



**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**316L PASLANMAZ ÇELİĞİNİN MİKROBİYOLOJİK  
KOROZYON DAVRANIŞINA Ag-Cu İYONLARININ  
ETKİSİ**

**Simge ARKAN**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programı**

**Danışman**

**Doç. Dr. Esra İLHAN SUNGUR**

**Haziran, 2015**

**İSTANBUL**

Bu çalışma 16/06/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi:**



Doç. Dr. Esra İLHAN SUNGUR (Danışman)  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



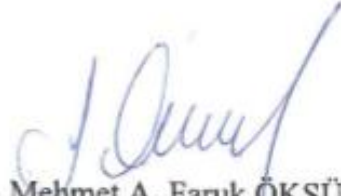
Prof. Dr. Nurhan CANSEVER  
Yıldız Teknik Üniversitesi  
Kimya-Metalurji Fakültesi



Prof. Dr. Ayten KİMİRAN ERDEM  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



Doç. Dr. Pelin ARDA PİRİNÇÇİ  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



Doç. Dr. Mehmet A. Faruk ÖKSÜZÖMER  
İstanbul Üniversitesi  
Mühendislik Fakültesi

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 36473 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim süresince yeni bakış açıları kazanmamı sağlayan, tezimin gerçekleştirilmesinde bana olan güvenini her zaman hissettiren ve tezimin yazım aşamasında fikirleri ve desteği ile yol gösteren danışmanım Sayın Doç. Dr. Esra İLHAN SUNGUR'a,

Lisans öğrenimimden itibaren hayranlıkla örnek aldığım ve yüksek lisans öğrenimim boyunca engin tecrübesi ve bilgisi ile her zaman desteğini gördüğüm Sayın Prof. Dr. Ayşın ÇOTUK'a,

Tez çalışmalarım boyunca değerli fikirleri ve tecrübesi ile bana destek olan, rehberliğine ihtiyaç duyduğum her an yanımda olarak yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Nurhan CANSEVER'e,

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca olumlu eleştirileri ile bana yol gösteren Sayın Prof. Dr. Ayten KİMİRAN ERDEM'e,

Tez çalışmam boyunca biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesi esnasında desteğini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Pelin ARDA PİRİNÇÇİ'ye,

İyonizasyon cihazı ve elektrotlarının teminini sağlayarak tezimin gerçekleştirilmesine olanak sağlayan Link İyonizasyon ve Arıtma Sistemleri San. ve Tic. Ltd. Şti. sahibi Sayın Engin ATASOY'a,

ICP-OES analizleri ile ilgili katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Gülriz BAYÇU, Sayın Uzman Biyolog Istvan CSATARI, Sayın Doç. Dr. Murat BELİVERMİŞ ve Sayın Doç. Dr. Önder KILIÇ'a,

Yüksek lisans öğrenimim boyunca beraber çalıştığımız ve tezimin gerçekleştirilmesi esnasında desteği ile yanımda olan Uzman Biyolog Tuba ÜNSAL İSTEK'e, tez çalışmamın çeşitli aşamalarında yardımlarını esirgemeyen Sayın Araş. Gör. Mustafa KOCABAŞ'a, Sayın Araş. Gör. Dr. Miray ÜSTÜNTÜRK'e, Uzman Biyolog İpek ADA'ya ve diğer tüm çalışma arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca hedeflerimi ve hayallerimi gerçekleştirebilmem için beni cesaretlendiren, her konuda fikirlerime değer veren, mutluluğum için çabalayan ve yüksek lisans öğrenimim boyunca da fedakarca yanımda olan biricik aileme,

en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Tez çalışması kapsamında “2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı” ile TÜBİTAK/BİDEB tarafından destek sağlanmıştır.

**Haziran, 2015**

**Simge ARKAN**

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

|                                                                          |      |
|--------------------------------------------------------------------------|------|
| ÖNSÖZ.....                                                               | i    |
| İÇİNDEKİLER .....                                                        | ii   |
| ŞEKİL LİSTESİ.....                                                       | vii  |
| TABLO LİSTESİ .....                                                      | xii  |
| SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ .....                                          | xiii |
| ÖZET.....                                                                | xiv  |
| SUMMARY .....                                                            | xvii |
| 1. GİRİŞ.....                                                            | 1    |
| 2. GENEL KISIMLAR .....                                                  | 4    |
| 2.1. SOĞUTMA KULESİ .....                                                | 4    |
| 2.2. BİYOFİLM .....                                                      | 6    |
| 2.3. SOĞUTMA KULESİ MALZEMESİ OLARAK 316L PASLANMAZ ÇELİK... 10          |      |
| 2.3.1. 316L Paslanmaz Çelikte Korozyon.....                              | 12   |
| 2.4. SOĞUTMA KULESİ VE MİKROORGANİZMA .....                              | 12   |
| 2.4.1. Soğutma Kulesinde Bulunan Mikroorganizmalar .....                 | 12   |
| 2.4.2. Sülfat İndirgeyen Bakteriler.....                                 | 14   |
| 2.5. KOROZYON .....                                                      | 16   |
| 2.6. MİKROBİYOLOJİK OLARAK DESTEKLENEN KOROZYON (MIC) .....              | 18   |
| 2.6.1. MIC Oluşumunda Mikroorganizmaların Etkileri .....                 | 19   |
| 2.6.2. MIC'e Neden Olan Mikroorganizmalar.....                           | 21   |
| 2.6.3. SRB'lerin Korozyon Mekanizmaları .....                            | 24   |
| 2.7. MİKROBİYOLOJİK KOROZYONUN İNCELENMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER ..... | 27   |
| 2.7.1. Ağırlık Kaybı Yöntemi .....                                       | 28   |
| 2.7.2. Açık Devre Potansiyeli (ADP).....                                 | 28   |
| 2.7.3. Doğru Akım Polarizasyon Yöntemleri .....                          | 29   |
| 2.7.3.1. Potansiyodinamik Tarama Teknikleri .....                        | 29   |
| 2.7.4. Görüntüleme Yöntemleri (SEM, EDS).....                            | 30   |

|                                                                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.8. SOĞUTMA KULELERİNDE KULLANILAN İYİLEŞTİRME YÖNTEMLERİ.....                                                                            | 31        |
| 2.8.1. Mikrobiyolojik Korozyona Karşı Korunma Yöntemleri .....                                                                             | 31        |
| 2.8.2. İyileştirme Yöntemi Olarak Ag-Cu İyonlarının Kullanılması .....                                                                     | 34        |
| <b>3. MALZEME VE YÖNTEM .....</b>                                                                                                          | <b>38</b> |
| 3.1. MİKROORGANİZMA.....                                                                                                                   | 40        |
| 3.2. 316L PASLANMAZ ÇELİK KUPONLARIN HAZIRLANMASI .....                                                                                    | 40        |
| 3.3. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ DENEY DÜZENEGİ .....                                                                                              | 41        |
| 3.3.1. Deney Düzeneklerinin Kurulumu .....                                                                                                 | 41        |
| 3.3.1.1. <i>Ag-Cu iyonlarını İçermeyen Deney Ortamının Hazırlanması</i> .....                                                              | 42        |
| 3.3.1.2. <i>Ag-Cu İyonlarının Üretilmesi ve İyonlu Deney Ortamının Hazırlanması</i> .....                                                  | 43        |
| 3.3.2. Ag-Cu İyonları Yokluğunda ve Varlığında Hazırlanan Deney Ortamları ile Laboratuvar Ölçekli Deney Düzeneklerinin İşletilmesi .....   | 44        |
| 3.3.3. Bakteriyolojik Analiz .....                                                                                                         | 45        |
| 3.3.3.1. <i>Kültürdeki Desulfovibrio sp. Sayısının Tespiti</i> .....                                                                       | 45        |
| 3.3.3.2. <i>Biyofilmdeki Desulfovibrio sp. Sayısının Tespiti</i> .....                                                                     | 45        |
| 3.3.4. EPS Eldesi ve İçeriğindeki Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarlarının Tayini .....                                                | 46        |
| 3.3.4.1. <i>EPS Eldesi</i> .....                                                                                                           | 46        |
| 3.3.4.2. <i>Toplam Karbonhidrat Miktarının Tayini</i> .....                                                                                | 47        |
| 3.3.4.3. <i>Toplam Protein Miktarının Tayini</i> .....                                                                                     | 48        |
| 3.3.5. Ag ve Cu Analizi .....                                                                                                              | 50        |
| 3.3.6. Deney Düzenegindeki Bakteri Kültürünün Kimyasal Parametrelerinin Analizi .....                                                      | 50        |
| 3.3.6.1. <i>Sülfat (<math>SO_4^{-2}</math>)</i> .....                                                                                      | 50        |
| 3.3.6.2. <i>Ortofosfat (<math>PO_4^{-3}</math>)</i> .....                                                                                  | 51        |
| 3.3.6.3. <i>Klorür (<math>Cl</math>)</i> .....                                                                                             | 52        |
| 3.3.6.4. <i>pH Değeri</i> .....                                                                                                            | 52        |
| 3.3.7. Korozyon Hızı Hesabı.....                                                                                                           | 52        |
| 3.3.8. SEM, EDS ve EDS-Elementel Haritalama Analizleri .....                                                                               | 53        |
| 3.4. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ KONTROL DÜZENEGİ.....                                                                                             | 54        |
| 3.4.1. Ag-Cu İyonlarını İçermeyen Deney Ortamının Hazırlanması.....                                                                        | 54        |
| 3.4.2. Ag-Cu İyonlarının Üretilmesi ve İyonlu Deney Ortamının Hazırlanması.....                                                            | 54        |
| 3.4.3. Ag-Cu İyonları Yokluğunda ve Varlığında Hazırlanan Deney Ortamları ile Laboratuvar Ölçekli Kontrol Düzeneklerinin İşletilmesi ..... | 55        |

