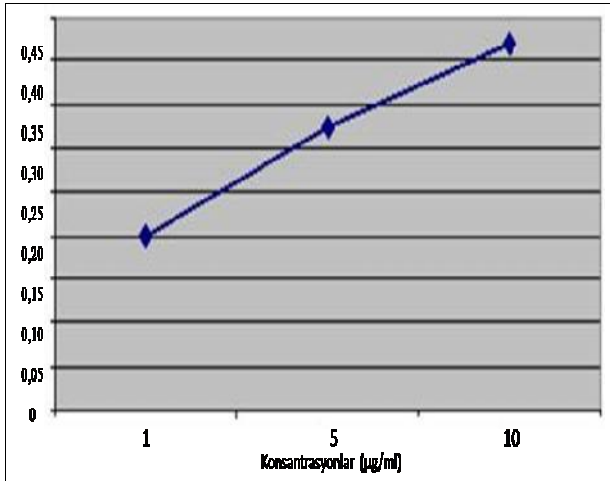
K: Sulandırma katsayısı = 6,451

X: Absorbans de erlerinin ortalaması

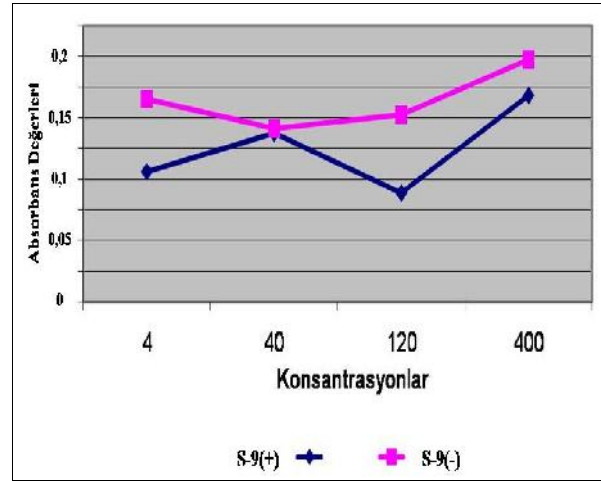
SD: Standart sapma

Çizelge 2. Direkt boyarmaddelerinin *Umu*-test bulguları

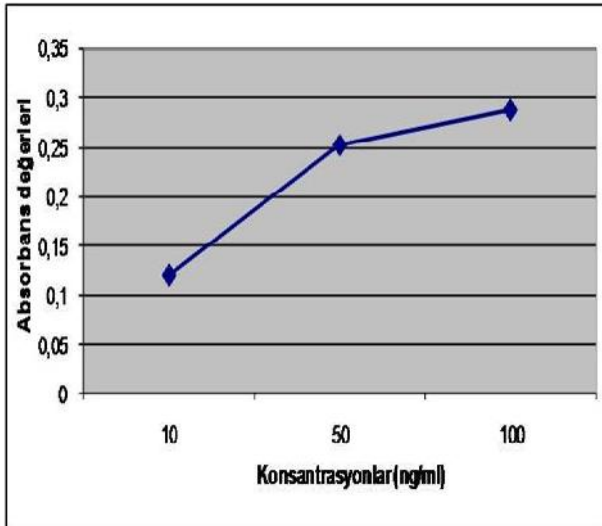
Direkt Boyarmaddeler	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans De erleri (OD ₆₂₀)			
		S-(+)	K * S-9 (+) X ± SD	S-9(-)	K * S-9 (-) X ± SD
Direct Yellow 86	400	0,017	0,110 ± 0,017	0,028	0,184 ± 0,012
	120	0,022	0,142 ± 0,014	0,024	0,155 ± 0,01
	40	0,011	0,071 ± 0,019	0,009	0,058 ± 0,021
	4	0,013	0,084 ± 0,013	0,017	0,110 ± 0,005
Direct Orange 39	400	0,021	0,135 ± 0,015	0,024	0,158 ± 0,011
	120	0,011	0,071 ± 0,016	0,019	0,122 ± 0,007
	40	0,017	0,110 ± 0,015	0,017	0,113 ± 0,018
	4	0,013	0,085 ± 0,014	0,02	0,132 ± 0,018
Direct Blue 200	400	0,107	0,690 ± 0,046	0,143	0,922 ± 0,108
	120	0,043	0,277 ± 0,04	0,018	0,116 ± 0,014
	40	0,019	0,126 ± 0,02	0,023	0,148 ± 0,015
	4	0,016	0,103 ± 0,009	0,02	0,132 ± 0,021
Direct Yellow 142	400	0,026	0,168 ± 0,018	0,026	0,168 ± 0,013
	120	0,021	0,135 ± 0,019	0,020	0,129 ± 0,009
	40	0,019	0,126 ± 0,01	0,013	0,084 ± 0,02
	4	0,016	0,168 ± 0,018	0,022	0,142 ± 0,018
Direct Red 243	400	0,026	0,168 ± 0,026	0,029	0,187 ± 0,018
	120	0,021	0,135 ± 0,013	0,012	0,077 ± 0,041
	40	0,009	0,058 ± 0,056	0,025	0,161 ± 0,013
	4	0,022	0,142 ± 0,007	0,017	0,112 ± 0,008



