

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MAGNEZYUMUN BİYOKOROZYONU VE FARKLI
ALAŞIM YÜZEYLERİNE BAKTERİ
TUTUNMASININ KIYASLAMALI İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Y. Müh. Deniz Sultan TEMUR

Anabilim Dalı : KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

Programı : KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

OCAK 2008

**MAGNEZYUMUN BİYOKOROZYONU VE FARKLI
ALAŞIM YÜZEYLERİNE BAKTERİ
TUTUNMASININ KIYASLAMALI İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Y. Müh. Deniz Sultan TEMUR
(506051032)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 24 Aralık 2007
Tezin Savunulduğu Tarih : 30 Ocak 2008**

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ahmet Tuncer ERCİYES (İ.T.Ü.)

Doç. Dr. Ali Arslan KAYA (TÜBİTAK)

Diğer Jüri Üyeleri Prof. Dr. Yüksel GÜVENİLİR (İ.T.Ü.)

Prof. Dr. Onuralp YÜCEL (İ.T.Ü.)

Doç. Dr. Melkon TATLIER (İ.T.Ü.)

OCAK 2008

ÖNSÖZ

Tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren ve destek vererek yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ahmet Tuncer ERCİYES'e ve Sayın Doç. Dr. Ali Arslan KAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tezin hazırlanması sırasında yakın destek, teşvik ve yardımlarını gördüğüm Sayın Dr. Evren Doruk ENGİN'e teşekkürü büyük bir borç bilirim.

Deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Metalurji ve Malzeme Yüksek Mühendisi Özgür Duygulu' ya, deneylerde kullandığım numunelerin hazırlanmasında büyük kolaylıklar gösteren TÜBİTAK Metalografi Laboratuvarı uzman teknisyeni Sayın Bilal Teymur' a ve Sayın Adem Deniz' e, TÜBİTAK Elektron Mikroskobu Laboratuvarı başteknisyeni Sayın Orhan İPEK'e çok teşekkür ederim.

Ayrıca aileme, göstermiş oldukları sabır ve duyarlılıktan ötürü teşekkürü bir borç bilirim.

ARALIK 2007

Deniz Sultan TEMUR

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
SEMBOL LİSTESİ	ix
ÖZET	x
SUMMARY	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Giriş ve Çalışmanın Amacı	1
2. BAKTERİ FİZYOLOJİSİ	4
2.1. Bakterilerin Üremesi	4
2.2. Bakterilerin Beslenmesi ve Üremesi için Gerekli Maddeler	5
3. BAKTERİ TUTUNMASI	6
3.1. Bakteri Tutunma Mekanizması	6
3.2. Bakteri Tutunması İşleminde Etki Eden Kuvvetler	6
3.2.1. Fizikokimyasal kuvvetler	6
3.2.2. Moleküler etkileşimler	8
3.3. Bakteri Tutunması İşleminde Etki Eden Faktörler	9
3.4. "Conditioning"- Koşullandırıcı- Film Oluşumu	11
4. BİYOFİLM OLUŞUMU	12
5. KOROZYON	16
5.1. Elektrokimyasal Korozyon	16
6. MAGNEZYUM ALAŞIMLARI VE KOROZYON DAVRANIŞI	19
6.1. Magnezyum Alaşimleri	19
6.1.1 Magnezyum alaşımlarının uygulama alanları	19
6.1.2 Fiziksel özellikler	21
6.1.3 Magnezyum alaşım ürünleri	21
6.2. Magnezyum ve Magnezyum Alaşımlarının Korozyon Davranışı	23
6.2.1 Empürite elementleri ve tolerans limitleri	23
6.2.2 Alaşım elementlerinin ve faz oluşumunun korozyon oluşumuna etkisi	26
6.2.2.1 Alaşım elementlerinin etkisi	26
6.2.2.2 Faz oluşumunun etkisi	27

6.2.3 Ortam koşullarının korozyon oluşumuna etkisi	28
6.3. Korozyon Mekanizması	28
7. BİYOKOROZYON	32
7.1. Biyokorozyon Genel Özellikleri	32
7.2. Pasif Tabaka / Biyofilm Etkileşiminin Biyo-korozyon Oluşumu Üzerindeki Etkisi	34
8.METALİK MALZEMELERDE LİTERATÜRDE MEVCUT BİYOKOROZYON VE BİOFİLM OLUŞUMU KONULU ÇALIŞMALAR	36
9. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	42
9.1. Numune Hazırlama İşlemleri	42
9.2. Deneysel Çalışmalar	42
10. SONUÇLAR	52
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	60

KISALTMALAR

SEM	: Taramalı Elektron Mikroskop
EDS	: Energy Dispersive Spectrometer
FEG	: Field Emission Gun
LB	: Laura Bertani Broth
LPS	: Lipopolysaccharide
EPS	: Extracellular Polysaccharide
emk	: Elektromotor Kuvvet
SBF	: Simulated Body Fluid
CCD	: Charge Coupled Device
TVC	: Total Viable Count
ICP MS	: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 7.1. Biyokorozyon Oluşumundan Etkilenen Endüstri Alanları.....	33

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 : Bakteri üreme dönemleri.....	4
Şekil 3.1 : Bakteri ve yüzey arasındaki mesafeye bağlı olarak ortaya çıkan etkileşimler.....	7
Şekil 3.2 : Hidrofobik ve hidrofilik yüzey özelliğine sahip iki farklı <i>S.Epidermidis</i> bakterilerinin Teflon malzemeye tutunma özelliği.	10
Şekil 4.1 : <i>Escherichia coli</i> MG1655, biyofilm yapısı SEM görüntüsü.....	13
Şekil 4.2 : Polistiren malzeme yüzeyinde <i>Staphylococcus epidermis</i> bakterilerinin biyofilm dinamik davranışı a) 72 dak., b) 155 dak., c)215 dak., d) 285 dak., e) 350 dak., f) 420 dak.....	13
Şekil 4.3 : Biyofilm oluşum aşamaları; Oluşumun başlaması, olgunlaşma, yapının sürdürülebilirliğini sağlaması ve çözünme aşamaları.....	15
Şekil 6.1 : Bazı metallerin özkütlelerinin magnezyumun özkütlesi ile kıyaslanması.....	19
Şekil 6.2 : Otomobillerde kullanılan bazı magnezyum alaşımları döküm parçaları.....	20
Şekil 6.3 : Mikro-galvanik korozyon.....	23
Şekil 6.4 : Her bir element için tolerans sınırlar.....	24
Şekil 6.5 : Demir elementi kompozisyonun, saf magnezyum metalinde korozyon oluşumuna etkisi.....	25
Şekil 6.6 : Mg-H ₂ O sistemi için 25 ⁰ C' de potansiel-pH diyagramı.....	30
Şekil 6.7 : AZ91 magnezyum alaşım yüzeyinde oluşan arayüzeyleri.....	31
Şekil 7.1 : Mikrobiyal korozyon oluşum basit şeması.....	34
Şekil 7.2 : Metal-çözelti ara yüzeyinde oluşan biyolojik ve elektrokimyasal süreçler.....	35
Şekil 8.1 : Referans paslanmaz çelik ve korozyona uğramış kaynak bölgesinden elde edilen EDS analiz sonuçları.....	37
Şekil 8.2 : Kaynak bölgesi optik mikroskop görüntüsü a) orjinal parça b) korozyona uğramış bölge.....	37
Şekil 8.3 : Korozyona uğramış çelik parçasına tutunan mikroorganizmalar SEM görüntüsü.....	37
Şekil 8.4 : Magnezyum alaşım yüzeyine tutunan <i>Pseudomonas sp.</i> bakterilerinin epifluorescence mikroskop görüntüleri.....	39
Şekil 8.5 : Magnezyum alaşım yüzeylerine tutunan bakterilerin zamana bağlı olarak yüzdesel değişimi.....	40
Şekil 8.6 : Deney ortamında bulunan <i>Pseudomonas</i> bakterilerinin TVC değerindeki değişim	40
Şekil 9.1 : Laura Bertani (LB) besiyeri ve <i>Escherichia coli</i> bakteri kültürü ortamına konulan magnezyum alaşım numuneleri.....	44
Şekil 9.2 : AZ31 alaşım numunesi SEM görüntüsü, pGEM-β-actin transformantı bakteriler.....	45

Şekil 9.3	: AZ31 Magnezyum Alaşımı, (a-b) pGEM bakterileri, (c-d) pGEM- β -actin bakterileri.....	45
Şekil 9.4	: AM60 Magnezyum Alaşımı, (a-b) pGEM bakterileri, (c-d) pGEM- β -actin bakterileri.....	46
Şekil 9.5	: Bakteri ekimi yapılan AZ31 Magnezyum alaşım numunesi SEM görüntüsü.....	47
Şekil 9.6	: AZ31 Alaşım Numunesi EDS analiz sonucu.....	47
Şekil 9.7	: AZ31 magnezyum alaşımı yüzey fotoğrafı (a) pGEM bakteri inkübe edilmiş numune SEM görüntüsü, (b) pGEM- β -actin transformatı bakteriler inkübe edilmiş numune SEM görüntüsü, (c) Bakteri inkübe edilmemiş kontrol numune SEM görüntüsü....	48
Şekil 9.8	: AM60 magnezyum alaşımı yüzey fotoğrafı (a) pGEM bakteri inkübe edilmiş numune SEM görüntüsü, (b) pGEM- β -actin transformatı bakteriler inkübe edilmiş numune SEM görüntüsü, (c) Bakteri inkübe edilmemiş kontrol numune SEM görüntüsü....	49
Şekil 9.9	:AZ31 Magnezyum Alaşımı (a-b) <i>Escherichia coli</i> 25922 bakterileri SEM görüntüleri.....	50
Şekil 9.10	: AM60 Magnezyum Alaşımı (a-b) <i>Escherichia coli</i> 25922 bakterileri SEM görüntüleri.....	50
Şekil 9.11	: AZ31 magnezyum alaşımı yüzey fotoğrafı (a) <i>Escherichia coli</i> 25922 bakteri inkübe edilmiş numune SEM görüntüsü (b) Kontrol numunesi SEM görüntüsü.....	51
Şekil 9.12	: AM60 magnezyum alaşımı yüzey fotoğrafı (a) <i>Escherichia coli</i> 25922 bakteri inkübe edilmiş numune SEM görüntüsü (b) Kontrol numunesi SEM görüntüsü.....	51

SEMBOL LİSTESİ

ΔG	: Serbest enerji değişimi
n	: Korozyon hücresinden geçen gram elektron sayısı
F	: 1 gram elektron yükü
ϵ	: Korozyon hücresi elektromotor kuvveti

MAGNEZYUMUN BİYOKOROZYONU VE FARKLI ALAŞIM YÜZEYLERİNE BAKTERİ TUTUNMASININ KIYASLAMALI İNCELENMESİ

ÖZET

Magnezyum alaşımları, kendilerine has üstün mühendislik özellikleri nedeniyle giderek artan kullanım alanlarına sahiptir ve özellikle ağırlık tasarrufu gerektiren uygulamalarda geleceğin en önemli metalik malzemelerinden biri olarak görülmektedirler. Cep telefonu ve bilgisayar kasaları gibi, günlük kullanımda sıklıkla insan teması gerektiren uygulama alanları nedeniyle, bakteri üremesine karşı bu alaşımların verdikleri karşılık ilgi konusu olmaya başlamıştır. Bu çalışmada, magnezyum alaşım yüzeylerine bakteri tutunabilme özellikleri ortam koşullarına bağlı olarak incelenmiştir. Bakteri tutunması konusunun farklı bilimsel alanlara giren kapsamı nedeniyle bu tez çalışması, disiplinler-arası bir perspektifle ele alınmaya çalışılmış ve biyolojik, kimyasal ve metalürjik açılardan gerekli ön bilgiler verilerek, irdelemeler yapılmıştır.

Deneysel çalışmalarda *Escherichia coli* bakterileri model olarak kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu, bakterilerin magnezyum yüzeyine tutunma ve biyofilm oluşturma aşamalarını gerçekleştirebildikleri ve malzeme yüzey özelliklerinde biyokorozyon sonucu değişimler ortaya çıktığı söylenebilmektedir.

BIOCORROSION OF MAGNESIUM AND A COMPARATIVE STUDY ON BACTERIAL ADHESION ON DIFFERENT ALLOY SURFACE

ABSTRACT

The magnesium alloys, due to their low density and high specific strength, are finding increasing use, and is considered to be one of the most important metallic materials of the future especially in applications requiring weight savings. The mobile phones or computer casings that come into contact with humans in daily life provide a permissive range of physical conditions for bacterial colonization. Therefore, the behaviour of the materials in response to reproduction of the microorganism is becoming an important subject. In this study, the ability of attachment of the bacteria on magnesium alloy surface is examined. Bacterial adhesion is tried to be discussed in biological, chemical and metallurgical perspectives on the basis of interdisciplinary of the subject.

In experimental procedures, a biofilm forming bacterium, *Escherichia coli*, is used as the test strain. As a result of this study, the adhesion of bacterial cells to the magnesium alloy surface is observed. It may be stated that the change in surface properties can occur as a result of biocorrosion .

1.GİRİŞ

1.1. Giriş ve Çalışmanın Amacı

Bakteriler, her iklim koşulunda ve ortamda rastlanabilen organizmalardır. Serbest yüzerek hareket edebilme özelliğine sahip olan bu sucul organizmalar, belirli bir yüzeye tutunarak yaşama kabiliyetine de sahiptirler. Biyofilm oluşturarak tutundukları yüzeyde süreklilik sağlayan bu organizmalar, yüzeyde çeşitli bozunmalara sebep olurlar. Biyomalzemelerde meydana gelen enfeksiyonlar, gemi gövdelerinde ve çeşitli endüstriyel ekipmanlarda ortaya çıkan bozunmalar, yüzeyde bakteri kolonileşmesi sonucu ortaya çıkan olumsuz etkilerdir.

En hafif metaller sınıfında yer alma özelliğinin yanında, sahip olduğu üstün mekanik özellikler ile birçok mühendislik alanında önemli bir yere sahip olan magnezyum alaşımları, özellikle ağırlık tasarrufunun önemli olduğu taşımacılık, uçak sanayi ve telefon, bilgisayar gibi günlük kullanım alanlarında ön plana çıkmaktadır. İnsan temasının sık olduğu bu kullanım alanları, beraberinde bu malzemelerin bakteri üremesine karşı verecekleri tepkinin de merak konusu olmasını sağlamıştır. Magnezyumun özellikle, bakterilerin üremesi ve gelişimini tamamlaması için gerekli olan uygun besi yerini oluşturan temel elementlerden biri olması bu merakı artırmaktadır [1].

Bakterilerin maddelerin yüzeylerine tutunma davranışları genel olarak çok geniş ve günlük yaşamımız için direkt sonuçlar doğurabilecek bir konudur. Örneğin, birçok bakteri, kirletici etkiye sahip kimyasal maddeleri ve atık malzemeleri çözme özelliğine sahiptir ve mikroorganizmaların sahip oldukları bu özelliklerinin kullanılması, yeraltı su havzalarından içilebilir su elde edilmesi için kullanılan yöntemlerden birini oluşturmaktadır. Fakat bakterilerin toprak içinde uzak mesafelere hareket edememesi, bu yöntemin kullanımında bazı sınırlamalar getirmektedir. Bakterilerin toprak parçalarına kuvvetli bir şekilde tutunması, bu sorunun nedeni olarak bilinmektedir. Bu nedenle bakteri tutunması konusunun anlaşılması, bu yöntemin etkin bir şekilde kullanımı için de gereklidir.

Bakteri ve metalik malzeme ilişkileri magnezyum alaşımları haricinde daha geniş bir kapsamdaki mühendislik uygulamaları için de önemli bir inceleme konusudur. Bakteri tutunması ile ortaya çıkan olumsuz etkiler, endüstride birçok sistemin etkin bir şekilde kullanımını da engellemektedir. Denizcilik işletmelerinde, bakterilerin gemilerin gövdelerine tutunması sonucu, yüzeylerde bazı bozunmalar meydana gelmektedir. Oluşan bakteri tabakasının daha büyük organizmalar için uygun bir ortam oluşturması ise meydana gelen zararlı etkileri daha da artırmaktadır. Gıda ve kimya endüstrisinde de bakteri tutunması sonucu sık sık karşımıza çıkan benzeri sorunlar, endüstriyi ekonomik açıdan olumsuz etkilemektedir [2].

Bakterilerin tıbbi mühendislik uygulamalarında da göz ardı edilmesi düşünülemez. Biyomedikal teknolojide elde edilen başarılar ve teknolojik gelişmeler, biyomalzemelerin cerrahi operasyonlarda kullanımını yaygınlaştırmıştır. Magnezyum alaşımlarının özellikle bu alanda kendilerine giderek daha fazla yer edinecekleri öngörülmektedir. Ancak, biyo-malzemelerin yüzeyine bakteri tutunması sonucu vücudun biyomalzemeyi kabul etmemesi veya enfeksiyon oluşması gibi istenmeyen etkiler görülebilir ve bu durum malzemelerin cerrahi operasyonlarda etkin bir şekilde kullanımını engelleyebilir. Bu tür zararlı etkilerin ortadan kaldırılması ve biyomalzeme yüzeylerinin geliştirilerek etkin bir şekilde kullanımının sağlanması için, bakterilerin yüzeye tutunma sürecinin anlaşılmasına bağlıdır.

Mühendislik uygulamalarında bakterilere karşı verilen savaş devam eden bir süreçtir ve sürekli olmalıdır. Metalik magnezyum, toprak altı metalik sistemlerin, ve bunlar içinde belki de en önemlisi olan metalik boru hatlarının korozyona karşı korunmalarında 'kendini feda eden' koruyucu anot olarak kullanımı ile önemli bir kullanıma sahiptir. Bu uygulaması ile magnezyum ve bakteri buluşması son derece önemli bir başka biyokimyasal durum senaryosu sergiler. Böyle bir uygulamada koruma amaçlı magnezyum anotların daha efektif kullanımı, bakterilerin yol açacağı istenmeyen ilave korozyon mekanizmalarının araştırılmasına da bağlıdır.

Bakteri tutunması konusunun farklı bilimsel alanlara giren kapsamı nedeniyle bu tez çalışması, disiplinler-arası bir perspektifle ele alınmaya çalışılmış ve biyolojik, kimyasal ve metalürjik açılardan gerekli ön bilgiler verilmeye çalışılmış ve irdelenmeler yapılmıştır. Bu çalışmada, otomotiv, uzay-uçak (aerospace) biyo-malzeme (implant), spor ve engelli yardım aletleri, elektronik cihaz kutuları ve ağırlık tasarrufu gerektiren birçok başka uygulama sahasında kullanımı giderek

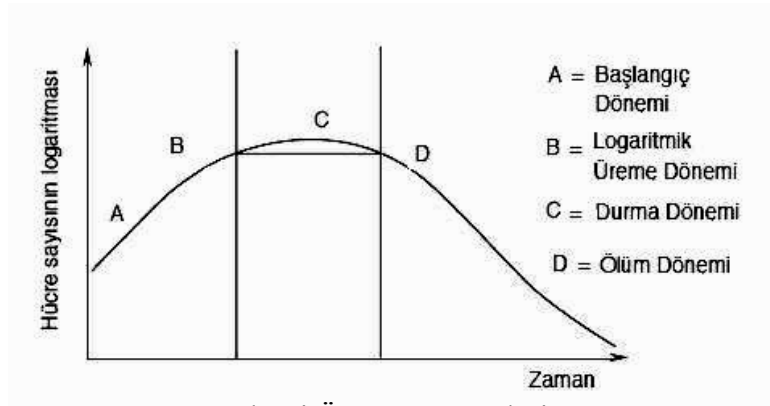
yaygınlaşan magnezyum alaşımlarının yüzeylerine bakteri tutunabilme özellikleri incelenmiştir. Deneysel çalışmalarda *Escherichia coli* bakterileri model olarak kullanılmıştır. Bu konuda magnezyum alaşımları üzerine odaklanmış çalışmalar dünya bilimsel literatüründe son derece sınırlı sayıdadır.

2. BAKTERİ FİZYOLOJİSİ

Bakteriler, tek hücreli prokaryotik mikroorganizmalardır. Büyüklükleri 0.1 - 10 μm arasında değişir. 3500 milyon yıldan daha uzun bir süredir dünyada var oldukları bilinmektedir. Hava, toprak, su ile canlı dokularında yaşarlar ve biyolojik olarak hayatın devam etmesi için çok önemlidirler.

2.1 Bakterilerin Üremesi

Bakteriler ikiye bölünerek çoğalırlar. Bakteriler sıvı bir besiyerine ekilip üreme eğrileri çizildiğinde dört dönemden oluşan bir grafik elde edilir (Şekil 2.1). Bu dönemler başlangıç, logaritmik üreme, durma ve ölüm dönemleridir.



Şekil 2.1: Bakteri Üreme Dönemleri [2, 3]

Bakteriler çoğalmaya başlamadan önce bir *başlangıç dönemi* geçirirler. Başlangıç döneminde bakteri çoğalması olmaz, fakat bakteri hücresi maddelerinin sentezi olur ve bakteri hücresinin hacmi büyür. Bakterinin protein ölçüsü olarak azot miktarı ölçüldüğünde, azot miktarının zamanla çoğaldığının görülmesi, hücre maddelerinin sentezinin yapıldığını gösterir [2].

Başlangıç döneminden sonra gelen *logaritmik dönemde* bakteri sayısı hızlı bir şekilde maksimum seviyeye ulaşır. Artışın zamana göre grafiği, yükselen düz bir çizgi şeklindedir. Logaritmik dönemin süresi kısadır ve birkaç saatte tamamlanır. Besiyerindeki besinlerin azalması ve bitmesi, bakteri metabolizması ürünleri olan

bakteri üremesini inhibe edici, toksik maddelerin birikmesi ve bakteri hücre yoğunluğunun çok artması logaritmik dönemin bitmesine sebep olur [2].

Logaritmik dönemden sonra canlı bakteri sayısının sabit kaldığı *durma dönemi* gelir [2]. Bu dönemde bakterilerin üremesi devam ederken bir yanda da bakterilerde ölüm görülür. Ölen bakteri ile üreyen bakteri birbirine eşit olduğundan ortamdaki bakteriler sayıca değişmez [3].

Son dönem bakterilerin ölüm oranının arttığı *ölüm dönemidir* [2]. Bu dönemde ölen bakteri hücreleri sayıca artmıştır. Daha sonra üreyen bakteri sayısı sıfıra düşer ve bakteri ölümü giderek artar, sonuçta ortamda hiç canlı bakteri kalmaz [3].