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.4.4. Ag ve Cu Analizi .....                                                          | 55 |
| 3.4.5. Kontrol Düzeneği Deney Ortamının Kimyasal Parametrelerinin İncelenmesi.....     | 55 |
| 3.4.6. Korozyon Hızı Hesabı.....                                                       | 56 |
| 3.4.7. SEM, EDS ve EDS-Elementel Haritalama Analizleri .....                           | 56 |
| 3.5. ELEKTROKİMYASAL ÖLÇÜMLER .....                                                    | 56 |
| 3.5.1. Elektrokimyasal Deneyler İçin 316L Paslanmaz Çelik Kuponların Hazırlanması..... | 56 |
| 3.5.2. Korozyon Hücresinin Hazırlanması.....                                           | 56 |
| 3.5.3. Korozyon Hücresi Deney Düzenekleri .....                                        | 57 |
| 3.5.3.1. <i>Desulfovibrio sp. Kültür Ortamı</i> .....                                  | 57 |
| 3.5.3.2. <i>Ag-Cu İyonlarını İçeren Desulfovibrio sp. Kültür Ortamı</i> .....          | 57 |
| 3.5.4. Korozyon Hücresi Kontrol Düzenekleri .....                                      | 58 |
| 3.5.4.1. <i>Steril Postgate C Besiyeri Ortamı</i> .....                                | 58 |
| 3.5.4.2. <i>Ag-Cu İyonlarını İçeren Steril Postgate C Besiyeri Ortamı</i> .....        | 58 |
| 3.5.5. Elektrokimyasal Analizler .....                                                 | 58 |
| 3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....                                                         | 59 |
| 3.7. ARAŞTIRMADA KULLANILAN BESİYERLERİ VE KİMYASAL MADDELER .....                     | 60 |
| 3.7.1. Postgate B Besiyeri .....                                                       | 60 |
| 3.7.2. Postgate C Besiyeri .....                                                       | 60 |
| 3.7.3. R2A Agar Besiyeri.....                                                          | 61 |
| 3.7.4. Tiyoglikolat Besiyeri.....                                                      | 61 |
| 3.7.5. Vitamin Solüsyonu.....                                                          | 62 |
| 3.7.6. Protein Tayininde Kullanılan Reaktifler .....                                   | 62 |
| 3.7.6.1. <i>A Reaktifi: %2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></i> .....                      | 62 |
| 3.7.6.2. <i>B Reaktifi: %0.5 CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O</i> .....                | 63 |
| 3.7.6.3. <i>C Reaktifi (Alkali Bakır Çözeltisi)</i> .....                              | 63 |
| 3.7.6.4. <i>E Reaktifi (Folin Reaktifi)</i> .....                                      | 63 |
| 3.7.7. 3N Ayarlı Nitrik Asit Çözeltisi .....                                           | 63 |
| 3.7.8. Fenolftalein İndikatör Çözeltisi .....                                          | 63 |
| 3.7.9. Kondisyonlama Çözeltisi .....                                                   | 64 |
| 3.7.10. Güçlü Asit Çözeltisi .....                                                     | 64 |
| 3.7.11. Amonyum Molibdat Çözeltisi.....                                                | 64 |
| 3.7.12. Kalay Klorür Çözeltisi .....                                                   | 64 |

|                                                                                                                |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.7.13. 5 mM Bakır Sülfat Solüsyonu.....                                                                       | 64         |
| 3.7.14. 50 mM Hidroklorik Asit .....                                                                           | 64         |
| 3.7.15. Korozyon Analizinde Kullanılan Asit Çözeltilisi .....                                                  | 64         |
| <b>4. BULGULAR .....</b>                                                                                       | <b>65</b>  |
| 4.1. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ DENEY DÜZENİĞİ .....                                                                  | 65         |
| 4.1.1. Ag-Cu İyonlarını İçermeyen Deney Ortamı .....                                                           | 65         |
| 4.1.1.1. <i>Bakteriyolojik Analiz</i> .....                                                                    | 67         |
| 4.1.1.2. <i>Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarları</i> .....                                                | 70         |
| 4.1.1.3. <i>Ağırlık Kaybı ve Korozyon Hızı Verileri</i> .....                                                  | 71         |
| 4.1.1.4. <i>EDS Analiz Sonuçları</i> .....                                                                     | 73         |
| 4.1.2. Ag-Cu İyonlarını İçeren Deney Ortamı .....                                                              | 75         |
| 4.1.2.1. <i>Bakteriyolojik Analiz</i> .....                                                                    | 77         |
| 4.1.2.2. <i>Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarları</i> .....                                                | 81         |
| 4.1.2.3. <i>Ag ve Cu Değerleri</i> .....                                                                       | 83         |
| 4.1.2.4. <i>Ağırlık Kaybı ve Korozyon Hızı Verileri</i> .....                                                  | 84         |
| 4.1.2.5. <i>EDS ve Elementel Haritalama Analizi Sonuçları</i> .....                                            | 87         |
| 4.2. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ KONTROL DÜZENİĞİ.....                                                                 | 90         |
| 4.2.1. Ag-Cu İyonlarını İçermeyen Deney Ortamı .....                                                           | 90         |
| 4.2.1.1. <i>Ağırlık Kaybı ve Korozyon Hızı Verileri</i> .....                                                  | 93         |
| 4.2.1.2. <i>EDS Analizi Sonuçları</i> .....                                                                    | 95         |
| 4.2.2. Ag-Cu İyonlarını İçeren Deney Ortamı .....                                                              | 96         |
| 4.2.2.1. <i>Ag ve Cu Değerleri</i> .....                                                                       | 101        |
| 4.2.2.2. <i>Ağırlık Kaybı ve Korozyon Hızı Verileri</i> .....                                                  | 102        |
| 4.2.2.3. <i>EDS ve Elementel Haritalama Analizi Sonuçları</i> .....                                            | 106        |
| 4.3. KOROZYON HÜCRESİ.....                                                                                     | 108        |
| 4.3.1. Ag-Cu İyonlarını İçermeyen Steril Postgate C Besiyeri ve <i>Desulfovibrio</i><br>sp. Kültür Ortamı..... | 108        |
| 4.3.1.1. <i>Elektrokimyasal Ölçümler</i> .....                                                                 | 108        |
| 4.3.1.2. <i>SEM ve EDS Analizi Sonuçları</i> .....                                                             | 110        |
| 4.3.2. Ag-Cu İyonlarını İçeren Steril Postgate C Besiyeri ve <i>Desulfovibrio</i> sp.<br>Kültür Ortamı .....   | 112        |
| 4.3.2.1. <i>Elektrokimyasal Ölçümler</i> .....                                                                 | 112        |
| 4.3.2.2. <i>SEM, EDS ve Elementel Haritalama Analizi Sonuçları</i> .....                                       | 115        |
| <b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>                                                                              | <b>117</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                                                         | <b>134</b> |

|                      |            |
|----------------------|------------|
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b> | <b>147</b> |
|----------------------|------------|

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa No

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1: Açık sistem soğutma kulesi.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 5  |
| Şekil 2.2: Yüzeylerde biyofilm oluşumu (Simoes ve Simoes, 2013). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 7  |
| Şekil 2.3: Bazı SRB türlerine ait faz-kontrast fotoğrafları; a) <i>Desulfovibrio desulfuricans</i> (hücre çapı yaklaşık 0.7 µm'dir), b) <i>Desulfonema limicola</i> (hücre çapı yaklaşık 3 µm'dir), c) <i>Desulfobulbus propionicus</i> (hücre çapı yaklaşık 1.2 µm'dir), d) <i>Desulfobacter postgatei</i> (hücre çapı yaklaşık 1.5 µm'dir), e) <i>Desulfosarcina variabilis</i> (hücre çapı yaklaşık 1.25 µm'dir), f) <i>Desulfuromonas acetoxidans</i> (hücre çapı yaklaşık 0.6 µm'dir)..... | 15 |
| Şekil 2.4: Mikrobiyal yüzey filmi altında havalandırma hücresi oluşumu.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 20 |
| Şekil 2.5: Katodik depolarizasyon teorisi ile SRB'lerin metallerdeki korozyonu; I) demirin çözünmesi, II) suyun çözünmesi, III) proton indirgenmesi, IV) bakteriyal sülfatın indirgenmesi, V) sülfid presipitasyonu.....                                                                                                                                                                                                                                                                        | 27 |
| Şekil 3.1: Deney düzenekleri ve yapılan analizler; (a) Laboratuvar ölçekli deney düzeneği, (b) Laboratuvar ölçekli kontrol düzeneği, (c) Korozyon hücresi. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 39 |
| Şekil 3.2: 316L paslanmaz çelik kupon; (a) makroskopik görüntüsü, (b) optik mikroskop görüntüsü. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 41 |
| Şekil 3.3: Glovebox içerisindeki taşıyıcı düzenek, eküvyon çubuklara asılı metal kuponlar ve içerisinde deney ortamı bulunan beherden oluşan laboratuvar ölçekli düzenekler; (a) laboratuvar ölçekli kontrol düzeneğindeki besiyeri (düzeneğin üstünün açık şekli), (b) laboratuvar ölçekli deney düzeneğindeki <i>Desulfovibrio</i> sp. kültürü (düzeneğin üstünün kapalı şekli).....                                                                                                          | 43 |
| Şekil 3.4: SRB izolasyonunda kullanılan Postgate B besiyeri; (a) ekim yapılmamış, (b) SRB pozitif.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 46 |
| Şekil 3.5: Fenol sülfürik asit yöntemi ile standart glukoz konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 48 |
| Şekil 3.6: Lowry yöntemi ile standart protein konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 49 |
| Şekil 3.7: Turbidimetrik yöntem ile standart $SO_4^{-2}$ konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 51 |
| Şekil 3.8: Kalay klorür yöntemi ile standart $PO_4^{-3}$ konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 52 |