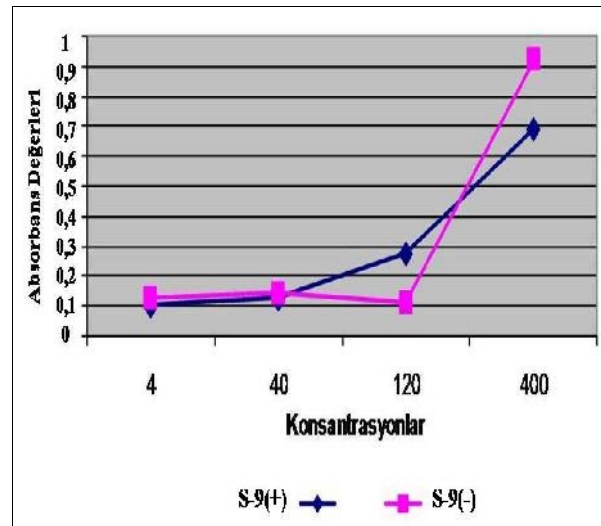
ekil 1. Aminoantrasenin konsantrasyona ba lı absorbans de erleri



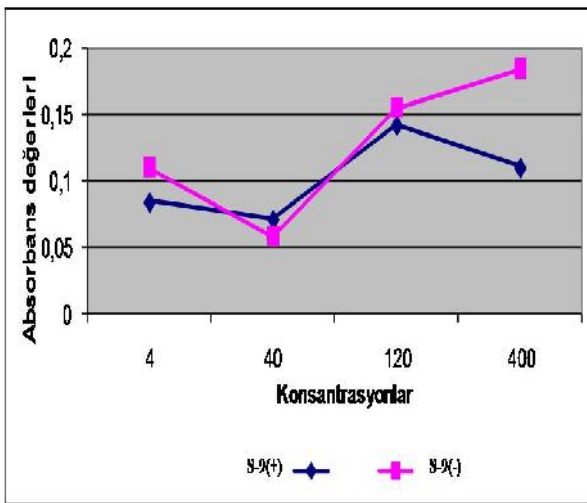
ekil 4. Direct Orange 39 boyarmaddesinin konsantrasyona ba lı absorbans de erleri



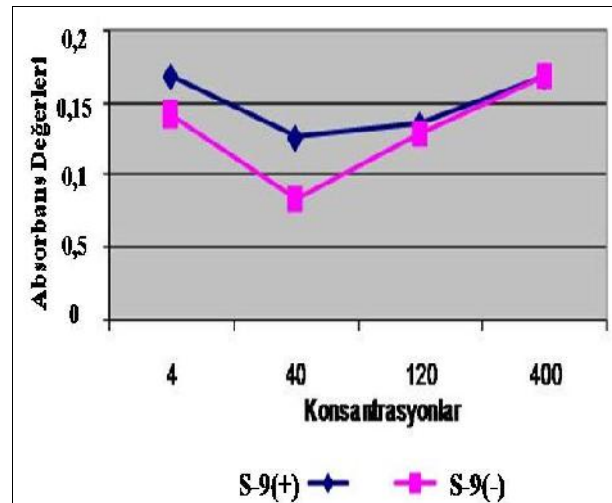
ekil 2. Furylfuramidin konsantrasyona ba lı absorbans de erleri