2.2 Bakterilerin Beslenmesi ve Üremesi için Gerekli Maddeler

Besin ihtiyacı bakteri türlerine göre değişir. Bazı türler üreme için özel ihtiyaç göstermezken, bazı türler ancak özel maddeler bulunduğunda üreme kabiliyetine sahiptirler [2].

Bütün bakterilerin kimyasal yapısında bulunan başlıca maddeler: Protein, nükleik asit, polisakkarit ve lipit gibi molekül ağırlığı büyük olan organik maddeler, koenzimler, ara metabolitler gibi molekül ağırlığı küçük olan organik maddeler ve su, fosfor, kükürt, sodyum, potasyum, demir gibi anorganik maddelerdir [2].

Bakterilerin %70 -90'ını oluşturan su, enzimatik ve metabolik aktivitelerin devamı için gereklidir, bu nedenle beslenme ve üreme için gerekli temel maddelerden birini oluşturmaktadır. Ortamdaki besin maddelerinin kullanımı, suda çözülmüş olarak sağlanmaktadır [3].

Bakterilerin üremesi için gerekli başlıca maddeler karbon, hidrojen, oksijen ve azottur. Ayrıca, yapı maddelerinin sentezi ve enzim aktiviteleri için bazı minerallerin ortamda bulunması gereklidir [3].

Bakterilerin çoğu, bakteri vitaminleri olarak adlandırılan ve bakteri metabolizmasında koenzim olarak katalitik rol oynayan üreme faktörlerine ihtiyaç duymaktadırlar. Bakteriler bu vitaminlerin büyük bir bölümünü basit maddelerden sentez yaparak elde etme yeteneğine sahiptirler. Sentezini yapamadıkları maddeleri ise besiyerine ilave etmek gerekmektedir. Bu şekilde bakterilerin üremesi için gerekli besin maddeleri sağlanmaktadır[2].

3. BAKTERİ TUTUNMASI

3.1 Bakteri Tutunma Mekanizması

Mikrobiyal yapışma, mikroorganizmaların belirli bir kütle içinde bağımsız bir halde iken bir yüzeye tutunma sürecini kapsamaktadır [4]. Yüzeye bakteri tutunması ve bu süreci takip eden biofilm oluşumu, bakteri türlerinin çeşitliliği, yüzey kompozisyonu ve çevresel etkenler gibi birçok değişkene bağlı olarak gerçekleşmektedir [5].

Mikroorganizmaların ilk yüzeye tutunma işlemi, bakteri ve yüzey arasında meydana gelen fiziksel ve kimyasal etkileşimler sonucu ortaya çıkmaktadır. Biyolojik bir süreç olan olgunlaşma ve fizyolojik adaptasyon aşamaları ise daha geniş bir zaman aralığını kapsamaktadır [4].

Genel olarak bakteri tutunması birbirini takip eden iki süreçten oluşmaktadır [6,7,8]. Bakteriler, ilk adımda zayıf bağlarla malzeme yüzeyine tutunmayı gerçekleştirmektedirler, bu nedenle oluşan yapı süreklilik sağlayamamaktadır. Daha sonraki süreçte ise ekstrasellüler polisakkaridler içeren tabaka oluşumu [9], organizmaların yüzeylerinde ortaya çıkan değişimler ve hücrelerin birbirleri ile etkileşimi [10] sonucu daha kuvvetli bir tutunma gerçekleşmektedir ve biofilm yapısı oluşumu başlamaktadır.

3.2 Bakteri Tutunması İşleminde Etki Eden Kuvvetler

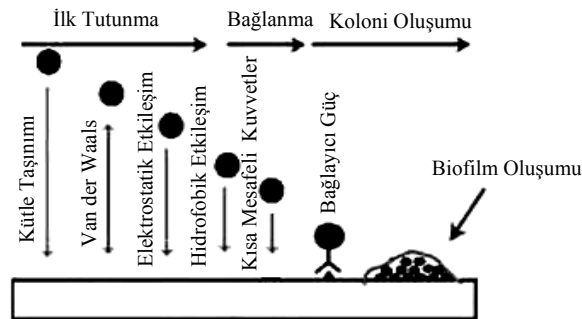
3.2.1 Fizikokimyasal kuvvetler

Bakteriler, ilk adımda zayıf bağlarla malzeme yüzeyine tutunmayı gerçekleştirirler, bu nedenle oluşan yapı süreklilik sağlamaz. Bakteri tutunma sürecinin ilk basamağında uzun mesafeli ve kısa mesafeli kuvvetler olmak üzere iki grup kuvvet etkilidir [11-13]. Bakteriler yüzeye yaklaşmaları aşamasında, mesafeye bağlı olarak ilk uzun mesafeli kuvvetlerin etkisinde itici ve çekici etkileşim içine girerler. Mesafeye ve yüzey serbest enerjisine bağlı olan van der Waals, elektrostatik ve hidrofobik etkileşimler uzun mesafeli kuvvetleri oluşturmaktadır [12,13]. Bu kuvvetler, malzeme yüzeyine protein tutunmasında da etkili bir rol oynamaktadırlar

[14]. Uzun mesafelerde etkili olan Van der Waals kuvvetlerinin etkisi (50 nm), bakteriler numuneye yaklaştıkça yerini elektrostatik kuvvetlere (10-20 nm) bırakmaktadır [12]. İki yüzey arasında oluşan bu elektrostatik kuvvetler, bakteri yüzeylerinin ve tutunmanın gerçekleşeceği malzeme yüzeylerinin negatif yük taşımalarından dolayı itici etkiye sahiptirler [5-7,15,16]. Yüzeğe tutunma sürecinin başlaması, organizmaların bu itici güçlerden oluşan bariyeri aşarak, malzeme yüzeyine belirli bir mesafe yaklaşmaları ile başlamaktadır [17,18].

Fizikokimyasal kuvvetler içerisinde yer alan hidrofobik etkileşimler ise daha kuvvetli tutunmayı sağlayacak etkiye sahiptir. Bakteri hücreleri tarafından absorbe edilen su molekülleri, bakteri ve malzeme yüzeylerinin etkileşimini engelleyen faktörlerden birini oluşturmaktadır [12]. Hidrofobik gruplarının su moleküllerini yüzeyden uzaklaştırabilme özellikleri ise bu negatif etkiyi ortadan kaldırarak yüzeylerin etkileşimini sağlamaktadır [14,19,20]. İki hidrofobik yüzeyin etkileşimi sonucu yüzeyler, aralarındaki su moleküllerini uzaklaştırarak birbirlerini çekme eğiliminde olurlar [14]. Bu nedenle, birçok bakteri grubunun ve malzeme yüzeyinin hidrofobik karakteristikte olması, tutunma işleminin gerçekleşmesinde önemli etkiye sahiptir [12].

İstenmeyen yüzey özelliklerinin ortadan kaldırılması ile bakteri ve malzeme yüzeyi arasındaki etkileşimi engelleyen bariyer ortadan kaldırılmaktadır [21]. Belirli bir mesafede (<3 nm) birbirine yaklaşan yüzeyler arasında hidrojen bağı, iyonik ve dipol etkileşimleri içine alan kısa mesafeli etkileşimler etkin hale gelmektedir [12,13]. Şekil 3.1.' de bakteri ve yüzey arasındaki mesafeye bağlı olarak ortaya çıkan etkileşimler tanımlanmaktadır [12,14].



Şekil 3.1: Bakteri ve Yüzey Arasındaki Mesafeye Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Etkileşimler [12,14].

3.2.2 Moleküler etkileşimler

Fiziksel ve kimyasal etkileşim sonucu zayıf bir bağ ile yüzeye tutunan bakteriler, daha sonraki adımda moleküler etkileşim etkisi ile yüzeye kuvvetli bir şekilde tutunarak yüzeyde süreklilik sağlamaktadırlar [13,18]. Bakterilerin lifli yapıda olmaları, pilus ve kirpik gibi hücre yüzey özelliklerine sahip olmaları ve organizmaların ürettiği polimerik yapı, bu süreçte etkilidir [12,22].

Bakteri hücre duvarı, bakterilerin çevresel etkiler ile ilk temas ettiği yapıyı oluşturmaktadır. Hücre şeklini oluşturmak, hücreleri dış etkilerden korumak, taşınım olaylarını ve hücrelerin yüzeye tutunma sürecini kontrol altına almak gibi birçok işlevi vardır [12]. Hücre duvarı birçok yapıdan oluşmaktadır. Bu yapı gram-pozitif ve gram-negatif bakteri türleri arasında farklılık göstermektedir. Gram negatif bakteri türlerinde hücre duvarını oluşturan yapılardan biri olan lipopolisakkarid (LPS) yapısının tutunma sürecinde önemli rol üstlendiği bilinmektedir, fakat etkisi tam olarak anlaşılammamıştır. Yapılan çalışmalar LPS yapısının hücre yüzeyine hidrofilik özellik kazandırdığını ve yüzeyler arası elektrostatik itici etkileşimi artırdığını göstermiştir [12,22]. Bakterilerin lifli yapıda olması ve pilus, kirpik gibi hücre yüzey özelliklerine sahip olmaları ise tutunma işlemi üzerinde pozitif yönde etkiye sahiptir.

Mikroorganizmalar, uygun yüzeye tutundukları zaman çevre koşullarına uyum sağlamak ve yaşamlarını bu yüzeyde sürdürebilmek için birtakım farklılaşma içine girerler. Bakteri hücresi tarafından üretilen ve çoğunlukla karmaşık ekstraselüler polisakkaridler içeren tabaka oluşumu bu adaptasyon süreçlerinden birini oluşturmaktadır [23]. Bu aşamada organizmaların ürettikleri ekstraselüler polimerik madde (EPS) yapısı tutunma işleminin sürekli olmasında etkilidir [13,24]. EPS yapısının zengin olduğu bakteri gruplarının bakteri ve malzeme yüzeyi arasındaki polimer-yüzey etkileşimi sonucu, tutunma işlemini genellikle daha iyi gerçekleştirdikleri bilinmektedir [24]. Tutunma işlemi sürecinde önemli bir etken olan bu yapı polisakarid, protein, nucleik asitler ve lipid gibi birçok organik bileşenden oluşmakta [25] ve bakterilerin çevre koşullarına uyum sağlama aşamasında önemli rol almaktadır. Oluşan bu yapı, olumsuz çevre koşulları sonucu ortaya çıkan toksit maddelere, ortam sıcaklığında ve pH değerinde meydana gelen değişikliklere karşı organizmaların uyum sağlama sürecinde görev almaktadır. Bu adaptasyon sürecinde bakterilerin temel amacı buldukları popülasyonda

varlıklarını ve yapılarını korumaktır [26]. Bakteriler, tutundukları yüzeyde yaşamları için uygun çevresel koşulları sağladığı aşamada, biyofilm oluşum sürecini başlatır ve tutundukları yüzeyde süreklilik sağlarlar [23]. Biyofilm oluşum sürecinin başlaması için gerekli olan çevresel koşullar, farklı bakteri grupları için farklılık göstermektedir. Örneğin *P. aeruginosa* ve *P. fluorescens* bakterileri hemen hemen her koşulda biyofilm oluşturma özelliğine sahip iken, *Escherichia coli* K12 ve *Vibro cholerae* bakterileri için ortama aminoasit takviyesi yapılarak minimal çevre koşullarının oluşturulması gerekmektedir [27]. Buna karşılık ortam sıcaklığı, pH değeri, ozmolarite değeri ve oksijen miktarı biyofilm oluşumunu etkileyen diğer önemli değişkenleri oluşturmaktadır.

3.3 Bakteri Tutunma Sürecine Etki Eden Faktörler

Bakteri tutunma işlemi, bakteri ve malzeme yüzey özellikleri ile çevre koşulları gibi dış etkenlere bağlı olarak gelişen karmaşık bir süreçtir [12,13].

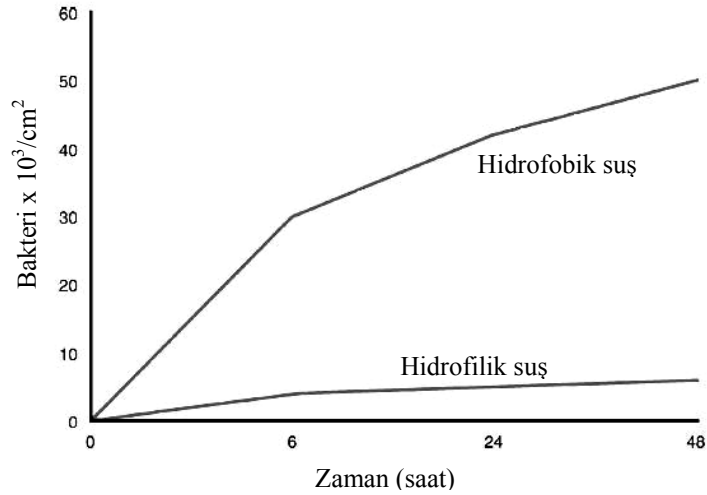
Malzeme kimyasal kompozisyonu [13,28,29], yüzey hidrofobik özelliği [13,19], ve pürüzlülük gibi malzeme yüzey özellikleri bakteri tutunma sürecinde önemli rol almaktadırlar.

Malzeme yüzeyinde oluşan düzensizlikler, yüzey alanını artırmaktadır [13,30] ve bakteriler için uygun alanlar oluşturarak yapışma işleminin gerçekleşmesini sağlamaktadırlar [12,13,22,31-33]. Yapılan bazı deneysel çalışmalar, yüzey pürüzlülüğün yapışma sürecinde önemli bir faktör olduğunu göstermiştir. McAllister ve arkadaşları, polimerik malzeme yüzeylerinde oluşan düzensizliklerin, bakterilerin yüzeye yapışması ve biyofilm yapısının yüzeyde çöküntü oluşturması aşamalarında olumlu etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Aşırı düz yüzeylerin bakteri tutunması için uygun koşulları oluşturmadığı ve yapışma işlemine izin vermedikleri gözlenmiştir [13]. Baker ve Greenham ise, cam ve plastik malzeme yüzeylerinde, zımpara taşı ile oluşturdukları pürüzlü yüzeylerde bakteri koloni sayısında büyük artış sağlamışlardır [33].

Malzeme yüzey hidrofobik özelliği arttıkça, bakteri ve malzeme yüzeyi arasındaki itici elektrostatik etkileşim etkisi azalmaktadır [34,35], bu nedenle yüzey hidrofobik özelliği, bakterilerin yüzeye tutunma sürecinde önemli etkiye sahiptir [22,12,35,36]. Yapılan birçok araştırma, bakterilerin Teflon ve plastik gibi hidrofobik malzeme

yüzeylelerine tutunma hızının, cam ve metal gibi hidrofilik malzemelere tutunma hızına göre daha fazla olduğunu göstermiştir [19,30,34,37,38]. Hidrofobik moleküller buldukları çevre koşullarında başka bir hidrofobik yüzey özelliğine sahip molekül ile bir arada olma eğiliminde olurlar. Birçok bakteri grubunun ve malzeme yüzeyinin hidrofobik karakteristikte olması, tutunma işleminin gerçekleşmesini sağlamaktadır.

Farklı bakteri türleri farklı fizikokimyasal özelliklere sahip olmalarından dolayı farklı yapışma davranışı gösterirler [13,39]. Hidrofobik yüzey özelliği tutunma işleminde etkili fiziksel faktörlerden birini oluşturmaktadır ve bakterilerin türüne, bulunduğu çevre koşullarına ve yüzey özelliklerine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Genel olarak, hidrofobik yüzey özelliğine sahip bakteri, hidrofobik bir yüzeye tutunma eğiliminde iken, hidrofilik özellikteki bakteri aynı yüzey özelliğine sahip hidrofilik bir yüzeye tutunma eğilimini göstermektedir [13]. Teflon malzeme yüzeyinde yapılan çalışmalar sonucu, hidrofobik *S. epidermidis* bakteri ırkının yapışma oranının hidrofilik bakteri ırkına göre daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.2) [14]. Benzer sonuçlar farklı hidrofobik özellikteki bakteri ırkları ile yapılan çalışmalar sonucu da elde edilmiştir [14]. Bununla birlikte hidrofilik yüzeylerin de tutunma işlemini gerçekleştirebilme özelliğine sahip oldukları bilinmektedir [12].



Şekil 3.2: Hidrofobik ve Hidrofilik Yüzey Özelliğine Sahip İki Farklı *S. epidermidis* Bakteri Irkının Teflon Malzeme Yüzeyine Tutunma Özelliği [14].

Bakteri yüzey ıslanabilirlik özelliği ve yüzey yükü gibi bakteri fizikokimyasal özelliklerinin ise, bakteri tutunma sürecinde önemli etkiye sahip olmadıkları bilinmektedir [12,35].

Ortam sıcaklığı, bakteri konsantrasyonu, malzemenin bakteri sıvısı ile temas süresi gibi çevresel faktörler, bakteri ve malzeme yüzey özelliklerinin değişikliğe uğramasına ve bakteri-yüzey arasındaki fizikokimyasal etkileşimin değişmesine neden olarak bakteri tutunma sürecinde önemli etkiye sahiptirler [12,13]. Yapılan çalışmalar ile, bakteri sıvısı ile malzeme yüzeyinin temas süresinin artması sonucu bakteri tutunma miktarının artış gösterdiği gözlenmiştir. Bu artış belirli bir seviyeye kadar gerçekleşirken, bu seviye farklı malzemelerde yüzey özelliklerinden dolayı farklılık göstermektedir [12,13,40]. Ortam koşullarını etkileyen faktörlerden biri olan ortamdaki tuz miktarı, bakteri hücrelerinin ürettikleri polisakarid oluşumu aşamasında yapıyı değiştirerek etkin bir rol oynamaktadır. Ortamdaki tuz miktarı, tutunma sürecinin ilk basamağında yüzeyler arası gerçekleşen elektrostatik itme gücünü azaltarak bakteri tutunma işleminin gerçekleşmesini sağlamaktadır.

3.4 ‘Conditioning’-Koşullandırıcı- Film Oluşumu

Organizmalar tuttukları yüzeyde, yaşamları ve gelişimleri için uygun ortam koşullarına sahiptirler [41], bu nedenle yaşamlarını bir yüzeye tutunarak sürdürme eğiliminde olurlar. Yapışma süreci sırasında, malzeme yüzeyi sıvı ile temas ettiği an ortamda bulunan organik moleküller ve bakteriler difüzyon ve ya akım ile malzeme yüzeyine taşınırlar. Organik moleküller bakterilere göre daha küçük boyutta olmalarından dolayı taşınımları daha hızlı olur ve malzeme yüzeyinde bir tabaka oluştururlar [22,42]. Bakterilerin yaşamlarını sürdürmeleri için gerekli besin konsantrasyonunun daha yoğun olduğu bu tabaka, malzeme yüzey karakteristik özelliklerinden doğabilecek itici etkiyi azaltarak ve yüzey özelliklerini değiştirerek, bakterilerin yüzeye tutunabilmesi için uygun koşulları oluştururlar [43]. Bu tabaka “conditioning surface” olarak adlandırılmaktadır [42].

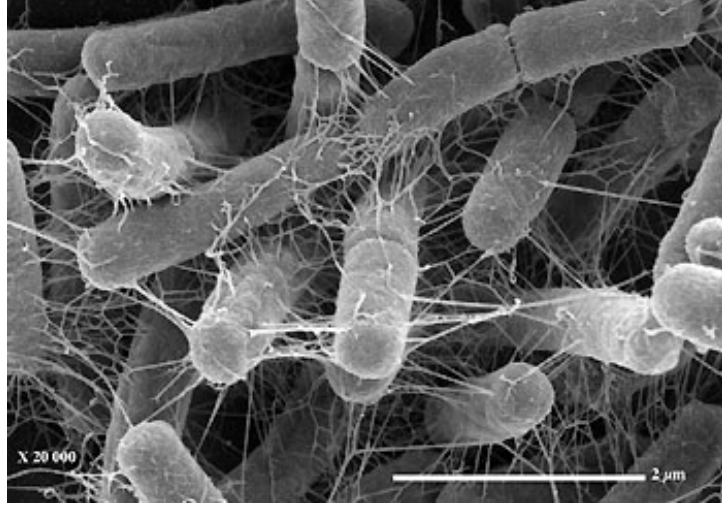
4. BİOFİLM OLUŞUMU

Bakteri tutunması, biyofilm oluşum sürecinin ilk basamağını oluşturmaktadır. Biyofilm, bakteri metabolizmasının ürettiği ve polimer bir yapıya sahip matris içine gömülü bir mikroorganizma topluluğu olarak tanımlanmaktadır(Şekil 4.1) [6,44,45]. Oluşan her bir topluluk, bakterilerin yaşamlarını sürdürebilmeleri için gerekli olan besinin ve metabolizmaları sonucu açığa çıkan atıkların dolaşımını sağlayan kanallar ile birbirinden ayrılmıştır (Şekil 4.2) [46].

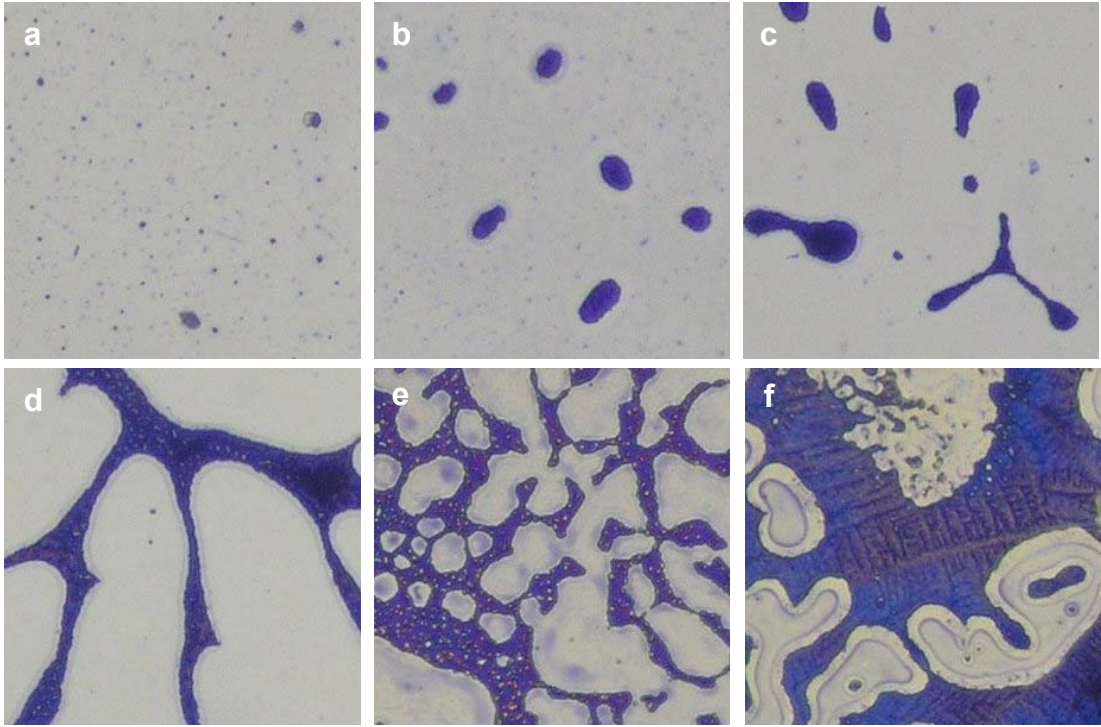
Biyofilm yapısı, bakteriler için uygun çevre koşullarını sağlayarak dış etkilere karşı koruyucu bir tabaka görevi görür. Biyofilm yapısı içine gömülü organizmalar, sıcaklık değişimleri, ortamda bulunan antibotik maddelere karşı sucul faz organizmalara göre daha fazla direnç gösterirler [44,47]. Bu nedenle, biyofilm oluşumu bakteri tutunma sürecinin önemli bir basamağını oluşturmaktadır [6].