|                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 4.1:</b> Deney düzeneğindeki <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamının $\text{SO}_4^{-2}$ ve $\text{PO}_4^{-3}$ miktarlarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                            | 66 |
| <b>Şekil 4.2:</b> <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasının SEM fotoğrafları; (a, b) 8. sa'da, (c, d) 144. sa'da, (e, f) 720. sa'da. ....                | 67 |
| <b>Şekil 4.3:</b> Deney süresince kültür ortamındaki ve biyofilmdeki <i>Desulfovibrio</i> sp. bakterisinin üreme eğrisi.....                                                                                                                  | 68 |
| <b>Şekil 4.4:</b> Kültür ve biyofilmdeki <i>Desulfovibrio</i> sp. sayıları ile $\text{SO}_4^{-2}$ miktarlarındaki zamana bağlı değişimler. ....                                                                                               | 69 |
| <b>Şekil 4.5:</b> Kültür ve biyofilmdeki <i>Desulfovibrio</i> sp. sayıları ile $\text{PO}_4^{-3}$ miktarlarındaki zamana bağlı değişimler. ....                                                                                               | 70 |
| <b>Şekil 4.6:</b> Biyofilmdeki karbonhidrat ve protein miktarlarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                                                                                              | 71 |
| <b>Şekil 4.7:</b> Deney düzeneğindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının ve korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                                                 | 72 |
| <b>Şekil 4.8:</b> 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının ve protein miktarlarının zamana bağlı değişimi.. ....                                                                                                                  | 73 |
| <b>Şekil 4.9:</b> <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi; (a) 8. sa'da, (b) 144. sa'da, (c) 720. sa'da. ....                           | 74 |
| <b>Şekil 4.10:</b> İyonlu <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamındaki $\text{SO}_4^{-2}$ miktarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                                                               | 76 |
| <b>Şekil 4.11:</b> Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında <i>Desulfovibrio</i> sp. kültüründeki $\text{PO}_4^{-3}$ miktarlarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                                 | 77 |
| <b>Şekil 4.12:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasının SEM fotoğrafları; (a) 8. sa'da, (b) 144. sa'da, (c) 720. sa'da..... | 78 |
| <b>Şekil 4.13:</b> Deney süresince iyonlu kültür ortamındaki ve biyofilmdeki <i>Desulfovibrio</i> sp. bakterisinin üreme eğrisi.....                                                                                                          | 79 |
| <b>Şekil 4.14:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kültür ortamlarındaki planktonik <i>Desulfovibrio</i> sp. bakterisinin üreme eğrisi. ....                                                                                             | 80 |
| <b>Şekil 4.15:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kültür ortamlarındaki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeyindeki sesil <i>Desulfovibrio</i> sp. bakterisinin üreme eğrisi.....                                                       | 81 |
| <b>Şekil 4.16:</b> Ag-Cu iyonları varlığında oluşan biyofilmdeki karbonhidrat ve protein miktarlarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                                                            | 82 |
| <b>Şekil 4.17:</b> Ag-Cu iyonları içeren ve içermeyen <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamlarında oluşan biyofilmdeki karbonhidrat miktarlarının zamana bağlı değişimi.....                                                                  | 82 |
| <b>Şekil 4.18:</b> Ag-Cu iyonları içeren ve içermeyen <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamlarında oluşan biyofilmdeki protein miktarlarının zamana bağlı değişimi.....                                                                       | 83 |

|                                                                                                                                                                                                                                     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 4.19:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamında oluşan biyofilmdeki Ag ve Cu konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi.....                                                                   | 84  |
| <b>Şekil 4.20:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamındaki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi.....                                          | 85  |
| <b>Şekil 4.21:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kültür ortamlarındaki deney kuponlarının ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi.....                                                                                    | 86  |
| <b>Şekil 4.22:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kültür ortamlarındaki deney kuponlarının korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                                    | 87  |
| <b>Şekil 4.23:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren <i>Desulfovibrio</i> sp. kültüründeki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi ve elementel haritalaması; (a) 8. sa'da, (b) 144. sa'da. .... | 88  |
| <b>Şekil 4.23 (devam):</b> Ag-Cu iyonlarını içeren <i>Desulfovibrio</i> sp. kültüründeki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi ve elementel haritalaması; (c) 720. sa'da.....        | 89  |
| <b>Şekil 4.24:</b> Kontrol düzeneğindeki iyon içermeyen steril Postgate C besiyerinin $SO_4^{-2}$ ve $PO_4^{-3}$ değerlerinin zamana bağlı değişimi.....                                                                            | 91  |
| <b>Şekil 4.25:</b> Kontrol ve deney ortamlarındaki $SO_4^{-2}$ değerlerinin zamana bağlı değişimi. ....                                                                                                                             | 92  |
| <b>Şekil 4.26:</b> Kontrol ve deney ortamlarındaki $PO_4^{-3}$ değerlerinin zamana bağlı değişimi. ....                                                                                                                             | 92  |
| <b>Şekil 4.27:</b> İyon içermeyen kontrol düzeneğindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının ve korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                     | 93  |
| <b>Şekil 4.28:</b> Steril Postgate C besiyerindeki $SO_4^{-2}$ değerlerinin ve 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                     | 94  |
| <b>Şekil 4.29:</b> Steril Postgate C besiyerindeki $PO_4^{-3}$ değerlerinin ve 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                     | 94  |
| <b>Şekil 4.30:</b> Kontrol ve deney düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                                               | 95  |
| <b>Şekil 4.31:</b> Kontrol düzeneğindeki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan film tabakasının EDS analizi; (a) 8. sa'da, (b) 720. sa'da. ....                                                                       | 96  |
| <b>Şekil 4.32:</b> Kontrol düzeneğindeki Ag-Cu iyonlarını içeren steril Postgate C besiyerinin $SO_4^{-2}$ ve $PO_4^{-3}$ değerlerinin zamana bağlı değişimi. ....                                                                  | 98  |
| <b>Şekil 4.33:</b> Kontrol ve deney düzeneklerindeki Ag-Cu iyonlarını içeren deney ortamlarındaki $SO_4^{-2}$ değerlerinin zamana bağlı değişimi.....                                                                               | 99  |
| <b>Şekil 4.34:</b> Kontrol ve deney düzeneklerindeki Ag-Cu iyonlarını içeren deney ortamlarındaki $PO_4^{-3}$ değerlerinin zamana bağlı değişimi.....                                                                               | 99  |
| <b>Şekil 4.35:</b> Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında kurulan kontrol düzeneklerindeki steril Postgate C besiyerine ait $SO_4^{-2}$ değerlerinin zamana bağlı değişimi. ....                                                   | 100 |

|                                                                                                                                                                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 4.36:</b> Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında kurulan kontrol düzeneklerindeki steril Postgate C besiyerine ait $PO_4^{3-}$ değerlerinin zamana bağlı değişimi. ....                                                           | 101 |
| <b>Şekil 4.37:</b> İyonlu kontrol düzeneğindeki kuponlardan elde edilen filmlerdeki Ag ve Cu miktarlarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                                                      | 102 |
| <b>Şekil 4.38:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren kontrol düzeneğindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının ve korozyon hızlarının zamana bağlı değişimleri. ....                                                                 | 103 |
| <b>Şekil 4.39:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren kontrol ve deney düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                               | 104 |
| <b>Şekil 4.40:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren kontrol ve deney düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                                | 104 |
| <b>Şekil 4.41:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kontrol düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                           | 105 |
| <b>Şekil 4.42:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kontrol düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. ....                                                                            | 106 |
| <b>Şekil 4.43:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren steril Postgate C besiyerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi ve elementel haritalaması; (a) 8. sa'da, (b) 720. sa'da. ....               | 107 |
| <b>Şekil 4.44:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen steril Postgate C besiyeri ve <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların ADP değerlerinin zamana bağlı değişimi. ....              | 109 |
| <b>Şekil 4.45:</b> Steril Postgate C besiyeri ve <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların potansiyodinamik polarizasyon eğrileri. ....                                                   | 110 |
| <b>Şekil 4.46:</b> <i>Desulfovibrio</i> sp. kültürüne maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların SEM fotoğrafları. ....                                                                                                                | 111 |
| <b>Şekil 4.47:</b> 720. sa sonunda 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi; (a) steril Postgate C besiyerindeki kuponlar, (b) <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamındaki kuponlar. ....       | 112 |
| <b>Şekil 4.48:</b> Ag-Cu iyonları içeren steril Postgate C besiyeri ve <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların potansiyodinamik polarizasyon eğrileri. ....                             | 113 |
| <b>Şekil 4.49:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen steril Postgate C besiyeri ve <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların 8. sa'daki potansiyodinamik polarizasyon eğrileri. ....   | 114 |
| <b>Şekil 4.50:</b> Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen steril Postgate C besiyeri ve <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların 720. sa'daki potansiyodinamik polarizasyon eğrileri. .... | 114 |
| <b>Şekil 4.51:</b> Ag-Cu iyonları içeren <i>Desulfovibrio</i> sp. kültürüne maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların SEM fotoğrafları. ....                                                                                          | 115 |

**Şekil 4.52:** Ag-Cu iyonlarını içeren ortamlardaki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde 720 sa sonunda oluşan korozyon ürünlerinin EDS ve elementel haritalama analizleri; (a) iyonlu steril Postgate C besiyeri, (b) *Desulfovibrio* sp. kültürü.....116

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa No

|                                                                                                                                                                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tablo 2.1:</b> Mikrobiyolojik korozyon ile yaygın olarak ilişkilendirilen mikroorganizmalar. ....                                                                                                                                     | 22  |
| <b>Tablo 2.2:</b> SRB'ler için önerilen korozyon mekanizmaları. ....                                                                                                                                                                     | 25  |
| <b>Tablo 3.1:</b> 316L paslanmaz çeliğin kimyasal bileşimi. ....                                                                                                                                                                         | 41  |
| <b>Tablo 4.1:</b> Deney süresince deney düzeneğindeki <i>Desulfovibrio</i> sp. kültürünün $\text{SO}_4^{-2}$ , $\text{PO}_4^{-3}$ ve pH değerleri. ....                                                                                  | 66  |
| <b>Tablo 4.2:</b> Deney süresince deney ve kontrol düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızı verileri. ....                                                                                    | 72  |
| <b>Tablo 4.3:</b> Deney süresince deney düzeneğindeki iyonlu <i>Desulfovibrio</i> sp. kültürünün $\text{SO}_4^{-2}$ , $\text{PO}_4^{-3}$ ve pH değerleri. ....                                                                           | 75  |
| <b>Tablo 4.4:</b> Deney süresince Ag-Cu iyonlarını içeren deney ve kontrol düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların, ağırlık kayıpları ve korozyon hızı verileri. ....                                                           | 85  |
| <b>Tablo 4.5:</b> Deney süresince kontrol düzeneğindeki besiyerinin $\text{SO}_4^{-2}$ , $\text{PO}_4^{-3}$ ve pH değerleri. ....                                                                                                        | 90  |
| <b>Tablo 4.6:</b> Deney süresince kontrol düzeneğindeki iyonlu steril Postgate C besiyerinin $\text{SO}_4^{-2}$ , $\text{PO}_4^{-3}$ ve pH değerleri. ....                                                                               | 97  |
| <b>Tablo 4.7:</b> Deney süresince Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen steril Postgate C besiyeri ve <i>Desulfovibrio</i> sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların ADP ve $E_{\text{kor}}$ değerleri. .... | 108 |

## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

| Simgeler          | Açıklama                  |
|-------------------|---------------------------|
| °C                | : Santigrat               |
| cm <sup>2</sup>   | : Santimetrekare          |
| dk                | : Dakika                  |
| g                 | : Gram                    |
| h/cm <sup>2</sup> | : Hücre/santimetrekare    |
| h/ml              | : Hücre/mililitre         |
| l                 | : Litre                   |
| mg                | : Miligram                |
| ml                | : Mililitre               |
| mm                | : Milimetre               |
| N                 | : Normal                  |
| nm                | : Nanometre               |
| ppm               | : Milyonda bir            |
| rpm               | : Dakikadaki devir sayısı |
| sa                | : Saat                    |
| sn                | : Saniye                  |
| µg                | : Mikrogram               |
| µl                | : Mikrolitre              |
| µm                | : Mikrometre              |

| Kısaltmalar | Açıklama                                                       |
|-------------|----------------------------------------------------------------|
| ADP         | : Açık devre potansiyeli                                       |
| EDS         | : Enerji dağılım spektroskopisi                                |
| EPS         | : Hücre dışı polimerler                                        |
| ICP-OES     | : İndüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi |
| MIC         | : Mikrobiyolojik olarak desteklenen korozyon                   |
| SEM         | : Taramalı elektron mikroskobu                                 |
| SRB         | : Sülfat indirgeyen bakteriler                                 |
| TÇM         | : Toplam çözünmüş madde                                        |

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### 316L PASLANMAZ ÇELİĞİNİN MİKROBİYOLOJİK KOROZYON DAVRANIŞINA Ag-Cu İYONLARININ ETKİSİ

Simge ARKAN

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Esra İLHAN SUNGUR

Mikrobiyolojik korozyon (MIC), mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucunda oluşan korozyon reaksiyonlarıyla metalin bozulmasıdır. Sülfat indirgeyen bakteriler (SRB'ler), MIC'e yol açan en baskın bakteri grubu olarak düşünülmekte ve endüstriyel sistemlerin vazgeçilmez bir parçası olan soğutma kulelerinden sıklıkla izole edilmektedirler. Soğutma kuleleri, atık ısının atmosfere salınımıyla, endüstriyel sistemlere daha düşük sıcaklıklarda su akışı sağlayan ısı değiştiricilerdir. Günümüzde soğutma kulelerinin yapımında, mükemmel korozyon direnci sebebiyle, sıklıkla 316L paslanmaz çelik malzeme tercih edilmektedir. Bununla birlikte, soğutma suyu koşulları ve SRB'lerin mikrobiyal aktiviteleri, paslanmaz çelik sistemlerde yapısal arızalarla sonuçlanan şiddetli korozyona neden olabilir. Özellikle *Desulfovibrio* sp., soğutma kulelerinde en yaygın ve baskın olarak bulunan SRB türüdür. Son yıllarda, hem mikrobiyolojik korozyon hem de biyofilm oluşumunun engellenerek su sistemlerinin iyileştirilmesi amacıyla, biyositlere alternatif olarak Ag-Cu iyonizasyon sistemi kullanılmaktadır. Ag-Cu iyonları sinerjistik etkiyle bakterileri inaktive etmektedir. Bu süreçte Cu iyonları hücre zarını güçsüzleştirirken, Ag iyonları hücresel proteinlere bağlanmaktadır.

Bu çalışmadaki hedefimiz, *Desulfovibrio* sp. varlığında 316L paslanmaz çeliğin mikrobiyolojik korozyonuna Ag-Cu iyonlarının etkisini belirlemek ve ayrıca, Ag-Cu iyonlarının paslanmaz çelikte kimyasal korozyona yol açıp açmadığını tespit etmektir.

Deneyler, laboratuvar ölçekli deney düzeneği, laboratuvar ölçekli kontrol düzeneği ve korozyon hücresi olmak üzere üç farklı düzenekte gerçekleştirilmiştir. Deney

düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponlar 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa süresince, Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen *Desulfovibrio* sp. kültürlerine maruz bırakılmıştır. *Desulfovibrio* sp. içermeyen steril besiyeri ile Ag-Cu iyonları varlığında ve yokluğunda kurulan kontrol düzenekleri, deney düzenekleri ile eş zamanlı olarak çalıştırılmıştır. Her örnekleme saatinde deney düzeneklerden *Desulfovibrio* sp. sayımı, ağırlık kaybı yöntemi ile korozyon hızı ölçümü, hücre dışı polimerik maddelerden (EPS'den) karbonhidrat ve protein analizi için kuponlar çıkartılmış ve ayrıca kültürün bazı kimyasal parametreleri ( $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ , pH) belirlenmiştir. Kontrol düzeneklerinde, ağırlık kaybı yöntemi ve besiyerinde kimyasal parametrelerin belirlenmesi, deney düzenekleri ile eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiştir. Hem deney hem kontrol düzeneklerinde, iyonlu deney ortamına maruz bırakılan kuponların biyofilm/film tabakalarındaki Ag ve Cu iyonlarının konsantrasyonu indüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) analizi ile ölçülmüştür. Elektrokimyasal deneyler Ag-Cu iyonları varlığında ve yokluğunda steril Postgate C besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarını içeren korozyon hücresinde gerçekleştirilmiştir. Açık devre potansiyeli (ADP) ve potansiyodinamik polarizasyon eğrileri ile 316L paslanmaz çeliğin bu ortamlardaki korozyon davranışı elektrokimyasal olarak incelenmiştir. Laboratuvar ölçekli düzenekler ve korozyon hücresindeki kuponların yüzeyindeki biyofilm/film oluşumu ve korozyon ürünleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve enerji dağılım spektroskopisi (EDS) analizleri ile araştırılmıştır. Ek olarak, Ag ve Cu iyonlarının kuponların yüzeyindeki dağılımları EDS-elementel haritalama analizi ile gözlenmiştir.

SEM analizleri, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin iyonlu ve iyonsuz kültürlerine maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik yüzeylerde, 8 sa inkübasyon sonrası, biyofilm tabakası oluşturduğunu göstermiştir. Ag-Cu iyonlarının, deney düzeneklerindeki planktonik ve sesil *Desulfovibrio* sp. bakteri sayılarında bir azalmaya yol açmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte Ag-Cu iyonlarının, planktonik *Desulfovibrio* sp. bakterisinin büyüme eğrisini etkilediği ve iyonsuz ortama kıyasla ölüm fazına daha erken girmesine neden olduğu gözlenmiştir. Ag-Cu iyonları varlığında *Desulfovibrio* sp. bakterisi tarafından üretilen karbonhidrat ve protein miktarlarının, iyonsuz ortamdan anlamlı derecede daha fazla olduğu saptanmıştır (sırasıyla,  $p < 0.01$  ve  $p < 0.001$ ). Bu durum, Ag-Cu iyonlarının karbonhidrat ve protein üretimini teşvik ettiğinin bir göstergesidir. Ayrıca, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin kendi ürettiği karbonhidrat ve proteini kullandığı da tespit edilmiştir.

Korozyon analizi sonuçları, Ag-Cu iyonları varlığında ve yokluğunda, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çeliği korozyona uğrattığını göstermektedir. İyonlu ve iyonsuz kültürdeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının, zamanla arttığı tespit edilmiştir (sırasıyla,  $p < 0.001$  ve  $p < 0.01$ ). Bununla birlikte, Ag-Cu iyonları varlığında kuponların ağırlık kaybı ve korozyon hızlarının, iyonsuz kültürdeki kuponlardan istatistiksel olarak daha fazla olduğu saptanmıştır (sırasıyla,  $p < 0.001$  ve  $p < 0.001$ ). Bulgular, 0.3 ppm Cu ve 0.13 ppm Ag konsantrasyonunda Ag-Cu iyonlarının *Desulfovibrio* sp. bakterisinin metabolizmasını etkilediğini ve iyonsuz kültürdekinden daha korozif davranmasına yol açtığını göstermektedir.

Ağırlık kaybı ölçümlerinden elde edilen bulguların aksine, elektrokimyasal deneyler Ag-Cu iyonlarının *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çelikte neden olduğu MIC'i azalttığını göstermektedir. Bu durum, metallerin yüzeyinde oluşan korozyon

ürünlerinin elektrokimyasal deneylerin sonuçlarını değiştirebileceğini ve bu nedenle de, kullanılan metale göre deney yöntemlerinin seçilmesi gerektiğini göstermektedir.

Haziran 2015, 166 Sayfa.

**Anahtar kelimeler:** *Desulfovibrio* sp., Mikrobiyolojik korozyon (MIC), Ag-Cu iyonları, 316L paslanmaz çelik, Soğutma kulesi.

## **SUMMARY**

**M.Sc. THESIS**

### **THE EFFECT OF Ag-Cu IONS ON MICROBIOLOGICAL CORROSION BEHAVIOR OF 316L STAINLESS STEEL**

**Simge ARKAN**

**İstanbul University**

**Institute of Graduate Studies in Science and Engineering**

**Department of Biology**

**Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Esra ILHAN SUNGUR**

Microbiologically induced corrosion (MIC) is the deterioration of metal by corrosion reactions that occur as a result of the metabolic activity of microorganisms. Sulphate reducing bacteria (SRB) are considered as the major bacterial group involved in MIC and frequently isolated from cooling towers which are the essential part of industrial systems. Cooling tower is a heat exchanger which provides a water stream at lower temperatures to industrial systems through the release of waste heat to atmosphere. Nowadays, 316L stainless steel is frequently preferred material for the construction of cooling towers due to the excellent corrosion resistance. However, cooling water conditions and microbial activity of SRB may cause severe corrosion resulting in structural failures of the stainless steel systems. Especially, *Desulfovibrio* sp. is one of the most abundant and dominant genus of SRB in the cooling tower water. In recent years, Ag-Cu ionization system is used as an alternative to biocides for preventing both of microbial corrosion and the formation of biofilm in order to improve water systems. Ag and Cu ions deactivate the bacteria as a result of their synergistic effect. In this process, while Cu ions weaken the cell membrane, Ag ions bind the cellular protein of bacteria cell.