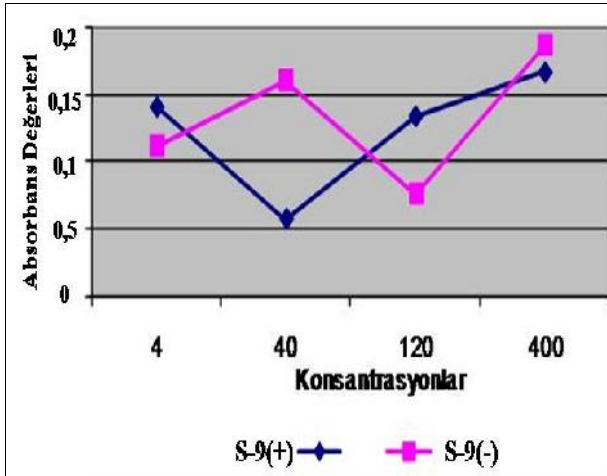
ekil 5. Direct Blue 200 boyarmaddesinin konsantrasyona ba lı absorbans de erleri



ekil 3. Direct Yellow 86 boyarmaddesinin konsantrasyona ba lı absorbans de erleri



ekil 6. Direct Yellow 142 boyarmaddesinin konsantrasyona ba lı absorbans de erleri



ekil 7. Direct Red 243 boyarmaddesinin konsantrasyona ba lı absorbans de erleri

Direkt Blue 200 boyarmaddesinin S-9 enzimleri varlı ında absorbans de eri 400 µg/ml konsantrasyonda $0,690 \pm 0,046$ (SD), 120 µg/ml konsantrasyonda $0,277 \pm 0,04$ (SD) olarak belirlenmi tir. Negatif kontrolün S-9 enzimleri varlı ında absorbans de eri $0,097 \pm 0,037$ (SD)' dir. Direkt Blue 200 boyarmaddesinin bu absorbans de eri ayrıca S-9 enzimi varlı ını ifade eden 2-Aminoantrasen pozitif kontrolünün absorbans üst de eri olan $0,419 \pm 0,133$ (SD)' den daha yüksektir. Bu sebeplerle Direkt Blue 200 boyarmaddesi 400 µg/ml ve 120 µg/ml konsantrasyonlarda mutajendir.

Direkt Blue 200 boyarmaddesinin S-9 enzimleri yoklu unda absorbans de eri 400 µg/ml konsantrasyonda $0,922 \pm 0,108$ (SD) olarak belirlenmi tir. Bu de er negatif kontrolün ve pozitif kontrol olan Furfuramid' in absorbans de erlerinden çok yüksektir. Bu sebeple Direkt Blue 200 boyarmaddesinin S-9 enzimleri yoklu unda 400 µg/ml konsantrasyonda mutajendir.

TARTI MA ve SONUÇ

Bu çalı mada, Türkiye tekstil endüstrisinde yüksek miktarlarda kullanılan sentetik direkt boyarmaddelerin mutajenik etkileri, kısa zamanlı mutajenite testi olan *Umu*-test (*Salmonella thyphimurium* TA1535/pSK1002) ile ara tırılmı tir. *Umu*-test, sonuçları ve uygulaması açısından birçok avantajlara sahiptir. Bunlar; saf maddeler ve çevresel örnekler için genotoksik incelemelerde ve kompleks karı mların analizinde yüksek seviyede hassasiyete sahip olması, bakteriyel genotoksikite test sistemlerinde elde edilen sonuçlarla yüksek oranda korelasyon göstermesi, bir çok çalı mada kısa zamanlı bakteriyel test sistemi olarak referans verilmesidir (Wittekindt ve ark., 2000). Test maddeleri olarak tekstil endüstrisinde kullanılan sentetik boyalardan direkt boyarmaddeler seçilmi tir.

Mutajenik etkileri ara tırılan direkt boyar maddelerin 400 µg/ml, 120 µg/ml, 40 µg/ml ve 4 µg/ml' lik konsantrasyonları test edildi. Direkt Blue 200 boyarmaddesinin 400 µg/ml konsantrasyonda S-9 fraksiyonu varlı ında ve yoklu unda mutajen etkiye

sahip oldu u tespit edildi. Bu boyarmaddenin S-9 fraksiyonu yoklu unda -galaktosidase aktivitesini gösteren absorbans de eri $0,922 \pm 0,108$ (SD), S-9 fraksiyonu varlı ında -galaktosidase aktivitesini gösteren absorbans de eri olan $0,690 \pm 0,046$ (SD)' den yüksek olması bu boyarmaddenin karaci er enzimleriyle muamelesi sonucu mutajenik etkisinin azald ı anlamına gelebilir. Ancak 120 µg/ml konsantrasyonda S-9 fraksiyonu yoklu unda -galaktosidase aktivitesini gösteren absorbans de erinin mutajenite de erinin altında olması, aynı konsantrasyonda S-9 fraksiyonu varlı ında -galaktosidase aktivitesini gösteren absorbans de erinin bu madde için mutajen oldu unu göstermesi bu hipotezi ortadan kaldırmaktadır. Bu ifadenin de kesinlik kazanması ancak kimyasal analizler sonucunda belli olabilir. Direkt Blue 200 boyarmaddesi 120 µg/ml konsantrasyonda S-9 fraksiyonu varlı ında mutajen etkiye sahiptir. Direkt Blue 200 boyarmaddesinin 40 µg/ml ve 4 µg/ml konsantrasyonlarda mutajen etkisi yoktur.