Mikrobiyal film ile ilgili yapılan ilk ortak çalışmalar, bakterilerin ağırlıklı olarak yüzeye tutunarak yaşama eğiliminde olmalarının keşfedilmesi ile yakın bir geçmişte başlamıştır [23]. Biyofilm ile ilgili ilk kayıtlı gözlemler 1933 yılında Henrici tarafından gelmiştir. Henrici, suda yaşayan birçok bakterinin gelişimlerini suya batmış yüzeyler üzerinde tamamladıklarını belirtmiştir [23,48]. Gemilerde mikroorganizmalar sonucu meydana gelen bozunmaların ciddi bir problem olduğu ise Henrici'nin yayımından çok önce fark edilmiştir. Biyofilm oluşum sürecinin bilimsel bir konu olarak ele alınması yaklaşık 100 yıl öncesine dayanmaktadır, fakat moleküler seviyede yapılan çalışmalar henüz başlangıç aşamasındadır [23].

Biyofilm birçok mikroorganizmanın birlikte yaşamlarını sürdürdüğü bir topluluk olarak tanımlanabilir [49-51]. Tekli ve ya çoklu mikroorganizma türlerini içerebilen bu yapı, biyolojik olan ve olmayan her tür yüzey üzerinde oluşabilir. Farklı türdeki bakterilerce oluşturulan biyofilm yapıları birçok ortamda daha baskın iken, aynı tür bakterilerin oluşturduğu biyofilm yapıları daha çok çeşitli medikal implant malzemeler üzerinde yaşarlar [23].



Şekil 4.1: *Escherichia coli* MG1655, Biyofilm Yapısı SEM Görüntüsü, X20 000 [45].

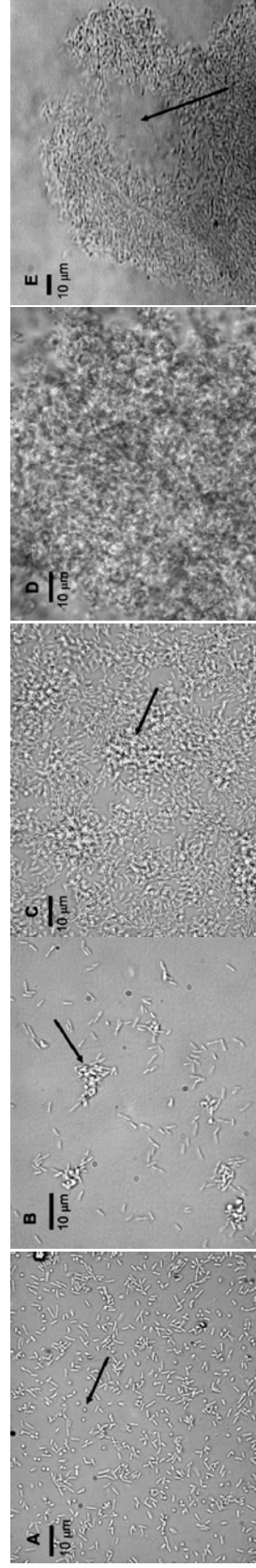
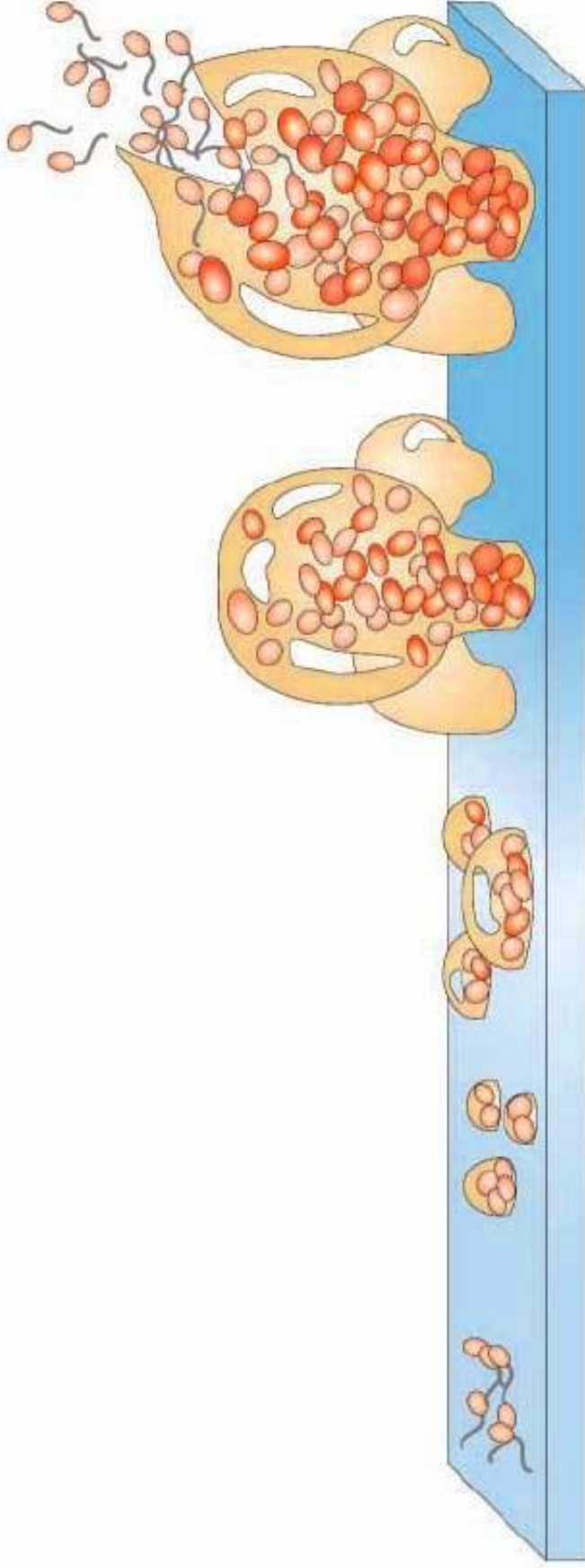


Şekil 4.2: Polistiren Malzeme Yüzeyinde *Staphylococcus epidermidis* Bakterilerinin Biyofilm Dinamik Davranışı a) 72 dak., b) 155 dak., c)215 dak., d) 285 dak., e) 350 dak., f) 420 dak.

Yapılan çalışmalar, biyofilm oluşumunun biyolojik bir dönem olduğunu göstermektedir. Oluşumun başlaması, olgunlaşma, yapının sürdürülebilirliğini sağlaması ve çözünme aşamaları bu biyolojik oluşumu meydana getirmektedir (Şekil 4.3) [12,46,52].

Biyofilm oluşumunun başlaması, bakterilerin çevresel etkilere ve uyarılara karşı verdiği tepki sonucu ortaya çıkmaktadır. Özellikle bakteriler için uygun besi yeri, biyofilm oluşum sürecini başlatan en önemli etkenlerdendir. Sıvı ortamında serbestçe yüzerek yaşamlarını sürdüren birçok organizma, daha zengin bir besi ortamı ile karşılaştığında, bu yüzey üzerine tutunarak yaşamlarını sürdürmeyi tercih ederler [23]. Karmaşık bir süreç olan yüzeye tutunma işleminin ilk evresinde, aynı tür ve farklı türdeki bakteriler yan yana gelerek tek-tür ve ya çoklu-tür mikro koloniler oluştururlar. Oluşan bu mikro koloniler ve organizmalar tarafından üretilen polimerik yapı, biyofilm bakterileri için uygun ortamı sağlamaktadır. Temel olarak polisakarid yapısından oluşan polimer matris, ayrıca çeşitli protein, nükleik acid ve iyon taşıyıcı moleküller içermektedir [12]. Bakteri yüzey özellikleri ise, polimer matris kompozisyonunu belirleyen önemli faktörlerden birini oluşturmaktadır.

Farklı tür bakteri gruplarının oluşturduğu biyofilm yapısı, kendilerine özgü oluşturulan uygun çevre koşulları ile farklı bir büyüme yolu izleyerek, karmaşık bir yapıya sahip olan olgun biyofilm yapılarını oluştururlar. Oluşan biyofilm yapısı, yüzey üzerinde etkin bir mikrobiyal topluluk halini alır. Koşulların uygunluğu devam ettiği sürece, oluşan biyofilm yapısı sürdürülebilirliğini sağlar, fakat mikroorganizmalar bu besi ortamından yoksun kaldıkları zaman tutundukları yüzeyden ayrılarak serbest hale gelirler. Çevre koşullarının uygun olmaması, bakterileri yeni bir besi kaynağı arayışı içine girmelerine ve yeni ortam şartlarına uyum sağlamalarına sevk eder [50]. Birçok mikroorganizmanın, biyofilm oluşum sürecini oluşturan bu biyolojik dönemi, fizyolojik kapasitelerine bağlı olmaksızın gerçekleştirebildikleri bilinmektedir. Yakın zamanda bakteri yüzeyi ile ilgili yapılan çalışmalar, bakterilerin koloni ve biyofilm oluşturma eğilimleri hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlamıştır. Biyofilm tabakası oluşturulan bir yüzeye, çeşitli bakteri mutantlarının ekilmesi sonucu, bazı bakteri gruplarının biyofilm oluşturmamadıkları gözlenmiştir. Yapılan mikroskobik çalışmalar ile bakteri gruplarının ilk tutunma işlemini gerçekleştirebildiklerini fakat gelişim aşamasında başarısız oldukları gözlenmiştir. Bu gözlem, biyofilm oluşum aşamasının birçok basamaktan oluştuğu hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlamıştır. Fakat bakteri yüzey özellikleri ile ilgili edinilen bilgiler, bu süreci tam olarak açıklamaya yetmez. Bakteriler heterojen bir yüzeye sahip oldukları ve çevre koşullarından etkilenecek önemli ölçüde değişim gösterebildikleri bilinmektedir [23].



Şekil 4.3: Biofilm Oluşum Aşamaları; Oluşumun Başlaması, Olgunlaşma, Yapının Sürdürülebilirliğini Sağlaması ve Çözünme Aşamaları [12,46,52,]

5. KOROZYON

Kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyonlar sonucu malzemelerde meydana gelen bozunmalar korozyon olarak adlandırılmaktadır. Metal malzemelerde meydana gelen korozyon oluşumu “paslanma” olarak bilinmektedir, fakat bu terim sadece demir ve alaşımları için kullanılmaktadır. Demir dışı alaşımlarda ortaya çıkan korozyon oluşumu ise metal oksitlerinin oluşumu olarak bilinmektedir [53].

5.1 Elektrokimyasal Korozyon

Korozyon oluşumu temel olarak elektrokimyasal bir süreçtir. Bu sonuca ilk olarak Whitney tarafından ulaşılmıştır [53].

Metallerin korozyonuna kimyasal ve elektrokimyasal olaylar sebep olur. Dolayısıyla metaller içinde buldukları ortamın etkisi veya ortamdaki maddelerin reaksiyonları nedeniyle korozyona uğrarlar [54].

Nerst teorisine göre bir elektrolite daldırılmış bir metalde meydana gelen korozyonun başlıca nedenleri:

- i. Metal yüzeyinin heterojenliği
- ii. Elektrolitin heterojenliği
- iii. Farklı metallerin teması
- iv. Yabancı bir elektrik kaynağının etkisi
- v. Biyokimyasal aksiyon olarak sıralanmaktadır.

Tüm bu korozyon oluşumlarında, anod veya katotların oluşmasıyla elektrik akımı gerçekleşmektedir. Metalde meydana gelen bozunmalar anodik kısımlarda olmaktadır [54].

Metallerin buldukları çevre koşullarında çözünüp çözünmeyecekleri serbest enerji değişimi ile belirlenir. Sabit basınç ve sabit sıcaklık altında serbest enerji değişim:

$$\Delta G = -nF\epsilon \quad (5.1)$$

denklemleri ile ifade edilir.

n: korozyon hücresinden geçen gram elektronların sayısını,

F: 1 gram elektron yükünü (Faraday sabitesi=96.494 Kulon),

ϵ : korozyon hücresinin elektromotor kuvvetini (emk) gösterir.

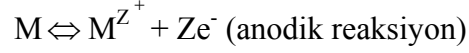
Serbest enerji değişimi (ΔG), ϵ potansiyel farkı ile çalışan bir hücrenin n gram elektronun iletimi esnasında yaptığı iş olarak tanımlanır.

Serbest enerji değişimi reaksiyon eğiliminin ölçüsüdür. Reaksiyonun oluşabilmesi için ΔG değerinin negatif (ϵ değerinin pozitif) olması gerekir. Buna göre korozyon eğilimi ϵ 'nin pozitif değeri ile artacaktır [55].

Metallerin buldukları ortamda korozyona uğrayıp uğramayacakları korozyon hücresinin elektromotor kuvveti (korozyon eğilimi) ile belirlenir. Standart elektrot potansiyeli, korozyon eğiliminin belirlenmesinde önemli verilerden biridir. Elektrot potansiyelleri, potansiyel değerine herhangi bir değer verilebilecek karşılaştırma elektroduna karşı ölçülmektedir. Hidrojen reaksiyonunun ($H_2 \leftrightarrow 2H^+ + 2e^-$) potansiyeli, uluslararası standart potansiyeli olarak kabul edilmektedir ve değeri sıfırdır. Elektrokimyasal gerilim dizisi, elektrot olaylarını en aktiften başlayarak en soy olana doğru sıralar. Bu şekilde elektrot olaylarını elektrokimyasal bakımdan birbirleriyle karşılaştırma olanağı ortaya çıkar. İlke olarak elektrokimyasal gerilim dizisinde hidrojen üzerinde yer alan metallerin hidrojen reaksiyonu, oksijenle hidrojen arasında kalan metallerin ise yalnız oksijen reaksiyonu ile çözümleri gerekiyor [55].

Elektrokimyasal gerilim dizisinde yer alan bazı metallerin korozyona dayanıklı olmaları ise çok gerilere giden ilginç bir gözlemdir. Krom, nikel, alüminyum, magnezyum ve demir bu davranışı gösteren başlıca metalleri oluşturmaktadırlar. Bu tür metallerin üst yüzeylerinde koruyucu bir örtü oluşturmaları, bu metallerin yüksek korozyon eğilimine karşın çok yavaş çözümlerini sağlamaktadır. Bu tutum pasifleşme olarak adlandırılmaktadır [55].

Genel olarak bir metal su ortamına girdiği zaman, metal atomları negatif yük kaybederek pozitif yüklü metal iyonlarına dönüşür [53,55]. Yüksek enerjiye sahip metal iyonları belirli sayıda su molekülü ile bağ kurarak alçak enerji durumuna geçerler ve kararlılık kazanırlar [55].



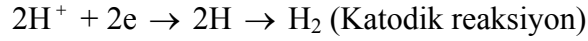
Anodik reaksiyon sonucu ortamda oluşan elektronların ortamdaki uzaklaştırılmaması durumunda veya işlem yeterli hızda gerçekleşmediği halde, anodik olayın tamamen durması ve ya yavaşlaması gerekir [55].

Anodik reaksiyon sonucu oluşan elektronlar iki temel reaksiyon ile ortamdaki uzaklaştırılır [53,56,57].

Nötr ve alkali çözeltilerde:



Asidik çözeltilerde:



İndirgenen iyon ve moleküllerin konsantrasyonu ile bu iyonların katoda ulaşım hızları, katodik olayın hızını belirleyen faktörlerdir [55].

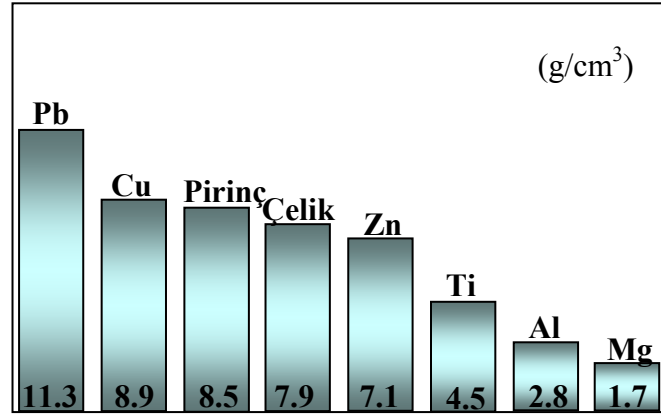
Korozyon hücresinde anodik ve katodik alanların oluşum nedeni, kaynakların farklı elektrokimyasal davranışta bulunmasıdır. Bu farklılaşmayı ortaya çıkaran etmenler iç ve dış etmenler olarak ikiye ayrılmaktadır. İç etmenler çözünen metalin cinsi ve iç yapısı ile ilgilidir. Çok kristalli malzemelerde tane sınırları, tane içlerine göre farklı elektrokimyasal özellik gösterir. Bileşim ve yapı yönünden tane içlerinden farklı olan tane sınırları daha yüksek enerji seviyesine sahiptir. Tane içleri ile tane sınırları arasında kurularak faaliyete geçen korozyon hücresinde tane sınırları anodik tutum kazanarak çözümlenir ve tane sınırları korozyonu ortaya çıkar. Dış etmenler ise çevre ve ortamla ilgili olan etkilere sahiptir. Sıcaklık ve konsantrasyon farkları ile malzeme yüzeylerini örten korozyon ürünlerinin hava ile temas halinde olması, yüzeyde farklı alanlar oluşturarak farklı elektrokimyasal tutumlar için gerekli koşulları hazırlamaktadırlar [55].

6. MAGNEZYUM ALAŞIMLARI VE KOROZYON DAVRANIŞI

6.1 Magnezyum Alaşimleri

6.1.1 Magnezyum alaşımlarının uygulama alanları

Dünya yüzeyinde mineral tortuları ve denizde çözelti şeklinde büyük alanlara yayılmış olan magnezyum [58], dünyada en fazla bulunan altıncı metal ve sekizinci elementtir. 1.74 g/cm^3 özkütle değeri ile en hafif metallere biri olan magnezyum, bu özelliği ile geniş kullanım alanlarına sahiptir [58,59]. Şekil 6.1’ de bazı metallerin özkütlelerinin magnezyumun özkütlesi ile kıyaslanması yapılmıştır. Özellikle, magnezyum alaşımlarının birim ağırlık başına yüksek mukavemeti ulaşım, havacılık gibi hafif ağırlık gereken uygulamalar için en ilgi çekici özelliğidir.



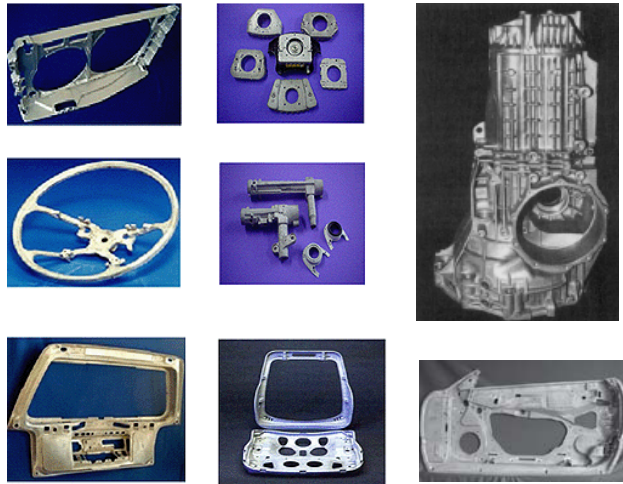
Şekil 6.1: Bazı Metallerin Özkütlelerinin Magnezyumun Özkütlesi İle Kıyaslanması [60]

Birim ağırlık başına düşen yüksek mukavemet değerleri ile magnezyum alaşımları havacılık ve taşımacılık sanayileri için önem taşımaktadır. Son 40 yılda bu sanayiler magnezyum alaşımının gelişmesine katkıda bulunmuştur. Örneğin toryum içeren magnezyum alaşımları roket ve uzay mekiği uygulamalarında yer bulabilmiştir. Yeni geliştirilen sürünme dayanımlı ve sünek dökme magnezyum alaşımları otomotiv endüstrisi için alüminyum alaşımlarına alternatif olabilecek konumdadır [58].

Magnezyum genelde döküm alaşımları olarak havacılık, uzay ve taşımacılık sanayilerinde ve levha alaşımları olarak bazı özel uygulamalarda kullanılmaktadır.

Bu mühendislik uygulamalarında magnezyum büyük çoğunlukla alaşım formundadır. Magnezyumun yapısal olmayan uygulamalarda da ileriki yıllarda giderek artan uygulama alanı bulması düşünülmektedir. Magnezyum kalıp döküm alaşımları bilgisayar disklerinde ve manyetik kart okuyucularında yakın zamanda kullanılmıştır [58].

Magnezyum döküm alaşımlarının otomotiv sanayiindeki bazı kullanım yerleri; dört çekişli tekerlek kutusu, transmisyon kutusu, direksiyon çubuğu kilidi kutusu, direksiyon çubuğu, direksiyon, Airbag kutusu, diz dayama paneli, silindir kapağı, silecek motor kutusu, emme manifoldları, silindir kafaları, motor gövdesi, fren papuçları, pedallar, ön panel krişleri, kapı çerçeveleri, koltuk çerçeveleri, açılır tavan çerçeveleri ve tekerleklerdir [61]. Magnezyum döküm alaşımlarından üretilmiş bazı otomobil parçaları Şekil 6.2’de gösterilmiştir.