The aim of this study is to determine the effect of Ag-Cu ions on microbiologically influenced corrosion of 316L stainless steel in the presence of *Desulfovibrio* sp. and also, establish the effect of Ag-Cu ions on the chemical corrosion of stainless steel.

The experiments were carried out in three different systems such as lab-scaled test system, lab-scaled control system and corrosion cell. 316L stainless steel coupons were

exposed to *Desulfovibrio* sp. cultures with and without Ag-Cu ions during 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 and 720 h in lab-scaled test systems. Control systems containing sterile medium without *Desulfovibrio* sp. in the absence and presence of Ag-Cu ions were set to work simultaneously with test systems. Test coupons were removed at each sampling time for enumeration of *Desulfovibrio* sp., corrosion rate measurement by the weight loss measurement method, carbohydrate and protein analysis from extracellular polymeric substances (EPS) and also established some chemical parameters ( $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ , pH) of cultures. In control systems, weight loss measurement and determination of chemical parameters in the medium were carried out simultaneously with test systems. Concentrations of Ag and Cu ions in the biofilm/film formation on coupons that exposed to experimental media with the presence of Ag-Cu ions in both of test and control systems, were measured by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) analysis. Electrochemical experiments were performed in corrosion cell containing with sterile Postgate's medium C and *Desulfovibrio* sp. cultures in the presence and absence of Ag-Cu ions. The electrochemical behavior of 316L stainless steel was determined by using open circuit potential (OCP) and potentiodynamic polarization curves. Biofilm/film formation and corrosion products on the 316L stainless steel surfaces were investigated by scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectrometry (EDS) analysis in lab-scaled systems and corrosion cell. In addition, the distribution of Ag and Cu ions on coupon surfaces was observed by EDS-elemental mapping analysis.

SEM results demonstrated that *Desulfovibrio* sp. cells formed a biofilm layer on the 316L stainless steel surfaces exposed to the cultures with and without the ions after 8 h incubation. It was found that Ag-Cu ions did not lead a decrease in the bacterial counts of planktonic and sessile *Desulfovibrio* sp. in test systems. However, it was observed that Ag-Cu ions effected the growth curve of planktonic *Desulfovibrio* sp. and caused the entrance of planktonic cells to death phase earlier compared with the ions-free culture. In the presence of Ag-Cu ions, the amounts of carbohydrates and protein produced by *Desulfovibrio* sp. significantly higher than ions-free culture (respectively,  $p < 0.01$  and  $p < 0.001$ ). It indicates that Ag-Cu ions promote production of carbohydrates and protein. It was also found that *Desulfovibrio* sp. had the ability to biodegrade the carbohydrate and protein produced by own.

Corrosion analysis results showed that *Desulfovibrio* sp. was leading to corrosion of 316L stainless steel in the presence and absence of Ag-Cu ions. Weight loss of 316L stainless steel coupons in culture with and without ions increased with time (respectively,  $p < 0.001$  and  $p < 0.01$ ). However, in the presence of Ag-Cu ions weight loss and corrosion rate of coupons statistically higher than ions-free culture (respectively,  $p < 0.001$  and  $p < 0.001$ ). Results showed that Ag-Cu ions with the concentration of 0.3 ppm Cu and 0.13 ppm Ag, effected the metabolism of *Desulfovibrio* sp. and led to be more corrosive than ions-free culture.

In contrast to results obtained from weight loss measurements, electrochemical experiments showed that Ag-Cu ions decreased the MIC of 316L stainless steel caused by *Desulfovibrio* sp.. It indicates that corrosion products formed on metal surfaces may change the results of electrochemical experiments and therefore, test methods should be determined by depending on the metal used in experiment.

June 2015, 166 Pages.

**Keywords:** *Desulfovibrio* sp., Microbiologically influenced corrosion (MIC), Ag-Cu ions, 316L stainless steel, Cooling tower.

## 1. GİRİŞ

Soğutma kuleleri, endüstriyel sistemlere daha düşük sıcaklıklarda su akışı sağlamak amacıyla, atık ısıyı soğutma suyundan uzaklaştırmak için kullanılan ısı değiştiricilerdir (Kazanç, 1992; Choudhary, 1998; Dost, 2009; Cooling Technology Institute, 2014). Özellikle açık sistem soğutma kuleleri, mikroorganizmaların gelişmesini ve çoğalmasını destekleyen ideal koşullara sahiptir (Choudhary, 1998). Sudan veya suyla temas halindeki havadan sisteme giren bakteri, mantar ve algler, soğutma kulesinin iç yüzeylerinde biyofilm tabakasının oluşumuna neden olmaktadır.

Bakteriler yüzeye tutunduktan sonra, sudaki ve yüzey üzerindeki besinleri kullanarak çoğalmaya başlamakta ve hücre dışı polimerik maddeler (EPS) üreterek biyofilmin yapısını güçlendirmektedirler. EPS esas olarak polisakarit olmak üzere protein, lipid ve nükleik asitten oluşmakla birlikte, bakterinin türüne ve büyüme koşullarına göre EPS içeriğindeki maddelerin miktarları ve çeşitleri değişiklik göstermektedir (Beech ve Cheung, 1995). Aynı zamanda EPS'nin, metal iyonları ile kompleks oluşturma yeteneğindedir ve metal iyonlarına bağlanma kapasitesi, korozyonun oluşumu açısından oldukça önem arz etmektedir (Mittleman ve Geesey, 1985; Beech ve Cheung, 1995; Kinzler ve diğ., 2003).

Biyofilm tabakası olgunlaştıkça, içerisinde  $O_2$  gradyanları oluştuğundan soğutma kulesi gibi  $O_2$  konsantrasyonunun çok yüksek olduğu ortamlarda sülfat indirgeyen bakterilerin (SRB'lerin) bulunmasına olanak sağlamaktadır (Choudhary, 1998; İlhan-Sungur ve Çotuk, 2005). Mikrobiyolojik kirliliğe neden olan mikroorganizmalar arasında en dikkat çeken komünite, mikrobiyolojik olarak desteklenen korozyona (MIC'e) sebep olma potansiyelleri yüksek olan SRB'lerdir (Beech ve diğ., 1997; Rao ve diğ., 2000; Miranda ve diğ., 2006). SRB'ler, soğutma kulelerinden sıklıkla izole edilmektedirler. Özellikle *Desulfovibrio* sp., soğutma kulelerinde en yaygın ve baskın olarak bulunan SRB türüdür.

SRB'ler, metabolik aktiviteleri sonucu  $H_2S$  oluşturarak, su soğutma sistemlerinde bulunan birçok metal malzemenin korozyonuna neden olmaktadır (Rao ve diğ., 2005;

Seth ve Edyvean, 2006; Adeeba ve diğ., 2011). Bu bakterilerin oluşturduğu korozyondan, özellikle soğutma sistemlerinin sirkülasyon boruları, su tankları ve ısı değiştiricileri gibi yapılarının zarar gördüğü belirtilmektedir (Puckorius, 1999). Günümüzde soğutma kulelerinde, kullanıldığı endüstriyel sisteme ve kullanılış amacına göre yapılandırma ve uygun malzeme kullanımı mümkündür. Paslanmaz çelik, yüksek krom ve nikel içeriğine sahip olması ve yüzeyinde koruyucu krom oksit film (pasifleştirme tabakası) oluşması nedeni ile iyi bir korozyon direnci sağladığından dolayı sıklıkla soğutma kulelerinin özellikle gövde ve havuz kısımlarının yapımında tercih edilmektedir (Morrison, 2008; Bureau of Energy Efficiency, 2004).

Ağırlık olarak büyük bir kısmı demirden oluşan paslanmaz çeliğin içerdiği nikel, krom ve molibden, farklı kalitelerde paslanmaz çelik elde edilmesinde önemli bir faktördür. 301, 302, 304 ve 316 kalite paslanmaz çelikler, buharlaştırıcı soğutma donanımları için potansiyel uygulanabilir malzemelerdir. Her birindeki nikel, krom ve molibden kompozisyonu, korozyon direnci ve dolayısıyla da soğutma kulesinin ömrünü belirlemektedir (Evapco, 2008). Östenitik krom-nikel çeliğine, molibden ilavesi ile korozyon dayanımı artırılmış olan 316 ve bunun düşük karbonlu tipi olan 316L kalite paslanmaz çelik elde edilmektedir.

Paslanmaz çeliğin yüzeyinde oluşan pasif tabaka mükemmel bir korozyon direnci sağlamasına rağmen, soğutma suyu koşulları ve SRB'lerin mikrobiyal aktivitesi paslanmaz çelik sistemlerinde yapısal arızalarla sonuçlanan şiddetli korozyona neden olabilmektedir. Nitekim klor iyonları ve indirgenmiş sülfür bileşenlerinin paslanmaz çeliğin korozyonuna neden olduğunu rapor eden çalışmalar bulunmaktadır (Xu ve diğ., 2007; Zhang ve diğ., 2007).

Son yıllarda, hem mikrobiyolojik korozyon hem de biyofilm oluşumunu engelleyerek su sistemlerinin iyileştirilmesinin sağlanması amacıyla, biyositlere alternatif olarak Ag-Cu iyonizasyon sistemi kullanılmaktadır. Ag-Cu iyonizasyon teknolojisi, 1960'lı yıllarda Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi (NASA) tarafından uzay araçlarında içme suyu temini ve atık suyun tekrar kullanımı amacıyla yapılan çalışmalar sonucu geliştirilmiştir. Su hijyeni konusunda Amerika'da yaygın olarak kullanılan ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ile Lejyonella Enfeksiyonları Avrupa Çalışma Grubu (EWGLI) tarafından Avrupa Birliği standartlarında ilk sıralarda kullanımı tavsiye edilen bir yöntemdir.