Bu çalı madan elde edilen sonuçlar göstermi tir ki: Türkiye'de ticari amaçla kullanılan boyarmaddeler içerisinde, direk veya dolaylı olarak maruz kalınd ında, sahip oldukları yapısal özelli in sonucu olarak veya biyodegradasyonla genotoksik etki meydana getiren boyarmaddeler vardır. Bu boyarmaddeler ve halen hakkında gerekli genotoksik bilgi bulunmayan bir çok boyarmadde kullanılmaya devam etmektedir (Al-Sabti, 2000).

Fabrikalardan de arj edilen atık sular, geçtikleri yollarda bulunan bütün su ekosistemlerini etkilemektedir. Nehirler, göller, içme suyu havzaları ve denizler bu kirlenmeden etkilenen temel ekosistemlerdir (Ono ve ark., 2000).

Tekstil boyarmaddelerinin üretim ve kullanımı, onların su ekosistemlerindeki durumu tamamen özel bir ilgi alanıdır. Bu boyarmaddelerin çok çe itli kimyasal yapıları ve çevre üzerindeki farklı etkilerinden dolayı, toksik dönü ümünün engellenmesi gerekmektedir. Boyarmaddelerin yapılarındaki büyük benzerliklere ra men biyolojik aktiviteleri farklıdır. Böylece onların toksikolojik özellikleri sadece bir grubunu referans gösterilerek genellenemez (Majcen-Le Marechal ve ark., 1997).

Boyarmaddelerin su ortamında biyodegradasyonu, mantarlar, kabuklu deniz hayvanları ve balıklar tarafından yapılabilir (Sugimori ve ark., 1998; Al-Sabti, 2000). Ayrıca balıklar ve kabuklu deniz canlıları bu toksik maddeleri vücutlarında depo etmektedirler. Balıkların bu toksik maddelere maruz kalan en önemli kısımları derileridir. Bunun yanında, karaci er, iskelet ve solungaçlar da bu maddelere yüksek oranlarda maruz kalmaktadır. Kabuklu deniz canlıları ise özellikle sindirim, bo altım ve solunum epitel hücreleri, üreme kanalları ve kardiyovasküler sistemlerde toksik madde biriktirmekte ve bu maddeler bu kısımlardaki hücre ve dokularda de i melere

sebebiyet vermektedir (Adamo ve ark., 1997; Akacha ve ark., 2000; Peters ve ark., 2002).

nsanların ise genetoksik kimyasallara maruz kalmasının temel yolu besinlerdir. Bu noktada balıklar ve kabuklu deniz hayvanları, bu toksik kimyasalların insana ulaşmasında en önemli vektörlerdir (Al-Sabti, 2000). Besin zincirinin en üst basamağında bulunan insan, enerji akışı yönü itibarıyla bu genetoksik maddelerden en fazla etkilenecek canlıdır.

Tekstil fabrikalarını da içine alan endüstriyel atık su de arjlarındaki toksik bileşikleri kontrol altına almak için yapılan biyolojik testlerin geçerliliği bilimsel bir yaklaşımdır (Al-Sabti, 1994). Bu toksik bileşiklerin kullanımının sınırlandırılması veya yasaklanması esastır. Aksi halde, fabrikalardan de arj edilen atık sularda bulunan bu genetoksik maddelerin radıkları bütün su ekosistemlerinde bulunan canlıları ve bu canlıların gelecek nesillerini tehdit ettiği gibi besin zinciri yoluyla ulaşan en üst noktadaki insanları ve onların da gelecek nesillerini çok ciddi şekilde tehdit etmektedir.