Şekil 6.2: Otomobillerde Kullanılan Bazı Magnezyum Alaşımları Döküm Parçaları [60]

Magnezyumun otomotiv endüstrisi ile en önemli tanışması Volkswagen için tercih edilmesidir. VW Beetle arabası magnezyumun bilinen ilk en büyük seri üretim şeklinde uygulamasıdır. Hava soğutmalı motoru da dâhil olmak üzere bu araba, toplamda 17 kg’lık magnezyum alaşımlarına sahiptir. Magnezyum döküm ve yoğurma alaşımları daha sonraları lüks ve spor arabalarda, yarış arabalarında ve motosikletlerde sıklıkla kullanılmıştır. 1990’lardan sonra tekrar seri üretim şeklinde otomotiv sanayisinde kullanılmaya çalışılmaktadır.

Otomotiv sanayisinde en çok kullanılan magnezyum alaşımları Mg-Al-Zn alaşımları olan AZ31 ve AZ61’dir.

Magnezyum ve magnezyum alaşımlarının gelecekte hafif, çözünebilir ve yük taşıma kabiliyeti olan ortopedik implantlar olarak kullanılması öngörülmektedir. Magnezyum, çok düşük toksik özelliği nedeniyle biyouyumlu bir metaldir [62] ve magnezyumun vücuttaki reaksiyonu, hızlı korozyona uğraması nedeniyle çözünme şeklinde olup çevresindeki doku, magnezyum implantın yerini almaktadır [63-65]. Geleneksel metalik biyomalzemelerden üretilmiş implantlar, doku iyileştikten sonra ikinci bir cerrahi müdahale ile vücuttan alınmalıdır. Tekrarlanan operasyonlar ise, hastanın sağlığını ve yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Magnezyumdan üretilmiş implantların ise, kemiğin iyileşme süreci tamamlandığında vücuttan çıkarılması gerekmemektedir [64-66]. Buna ek olarak, magnezyumun biyomalzeme olarak belki de en çarpıcı özelliği kemik dokusundaki hidroksiapatit kristallerinde kalsiyumun yerine geçebilmesi ve böylelikle kemik büyümesine yardımcı olmasıdır [65]. Magnezyumun implant malzeme olarak kullanılmasındaki en önemli avantajlarından biri de magnezyumun elastisite modülünün, günümüzde kullanılan metalik biyomalzemelerle kıyaslandığında kemiğin elastisite modülüne daha yakın olmasıdır.

6.1.2 Fiziksel özellikler

Hegzagonal kristal yapısına sahip olan magnezyum, $a = 0.320$ nm, $c = 0.520$ nm, $c/a = 1.624$ kenar uzunluklarına sahiptir. Atomik çapının 0.320 nm olması magnezyumun, alüminyum (Al), çinko (Zn), seryum (Ce), itriyum (Y), gümüş (Ag), zirkonyum (Zr) ve toryum (Th) gibi çözelti elementleri ile alaşım yapılabilmesini sağlamaktadır [58,67,68].

Magnezyum alaşımları yüksek dirençlilik/ağırlık oranı, iyi dökülebilirlik ve yüksek sönümlenme kapasitesine sahiptir. Magnezyum döküm alaşımları alüminyum alaşımları iyi kıyaslandığında daha yüksek mukavemet/ağırlık oranları verirler. Magnezyum ve magnezyum alaşımları manyetik değildir, yüksek termal ve elektrik iletkenlikleri vardır ve iyi vibrasyon ve şok emme kabiliyetleri vardır. Magnezyum toksik tehlike vermez ve çeşitli metotlarla şekillendirilebilir veya işlenebilir.

6.1.3 Magnezyum alaşım ürünleri

Magnezyum alaşımları döküm ve yoğrulmuş alaşımlar şeklinde gruplandırılabilir [59,68]. Döküm alaşımları yıllık magnezyum üretiminin yaklaşık $85-90\%$ ' ine sahiptir ve dövme alaşımlarına göre daha geniş kullanım alanlarına sahiptir. Ticari olarak

kullanılan ilk alaşım elementleri olan alüminyum, magnezyum, çinko, günümüzde de en geniş kullanım alanlarına sahip olan Mg-Al-Zn döküm alaşımlarını oluşturmaktadır. İlk üretilen dövme alaşımı olan Mg-1.5%Mn alaşımı ise levha, ekstrüzyon ve dövme mamulleri şeklinde elde edilmiştir [68].

Magnezyum dövme alaşımları hadde ürünleri (plaka, levha ve folyo), ekstrüzyon (çubuk, boru ve profil) ve dövme mamullerdir. Dövme alaşımları döküm alaşımlarına göre daha iyi mekanik özellikler göstermektedir. Dayançları ve süneklikleri döküm alaşımlarına göre hatta rakip malzemelere göre daha yüksektir. Yüksek eğme dayancı ve bükülmezlik gerektiren kapı, kaput ve bagaj kapağı gibi geniş dış panel saclarında magnezyum alaşımlarının kullanımı çeliğe göre %50, alüminyuma göre %20 ağırlık kazancı sağlamaktadır.

Magnezyum döküm alaşımları zirkonyum içeren ve içermeyen alaşımlar olmak üzere genel olarak ikiye ayrılırlar. Zr içermeyen magnezyum alaşımları Mg-Al alaşımları (AZ91, AZ63, AZ88, AM60, AM50, AM20, AS41, AS21, AE42) ve Mg-Zn-Cu alaşımlarıdır (ZC63, ZCM630). Zr içeren magnezyum alaşımları ise Mg-Zn-Zr alaşımları (ZK51, ZK61); Mg-RE-Zn-Zr alaşımları (ZE41, EZ33, ZE63, ZE62, ZRE1), Mg-Th alaşımları (HK31, HK32, ZH62A, HZ32A); Mg-Ag-RE alaşımları (QE22, QH21) ve Mg-Y-(Nd) alaşımlarıdır (WE54, WE43, YEK631).

Magnezyum dövme alaşımları hadde ürünleri (plaka, levha ve folyo), ekstrüzyon (çubuk, boru ve profil) ve dövme mamulleri olarak üç sınıfa ayrılır. Magnezyum levha ve plaka alaşımları: AZ31, M1A, ZK31, ZM21, ZE10, LA141, HK31, HM21, ZTY; magnezyum ekstrüzyon alaşımları: AZ81, AZ61, Magnox (Mg-0.8Al-0.005Be), ZK61, ZK21, ZM21, ZM61, ZCM711, HK31, HM31; ve magnezyum dövme alaşımları: AZ80, ZK60 ve HM21'dir. (A:alüminyum, B:bizmut, C:bakır, D:kadmiyum, E:nadir toprak, H:toryum, K:zirkonyum, M:manganez, Q:gümüş, S:silisyum, W:itriyum, Z:çinko, Y:antimon, F:demir, L:lityum, N:nikel, P:kurşun, R:krom, T:kalay, X: kalsiyum, J: stronsiyum elementlerini simgelemektedir; rakamlar elementlerin sırasıyla ağırlık yüzdesini vermektedir.)

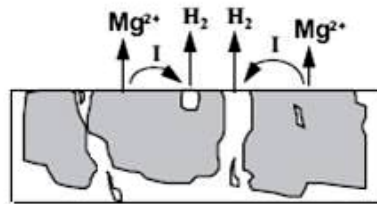
Dövme alaşımları döküm alaşımlarına göre daha iyi mekanik özellikler göstermektedir. Dayançları ve süneklikleri döküm alaşımlarına göre hatta rakip malzemelere göre daha yüksektir. Yüksek eğme dayancı ve bükülmezlik gerektiren kapı, kaput ve bagaj kapağı gibi geniş dış panel saclarında magnezyum alaşımlarının kullanımı çeliğe göre %50, alüminyuma göre %20 ağırlık kazancı sağlamaktadır.

Otomotiv sanayisinde en çok kullanılan magnezyum alaşımları Mg-Al-Zn alaşımları olan AZ31 ve AZ61'dir.

6.2 Magnezyum ve Magnezyum Alaşımlarının Korozyon Davranışı

Magnezyum düşük yoğunluk, iyi dökülebilirlik- işlenebilirlik ve dünyada en çok bulunan 6. metal olma özellikleriyle birçok mühendislik uygulamalarında yer almaktadır. Fakat düşük korozyon direnci, magnezyum ve alaşımlarının kullanımı sırasında bazı kısıtlamalar getirmektedir. Özellikle klorür içeren ortamlarda ve yapısında metalik empüriteler içeren magnezyum ve alaşımları, çok düşük korozyon direncine sahiptirler [58,68]. Magnezyum alaşımlarının korozyon direncini etkileyen birinci faktör magnezyum atomunun reaktif davranışı olarak görülürse ikinci husus içerdiği empüriteler (safsızlıklar) olarak belirtilmelidir. Bunlar arasında birincil derecede öneme sahip olanlar demir, bakır ve nikeldir. Bakır ve nikel açısından döküm amaçlı son ergitme işleminde müdahale yapılamasa da demir elementinin mangan ile metaller arası bileşik olarak bağlanması ve korozyon açısından zararsız halde yapıya hapsedilmesi söz konusu olabilmektedir [67].

Magnezyum ve alaşımlarının düşük korozyon direncine sahip olmaları iki temel nedene dayanmaktadır. Empüritelerin ve ikinci fazların neden olduğu mikro-galvanik korozyon, ilk oluşum mekanizmasını oluşturmaktadır (Şekil 6.3) [58]. Alüminyum ve paslanmaz çelik yüzeylerinde oluşan kararlı pasif tabaka yerine metal yüzeyinde daha kararsız yarı pasif hidroksit filmin oluşması ise, magnezyum ve alaşımlarının düşük korozyon direncine sahip olmalarının ikinci mekanizmasını teşkil eder [43,58].



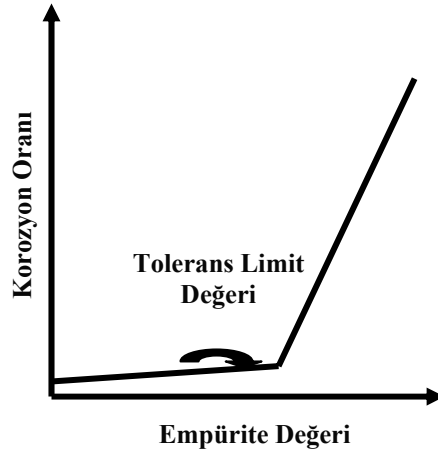
Şekil 6.3: Mikro-Galvanik Korozyon [58]

6.2.1 Empürite elementleri ve tolerans limitleri

Tuzlu su ortamında ikili magnezyum alaşımları ile yapılan deneysel çalışmalar, 14 elementin korozyon oluşumunda etkili olduğunu göstermiştir. Fe, Ni, Co ve Cu elementleri %0.2 ve daha düşük konsantrasyon değerlerinde korozyonu tetikleyici etkiye sahipken, Ag, Ca ve Zn elementleri ancak 0.5-5% konsantrasyon değerlerinde

etkili olabilmektedirler. Al, Sn, Cd, Mn, Si ve Na gibi elementler ise %5 konsantrasyon değerine kadar hiçbir etkiye sahip değillerdir [58].

Yapılan diğer çalışmalar ise metallerin korozyon davranışındaki en önemli faktörün metal saflığı olduğunu belirtmişlerdir. Malzeme yapısında yer alan katodik demir, nikel ve bakır empüriteleri, anodik magnezyum matris içerisinde malzemenin korozyona maruz kalmasına neden olmaktadır. Yüksek saflıktaki malzemelerde korozyona neden olan empürite miktarları kritik bir değer altında tutularak kontrol edilmektedir, bu nedenle tuz oranı yüksek ortamlarda yüksek saflıktaki malzemeler, saf malzemelere göre daha yüksek korozyon direncine sahiptirler [58,67-70]. Saf magnezyumda empürite limit değerleri nikel için 5 ppm, demir için 170 ppm ve bakır için 1300 ppm'dir [67]. Farklı alaşım grupları farklı tolerans limitlerine sahiptir ve bu değerler alaşımda yer alan üçüncü bir element ile değiştirilebilir. Şekil 6.4' de görüldüğü üzere her bir element için tolerans sınırlar belirlenmiştir. Empürite değeri, belirlenen bu tolerans değerini geçtiği zaman korozyon oluşumu hızla artmaktadır [71].

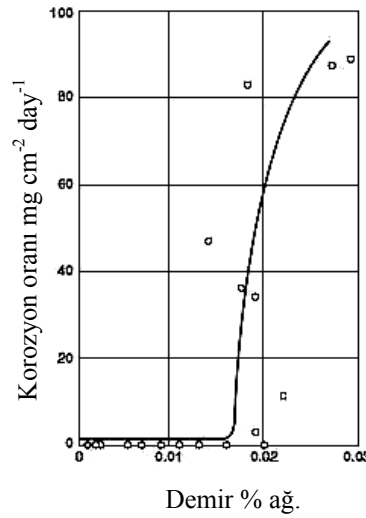


Şekil 6.4: Her Bir Element İçin Tolerans Sınırlar [71]

Düşük katı çözünürlük değerlerine sahip olmalarından dolayı metal matriste katodik alanlar oluşturan demir, nikel ve bakır elementleri, korozyon oluşumunda önemli etkiye sahiptirler. Aynı konsantrasyon değerlerinde nikel en zararlı etkiye sahipken, en az etkiyi bakır yaratır [58]. Bu elementlerin konsantrasyon değerleri çözünürlük limitlerinin altında tutularak ve mangan, çinko gibi alaşımlandırma elementlerinin kullanımı ile magnezyum korozyon direnci artırılmaktadır [72].

Düşük tolerans değerine sahip olan nikel elementi, magnezyum ve magnezyum alaşımlarında korozyon oluşumu sırasında en zararlı etkiye sahiptir. Düşük katı çözünlülüğü özelliğine sahip olması nedeniyle ayrı bir faz şeklinde alaşım içinde yer almaktadır. Tolerans sınırı mangan ve diğer alaşım elementlerine bağlı değilken, alaşım döküm yöntemi nikel elementinin tolerans sınırını etkileyen önemli bir faktördür [58]. Yavaş katılaşma nedeni ile kum ve sürekli kalıp dökümlerde nikel tolerans değeri, yüksek basınçlı döküme göre daha düşüktür.

Genellikle çelik ergitme potalarından gelen demir kirliliği de, tolerans limit değerini aştığı zaman korozyon oluşumunda önemli etki yaratmaktadır. Magnezyum matrisi ile matris içerisine saçılmış olan demir partikülleri galvanik bir bağlantı oluşturarak metalde korozyon oluşumlarına neden olmaktadır. Magnezyum döküm alaşımlarında genellikle Al-Fe bileşeni şeklinde çökelti oluşturan demir, katot görevi üstlenir ve alüminyum konsantrasyonu arttıkça tolerans değeri azalmaktadır. Oluşan Al_3Fe fazının demir partiküllerine göre daha aktif olması bu durumu açıklamaktadır [58]. Şekil 6.5’ de demir elementi kompozisyonunun, saf magnezyum metalinde korozyon oluşumuna etkisi gösterilmektedir [67].



Şekil 6.5: Demir Elementi Kompozisyonunun, Saf Magnezyum Metalinde Korozyon Oluşumuna Etkisi [67, 72]

Basınçlı döküm alaşımlarında akma dayanımını artırıcı etkiye sahip olan bakır elementi ise, tuzlu su ortamında meydana gelen korozyon oluşumunu tetikleyici etkiye sahiptir. Bakır elementinin tolerans değeri 300 ppm olarak tanımlanmaktadır, fakat bu değer, çinko içeriğinin tanımlanan minimum değerinden daha yüksek olması durumunda daha yüksek değerlere taşınabilmektedir [58].

Islak ve nemli ortamlarda yüksek korozyon oluşumu gözlenen Mg-Al-Zn döküm alaşımlarının korozyon direnci, mangan elementinin korozyon direncini artırıcı etkisinin keşfedilmesi (1925) ve alaşım kompozisyonuna eklenmesiyle artırılmıştır. Mangan elementi, demir ve diğer ağır metal empüriteleri uzaklaştırma özelliğine sahiptir [67,68]. Ergime sırasında demir ile intermetalik bir bileşik oluşturan mangan, bu şekilde alaşım kompozisyonundaki demir oranını düşürmektedir. Diğer bir etkisi ise, katılma sırasında metalde kalan demir partiküllerini çevreleyerek daha zararsız katot haline getirmektedir. Mangan-magnezyum elementleri arasındaki galvanik aktiflik, demir-magnezyum elementlerine göre daha azdır [58].

6.2.2 Alaşım elementlerinin ve faz oluşumunun korozyon oluşumuna etkisi

6.2.2.1 Alaşım elementlerinin etkisi

Tuzlu su ortamında yüksek korozyon direncine sahip olan zirkonyum alaşımları, demir ve nikel gibi elementlere karşı duyarsızdır. Magnezyumun zirkonyum ile alaşımlandırılması sonucu, demir elementleri zirkonyum ile çözünmeyen partiküller oluşturarak döküm öncesi çökelti oluştururlar [58].

Alüminyum kısmen katı çözelti oluşturarak ve kısmen $Mg_{17}Al_{12}$ formunda çökelti oluşturarak tane sınırları boyunca yapı içinde yer almaktadır. Genel olarak magnezyumun alüminyum ile alaşımlandırılması sonucu korozyon direnci artmaktadır. Yapılan çalışmalar, alüminyum kompozisyonun ağırlık % 4'e kadar artırılması sonucu korozyon oluşumunda ciddi azalma olduğunu, fakat ağırlık % 9'a kadar alaşıma eklenmesi durumunda etkisinin az olduğunu göstermiştir. Alüminyum elementinin korozyon direncine olan etkisi temel olarak β fazının çökelti oluşturarak korozyon oluşumuna karşı bir bariyer görevi görmesinden kaynaklanmaktadır. Diğer bir etkisi ise, alüminyumun yüzeyde oluşan hidroksit tabakasının kompozisyonunu değiştirerek yüzeyde korozyon oluşumuna karşı daha kararlı ve alüminyumca zengin bir yapı oluşturmasıdır. Fakat yapılan çalışmalar ile, alüminyumun demir elementinin tolerans değerini düşürerek korozyon oluşumunu negatif yönde etkilediği belirlenmiştir [58].

İkili ve üçlü magnezyum alaşım sistemlerinde korozyon direnci üzerinde önemli etkiye sahip olan çinko, empürite tolerans limitini artırmakta ve korozyon oluşumu üzerindeki etkilerini azaltmaktadır. Saf magnezyuma ağırlık % 1 oranında çinko ilave edilmesi, nikel tolerans değerini artırmaktadır, fakat aynı oranda mangan ile

karşılaştırıldığında daha az etkiye sahip olduğu görülmektedir. Mg-Al alaşımlarında Fe, Ni, Cu elementlerinin tolerans limitleri üzerinde etkisi olduğu bilinmektedir, fakat çinko elementinin alaşım içindeki oranı ağı. 1–3 % oranında sınırlı kalmaktadır [58]. Çinko elementinin ağı. %3 değerinin üstünde olması, yapıda büzülme boşluklarının oluşumuna neden olarak metalde korozyon oluşumunu tetiklemektedir [72]. Mg-Al-Mn ve Mg-Al-Mn-Ni alaşımlarında ağı. %3' e kadar korozyon oluşumunu azaltıcı etkiye sahipken, AZ alaşımlarında çinko konsantrasyonundaki artış filiform korozyon oluşumunu artırmaktadır [58].

6.2.2.2 Faz oluşumunun etkisi

Yüksek alüminyum içeren AZ91 alaşımları, tane sınırları boyunca çökelti oluşturan $Mg_{17}Al_{12}$ fazının yapıda bulunması ile yüksek korozyon direncine sahiptirler [58]. Genellikle tane sınırları boyunca sürekli bir yapıya sahip olan β fazı, korozyon oluşumu sırasında bariyer görevi görerek korozyonun yapı içinde ilerlemesini engellemektedir. Bu nedenle, $Mg_{17}Al_{12}$ fazının yapı içindeki dağılımı, Mg-Al alaşımlarının korozyon dirençlerini belirlemektedir. Fakat bazı durumlarda β fazı tane sınırlarında sürekli olmayan bir yapı oluşturmaktadır, bu durum β fazının korozyon oluşumunu tamamen engelleyememelerine neden olmaktadır [73].

Diğer bir yandan, $Mg_{17}Al_{12}$ fazının magnezyum korozyon direncini olumsuz yönde etkilediği de bilinmektedir. Yapılan çalışmalar ile $Mg_{17}Al_{12}$ fazının yapıda olmaması durumunda galvanik etkinin ortadan kalktığı ve korozyon direncinin arttığı gözlenmiştir. Mg-Al alaşımlarında magnezyum matris ve $Mg_{17}Al_{12}$ çökeltisi arasındaki galvanik etkileşimden dolayı korozyon oluşumu gerçekleşmektedir, fakat bu konuda yapılan çalışmalar yetersiz kalmaktadır [58].

Mg-Al alaşımlarında demir elementince zengin çökelti fazları diğer güçlü katotları oluşturmaktadır. Genellikle demir-alüminyumun elementlerinin oluşturduğu FeAl intermetalik bileşeni olan bu yapılar, korozyon direncini olumsuz etkilemektedirler. Yapı içinde oluşan diğer fazlardan biri olan AlMn korozyon direnci üzerinde olumsuz etki oluştururken, Mg_2Si fazının etkisi yoktur. Mg_2Pb fazı ise metal yüzeyinde çukurcuk oluşumunu tetiklemektedir [58].

6.2.3 Ortam koşullarının korozyon oluşumuna etkisi

Atmosferik koşullarda magnezyumunun üzerinde magnezyum-karbonat ve sülfat gibi başka bir takım bileşiklerden oluşan bir koruyucu tabaka oluşur. Bu tabakaların oluşumu atmosferik koşullara bağlıdır. Bu tabaka normal atmosferik koşullarda korozif etkilere karşı oldukça iyi bir koruma sağlar. Rutubetli, tuz içeren atmosferlerde ve korozif endüstriyel ortamlarda oluşan gri ve poröz oksit filmi çok düşük koruyucu etkiye sahiptir [61].

Magnezyum alkali ortamlarda yüksek korozyon direncine sahiptir. Yüzeyde oluşan $Mg(OH)_2$ yapısı, korozyon oluşumunu engelleyen bir tabaka görevi görmektedir [58].