Özellikle bakteriler üzerine yapılan çalışmalarda, Ag-Cu iyonlarının mikroorganizmaların sayılarının azaltılmasında etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Elektrokimyasal olarak istenilen miktarlarda üretilen gümüş ( $\text{Ag}^{+1}$ ) ve bakır ( $\text{Cu}^{+2}$ ) iyonları sinerjistik etki göstererek bakteriyi inaktive etmektedir (Yahya ve Gerba, 1992; Lin ve diğ., 1996). Bu süreçte Cu iyonları hücre zarını güçsüzleştirirken, Ag iyonları hücresel proteinlere bağlanarak hücrenin yaşam sistemini etkisiz hale getirmektedir (Feng ve diğ., 2000).

Etkili, ucuz ve çevre dostu bir su iyileştirme yöntemi olan Ag-Cu iyonizasyon teknolojisinin su sistemlerinde kullanılmaya başlanması zaman almıştır. Ülkemizde, gerek geleneksel dezenfeksiyon yöntemlerine yapılan köklü yatırımın etkisi gerekse dezenfektan uygulamalarının kolaylığı, bu dezenfektanların kontrolsüz kullanımları sonucu meydana gelen sağlık, çevre ve korozyon kaynaklı ekonomik sorunların göz ardı edilmesine neden olmaktadır. Ag-Cu iyonizasyon sistemi hakkında yeterli bilgiye sahip olunmaması ve bilinçsiz kullanımı sebebiyle suyun iyileştirilmesinde etkin bir sonuç alınamaması da, Ag-Cu iyonlarının yaygın kullanımını engellemektedir.

Son yıllarda Ag-Cu iyonizasyon sistemleriyle yapılan çalışmaların genellikle soğutma suyunda bulunan mikroorganizma yoğunluğunun azaltılması ile ilgili olduğu görülmüştür. Yapılan literatür taramaları esnasında Ag-Cu iyonlarının, soğutma kulelerinden sıklıkla izole edilen *Desulfovibrio* sp. bakterisinin gelişimi ve bunun birlikte, kule malzemesi olarak tercih edilen paslanmaz çeliğin korozyon davranışını nasıl etkilediğini rapor eden bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenlerden dolayı bu tez çalışmasında, SRB'lerin soğutma kulelerinden en sık izole edilen türü olarak *Desulfovibrio* sp. bakterisi ve korozyon dayanımının mükemmel olduğu bilinen 316L paslanmaz çelik kuponlar kullanılmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında, saf *Desulfovibrio* sp. varlığında 316L paslanmaz çeliğin mikrobiyolojik korozyonuna Ag-Cu iyonlarının etkisi ile birlikte, Ag-Cu iyonlarının paslanmaz çelikte kimyasal korozyona yol açıp açmadığının incelenmesi hedeflenmiştir. Bu çalışma ile ayrıca, hem geleneksel hem de elektrokimyasal yöntemler kullanılarak, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin Ag-Cu iyonları içeren ve içermeyen ortamlardaki korozyon davranışları incelenmiştir.

## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. SOĞUTMA KULESİ

Soğutma kulesi, endüstriyel sistemlerin çalışması esnasında oluşan ve sistemden uzaklaştırılması gereken atık ısıyı atmosfere vererek, sistemlerdeki su akışının daha düşük sıcaklıklarda gerçekleşmesini sağlayan ısı değiştiricilerdir (Kazanç, 1992; Choudhary, 1998; Cooling Technology Institute, 2014).

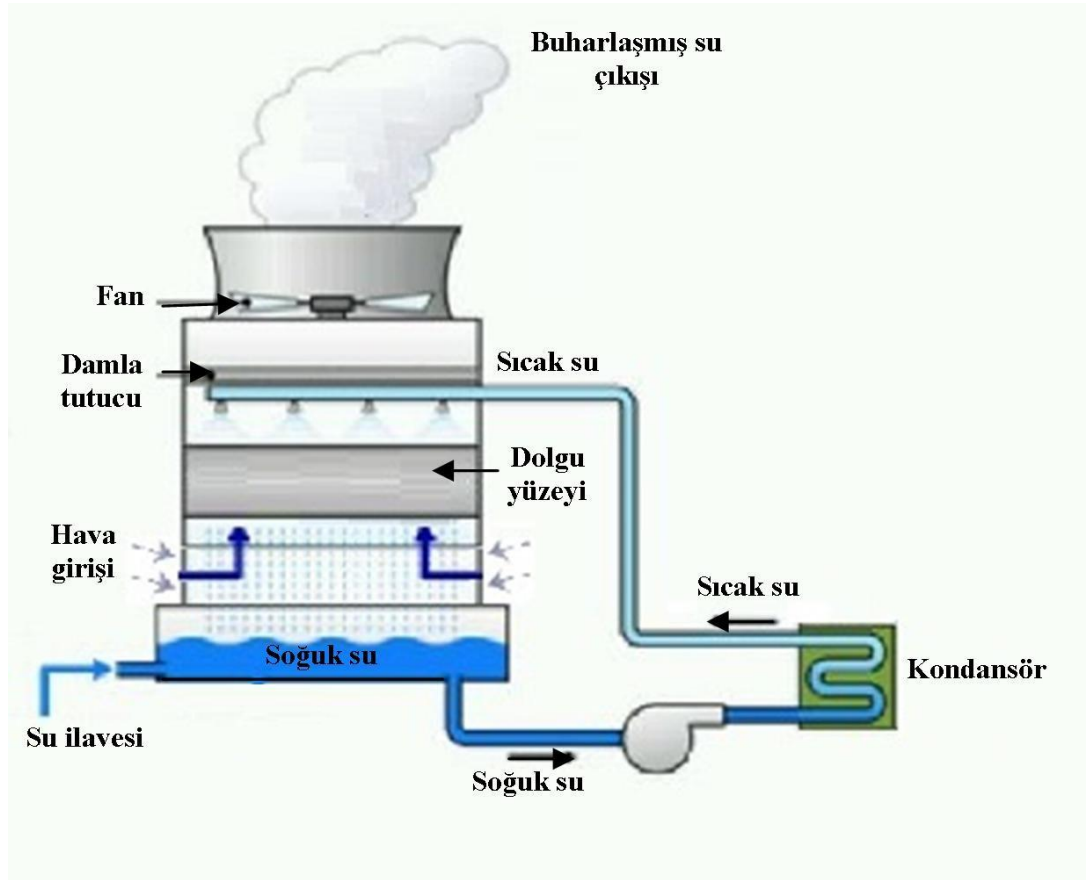
Ticari uygulamalar ile merkezi klimalar, petrol rafinerileri, telekomünikasyon üniteleri ve enerji güç santralleri gibi endüstriyel sistemlerin vazgeçilmez bir parçası olan soğutma kuleleri, sistemden uzaklaştırılması gereken atık ısının, buharlaşma yolu ile sudan atmosfere transferini sağlayarak, ısıtılmış suyun su kaynaklarına bulaşmasını engellemekte ve böylece suyun ekolojik dengesine olan zararın önüne geçilmesini sağlamaktadır. Aynı zamanda soğutma kulelerinde tüketilen su miktarının, farklı mekanik sistemlere kıyasla daha düşük miktarlarda olması da, endüstriyel sistemlerde soğutma kulelerinin sıklıkla tercih edilmesinde önemli bir etkidir (Kazanç, 1992).

Soğutma kulelerinin boyutu, kullanıldığı endüstriyel sisteme ve kullanılış amacına göre farklı ölçülerde olabilmektedir. Günümüzde soğutma kulelerinde, hemen hemen her ihtiyaca uygun yapılandırma ve malzeme kullanımı mevcuttur. Paslanmaz çelik, galvanizli çelik, fiberglas ve beton yaygın olarak tercih edilen malzemelerdendir. Bununla birlikte paslanmaz çelik, yüksek krom ve nikel içeriğine sahip olduğundan dolayı, yüzeyinde koruyucu krom oksit film tabakası (pasifleştirme tabakası) oluşmaktadır. Bu tabakanın iyi bir korozyon direnci sağlaması nedeniyle, soğutma kulelerinin özellikle gövde ve havuz kısımlarının yapımında sıklıkla paslanmaz çelik kullanılmaktadır (Morrison, 2008; Bureau of Energy Efficiency, 2004).

Temel olarak, kapalı ve açık sistem olmak üzere iki tip soğutma kulesi bulunmaktadır (Kazanç, 1992). Kapalı sistem (indirek temaslı) soğutma kulelerinde; sıcak su soğutma kulesinde bir boru içinde hareket etmekte ve suyun sıcaklığı borunun dışındaki dış çevrim suyu ve hava akışı yolu ile düşürülmektedir. İç çevrimdeki su, hiçbir zaman atmosferle doğrudan temas etmediğinden, havadan gelebilecek toz ve kirlilik ile de

bulaşma tehlikesi bulunmamaktadır (Kazanç, 1992). Kapalı sistem soğutma kulelerinde amaç, sabit hacimde akışkan ile sürekli olarak sistem soğutmasının sağlanmasıdır. Burada buharlaşma olmadığından su kaybı da olmamaktadır (Dost, 2009).

Açık sistem (direk temaslı) soğutma kulelerinde; kule suyu doğrudan açık havaya maruz kalmakta ve sistemden uzaklaştırılması gereken atık ısı, suyun buharlaşması yolu ile havaya transfer edilmektedir (Şekil 2.1). Sistemde havanın sirkülasyonu bir fan aracılığı ile sağlanmaktadır. Hava sirkülasyonuna bağlı olarak, çapraz veya ters akımlı ısı transferi sağlanarak su yukarıdan aşağıya doğru akmakta ve böylece ısı havaya transfer olmaktadır. Sürekli olarak yukarıdan aşağıya doğru akan su, kulenin tabanında birikmekte ve soğumuş olarak tekrar sisteme geri pompalanmaktadır. Bu sirkülasyon esnasında fan aracılığıyla patojen bakterileri içeren solunabilir aerosoller üretilmektedir (Choudhary, 1998; Kazanç, 1992).



Şekil 2.1: Açık sistem soğutma kulesi.