KAYNAKLAR

- Adamo, R.D., Pelosi, S., Trotta, P., Sansone, G. 1997. Bioaccumulation and Biomagnification of PAHs in Aquatic Organisms. *Marine Chemistry*, 56: 45-49.
- Akcha, F., Izuel, C., Venier, P., Budzinski, H., Burgeot, T., Narbonne, J. 2000. Enzymatic Biomarker Measurement and Study of DNA Adduct Formation in Benzo[a]pyrene-Contaminated Mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology*, 49: 269-287.
- Aksu, Z. 2005. Application of Biosorption for the Removal of Organic Pollutants: A Review. *Process Biochemistry*, 40: 997-1026.
- Al-Sabiti, K. 1994. Micronuclei Induced by Selenium, Mercury, Methylmercury and Their Mixture in Binucleated Blocked Fish Erythrocyte Cells. *Mutation Research*, 320: 157-163.
- Al-Sabiti, K. 2000. Chlorotriazin Reactive Azo Red 120 Textile Dye Induces Micronuclei in Fish. *Ecotoxicology and Environment Safety*; 47: 149-155.
- Ames, B.N., Lee, F.D., Durston, W.E. 1973. An Improved Bacterial Test System for the Detection and Classification of Mutagens and Carcinogens, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 70: 782-786.
- Ba er, ., nancı, Y.B. 1991. Boyarmadde Kimyası, Marmara Üni. Tek. E t. Fak. Yayın No:2, stanbul, 47-52: 103-105.
- Chatterjee, D., Ruj, B., Mahata, A. 2001. Adsorption and Photocatalysis of Colour Removal from Waste Water Using Flyash and Sunlight. *Catalysis Communications*, 2: 113-117.
- Chen, Y., Lin, H., Liu, C., Cheng, C., Lee, M. 2001. Solubilities of Disperse Dyes of Blue 79, Red 153 and Yellow 119 in Supercritical Carbon Dioxide. Department of Chemical Engineering, National Taiwan University, Taiwan.
- Gomez, V., Larrenchi, M.S., Callao, M.P. 2007. Kinetic and Adsorption Study of Acid Dye Removal Using Activated Carbon. *Chemosphere*, 69: 1151-1158.
- Majcen-Le Marechal, A., Slokar, Y.M., Taufer, T. 1997. Decoloration of Chlorotriazine Reactive Azo Dyes with H₂O₂/UV. *Dyes and Pigments*, 33: 281-298.
- Manu, B., Chaudhari S., 2002. Anaerobic Decolorisation of Simulated Textile Wastewater Containing Azo Dyes. *Bioresource Technology*, 82: 225-231.
- Nakamura, S., Kosaka, H., Kawakami, M., Matsuoka, Y., Matsuoka, H., Morimoto, K. 1990. Genotoxicity of Synthetic Dyes in the Umu Test Using *Salmonella Thyphimurium* TA1535/Psk1002 (II). Results of Examination of Basic Dyes. *Sangyo Igaku*, 32(5):319-35.
- Ono, Y., Somiya, I., Oda, Y. 2000. Identification of a Carcinogenic Heterocyclic Amine in River Water. *Water Research*, 34(3): 890-894.
- Peters, L.D., Telli-Karakoç, F., Hewer, A., Phillips, D.H. 2002. *In vitro* Mechanistic Differences in Benzo[a]pyrene-DNA Adduct Formation Using Fish Liver and Mussel Digestive Gland Microsomal Activating Systems. *Marine Environment Research*, 54(3-5): 499-503.
- Seesuriyachana, P., Takenakab, S., Kuntiyaa, A., Klayraungc, S., Murakamib, S. 2007. Metabolism of Azo Dyes by *Lactobacillus Casei* TISTR 1500 and Effects of Various Factors on Decolorization. *Water Research*. 41: 985 – 992.
- Sugimori, D., Banzawa, R., Kurozumi, M., Okura, I. 1998. Removal of Disperse Dyes by the Fungus *Cunninghamella polymorpha*, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 87(2): 252-254.
- Tomatis, L. 1979. The Predictive Value of Rodent Carcinogenicity Tests in the Evaluation of Human Risks. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 19: 511-530.
- Wittekindt, E., Fisher, B., Hansen, P.D. 2000. Genotoxicity assay: umu-test (ISO/DIS 13829, 2000). Institute for Ecology and Biology, Department of Exotoxicology, Berlin University of Technology, Germany.
- Yakartepe, M., Yakartepe, Z. 1993. T.K.A.M. Tekstil Ansiklopedisi, Tekstil ve Konfeksiyon Araştırma Merkezi Yayını, stanbul, cilt 5-6: 2158 s.
- Yamamoto, A., Kohyama, Y., Hanawa, T. 2002. Mutagenicity Evaluation of Forty-One Metal Salts by the Umu Test. *J. Biomed. Mater. Res.* 59(1) : 176-183.