Saf su ve slika, florür, fosfat ve bikromat çözeltilerinde korozyon önemli bir etkiye sahip değildir [61]. Florür iyonu, magnezyum ve alaşımları için iyi bir korozyon önleyicidir. Nötr ve alkali çözeltilerde, yüzeyde MgF_2 tabakası oluşturularak, metal yüzeyinde korozyon oluşumunu engellemektedir. Magnezyum florürün, hidrofilik asit çözeltilisine karşı dayanımının güçlü olması ise, magnezyumun bu asit çözeltilisinde çözülmesini önlemektedir [58].

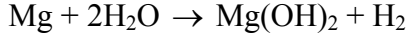
Kromik asit ve florik asit gibi mineral asitler magnezyum için çok tehlikelidir. Cl^- , Br^- , NO_3^- ve SO_4^{2-} iyonlarının bulunduğu çözeltiler de magnezyum için çok kuvvetli korozif ortamları oluşturmaktadırlar [61]. Klorür iyonları, magnezyum yüzeyinde oluşan koruyucu tabakayı bozarak metalde bölgesel korozyon oluşumuna neden olmaktadır [58].

Magnezyum sülfat, seyreltik sülfürik asit içerisinde kolayca çözünür ve yüzeyde koruyucu bir tabaka oluşturamaması nedeniyle bu işlem hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir. Fakat konsantrasyonu yüksek sülfürik asit içerisinde magnezyum sülfat çözünme oranı daha azdır. Bu nedenle, magnezyum kuvvetli bir sülfürik asit içine daldırıldığında, magnezyum sülfat yüzeyde bir tabaka oluşturularak metalin daha düşük oranlarda çözünmesini sağlamaktadır [58].

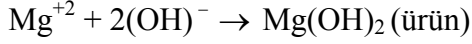
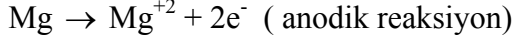
6.3 Korozyon Mekanizması

Sulu ortamlarda elektrokimyasal olarak çözünen magnezyumun su ile reaksiyonu sonucu, ortamda hidrojen gazı ve magnezyum hidroksit oluşumu gerçekleşmektedir [58,68].

Genel korozyon reaksiyonu:

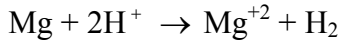


Anodik ve katodik reaksiyonlar:



Elektrokimyasal standart potansiyel değeri 25⁰C' de -2.37 V olan magnezyum, çok aktif bir metaldir. Yüzeylerinde koruyucu bir tabaka oluşturmalarını sağlayan bu özellik, metal yüzeyinin bulunduğu ortamdaki sıvı ile temasını engelleyerek koruyucu bir tabaka görevi görür ve magnezyumun yüksek korozyon eğilimine rağmen buldukları ortamda çok yavaş çözümlerini sağlar [58,59,68]. Yüzeyde oluşan bu koruyucu Mg(OH)₂ ve MgO film tabakaları, teorik standart potansiyel ve gerçek potansiyel değerleri arasında fark oluşmasına neden olur. Düşük klorür içeren ortamlarda magnezyum metalinin gerçek potansiyel değeri -1.7 V'dir [58].

Magnezyum, yüksek pH değerlerinde yüzeyinde magnezyum hidroksit film tabakasını oluşturur. Oluşan bu tabaka alkali ortamda kararlı bir yapıya sahiptir, fakat klorür, sülfür ve karbonat iyonları içeren bir ortamda parçalanarak magnezyum metalinin iyonlarına ayrışmasına neden olur [69].



Yüzeyde korozyon oluşumuna karşı bir bariyer görevi gören film tabakası, elektrot gerilimine ve ortam pH değerine göre farklılık göstererek MgO veya Mg(OH)₂ oluşumu gözlenmektedir [58]. pH değeri 8.5-11.5 aralığında olan ortamlarda, yüzeyde koruyucu oksit veya hidroksit filmi oluşmaktadır. pH değerinin 11.5'ten büyük olduğu ortamlarda ise Mg(OH)₂ koruyucu tabakası oluşmaktadır. Potansiyel-pH diyagramı, magnezyum hidroksit filmin termodinamik kararlılığa sahip olduğu bölgeleri göstermektedir (Şekil 6.6).

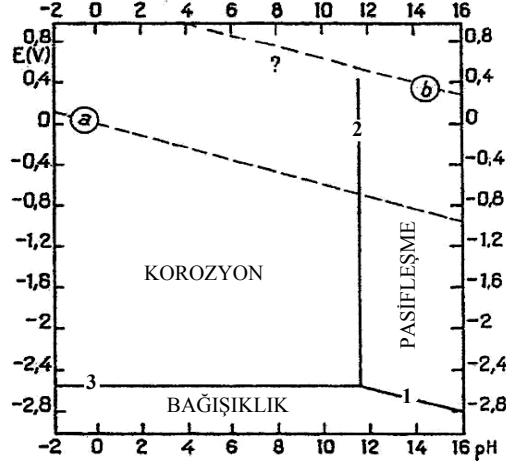
pH-Potansiyel diyagramında komşu alanları birbirinden ayıran sınırlar, kimyasal ve elektrokimyasal sınırları tanımlar [55].

Potansiel-Ph diyagramlarında her iki eksene paralel olmayan sınırlar (1 ve 2 nolu),

H⁺ ve OH⁻ iyonlarına yer veren dengelerle ilgilidir [55]:

1 No' lu eksen: $Mg + H_2O \rightarrow Mg(OH)_2$

2 No' lu eksen: $Mg^+ + H_2O \rightarrow MgO + 2H^+$



Şekil.6.6: Mg-H₂O Sistemi için 25⁰ C' de Potansiel-pH Diyagramı [55]

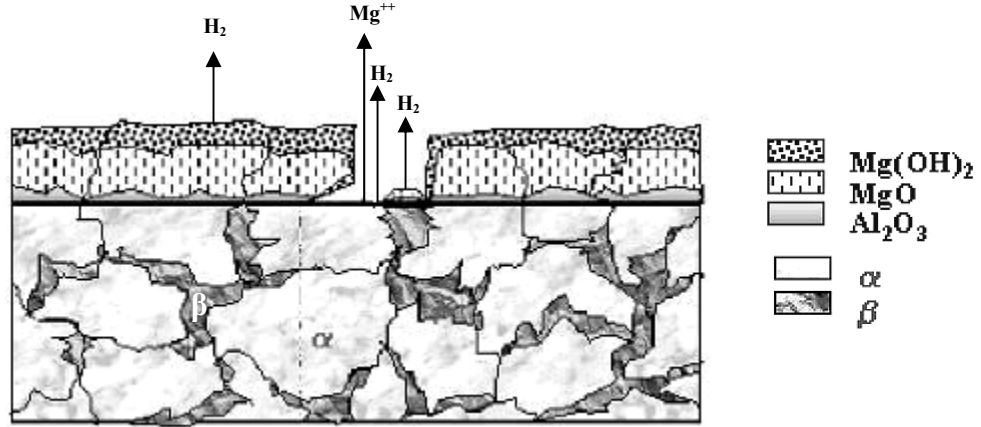
pH eksenine paralel sınır (3 nolu), H⁺ ve OH⁻ iyonlarına yer vermeyen denge ile ilgilidir [55]:

3 No' lu eksen: $Mg \rightarrow Mg^{+2} + 2e^-$

Al, Mn ve Zn elementlerini içeren magnezyum alaşım yüzeylerinde yapılan analizler, oluşan film tabakasının ikincil bileşenlerce zengin olduğunu göstermiştir. Yüzey analizleri ile metalin hava ile teması sonucu oluşan oksit yapısının tabaka şeklinde MgO / Mg-Al-oksitten oluştuğu ve magnezyumca zengin oksit tabakasının alüminyum içeriğinin artmasına bağlı olarak daha ince bir yapıya dönüştüğü saptanmıştır. Alüminyum daha karalı oksit tabakası oluşturma eğilimindedir [58].

Song ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, AZ91 magnezyum alaşımında α ve β fazlarının korozyon davranışlarını incelemiştir [46,58]. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, α fazının yüzeyinde üç tabaka oluşumu gerçekleştirdiğini belirtmişlerdir: Al₂O₃ bileşeninin zengin olduğu iç tabaka, MgO içeren orta tabaka ve Mg(OH)₂ içeren dış tabaka şeklinde sıralanmaktadır. β fazındaki oluşum ise farklılık göstermektedir (Şekil 6.7) [58]. İç ve dış tabakalarda alüminyum konsantrasyonu α fazına göre çok daha yüksektir. β fazının yüzeyinde oluşan pasif film geniş pH aralığında daha kararlı bir yapıya sahiptir. Genel olarak bölgesel ve genel korozyon oluşumu gözlenen magnezyum ve alaşımlarında, alaşım kompozisyonu ve çevresel koşullar korozyon morfolojisini etkileyen faktörlerdir. Turnold ve arkadaşları, ticari

saf magnezyumlarda transgranular yapıda korozyon oluşumu gözlenirken, alaşımlarda daha homojen bir oluşum olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Makar ve Kruger, saf magnezyumda dağlanmış görünümünde homojen olmayan bir korozyon gözlemlerken, AZ61 alaşımında daha homojen bir yapı olduğunu raporlamışlardır [58].



Şekil 6.7: AZ91 Magnezyum Alaşım Yüzeyinde Oluşan Arayüzeyleri [58]

7. BİYOKOROZYON

7.1. Biyokorozyonun Genel Özellikleri

Malzeme yüzeyine tutunan bakteriler ve bakterilerin gelişim süreçlerinde meydana gelen biyofilm yapısı, malzeme işlevlerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Biyofilm oluşumu sonucu malzeme yüzeyinde meydana gelen ve fizikokimyasal etkileşimler sonucu ortaya çıkan bu değişimler, biyokorozyon olarak adlandırılmaktadır. Bu süreç birbirini takip eden yükseltgenme (anodik) ve indirgenme (katodik) reaksiyonlardan oluşan elektrokimyasal bir işlemdir [74,75]. Bu nedenle elektrokimyasal korozyon ile aynı mekanizmaya sahiptir [76]. Fakat mikroorganizmaların varlığı, korozyon oluşum sürecini ikili bileşenden (metal + elektrolit) oluşan bir sistem iken üçlü bileşene (metal + elektrolit + mikroorganizma) dayanan bir sistem haline getirmektedir. Biyokorozyon ile ilgili yapılan çalışmalar, bu üç bileşen arasında meydana gelen etkileşimler gözönünde bulundurularak gerçekleştirilmektedir [57].

Biyokorozyon oluşumu, bakterilerin gelişimi için gerekli olan besin içeriğine, ortam sıcaklığına, basınca ve pH değerine göre farklılık göstermektedir [49]. Ortam pH değeri 4-9 ve ortam sıcaklığı 10°C-50°C olan çevre koşullarında biyokorozyon oluşumu karbon çelikleri, paslanmaz çelikler ile alüminyum, magnezyum ve bakır alaşımları için tehlike oluşturmaktadır. Farklı endüstri alanlarında biyokorozyon oluşum sonucu ortaya çıkan problemler Tablo 1’ de verilmektedir [77].

Genel olarak mikrobiyal korozyon bölgesel olarak gerçekleşmektedir. Yüzeyine mikrobiyal bir koloni tutunmuş olan bir metal ile temas ettiği elektrolit arasında elektrokimyasal hücre oluşmaktadır. Heterojen bir şekilde yüzeye tutunan bakteriler, metal yüzeyinde bazı bölgelerin oksijen ile temasını keserek bulunduğu ortam ile arasında potansiyel farkı oluşmasına neden olmaktadır (Şekil 7.1). Aerob koşullarda, kolonilerin tutunduğu bölgeler anodik alanları oluşturur ve metal iyonları çözünerek elektrolit içine taşınırlar; çevre alanlar ise katodik bölgeleri oluştururlar ve oksijen indirgenmesi reaksiyonu gerçekleşmektedir [76].

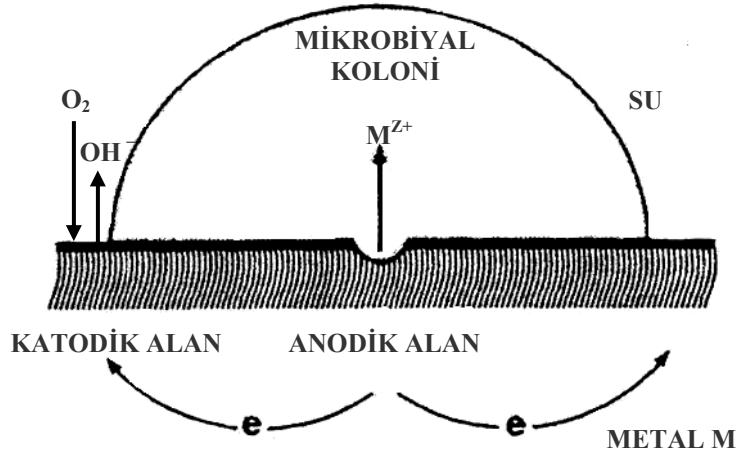
Tablo 7.1: Biyokorozyon Oluşumundan Etkilenen Endüstri Alanları [77].

Endüstri	Problem ortaya çıkan bölgeler
Kimya endüstrisi	Paslanmaz çelik tanklar, boru hatları, flanşlı bağlantılarda, kaynak bölgelerinde.
Nükleer enerji üretimi	Karbon ve paslanmaz çelik boru hatları ve tanklar; bakır-nikel, çelik, pirinç ve alüminyum-bronz soğutma su boruları ve tüpleri.
Deniz ve kıyı petrolü, gaz işletmeleri	Petrol ve gaz işletme sistemleri, bu sistemler özellikle sülfür üretme kabiliyetine sahip sülfat indirgeyen bakterilerin etkisindedir.
Yeraltı boru hatları	Suya doymuş, organik maddelerin bozunmaya uğradığı ve sülfat indirgeyen bakterilerin kaynağı olan killi topraklar.
Su arıtma endüstrisi	Isı değiştiriciler, boru hatları
Pis su arıtma endüstrisi	Beton ve betonarme yapı
Karayolu bakım işletmesi	Boru hatları
Havacılık endüstrisi	Yakıt depolama tankları
Metal işleme endüstrisi	Yağ ve sıvı çözeltiler sonucu meydana gelen aşınmalar

Metal-elektrolit ara yüzeyinde gerçekleşen mikrobiyal etkileşim, anodik ve katodik reaksiyonlarını etkilemektedir [57]. Yakın zamanda yapılan çalışmalar ile, çelik, bakır, demir ve alüminyum alaşımlarında mikrobiyal korozyon sonucu ortaya çıkan bozunmalar incelenmiş ve organizmaların korozyon sürecindeki etkileri anlaşılmasına çalışılmıştır. Korozyon oluşumuna neden olan metabolik atıkların üretimi, ortamda bulunan kimyasal türleri değiştirerek daha korozif hale getiren metabolik atıkların üretimi ve kimyasal bileşenlerin parçalanarak korozyon önleyici rol üstlenmeleri, organizmaların korozyon oluşumu sırasında ortaya çıkan etkileri olarak sıralanabilmektedir [76].

Metal iyonlarının çözülerek zaman içinde malzeme yüzeyinde koruyucu bir tabaka oluşturması, reaksiyona giren ürünlerin malzeme yüzeyinde ilerlemesini durdurarak korozyon oluşumunu engellemektedir [74,75]. Bu nedenle, yüzeyde meydana gelen

anodik reaksiyon hızı zamana bağlıdır ve zamanla azalmaktadır. Metal yüzeyinde oluşan bu tabakanın yüzeyde süreklilik sağlaması, malzeme kompozisyonuna, morfolojisine ve malzemenin reaksiyona duyarlılığına bağlıdır. Biyofilm yapısı içinde meydana gelen mikrobiyal etkileşimler, anodik ve katodik reaksiyonları etkilemektedir ve oluşan koruyucu tabakada değişimler yaratarak, ortaya çıkan korozyon oluşumu üzerinde tetikleyici veya önleyici etkiler yaratmaktadır [74].



Şekil 7.1: Mikrobiyal Korozyon Oluşum Basit Şeması [57,76]

7.2 Pasif Tabaka / Biyofilm Etkileşiminin Biyokorozyon Oluşumu Üzerindeki Etkisi

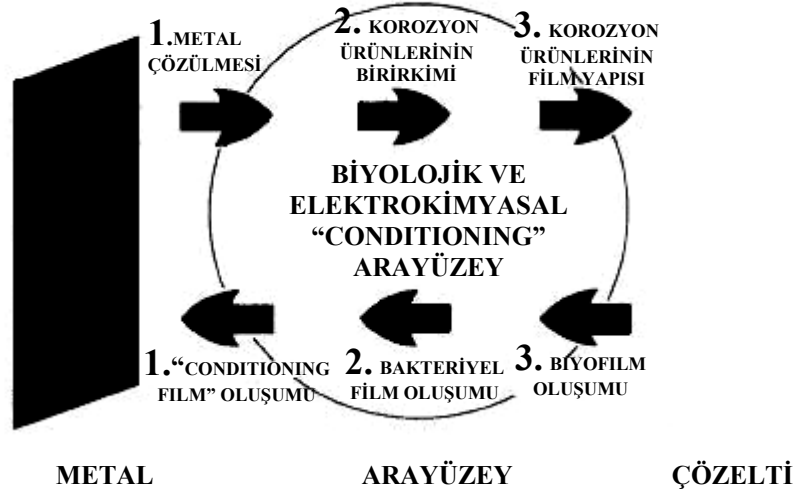
Metal yüzeyler, doğal ve ya endüstriyel su ile temas ettiği zaman birbirini takip eden biyolojik ve inorganik değişimler içine girmektedirler. Malzeme yüzeyine tutunan organizmalar sonucu ortaya çıkan bozunmalar ve pasif film oluşumu gözlenmektedir.

Biyolojik değişimlerin ilk adımında metal yüzeyinde organik ve inorganik moleküllerin birikimi ile ince bir film tabakası oluşmaktadır. Yüze tutunan bu organik moleküller genellikle polisakkarid ve glikoprotein yapılarından oluşmaktadır ve metal yüzeyindeki elektrostatik yük dağılımı ile yüzey ıslanabilirlik özelliklerini değiştirerek mikroorganizmalar için uygun koşulları oluşturmaktadırlar. İkinci adımda ise mikroorganizmaların yüzeye yapışma süreci gerçekleşmektedir. Yapışma işlemi birbirini takip eden iki adımda gerçekleşmektedir. İlk adımda organizmalar yüzeye zayıf bağlarla bağlanırlar ve mekanik yöntemlerle yüzeyden kolayca uzaklaştırılabilirler. Daha sonraki adımda ise mikroorganizmaların ürettikleri

ekstrasellüler polimerik yapı ile birlikte sürekli bir tutunma sağlanmaktadır. Bu tutunma işlemi biyofilm yapısının oluşumunu başlatmaktadır [57].

Metal yüzeyinde meydana gelen inorganik değişimler, bakterilerin koloni oluşturması ve biyofilm oluşumu ile aynı zamanlarda gerçekleşmektedir. Bu adımda metal çözülmesi (korozyon) ve oluşan korozyon ürünlerinin yüzeyde birikerek bir tabaka oluşturması (pasifleşme) olayları gerçekleşmektedir [57].

Metal yüzeyinde meydana gelen inorganik ve biyolojik değişimler aynı zaman aralığında fakat zıt yönlere doğru gerçekleşmektedir. Korozyon oluşumu metalden çözeltiliye doğru gerçekleşmektedir ve birbirini takip eden oluşumlar sonucu metal yüzeyinde pasif bir tabaka oluşmaktadır. Biyolojik süreçte ise, sıvı ortamında serbestçe hareket eden sucul organizmalar malzeme yüzeyine tutunarak yüzeyde yaşamlarını sürdürmeye devam ederler. Organizmaların gelişimlerini sağlaması ve polimerik yapıyı üretmeleri ile biyofilm tabakası kalınlığında artış gerçekleşmektedir. Bu şekilde pasif film ile biyofilm yapısı arasındaki etkileşim sonucu biyolojik ve elektrokimyasal olarak uygun hale getirilmiş bir ara yüzey oluşturulmuştur (Şekil 7.2). Metal yüzeyinde meydana gelebilecek korozyon oluşumları karşılıklı etkileşimlere bağlı olarak farklılık göstermektedir [57].

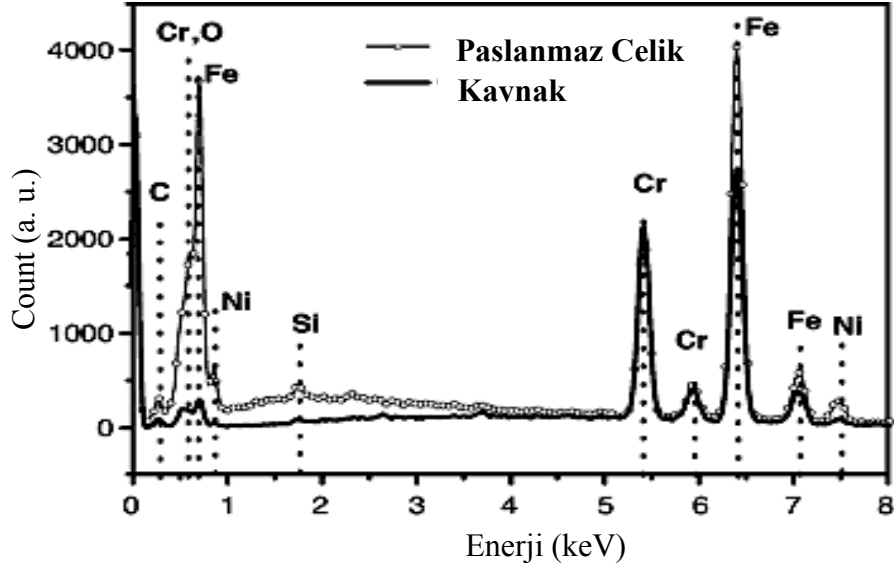


Şekil 7.2: Metal-Çözelti Ara Yüzeyinde Oluşan Biyolojik ve Elektrokimyasal Süreçler [57].