Su ile havanın bağıl ısı seviyeleri arasındaki fark, suyun bir kısmının buharlaşmasına neden olmaktadır. Bununla birlikte su içerisindeki çözünmüş maddeler buharlaşmamaktadır. Bu durum, suda bulunan toplam çözünmüş maddelerin (TÇM) konsantrasyonunda ve dolayısıyla da elektriksel iletkenlikte bir artışa neden olmaktadır. TÇM konsantrasyonundaki bu artış, sistemdeki ısı değişimleri ve suyun sistem metalleri üzerine doğal etkisiyle bir araya geldiği zaman, sudan kaynaklanan birçok probleme neden olmaktadır. Bu durumu kontrol altında tutabilmek için düzenli olarak sistemden su boşaltılmakta, buharlaşan ve boşaltılan su miktarı kadar sisteme taze su eklenmektedir (Kazanç, 1992; Choudhary, 1998; Lane ve Peck, 2003). Nitekim soğutma kulelerinin verimli çalışabilmesi açısından, kule suyunun fiziksel, kimyasal ve biyolojik parametrelerinin belirli değerler içerisinde olması önerilmektedir (Electric Power Research Institute, 2003).

Açık sistem soğutma kuleleri, mikroorganizmaların gelişmesini ve çoğalmasını destekleyen ideal koşullara sahiptir. Sudan veya suyla temas halindeki havadan sisteme giren bakteri, mantar ve algler, soğutma kulesinin iç yüzeylerinde biyofilm tabakasının oluşumuna neden olmaktadır. Üstelik biyofilm tabakası, soğutma kulelerinde korozyona neden olan mikroorganizmaların başında gelen SRB'nin bulunabilmesine de olanak sağlamaktadır (Choudhary, 1998; İlhan-Sungur ve Cotuk, 2005).

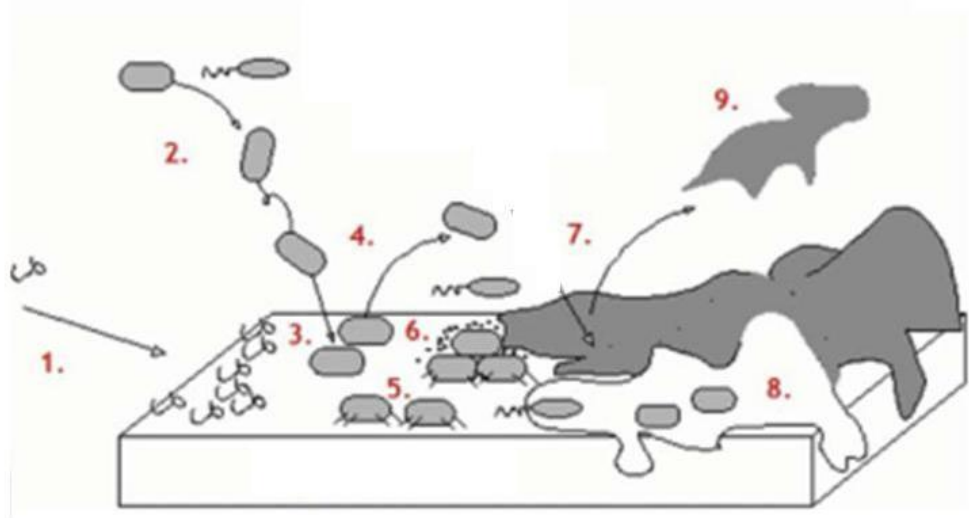
## **2.2. BİYOFİLM**

Biyofilm, geri dönüşümsüz olarak birbirlerine ve/veya bir yüzeye yapışmış, ürettikleri hücre dışı polimerik matriks içerisinde gömülü halde yaşayan ve içerisinde bulundukları bu ortama göre büyüme oranı ve gen transkripsiyonları da değişmiş bir fenotip sergileyen mikroorganizma topluluğu olarak tanımlanmaktadır (Donlan ve Costerton, 2002).

Doğada bakteriler, ortam içerisinde serbest halde dağılmış (planktonik form) veya bir yüzeye tutunmuş (sesil form) halde yaşamaktadırlar. Su ekosisteminde bakterilerin %99'u, serbest halde bulunmak yerine, biyofilm içerisinde yani sesil formda yaşamaktadır (Costerton ve diğ., 1986). Bakterilerin sesil formu tercih etmeleri, tutundukları yüzeyin besin kaynağı olması, suyun akışıyla tutundukları yere besin

maddesi taşınması ya da bol oksijen bulunmasından kaynaklanabilir (Melo ve Bott, 1997).

Biyofilm oluşumu, birbirini takip eden ve fiziksel, kimyasal, biyolojik aşamalardan oluşan kompleks, dinamik bir süreçtir (Şekil 2.2). Bu süreç boyunca, öncelikle organik moleküllerin yüzeye yapışması ile yüzey, bakterilerin tutunmasına hazır hale gelmektedir. Planktonik bakteriler, hareketlerini yavaşlatarak yüzeye yaklaşmakta, yüzeye veya yüzeye daha önceden tutunmuş olan diğer mikroorganizmalarla geçici bir ilişki kurmaktadır. Bakterilerin geri dönüşümlü şekilde yüzeye tutunmasının ardından, belirli bir süre sonunda hala yüzeye yapışık kalabilen hücreler, yüzeye geri dönüşümsüz şekilde tutunmakta ve böylece, yapısal olarak gelişmiş bir biyofilm halini almaktadırlar. Yüzeye geri dönüşümsüz şekilde tutunan bakteriler, sudaki ve yüzey üzerindeki besinleri kullanarak çoğalmaya başlamakta ve EPS üreterek biyofilmin yapısını güçlendirmektedirler. Oluşan yeni hücreler ve diğer tanecikli maddeler, oluşmuş biyofilm tabakasına tutunmaktadırlar. Biyofilm ile ilişkili bakteriler, zamanla biyofilm matriksinden ayrılarak başka bir yerde yeni bir biyofilm tabakası oluşturabilmektedirler (Characklis, 1981; Costerton, ve diğ., 1995; Davey ve O'Toole, 2000).



**Şekil 2.2:** Yüzeylerde biyofilm oluşumu (Simoes ve Simoes, 2013).

Herhangi bir oluşumun biyofilm olarak adlandırılabilmesi için mikroorganizma, yüzey ve EPS bileşenlerine sahip olması gerekmektedir. Temelde bu üç bileşenden oluşan biyofilm tabakasında, oluştuğu yüzeye bağlı olarak mineral kristalleri, korozyon partikülleri, alüminyum veya kil partikülleri, kan komponentleri gibi hücresel olmayan materyaller de bulunabilmektedir (Donlan, 2002). Su, biyofilm matriksinin %97'sini teşkil eden, en önemli bileşendir. EPS, yapısındaki hidrojen bağları sebebi ile büyük miktarda suyu ihtiva edebilmektedir (Sutherland, 2001). Böylece biyofilm matriksindeki su, bakteri hücrelerinin EPS'si içinde bağlanabilir veya bir çözücü olarak da bulunabilmektedir. Bu nedenle biyofilm tabakası jelatinimsi ve kaygan yapıdadır (Sutherland, 2001; Allison, 2003). Su aynı zamanda, biyofilmde meydana gelen difüzyon süreçleri için de gereklidir.

EPS, biyofilmdeki toplam organik karbonun %50-90'ını oluşturması sebebiyle, biyofilmin birincil matriks materyali olarak nitelendirilmektedir. EPS'nin kimyasal ve fiziksel özellikleri değişiklik gösterebilse de, esas olarak polisakarit olmak üzere lipid, nükleik asit ve proteinden oluşmaktadır. Aynı zamanda üronik asitler veya ketal bağlı pirüvatların varlığı ise EPS'ye anyonik özellik kazandırmaktadırlar. Bu özellik, bivalent katyonların ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ) elektrostatik etkileşimini, dolayısıyla da biyofilmde daha yüksek bir bağlanma gücü sağlamaktadır (Flemming ve diğ., 2000). Makromoleküllerin EPS'deki miktarları, bakterinin türüne ve büyüme koşullarına göre değişiklik göstermektedir (Beech ve Cheung, 1995). Biyofilmin temel yapısını, EPS'nin yapısındaki polisakaritlerin bileşimi ve yapısı belirlemektedir. Sutherland (2001), farklı mikroorganizmaların ürettiği EPS miktarlarının farklı olduğunu ve bu miktarların biyofilmin yaşı doğrultusunda arttığını rapor etmiştir.

Biyofilm içinde yaşamak bakterilere çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Biyofilm matriksi, moleküler bir filtre olarak davranıp bakterileri bir örtü gibi sarmaktadır (Dunne, 2002). Biyofilm içerisindeki mikroorganizmaları yakın besin kaynaklarına tutundurma, kuruluğa ve toksik maddelere karşı koruma gibi önemli fonksiyonları bulunmaktadır (Simoes ve diğ., 2010). Ayrıca tabaka, metabolik işbirliği ve kolay gen transferinin sağlanması ile yeni genetik özelliklerin kazanılması, mekanik destek sağlama ve kanallar yardımıyla hızlı madde transferi gibi avantajlar sağlamaktadır (Davey ve O'Toole, 2000; Flemming, 2002). EPS negatif yüklüdür ve büyük miktarlarda besin

molekölünü kendine bağlayabilmektedir (Anwar ve diğ., 1992). Besinsizlik durumunda, bakterilerin EPS tabakasını beslenme amacıyla tüketebildikleri rapor edilmiştir (Zhang ve Bishop, 2003).

EPS'nin bir diğ er önemli özelliğ i de metal iyonları ile kompleks oluşturma yeteneğ idir (Mittleman ve Geesey, 1985; Beech ve Cheung, 1995). EPS'nin bu yeteneğ inden daha çok atık arıtımında toksik metallerin ortamdan uzaklaştırılması işlemlerinde faydalanılmaktadır (Beech ve Cheung, 1995). EPS'nin metal iyonlarına bağlanma kapasitesi, korozyonun oluşumu açısından da önemlidir (Kinzler ve diğ., 2003). Biyofilmdeki bakterilerin ürettiğ i ekzopolisakkaritler, matrikste havalandırma alanları oluşturarak, iyon ve metal bağlayarak metalin korozyon davranışını etkilemektedir (Majumdar ve diğ., 1999). Fonksiyonel gruplar (karboksil, fosfat, sülfat, gliserat, piruvat ve süksinat grupları vb.) içeren ekzopolisakkaritlerin farklı oksidasyon durumlarında,  $Ca^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$  ve  $Fe^{+3}$  gibi metal iyonlarına karşı yüksek afiniteye sahip olması, metalin standart indirgenme potansiyellerinde kaymaya sebep olabilir. Bu tür EPS-bağlı metal iyonları, uygun bir elektron alıcısı ile metal (Fe gibi) veya biyomineralden (FeS gibi) doğrudan elektron transferi gibi yeni bir redoks reaksiyon yol izi oluşturabilir. Bu durum katodik depolarizasyona, böylece de korozyonunun artmasına neden olabilir (Beech ve Sunner, 2004).