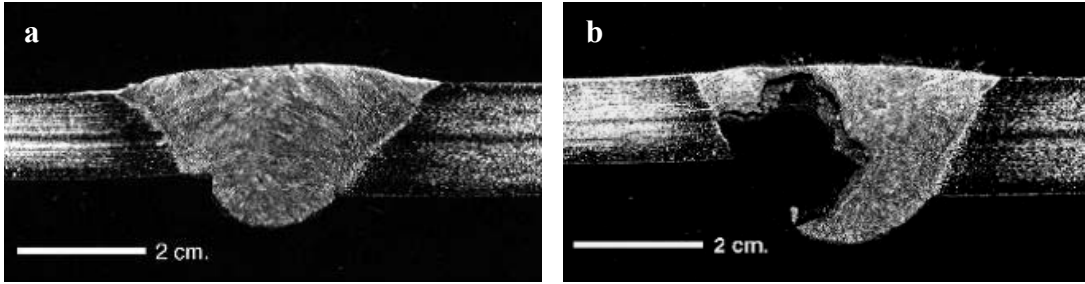
8. METALİK MALZEMELERDE LİTERATÜRDE MEVCUT BİYOKOROZYON VE BİOFİLM OLUŞUMU KONULU ÇALIŞMALAR

Paslanmaz çelikler, yüksek dayanım ve korozyon direnci özellikleri ile birçok kullanım alanına sahiptirler. Yüzeylerinde oluşturdukları ince oksit tabakası, malzemenin bulunduğu korozif ortamlara karşı dirençli olmasını sağlamaktadır. Fakat bu tabaka antibakteriyel özellik taşımadığından dolayı, mikroorganizmaların aktiviteleri sonucu malzeme yüzeyinde korozyon oluşumu gözlenebilmektedir. Yüzeyde oluşan bakteriler, oluşan koruyucu tabaka yapısını bozarak metalin çözülmesini ve yüzeyden uzaklaşmasını sağlamaktadır. Korozyon sonucu metal yüzeyinde oluşan bu bozunmalar genel olarak kaynak bölgelerinde olduğu gözlenmiştir (Şekil 8.2). Damborenea ve arkadaşları da, kaynak işlemi uygulanmış AISI 304 L paslanmaz çelik tüplerde, mikroorganizma aktivilerine sonucu meydana gelen değişimleri incelemiştir [78]. Çelik tüpler düşük konsantrasyonda klorin (50 mg/l) çözeltisi içerisinde üç ay bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda, tüplerin iç kısımlarından başlayan bölgesel korozyon oluşumları gözlenmiştir. Kaynak işlemi sonucu malzeme yüzeyinde meydana gelen pürüzlülük, sıvı akışını yavaşlatarak bakterilerin yüzeyde koloni oluşturmalarını sağlamıştır. Bakterilerin metal yüzeyinde oluşturdukları biyofilm tabakası ise, korozyon sonucu metal yüzeyinde oluşan yapıyı gizlemiştir (Şekil 8.3). Malzeme yüzeyinde oluşan organik yapının C, Ca, O, Si ve P kompozisyonuna sahip olduğu [79,80] yapılan EDS analizi ile doğrulanmıştır (Şekil 8.1). Biyofilm yapısının malzeme yüzeyinden uzaklaştırılması ile çelik boruda meydana gelen ciddi korozyon oluşumları daha belirgin bir şekilde gözlenmiştir [78].

Ghassem ve arkadaşları yaptıkları incelemelerde, petrokimya, arıtma ve suni gübre sanayi ısıtıcılarında kullanılan AISI 304H paslanmaz çelik tüplerde, biyokorozyon sonucu delik oluştuğunu gözlemlemiştir. Tüplerde meydana gelen sızıntılar ise yangına sebep olarak ciddi tehlikeler doğurmaktadır. Korozyona uğramış tüplerin yüzeylerinde yapılan ilk incelemeler ile, malzeme yüzeylerinde gözle görülebilir çukurcukların oluştuğu gözlenmiştir.



Şekil 8.1: Referans Paslanmaz Çelik ve Korozyona Uğramış Kaynak Bölgesinden Elde Edilen EDS Analiz Sonuçları [78]



Şekil 8.2: Kaynak Bölgesi Optik Mikroskop Görüntüsü a) Orjinal Parça b) Korozyona Uğramış Bölge [78].



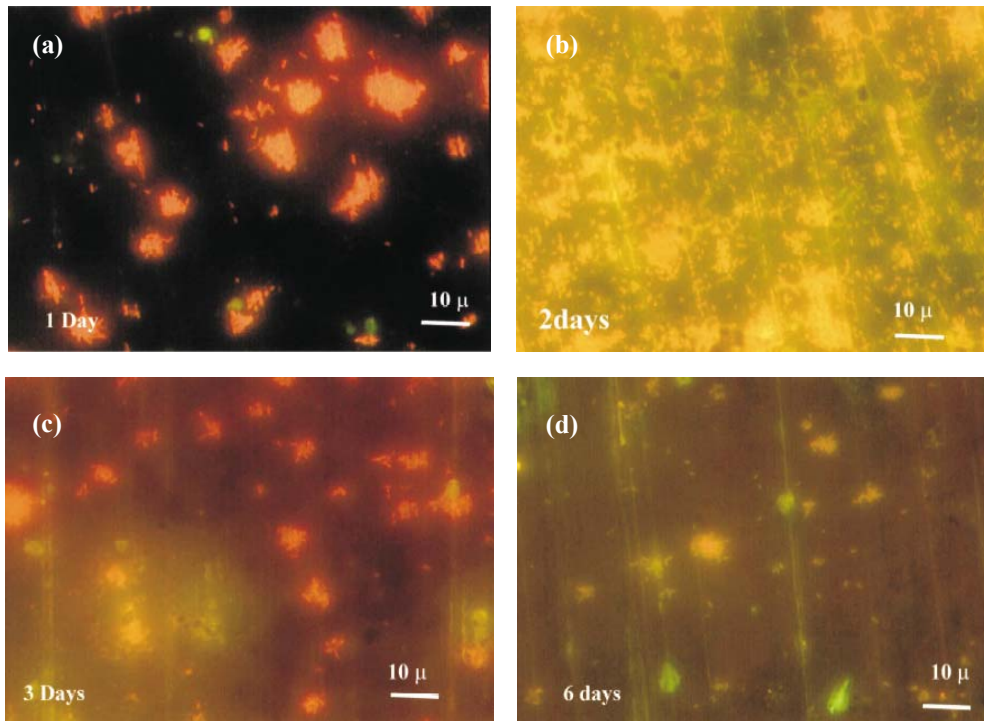
Şekil 8.3: Korozyona Uğramış Çelik Parçasına Tutunan Mikroorganizmalar SEM Görüntüsü [78].

Daha sonraki aşamada ise malzemeler çukur bölgelerin bulunduğu noktalardan kesilerek farklı kesitlerden incelenmiştir. Yüzeyde oluşan çukurcukların, malzeme içerisinde büyük yarıklara ve boşluklara neden olduğu gözlenmiştir. Yapılan mikro yapı incelemeleri ile, korozyonun krom elementinin fakir olduğu bölgelere yakın tane sınırlarında daha yoğun olduğu belirlenmiştir. Taramalı elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde ise, malzeme yüzeylerinde sülfat indirgeyen bakteriler yapısına çok yakın bazı yapılar gözlenmiştir. EDS analiz sisteminin kullanılması ile korozyon sonucu oluşan boşluklarda sülfür elementinin belirlenmesi ise, bakterilerin malzeme yüzeyine tutunduklarını ve yüzeyde biyokorozyona sebep olduklarını doğrulamıştır [81].

Yüzeylerinde oluşturdukları koruyucu oksit tabakası ile titanyum alaşımları biyomedikal uygulamalarda önemli bir yere sahiptir. Yüksek korozyon özelliklerine sahip olmalarına rağmen, metalik iyonlarının buldukları ortamda salınımları engellenememektedir. Advincula ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, sol-gel kaplı Ti6Al4V alaşımı ile kaplama işlemi uygulanmamış alaşımların biyokorozyon davranışları karşılaştırılmışlardır. Deneysel çalışmalar sırasında, numuneler 25 gün SBF (simulated body fluid) ortamında bekletilerek belirli periyotlarda iyon salınımı gözlenmiştir. Deney sonucunda, kaplama uygulanmayan numunelerde Ti iyonlarının daha az miktarda sıvı içinde çözündükleri, fakat Al ve V iyonlarında fark olmadığı gözlenmiştir. Yapılan incelemeler, her iki numunenin de buldukları deney ortamında benzer korozyon davranışı gösterdikleri gözlenmiştir [82].

Gouda ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda ise, ısı değiştiricilerde büyük bir kullanım alanına sahip olan UNS N04400 (Ni 65.2 % ağı., Cu 30.5 % ağı., Fe 1.3 % ağı., Mn 0.98 % ağı.) alaşımının biyokorozyon davranışını incelemişlerdir. Sülfat indirgeyen bakteriler ile yapılan deneyler sonucu, Monel 400 alaşımı yüzeyinde bakteri mikrokolonilerinin ve biyofilm yapısının olduğu gözlenmiştir. Korozyon oluşumu, yuvarlak boşluklar şeklinde tane sınırlarında gerçekleşmiştir. Yüzeyde meydana gelen korozyon oluşumu, birçok tabakanın oluşumu sonucu yüzey morfolojisindeki değişikliğin gözlenmesi ile saptanabilmiştir. Bej renginde bir görünüme sahip olan en üst tabaka altında $CuCl_2 \times 3 Cu(OH)_2$ kompozisyonunda ve yeşil renkte ikinci bir katman bulunmaktadır. Demir-nikel sülfürlerinin oluşturduğu siyah tabaka ise en alt yapıyı oluşturmaktadır [83].

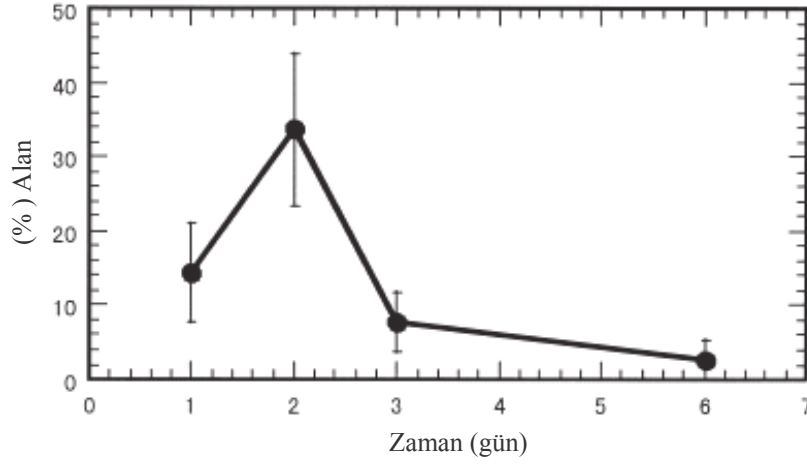
Nandakumar ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda, AZ31 magnezyum alaşım numunesinin antibakteriyel özelliklerini incelemişlerdir. In vitro olarak yaptıkları deneysel çalışmalarda, *Pseudomonas sp.* bakteri suşunun magnezyum yüzeyine tutunma ve biyofilm oluşturma aşamaları ile oluşum sonucu malzeme yüzey özelliklerinde ortaya çıkan değişimler gözlenmiştir. Deneysel çalışmalar sonucu numuneler acridine orange boyası ile boyanarak epifluorescence mikroskop ile görüntülenmiştir (Şekil 8.4) (uyarma 330~385 nm ve emisyon < 420 nm). Malzeme yüzeylerinin onbeş farklı bölgesinden alınan görüntüler CCD kamera kullanılarak kaydedilmiştir. Elde edilen bu görüntüler ile yüzeye tutunan bakteri oranı yüzdesel olarak belirlenmiştir [1].



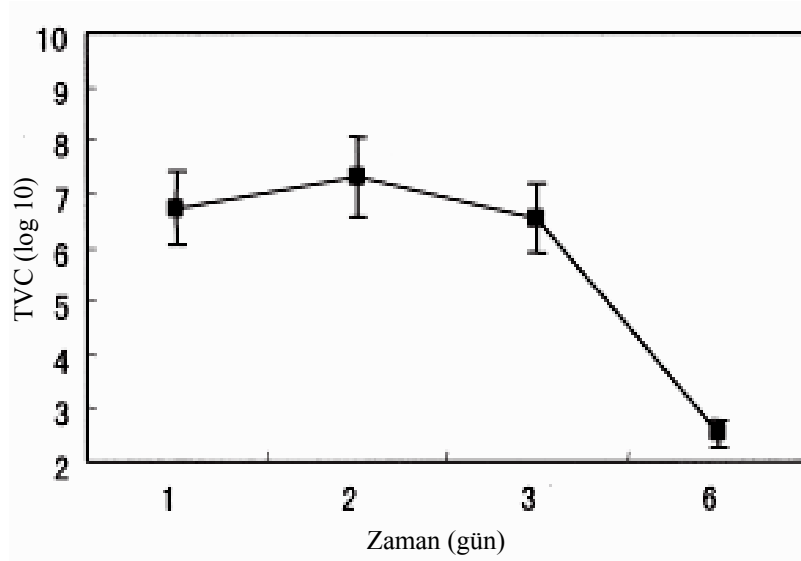
Şekil 8.4: Magnezyum Alaşım Yüzeyine Tutunan *Pseudomonas sp.* Bakterilerinin Epifluorescence Mikroskop Görüntüleri [1].

Deneysel çalışmaların ilk periodunda, bakterilerin yüzeye yapışma oranlarının belirgin bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Deneysel çalışmaların ikinci günü, yüzey alanının $33.69\% \pm 10.25\%$ 'nde bakteri tutunmasının gerçekleştiği belirlenmiştir. Fakat daha sonraki zaman diliminde, tutunma oranının hızlı bir şekilde düştüğü ve altıncı günde $2.71\% \pm 1.36\%$ minimum değere ulaştığı gözlenmiştir (Şekil 8.5). Benzer sonuçlar deney ortamında yapılan ölçümler ile de elde edilmiştir (Şekil 8.6). Dökme kültürel sayım yöntemi ile yapılan değerlendirmeler sonucu, ortamda

bulunan bakteri miktarının (TVC, “Total Viable Count”), ikinci günden itibaren hızlı bir şekilde düştüğü görülmüştür [1].



Şekil 8.5: Magnezyum Alaşım Yüzeylerine Tutunan Bakterilerin Zamana Bağlı Olarak Yüzdesel Değişimi [1].



Şekil 8.6: Deney Ortamında Bulunan *Pseudomonas* Bakterilerinin TVC Değerindeki Değişim [1].

Belirlenen zaman periyodunda, deneysel ve kontrol ortamlarında, magnezyum iyon konsantrasyonunun da artış gözlenmiştir. ICP MS ile yapılan ölçümler sonucu, altıncı günün sonunda kontrol örneğinde max. 25.5 mg ml⁻¹ ve deney örneğinde max. 23.5 mg ml⁻¹ konsantrasyon değerlerine ulaşıldığı belirlenmiştir. Bu sonuç ile ortamda bulunan bakterilerin magnezyum iyonlarının çözünmesi üzerinde bir etkisi olmadığı

gözenmiştir. Ortamda magnezyum iyon konsantrasyonunda meydana gelen artışı, ortam pH değerinin artışı izlemiştir [1].

Magnezyum su ile temas ettiği zaman ortamda $Mg(OH)_2$ oluşumuna neden olmaktadır. Oluşan bu film tabakası, malzeme yüzeyini koruyarak biyofilm oluşumunu engellemektedir. Bu özelliği, magnezyum alaşımlarının anti bakteriyel özellik kazanmasını sağlamaktadır Ayrıca oluşan bu yapı suda çözülerek ortam pH değerini artırmaktadır. pH değerindeki artış, bakterilerin ölmesine neden olarak, malzeme yüzeyine tutunan bakteri oranının düşmesini sağlamaktadır [1].

9. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu tez kapsamında laboratuvar ortamında üretilen ve gelişimleri sağlanan bakteriler ile yapılan çalışmalar, bakterilerin magnezyum alaşım yüzeylerine tutunabilme özelliklerinin ve malzemelerin belirlenen deney koşullarında korozyon davranışlarının incelenmesine olanak sağlamıştır. AZ31 (6wt% Al, 1 wt% Zn) levha alaşımı ve AM60 (6wt% Al, 0.27wt% Mn) döküm alaşımları ile gerçekleştirilen çalışmalarda, *Escherichia coli* bakteri suşu kullanılmıştır. Ayrıca, malzeme yüzeyinde oluşan biyofilm yapısının korozyon oluşumundaki etkisinin değerlendirilebilmesi için kontrol numuneleri aynı besi ortamında ve aynı deneysel koşullarda bekletilmiştir.

9.1 Numune Hazırlama İşlemleri

Deneyselde AZ31 levha magnezyum alaşımı ve AM60 döküm alaşımı kullanılmıştır. Alaşım yüzeylerine bakteri yapışma çalışmaları için numuneler metalografik tekniklerle hazırlanmıştır. SiC ile zımparalama ve 1µm elmas pasta ile kaba parlatmadan sonra 0.05 µm koloidal silika ile ince parlatma yapılmıştır. Numuneler deneysel çalışmalara kadar desikatörde muhafaza edilmiştir. Deneysel çalışmalar öncesi numuneler 160 °C'de 1 saat süreyle kuru ısı uygulaması ile steril edilmiştir.

9.2 Deneysel Çalışmalar

Magnezyum alaşım yüzeylerine bakteri yapışma deneyleri Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Deneysel çalışmalar sırasında *Escherichia coli* bakterisinin farklı suşları kullanılmıştır. *E. coli*, genel olarak bakteri biyolojisinin anlaşılması amacıyla üzerinde sıkça çalışılmış bir model organizma olmuştur. Canlılar arasında hakkında en fazla şey bilinen organizma olduğu söylenebilir.

Yapılan ilk çalışmada, *Escherichia coli* K12 JM109 suşu kullanılmıştır. Magnezyum alaşımların ortamı alkalileştirme özellikleri dikkate alınarak bu bakteri suşunun

laktoz fermentasyonu yaparak ortamı kuvvetli bir şekilde asitleştirebilen ve laktoz fermentasyonu yapamayan izogenik mutantlar elde edilmiştir. Bu amaçla, pGEM-Z3f(+) plazmidinin α -komplementasyon ile bakterinin β -galaktosidaz enzimini eksprese etmesini sağlayan özgün hali (pGEM) ve α -komplementasyon özelliğini ortadan kaldırmak için *Rattus norvenicus* β -aktin geni klonlanmış hali (pGEM- β -actin) kullanılmıştır. Bu yöntem, malzemelerin belirlenen deney koşullarında korozyon davranışlarının incelenmesine de olanak sağlamıştır.

Klonlama işlemleri için *R. norvenicus* mRNA'sından Mu-MLV ters transkriptaz enzimi ve oligo dT₁₈ oligonükleotid primeri kullanılarak cDNA oluşturulmuştur. İkinci iplikçik sentezi özgül β -aktin primerleri kullanılarak PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Oluşan ürünlerin klonlanacağı pGEM-Z3f(+) plazmidi SmaI restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilerek doğrusal hale getirilmiştir. Doğrusal hale getirilen plazmid dTTP varlığında Taq DNA polimeraz ile inkübe edilmiştir. Plazmid uçlarında -dT yapışkan uçları elde edildikten sonra PCR ürünleri ile T₄ ligaz varlığında bir gece 4 °C inkübe edilerek klonlama işlemi tamamlanmıştır. Elde edilen pGEM- β -aktin ve pGEM plazmidleri dimetil sülfoksit ve polietilen glikol ile hazırlanan transformasyon çözeltisi ile transforme edilmiştir. Transforme olan bakterilerin seçimi 80 μ g/ml ampisilin katılmış besiyerlerinde yapılmıştır. Klonlanmış plazmid almış koloniler ise M13 primerleri kullanılarak yapılan PCR'da elde edilen yaklaşık 600 bazçiftlik çoğalma ürünlerinin varlığına göre saptanmıştır.

Magnezyum alaşım yüzeylerine yapışma deneyi için pGEM ve pGEM- β -actin transformantı bakteriler 10 ml Laura Bertani (LB) sıvı besiyerinde 80 μ g/ml ampisilin varlığında, 37 °C'de 200 rpm hızda çalkalanarak bir gece üretilmiştir. Bu bulanık bakteri süspansiyonlarının her birinden 100 μ l alınarak 10 ml taze LB sıvı besiyerine konulmuştur. 200 rpm hızda çalkalanarak 37 °C'de üretilen bakteri kültürünün bulanıklığı takip edilmiştir. Kültür yoğunluğu 0,5 Mc Farland bulanıklık standardı ile eş hale gelince (1×10^8 koloni oluşturan ünite/ml), bu kültürlerden 100 μ l'lik kısımlar steril magnezyum alaşımlarının bulunduğu 10 ml LB sıvı besiyerleri içeren 50 ml'lik konik tabanlı tüplere aktarılmıştır (Şekil 9.1). Biyofilm oluşması ve olgunlaşmasına fırsat vermek üzere tüpler 37 °C'de 200 rpm hızda 48 saat çalkalanmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda magnezyum alaşımları steril penset ile tüplerden alınarak bakteri hücrelerinin fikse olması için %99'luk etil alkole batırılıp, havada kurumaya bırakılmıştır. Aynı deneysel koşullarda, malzeme yüzeylerine

bakteri ekimi yapılmamış kontrol numuneleri aynı besi ortamında tutularak hazırlanmıştır.



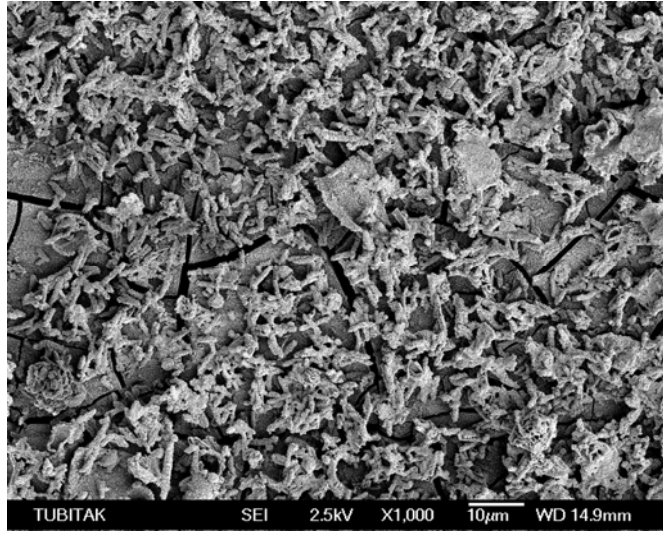
Şekil 9.1: Laura Bertani (LB) Besiyeri ve *Escherichia coli* Bakteri Kültürü Ortamına Konulan Magnezyum Alaşım Numuneleri

Malzeme yüzeyinde biyofilm oluşan magnezyum numuneleri ve kontrol numuneleri TÜBİTAK MAM Malzeme Enstitüsü' nde JEOL JSM 6335 FEG Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) kullanılarak incelenmiştir. Yüzey hazırlama işlemi altın-paladyum kaplaması ile gerçekleştirilmiştir.

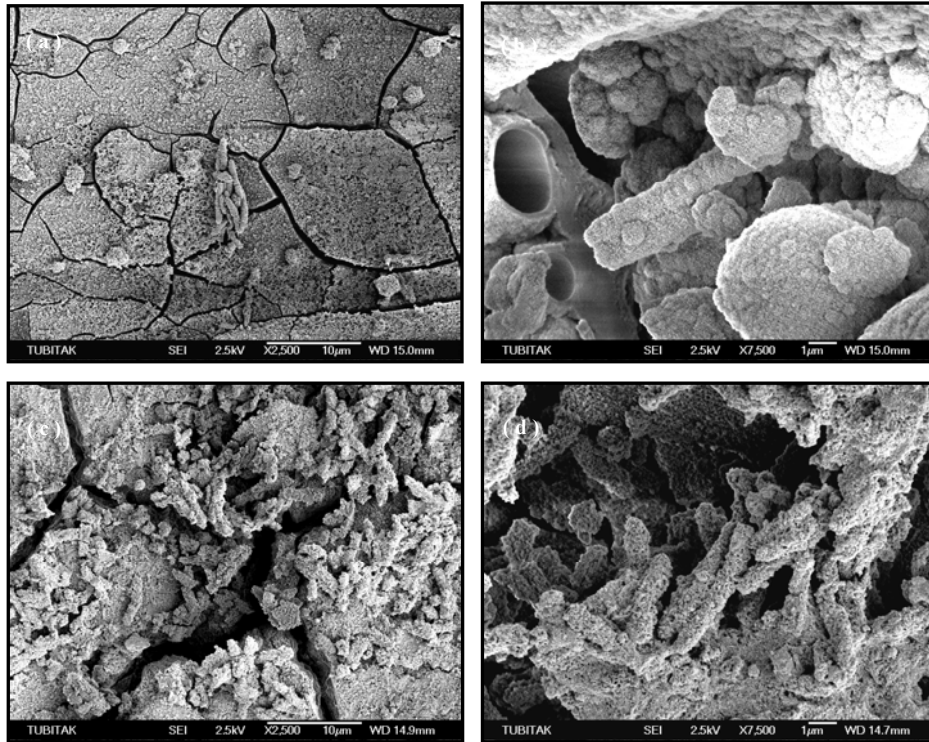
Taramalı elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalar sonucu bakterilerin yüzeye tutunma işlemini gerçekleştirebildikleri gözlenmiştir (Şekil 9.3 ve Şekil 9.4). Özellikle AZ31 numune yüzeyinde pGEM- β -actin transformantı bakteriler, malzeme yüzeyinin büyük bir bölümüne tutunmayı gerçekleştirebilirken, pGEM bakterileri sadece belirli bölgelerde, kümelenmiş şekilde yüzeye tutunabilmişlerdir (Şekil 9.2). AM60 alaşım yüzeyine tutunan bakteriler ise belirli bölgelere yerleşmişlerdir ve çubuk görünümlerini kaybederek birbiri içine geçmiş bir yapı meydana getirmişlerdir.

Bakterilerin yüzeye tutunma işlemini gerçekleştirebilmelerine rağmen bakteri yapısında düzensizlik olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3 ve Şekil 4). Koli basili olarak da bilinen *Escherichia coli* bakterileri çubuk görünümlerini kaybederek birbiri içine geçmiş bir yapı oluşturmuşlardır. Bakterilerin oluşturdukları bu yapının bakterilerin numune ile etkileşimi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Kültür ortamının bakteriler için uygun çevre koşulunu oluşturamamış olması ise bakterilerin bu yapıyı

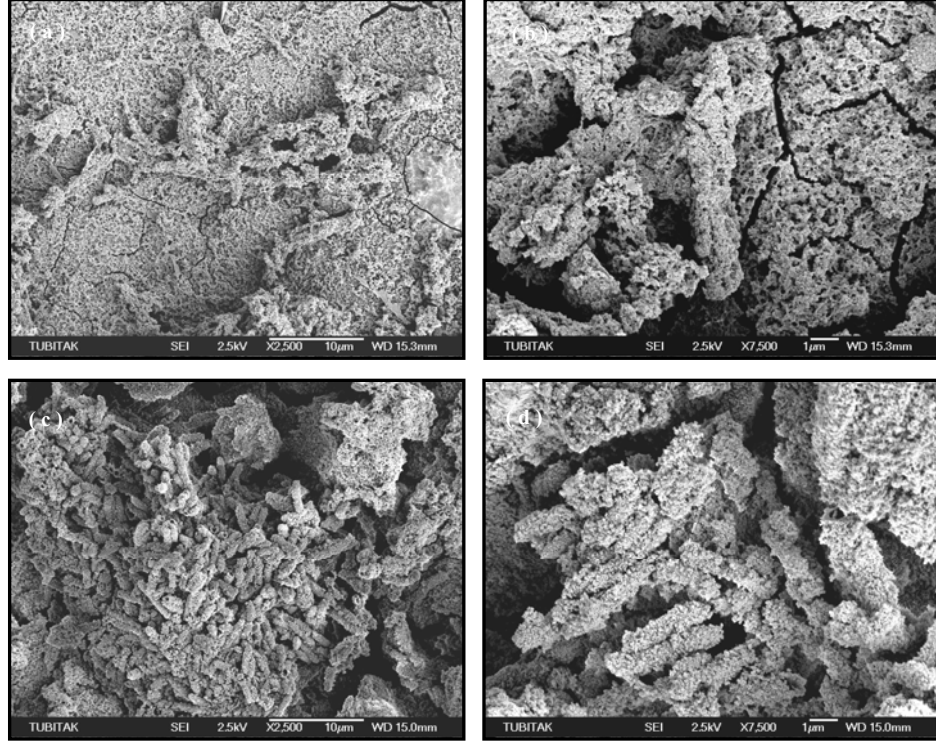
oluřturma nedenlerinden biri olarak dűřűnűlebilir. Fakat yapılan bu çalıřmalar ile yapıda oluřan bu dűzensizliđin nedeni tam olarak anlařılamamıřtır.



řekil 9.2: AZ31 Alařım Numunesi SEM Gűrűntűsű, pGEM-β-actin Transformantı Bakteriler



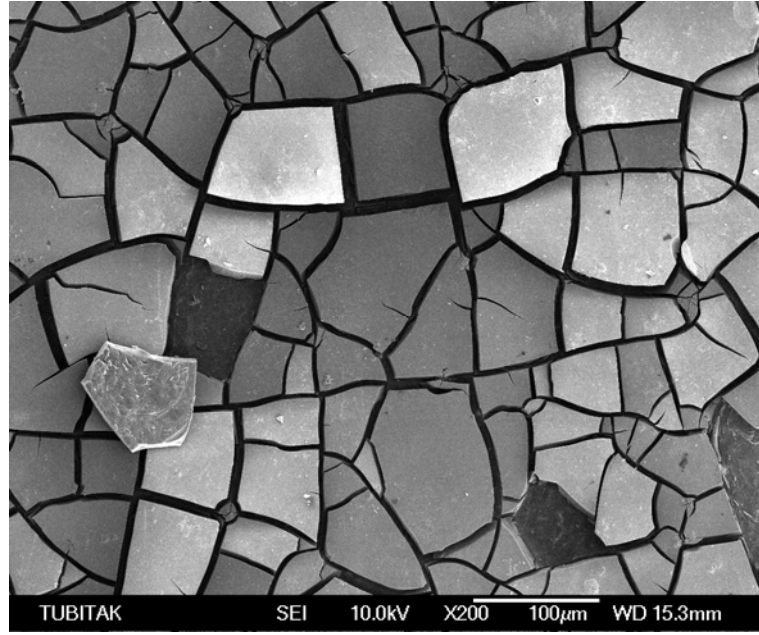
řekil 9.3: AZ31 Magnezyum Alařımı, (a-b) pGEM Bakterileri, (c-d) pGEM-β-actin Bakterileri SEM Gűrűntűleri



Şekil 9.4: AM60 Magnezyum Alaşımı, **(a-b)** pGEM Bakterileri, **(c-d)** pGEM-β-actin Bakterileri SEM Görüntüleri

Sulu ortamlarda elektrokimyasal olarak çözünen magnezyumun, taramalı elektron mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu yüzeylerinde koruyucu bir film tabakası oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 9.5). Üst yüzeylerinde koruyucu bir örtü oluşturmaları, bu metallerin yüksek korozyon eğilimine karşın çok yavaş çözünmelerini sağlamıştır. Al, Mn ve Zn elementlerini içeren AZ31 magnezyum alaşım yüzeylerinde yapılan EDS analiz sonuçları, oluşan film tabakasının ikincil bileşenlerce zengin olduğunu göstermiştir (Şekil 9.6). Spektrum 1 analiz sonucu malzeme matrisinden elde edilirken, Spektrum 2 analiz sonucu oluşan oksit tabakasından elde edilmiştir.

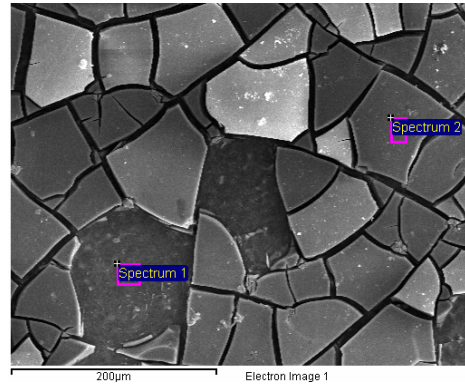
Belirlenen deney koşullarında yapılan çalışmalar sonucu, bakteri ekimi yapılan malzeme yüzeylerinde korozyon sonucu homojen olmayan bölgesel çukurlar olduğu gözlenmiştir. Bakterilerin korozyon oluşumuna etkisini incelemek amacı ile sadece besi ortamında tutulan ve bakteri ekimi yapılmayan kontrol numunelerinin de benzer korozyon davranışı gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 9.5: Bakteri Ekimi Yapılan AZ31 Magnezyum Alaşım Numunesi SEM Görüntüsü

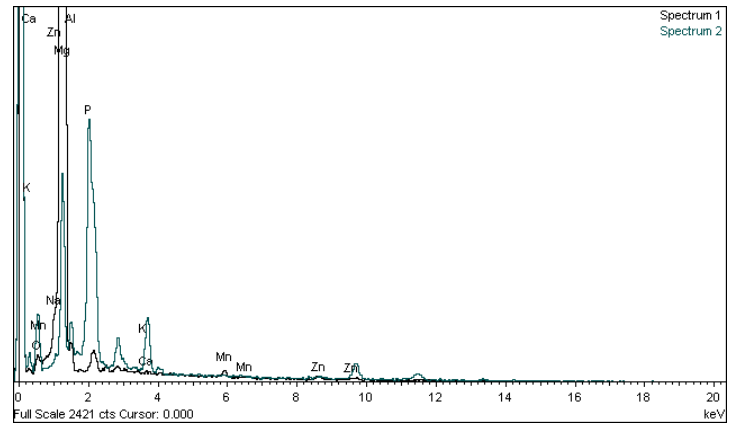
Spektrum 1

Element	Ağırlık%
O	2.00
Mg	92.75
Al	2.85
Ca	0.15
Mn	1.10
Zn	1.15
Totals	100.00



Spektrum 2

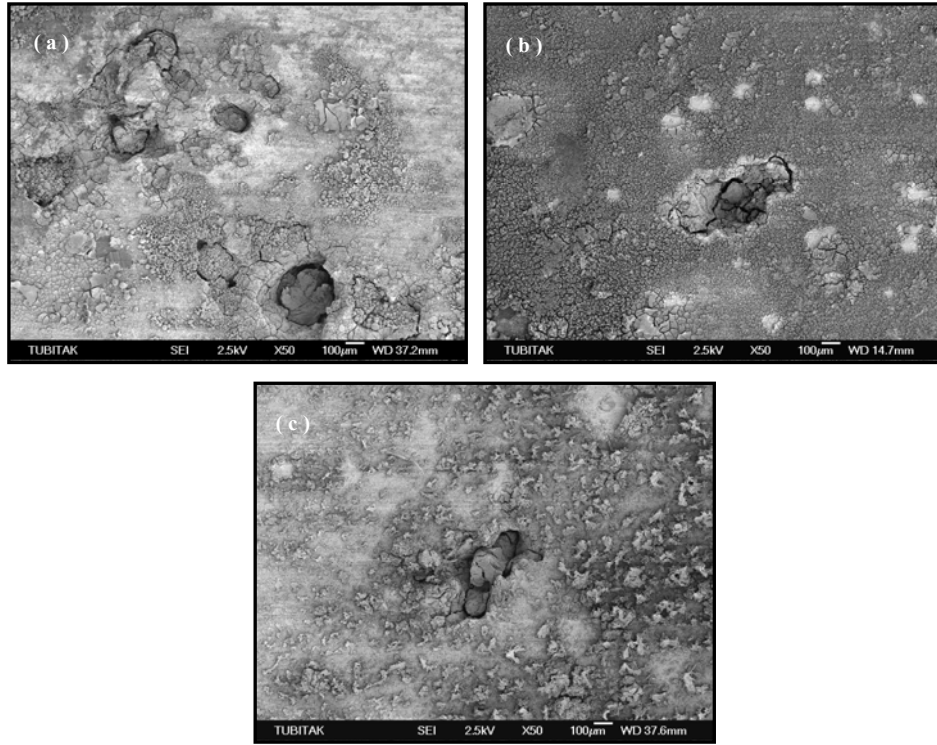
Element	Ağırlık%
O	34.58
Na	1.18
Mg	24.08
Al	5.72
P	22.51
K	0.55
Ca	10.40
Zn	0.98
Totals	100.00



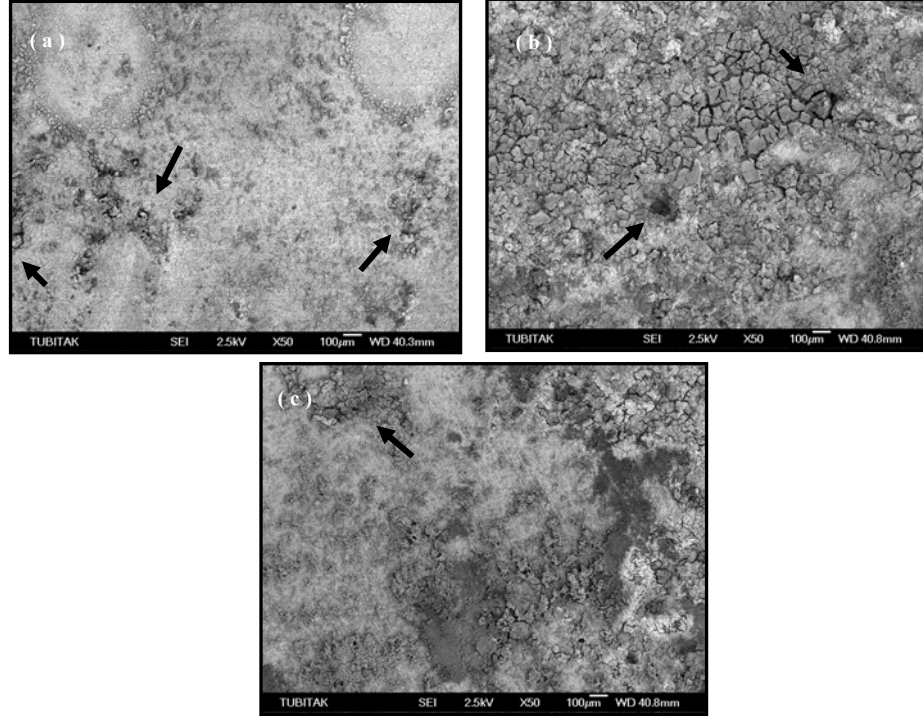
Şekil 9.6: AZ31 Alaşım Numunesi EDS Analiz Sonucu

Yapılan incelemeler sonucu, laktoz fermantasyonu yaparak ortamı kuvvetli bir şekilde asitleştirebilen pGEM bakteri ekimi yapılan AZ31 ve AM60 magnezyum alaşımlarında korozyon oluşumunun, pGEM- β -actin bakteri ekimi yapılan numunelerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 9.7.a & b, Şekil 9.8.a & b).

AZ31 numunesinde oluşan çukurcuklar ise daha sınırlı bölgelerde oluşmasına rağmen, boyutları ve derinliği AM60 alaşımlarına göre büyük farklılık göstermektedir. Korozyon oluşumu daha belirgin bir şekilde ortaya çıkmıştır. Bu sonuç alaşım kompozisyonunun malzeme korozyon direnci üzerindeki etkisini göstermektedir. Magnezyumun alüminyum ile alaşımlandırılması sonucu korozyon direnci arttığı bilinmektedir. Aynı oluşum tüm AZ31 numunelerinde gözlenmiştir. Yüzeylerine bakteri ekimi yapılmamış numunelerde de benzer korozyon davranışı gözlenmiştir (Şekil 9.7.c ve Şekil 9.8.c). AZ31 alaşım numunesi düşük korozyon direnci göstermiştir.



Şekil 9.7: AZ31 Magnezyum Alaşımı Yüzey Fotoğrafı (a) pGEM Bakteri İnkübe Edilmiş Numune SEM Görüntüsü, (b) pGEM- β -actin Transformatı Bakteriler İnkübe Edilmiş Numune SEM Görüntüsü, (c) Bakteri İnkübe Edilmemiş Kontrol Numune SEM Görüntüsü

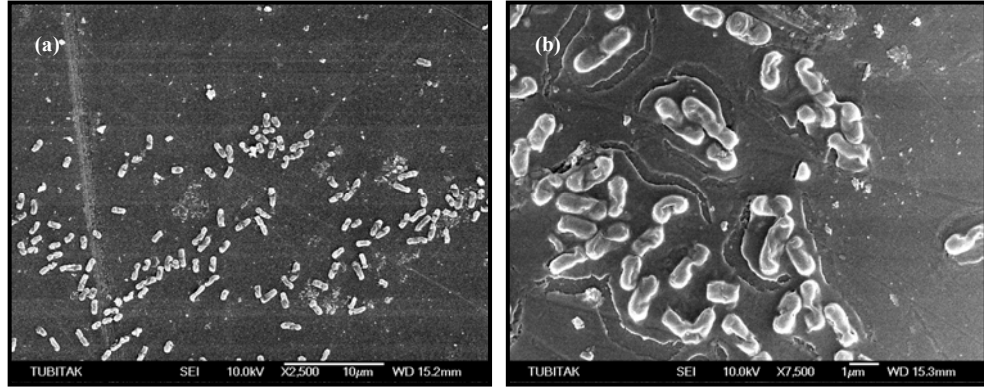


Şekil 9.8: AM60 Magnezyum Alaşımı Yüzey Fotoğrafi **(a)** pGEM Bakteri İnkübe Edilmiş Numune SEM Görüntüsü, **(b)** pGEM-β-actin Transformatı Bakteriler İnkübe Edilmiş Numune SEM Görüntüsü, **(c)** Bakteri İnkübe Edilmemiş Kontrol Numune SEM Görüntüsü

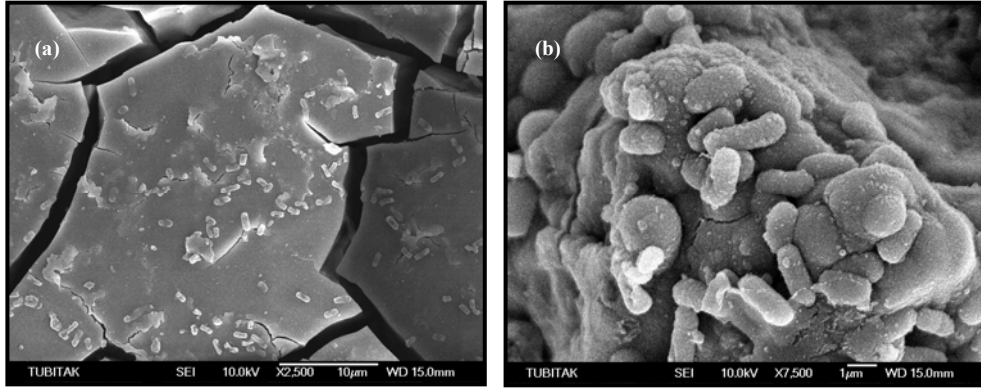
İkinci adımda yapılan çalışmalarda ise aynı deneysel koşullarda ve besiyeri ortamında gerçekleştirilmiştir. Fakat *Escherichia coli* 25922 bakteri suşu ile çalışılmıştır. Bakteri ekimi öncesi, bir gece önceden hazırlanan kültür ortamı yenilenmiştir. Buzdolabında bekletilen kültürden bir miktar alınarak taze LB besiyerine eklenerek, bakterilerin oksijen ile temasını sağlamak amacıyla karıştırıcıda yaklaşık 37°C’ de 7 saat karıştırılmıştır. Bakteriler hareketlerini sağlayan bazı yapılaraya sahip olmalarına rağmen, kültür ortamında çökmesini ve oksijen ile temasının azalmasını engelleyememektedirler. Çalışmalar sırasında karıştırıcı ile bu etkiyi minimum değere indirilmesi hedeflenmiştir. Daha sonra sterilize edilmiş magnezyum alaşımlarına bakteri ekimi işlemi gerçekleştirilmiştir.

Ekim sonrası yapılan mikroskopik çalışmalar ile malzeme yüzeyinde ekstrasellüler polimerik yapısının oluşmaya başladığı ve malzeme yüzeyine bakteri tutunması gerçekleştiği görülmüştür. Fakat biyofilm oluşumunun tamamlanmadığı gözlenmiştir (Şekil 9.9 ve Şekil 9.10). Bu çalışmada, bekleme süresi daha önceki yapılan çalışma ile aynı tutulmuş fakat bakteri konsantrasyonu değiştirilmiştir (1×10^7 koloni

oluşturan ünite/ml. Bu çalışmada bakteri konsantrasyonu, malzeme yüzeyinde yeterli birikimin sağlanması için yeterli gelmemiştir.



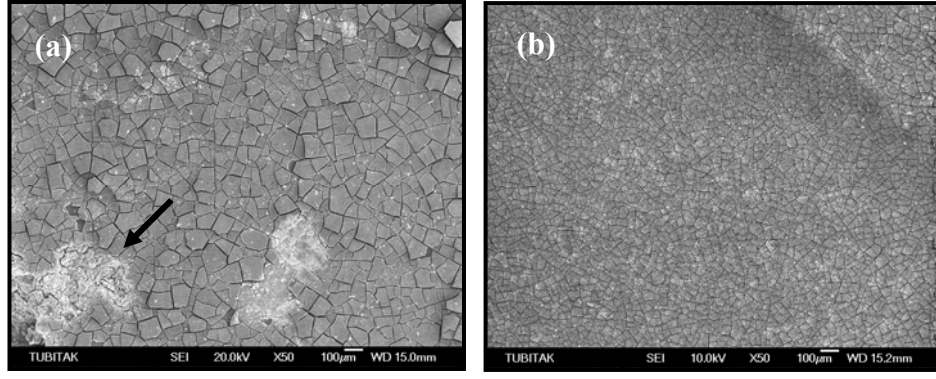
Şekil 9.9: AZ31 Magnezyum Alaşımı (a-b) *Escherichia coli* 25922 Bakterileri SEM Görüntüleri



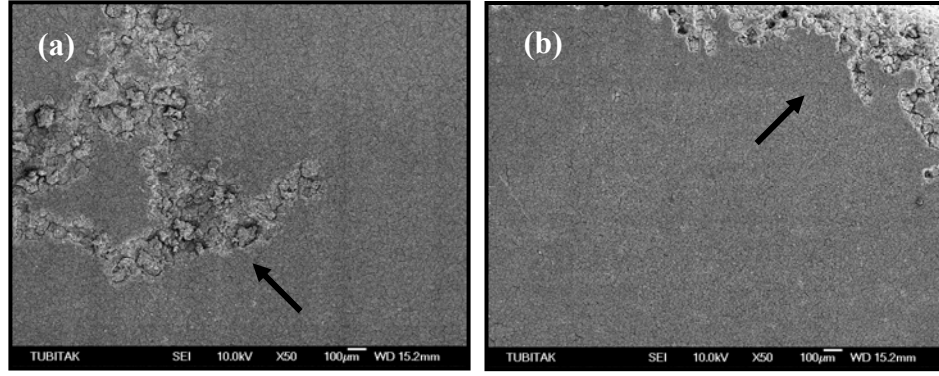
Şekil 9.10: AM60 Magnezyum Alaşımı (a-b) *Escherichia coli* 25922 Bakterileri SEM Görüntüleri

Deneysel çalışmalar sonucu malzeme yüzeylerinde koruyucu oksit tabakasının oluştuğu gözlenmiştir. Her iki alaşımda da bakteri ekimi yapılan numunelerin ve kontrol numunelerin benzer korozyon davranışı gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 9.11 ve Şekil 9.12).

Yapılan her iki çalışmada da boyama yöntemi ile yüzeye tutunan bakteri oranı yüzdesel olarak belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla bakteri hücre duvarını boyama özelliğine sahip crystal violet ve DNA molekülünü boyama özelliğine sahip etidyum bromür (EtBr240605) ile boyama yapılmıştır. Yapılan boyama işleminde, çok aktif bir metal olan magnezyumun kullanılan boyalar ile reaksiyona girmesi sonucu, metal matrisinin de boyandığı gözlenmiştir.



Şekil 9.11: AZ31 Magnezyum Alaşımı Yüzey Fotoğrafi **(a)** *Escherichia coli* 25922 Bakteri İnkübe Edilmiş Numune SEM Görüntüsü **(b)** Kontrol Numunesi SEM Görüntüsü



Şekil 9.12: AM60 Magnezyum Alaşımı Yüzey Fotoğrafi **(a)** *Escherichia coli* 25922 Bakteri İnkübe Edilmiş Numune SEM Görüntüsü **(b)** Kontrol Numunesi SEM Görüntüsü

10. SONUÇLAR

- 1) AZ31 ve AM60 magnezyum alaşımları ile yapılan çalışmalar sonucu, bakterilerin yüzeye tutunma işlemini gerçekleştirebildikleri gözlenmiştir.
- 2) Farklı kültür konsantrasyonları ile yapılan çalışmalar sonucu, bazı grup bakterilerin malzeme yüzeyine tutunarak yüzeyde ekstrasellüler polimerik yapısını oluşturmaya başladıkları, fakat biyofilm oluşumu için yeterli birikimi sağlayamadıkları gözlenmiştir.
- 3) Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri ile bakterilerin yüzeye tutunma işlemini gerçekleştirebilmelerine rağmen yapılarında düzensizlik olduğu tespit edilmiştir. Bakterilerin oluşturdukları bu yapının bakterilerin numune ile etkileşimi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Kültür ortamının bakteriler için uygun çevre koşulunu oluşturamamış olması ise bakterilerin bu yapıyı oluşturma nedenlerinden biri olarak düşünülebilir.
- 4) Taramalı elektron mikroskobu ve EDS analizi ile yapılan incelemeler, Al, Mn ve Zn içeren magnezyum alaşımlarının sulu ortamlarda yüzeylerinde ikincil bileşenlerce zengin koruyucu bir film tabakası oluşturduklarını göstermektedir.
- 5) Belirlenen deney koşullarında yapılan çalışmalar sonucu, bakteri ekimi yapılan malzeme yüzeylerinde korozyon sonucu homojen olmayan bölgesel çukurlar olduğu gözlenmiştir.
- 6) Genel olarak AZ31 numunesinde oluşan çukurcuklar daha sınırlı bölgelerde oluşmasına rağmen, boyutları ve derinliği AM60 alaşımlarına göre büyük farklılık göstermektedir. Korozyon oluşumu daha belirgin bir şekilde ortaya çıkmıştır. Bu sonuç alaşım kompozisyonunun malzeme korozyon direnci üzerindeki etkisini göstermektedir. Magnezyumunun alüminyum ile alaşımlandırılması sonucu korozyon direnci arttığı bilinmektedir. Aynı oluşum tüm AZ31 numunelerinde gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] **Nandakumar, K., Sreekumari, K.R., Kikuchi, Y.**, 2002, Antibacterial Properties of Magnesium Alloy AZ31B: in-vitro Studies using the Biofilm-forming Bacterium *Pseudomonas* sp., *Biofouling*, **18** (2), 129–135.
- [2] **Cetin, E.T., Toreci, K., Ang, O.**, 1973. Genel ve Pratik Mikrobiyoloji, 3. Baskı.
- [3] <http://www.aof.edu.tr/kitap/EHSM/1213/unite03.pdf>.
- [4] **Hermansson, M.**, 1999. The DLVO theory in microbial adhesion, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **14**, 105–119.
- [5] **Dunne, Jr.W.M.** 2002. Bacterial Adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately?, *Clin Microbiol Rev.*, **15**(2), 155–166.
- [6] **Jones, J.F.**, 2005. Examining initial bacterial adhesion: oriented adhesion and surface nanodomains, A Thesis in Chemical Engineering, The Pennsylvania State University, USA.
- [7] **Zobell, C.E.**, 1943. The effect of solid surfaces upon bacterial activity, *J. Bacteriol.*, **46**, 39-56.
- [8] **Temur, D.S., Engin, E.D., Uçankuş Lortlar N., Kaya, A.A.**, 2007. Magnezyum alaşım numunelerine bakteri tutunmasının kıyaslamalı incelenmesi, *XVIII. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi*, Eskişehir, Türkiye, Ağustos 26-29.
- [9] **Vandevivere, P., Baveye, P.**, 1992. Effect of Bacterial Extracellular polymers on the saturated hydraulic conductivity of sand columns, *Applied and environmental microbiology*, **58**(5), 1690-1698.
- [10] **Dawson, J.R., Ellen, R.P.**, 1994. Clustering of Fibronectin Adhesins toward *Treponema denticola* Tips upon Contact with Immobilized Fibronectin, *Infection and Immunity*, **62**(6), 2214-2221.
- [11] **Yea-Ling Ong, Razatos, A., Georgiou, G., Sharma, M.M.**, 1999. Adhesion Forces between *E. coli* Bacteria and Biomaterial Surfaces, *Langmuir*, **15**, 2719-2725.

- [12] **Senechal, A.**, 2003. Initial Stage of adhesion enterococcus faecalis responsible for biofilm formation on medical devices: quantification of bacterial adhesion and measurement of cell-surface interaction, *Master Thesis*, McGill University, Montreal, Canada.
- [13] **An, Y.H., Friedman, R.J.**, 1997. Concise Review of Mechanisms of Bacterial Adhesion to Biomaterial Surfaces, *Journal of Biomedical Materials Research*, **43(3)**, 338-348.
- [14] **Pascual, A.**, 2002. Pathogenesis of catheter-related infections: lessons for new designs, *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **8**, 256–264.
- [15] **Rijnaarts, H.H.M., Norde, W., Bouwer, E.J., Lyklema, J., Zehnder, A.J.B.**, 1995. Reversibility and mechanisms of bacterial adhesion, *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, **4**, 5-22.
- [16] **Jucker, B.A., Harms, H., Zehnder, A.J.B.**, 1996. Adhesion of the Positively Charged Bacterium *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* 70401 to Glass and Teflon, *Journal of Bacteriology*, **178(18)**, 5472-5479.
- [17] **Poortinga, A.T., Bos, R., Norde, W., Busscher, H.J.**, 2002. Electric double layer interactions in bacterial adhesion to surfaces, *Surface Science Reports*, **47**, 1-32.
- [18] **Ofek, I., Hasty, D.L., Doyle, R.J.**, 2003, Bacterial Adhesion to Animal Cells and Tissues, American Society Microbiology, USA.
- [19] **Pringle J.H., Fletcher M.**, 1986. Influence of Substratum Hydration and Adsorbed Macromolecules on Bacterial Attachment to Surfaces, *Applied and environmental microbiology*, **51(6)**, 1321-1325.
- [20] **Oss C.J.V., Good, R.J., Chaudhury, M.K.**, 1986. The Role of van der Waals Forces and Hydrogen Bonds in "Hydrophobic Interactions" between Biopolymers and Low Energy Surfaces, *Journal of Colloid and Interface Science*, **111(2)**, 378-390.
- [21] **Razatos, A., Ong, Y., Sharma M.M., Georgiou, G.**, 1998. Molecular determinants of bacterial adhesion monitored by atomic force microscopy, *Applied Biological Sciences*, **95(19)**, 11059-11064.
- [22] **Palmer, J., Flint, S., Brooks, J.**, 2007. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm, *J Ind Microbiol Biotechnol*, **34**, 577–588.

- [23] **O'Toole, G., Kaplan B.H., Kolter, R.,** 2000. Biofilm Formation as microbial development, *Annual Review of Microbiology*, **54**, 49–79.
- [24] **Kolter, R., Siegele, D.A., Tormo, A.,** 1993. The Stationary Phase of The Bacterial Life Cycle, *Annual Review of Microbiology*, **47**, 855-874.
- [25] **Tsuneda, S., Aikawa, H., Hayashi, H., Yuasa, A., Hirata, A.,** 2003. Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesion onto solid surface, *FEMS Microbiology Letters*, **223**, 287-292.
- [26] **Yu. A. Nikolaev,** 2004. Extracellular Factors of Bacterial Adaptation to Unfavorable Environmental Conditions, *Applied Biochemistry and Microbiology*, **40(4)**, 327–336.
- [27] **Pratt, L.A., Kolter, R.,** 1998. Genetic analysis of Escherichia colibiofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili, *Molecular Microbiology*, **30(2)**, 285–293.
- [28] **Barth, E., Myrvik, Q.M., Wagnert, W., Gristina, A.G.,** 1989. In vitro and in viva comparative colonization of Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis on orthopaedic implant materials, *Biomaterials*, **10**, 325-328.
- [29] **Oga, M., Sugioka, Y., Hobgood, C.D., Gristina, A.G., Myrvik, Q.N.,** 1988. Surgical biomaterials and differential colonization by Staphylococcus epidermidis, *Biomaterials*, **9**, 285-289.
- [30] **Donlan, R.M.,** 2002. Biofilms: Microbial Life on Surfaces, *Emerging Infectious Diseases*, **8(9)**, 881-890.
- [31] **Pedersen, K.,** 1990. Biofilm development of stainless steel and PVC surfaces in drinking water, *Water. Research.*, **24(2)**, 239-243.
- [32] **Busscher, H.J., Poortinga, A.T., Bos, R.,** 1998. Lateral and Perpendicular Interaction Forces Involved in Mobile and Immobile Adhesion of Microorganisms on Model Solid Surfaces, *Current Microbiology*, **37**, 319-323.
- [33] **Baker, A.S., Greenham, L.W.,** 1988. Release of Gentamicin from Acrylic Bone Cement, Elution and Diffusion Studies, *Journal of bone and joint surgery*, **70(10)**, 1551-1557.

- [34] **Bendinger, B., Rijnaarts, H.H.M., Altendorf, K., Zehnder, A.J.B.**, 1993. Physicochemical Cell Surface and Adhesive Properties of Coryneform Bacteria Related to the Presence and Chain Length of Mycolic Acids, *Applied and environmental microbiology*, **59(11)**, 3973-3977.
- [35] **Van Loosdrecht, M.C.M., Lyklema, J., Norde, W., Schraa, G., Zehnder, A.J.B.**, 1987. Electrophoretic Mobility and Hydrophobicity as a Measure To Predict the Initial Steps of Bacterial Adhesion, *Applied and environmental microbiology*, **53(8)**, 1898-1901.
- [36] **Stenstrom, T.A.**, 1989. Bacterial Hydrophobicity, an Overall Parameter for the Measurement of Adhesion Potential to Soil Particles, *Applied and environmental microbiology*, **55(1)**, 142-147.
- [37] **Shi, L., Ardehali, R., Caldwell, K.D., Valint, P.**, 2000. Mucin coating on polymeric material surfaces to suppress bacterial adhesion, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **17**, 229–239.
- [38] **Fletcher, M., Loeb, G.I.**, 1979. Influence of Substratum Characteristics on the Attachment of a Marine Pseudomonad to Solid Surfaces, *Applied and environmental microbiology*, **37(1)**, 67-72.
- [39] **Rivas, L., Fegan, N., Dykes, G.A.**, 2007. Attachment of Shiga toxigenic Escherichia coli to stainless steel, *International Journal of Food Microbiology*, **115**, 89–94.
- [40] **Fletcher, M., Marshall, K.C.**, 1982. Bubble Contact Angle Method for Evaluating Substratum Interfacial Characteristics and Its Relevance to Bacterial Attachment, *Applied and Environmental Microbiology*, **44(1)**, 184-192.
- [41] **Wimpenny, J., Manz, W., Szewzyk, U.**, 2000. Heterogeneity in biofilms, *FEMS Microbiology Reviews*, **24**, 661-671.
- [42] **Bruinsma, G.M., van der Mei, H.C., Busscher, H.J.**, 2001. Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses, *Biomaterials*, **22**, 3217–3224.
- [43] **Song, G., Atrens, A.**, 2007. Recent Insights into the Mechanism of Magnesium Corrosion and Research Suggestions, *Advanced Engineering Materials*, **9(3)**, 177-183.

- [44] **Dewanti, R., Wong, A.C.L.**, 1995. Influence of cultere conditions on biofilm formation by Escherichia coli O157:H7, *International journal of microbiology*, **26**, 147-164.
- [45] www.pateur.fr, (Aralık 2007).
- [46] **Davies, D.**, 2003. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents, *Nature Reviews Drug Discovery*, **2**, 114-122.
- [47] **Dewanti, R., Wong, A.C.L.**, 1995. Influence of culture conditions on biofilm formation by Escherichia coli O157:H7, *International journal of food Microbiology*, **26**, 147-164.
- [48] **Ghassem, H., Adibi, N.**, 1995. Bacterial corrosion of reformer heat exchangers, *Materials performance*, **34(3)**, 47-50.
- [49] **Beech, I.B., Sunner, J.A., Hiraoka, K.**, 2005. Microbe–surface interactions in biofouling and biocorrosion processes, *International Microbiology*, **8**, 157-168.
- [50] **Costerton, J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E., Korber, D.B., Lappin-Scott, H.M.**, 1995. Microbial biofilms, *Annual Review of Microbiology*, **49**, 711-745.
- [51] **Costerton, J.W., Stewart, P.S., Geenberg, E.P.**, Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections, *Science*, **284**, 1318-1322.
- [52] **Sauer, K., Camper, A.K., Ehrlich, G.D., Costerton, J.W., Davies, D.G.**, 2002. *Pseudomonas aeruginosa* Displays Multiple Phenotypes during Development as a Biofilm, *Journal of Bacteriology*, **184(4)**, 1140-1154.
- [53] **Iverson, W.P.**, 1987. Microbial corrosion of metals, *Advanced in applied microbiology*, **3**, 21-26.
- [54] **Alpsoylu, M.**, 1981. Yeraltı Çelik Boru Hatlarının Katodik Korunması.
- [55] **Doruk, M.**, 1982, Korozyon ve Önlemleri, ODTU, Ankara.
- [56] **Royer, R.A.**, 1999. Anaerobic biocorrosion of steel, *Phd Thesis*, The Phennsylvania State University., United States.
- [57] **Videla, H.A.**, 2001. MIC: An Updated Overview. *International Biodeterioration and Biodegradation*, **48**, 176-201.
- [58] **Song, G.L., Atrens, A.**, 2000. Corrosion Mechanisms of Magnesium Alloys, *Advanced Engineering Materials*, **1(1)**, 11-33.

- [59] **Zhang, W.**, 2005. Corrosion Behaviour of AJ62x and AZ91D magnesium alloys in chlorine media, *M. Sc.Thesis*, Laval University, Quebec, Canada
- [60] **Duygulu, Ö., Oktay, G., Kaya, A.A.**, 2006. Magnezyum Alaşımlarının Otomotiv Sanayisinde Kullanımı, 3. *Otomotiv Teknolojileri Kongresi*, Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye, Haziran 26-28.
- [61] **Zeytin Kazdal, H.**, 1999. Magnezyum Alaşımları: Otomotiv Endüstrisinde Uygulaması ve Geleceği, TÜBİTAK, Gebze.
- [62] **Song, G.**, 2007. Control of biodegradation of biocompatible magnesium alloys, *Corrosion Science*, **49**, 1696–1701.
- [63] **Witte, F., Kaeseb, V., Haferkamp, H., Switzer, E., Meyer-Lindenberg, A., Wirth, C.J., Windhagen, H.**, 2006. In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response, *Biomaterials*, **26**, 3557–35.
- [64] **Staiger, M.P., Pietaka, A.M., Huadmaia, J., Dias, G.**, 2006. Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review, *Biomaterials*, **27**, 1728–1734.
- [65] **Oktay, G.**, 2007. Katdik ark FBB yöntemi ile Ti6Al4V altlık malzemesi üzerine kaplanmış magnezyum morfolojisine bias geriliminin etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [66] **Müller, W.D., Nascimento, M.L., Zeddie, M., Córscoc, M., Gassac, L.M., Lorenzo de Melec, M.A.F.**, 2007. Magnesium and its Alloys as Degradable Biomaterials. Corrosion Studies Using Potentiodynamic and EIS Electrochemical Techniques, *Materials Research*, **10(1)**, 5-10.
- [67] **Polmear, I.J.**, 1995. Metallurgy and Materials Science Light Alloys, Third Edition.
- [68] **Aghion, E., Eliezer, D.**, 2004. Magnesium Alloys Science, Technology and Applications.
- [69] **Kainer, K.U.**, 2003. Magnesium alloys and Technologies, Wiley-VCH GmbH & Co.
- [70] **Das, S.K., Davis, L.A.**, 1988, High Performance Aerospace Alloys via Rapid Solidification Processing, *Materials Science and Engineering*, **98**, 1-12.

- [71] **Song, G., Atrens, A.**, 2003. Understanding Magnesium Corrosion. A Framework for improved alloy performance, *Advanced Engineering Materials*, **5(12)**, 837-858.
- [72] **Shaw, B.A.**, Corrosion resistance of magnesium alloys, *ASM Handbook Volume 13A: Corrosion: Fundamentals, Testing, and Protection*.
- [73] **Song, G., Atrens, A., Wu, X., Zhang, B.**, 1998. Corrosion behaviour of AZ21, AZ501, AZ91 in sodium chloride, *Corrosion Science*, **40(10)**, 1769-1791.
- [74] **Beech, I.B., Sunner, J.**, 2004. Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals, *Current Opinion in Biotechnology*, **15**, 181–186.
- [75] **Beech, I.B.**, 2003. Sulfate-reducing bacteria in biofilms on metallic materials and corrosion, *Microbiology Today*, **30**, 115-117.
- [76] **Cai, H.**, 2006. MIC and titanate conversion coatings on aluminium alloys 2024-T3, Phd Thesis, University of Rhode Island, United States.
- [77] **Jones, D.A.**, 1996. Principles and Prevention of Corrosion. Second Edition.
- [78] **de Damborenea, J.J., Cristóbal, A.B., Arenas, M.A., López, V., Conde, A.**, 2007. Selective dissolution of austenite in AISI 304 stainless steel by bacterial activity, *Materials Letters*, **61(3)**, 821-823.
- [79] **Beech, I.B.**, 2004. Corrosion of technical materials in the presence of biofilms—current understanding and state-of-the art methods of study, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **53**, 177 – 183.
- [80] **Jeffrey, R., Melchers, R.E.**, 2003. Bacteriological influence in the development of iron sulphide species in marine immersion environments, *Corrosion Science*, **45**, 693–714.
- [81] **Ghassem, H., Adibi, N.**, 1995. Bacterial corrosion of reformer heat exchangers, *Materials performance*, **34(3)**, 47.
- [82] **Advincula, M.C., Petersen, D., Rahemtulla, F., Advincula, R., Lemons, J.E.**, 2006. Surface Analysis and Biocorrosion Properties of Nanostructured Surface Sol–Gel Coatings on Ti6Al4V Titanium Alloy Implants, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **80B(1)**, 107-120.
- [83] **Gouda, V.K., Banat, I.M., Riad, W.T., Mansour, S.**, 1993. MIC of UNS N04400 in seawater, *Corrosion*, **49(1)**.

ÖZGEÇMİŞ

Deniz Sultan TEMUR 01.02.1980 yılında Ardahan' da doğmuştur. Lise öğrenimini Kabataş Erkek Lisesi' nde 1999 yılında tamamlamıştır. 2004 yılında Ege Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü' nde lisans programını tamamlamış ve 2006 yılında İ.T.Ü. Kimya Mühendisliği programında yüksek lisans eğitimine başlamıştır. 2005 yılında çalışmaya başladığı TÜBİTAK MAM Malzeme Enstitüsü'nde araştırmacı olarak görevine devam etmektedir.