Biyofilm oluşumunun tesadüf i bir olay olmadığı, bir araya gelen farklı türlerin belirli bir ortak amaç taşıdıkları rapor edilmiştir (Costerton, 1999). Biyofilm yapısındaki EPS tabakasının en önemli ekolojik üstünlüğü, farklı mikroorganizmaları uzun bir süre bir arada tutabilmesidir. Doğadaki bazı mikroorganizmaların biyofilm oluşturma eğiliminin fazla olduğu belirtilmiş ve yaygın olarak biyofilm oluşturan bakterilerin *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* ve *Staphylococcus* cinslerine ait olduğu rapor edilmiştir (Choudhary, 1998). Karışık türlerden oluşan biyofilmler çoğu ortamda baskın olarak bulunmalarına rağmen, çeşitli enfeksiyon ve medikal implantların yüzeyinde oluşan biyofilmlerin tek türden oluşması, tek tür biyofilmlerin güncel araştırmaların odak noktası konumunda olmasına neden olduğu da rapor edilmiştir (O'Toole ve diğ., 2000).

Biyofilm yapısındaki mikroorganizmalar gerek patojen olmaları gerekse kimyasal ve biyolojik reaksiyonları katalize edebilmeleri gibi nedenlerden dolayı, su soğutma

sistemleri, ilaç ve besin endüstrisi, petrol, gaz, gemicilik ve inşaat gibi birçok endüstriyel sektörde, sağlık ve güvenlik riski ile birlikte büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Flemming, 1996). Aynı zamanda boru hatları ve tanklarda metal korozyonuna neden olmakta, ısı değiştiricilerde, kondenser tüplerde, soğutma dolgu malzemelerinde, su ve atık su devrelerinde ısı kaybı ve tıkanmalara da neden olabilmektedir (Costerton ve diğ., 1986; Mittelman, 1998; Ceyhan ve Ozdemir, 2008; Rao ve diğ., 2009). Özellikle soğutma kulelerinde, mikroorganizma üremesinin kontrol altına alınmasının yanı sıra, korozyona dayanıklılığını arttırabilmek için uygun paslanmaz çelik ve galvanizli çelik malzemeler tercih edilmektedir.

### **2.3. SOĞUTMA KULESİ MALZEMESİ OLARAK 316L PASLANMAZ ÇELİK**

Soğutma kulesi yapımında, kurulacak sistemin kullanım amacı, uzun ömürlü olabilmesi, çevrenin korozyonlu, hangi tür korozyonun beklendiği ve hangi oranda korozyonun kabul edilebilir olduğu, sistemin kurulacağı bölgenin coğrafik durumu, atmosferik koşulları, atmosferin nem ve kirlilik derecesi, sistemde kullanılacak suyun korozyon parametreleri (sertliği,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$  ve  $PO_4^{3-}$  iyonları vb.), suyun sıcaklığı, basıncı ve akım hızı, sistemin çalışma koşullarında bulunabilecek kimyasal maddelerin türü gibi etkenler sistemde kullanılacak malzemenin belirlenmesinde etkili parametrelerdir (Erbil, 2012).

Günümüzde soğutma kulelerinde, hemen hemen her ihtiyaca uygun yapılandırma ve malzeme kullanımı mevcuttur. Paslanmaz çelik, galvanizli çelik, fiberglas ve beton yaygın olarak tercih edilen malzemelerdendir. Su ile temas halinde olan tüm metalik malzemelerde korozyon kaçınılmaz bir olaydır. Bununla birlikte, korozyon direncini arttırırken bakımı azaltmak ve uzun ömürlü, güvenilir bir kule yapılandırması sağlayabilmek adına malzeme seçimi oldukça önemlidir. Soğutma kulelerinin verimli çalışabilmesi ve problem yaşanmaması amacıyla, çoğu soğutma kulesinin gövde ve havuz kısımlarında galvanizli çelik ve paslanmaz çelik kullanılırken, özellikle korozyon ortamlarında paslanmaz çelik malzeme tercih edilmektedir.

Elektrot potansiyeli, demir ve çeliğe oranla daha aktif olan çinko ile çeliğin kaplanması sonucu elde edilen galvanizli çelik, korozyona karşı dirençli oluşu ve biyofauling

oluşumunu engellemesinden dolayı, korozyona karşı korunmada yararlanılan metallerin başında gelmektedir. Bununla birlikte Ilhan-Sungur ve diğ. (2007) ve Ilhan-Sungur ve Çotuk (2010) yaptıkları çalışmalarda galvanizli çeliğin mikrobiyolojik korozyona uğratılabildiğini göstermişlerdir. Ancak, yüksek krom ve nikel içeriğine sahip olan paslanmaz çelik, yüzeyde oluşan sert, koruyucu krom oksit film (pasifleştirme tabakası) nedeni ile galvanizli çeliğe kıyasla daha gelişmiş bir korozyon direncine sahiptir (Morrison, 2008; Bureau of Energy Efficiency, 2004).

Paslanmaz çelikler en basit tanımıyla yaklaşık en az %13 krom içeren demir-krom alaşımlarıdır ve içerdiği elementlerin farklı kombinasyonları ile değişik kalitelerde üretilmektedirler. Alaşım içeriğindeki farklılıklar, paslanmaz çelikte benzersiz bir korozyon direnci, sertlik ve kaynak kabiliyeti sağlamaktadır. Ağırlık olarak büyük bir kısmı demirden oluşan paslanmaz çeliğin içerdiği nikel, krom ve molibden, farklı kalitelerde paslanmaz çelik elde edilmesinde önemli bir faktördür. 300 serisi paslanmaz çeliklerden olan 301, 302, 304 ve 316 kalite paslanmaz çelikler, buharlaştırıcı soğutma donanımları için potansiyel uygulanabilir malzemelerdir. Her birindeki nikel, krom ve molibden kompozisyonu, korozyon direnci ve dolayısıyla da soğutma kulesinin ömrünü belirlemektedir (Evapco, 2008).

300 serisi paslanmaz çeliklerdeki alaşımın korozyon direncini sağlayan, yüzeyde oluşan ince ve gözle görülmeyen oksit filmidir. 300 serisi paslanmaz çelik içeriğinde bulunan krom, kimyasal olarak demire göre daha aktif olduğundan uygun koşullar sağlandığında oksijenle reaksiyona girerek, yüzey üzerinde yenilenebilir bir tabaka olan, krom-oksit tabakasını oluşturmaktadır. Soğutma kulelerinin özellikle soğuk su biriken havuz kısımları gibi, suyun biriktiği kısımlarda bu krom-oksit tabakası korozyona karşı koruma için gereklidir. Nikel elementi, demir ve kroma göre daha az aktif olmasına rağmen korozyon direncini iyileştirici yönde etki etmektedir. Nikel, indirgen ortamda korozyon direncini arttırarak bölgesel korozyonu frenler ve krom-oksit tabakasındaki filmin sağlamlığını arttırır. Molibden ise, yüzey filmini klorür saldırılarından korumaktadır. Ayrıca, alaşımlara düşük oranlarda ilave edilmesi bile indirgen ortamlarda pasifleşmeyi kolaylaştırmaktadır (Mason, 1976; Aydoğdu ve Aydınol, 2005; Evapco, 2008).

### 2.3.1. 316L Paslanmaz Çelikte Korozyon

Korozyonun kontrol altına alınabilmesi için, malzemenin içeriğinde bulunan bileşenlerin malzemeye kazandıracığı özellikler, bu özellikleri nasıl değiştirdiği ve miktarı ile ilişkisi bilinmelidir.

Östenitik krom-nikel çeliğine, molibden ilavesi ile korozyon dayanımı artırılmış olan 316 ve bunun düşük karbonlu tipi olan 316L kalite paslanmaz çelik elde edilmektedir. Özellikle, 316L kalite paslanmaz çelikte karbon miktarının düşük olmasından dolayı, krom karbür (genellikle  $\text{Cr}_{23}\text{C}_6$ ) tane sınırlarında çökelememekte ve bir korozyon çeşidi olan tanelerarası korozyon hassasiyetinin daha düşük olmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla, klorür içeren ortamlara dayanımı, korozif etkiye karşı direnci ve uzun ömürlü olmasından dolayı 316L kalite paslanmaz çelik, kimya, petrokimya ve enerji güç santrallerinde bulunan soğutma kulelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Paslanmaz çeliğin yüzeyinde oluşan pasif tabaka mükemmel bir korozyon direnci sağlamasına rağmen, klor iyonları ve indirgenmiş sülfür bileşenlerinin korozyona neden olduğu rapor edilmiştir (Xu ve diğ., 2007; Zhang ve diğ., 2007). Dolayısıyla, mikrobiyolojik korozyona neden olan SRB paslanmaz çelikler için bile ciddi bir korozif etkindir.

## 2.4. SOĞUTMA KULESİ VE MİKROORGANİZMA

### 2.4.1. Soğutma Kulesinde Bulunan Mikroorganizmalar

Endüstriyel su sistemlerinden olan soğutma kulelerinde, hem hastalıklara sebep olan hem de endüstriyel yapılara zarar veren mikroorganizmalar bulunabilmektedir. Özellikle açık tip soğutma kuleleri, iyi bir havalandırma, uygun sıcaklık ve pH değerlerine (6-9 arası) sahip olmaları ve bol miktarda su içermelerinden dolayı, mikroorganizmaların gelişimini ve çoğalmasını destekleyen ideal koşullara sahiptirler. Ayrıca bu sistemlere havadan ve sudan sürekli mikroorganizma ve besin kaynağı da sağlanmaktadır (Choudhary, 1998). Sistemlere giren bakteri, mantar ve algler, soğutma kulesinin iç yüzeylerinde biyofilm tabakasının oluşumuna neden olmaktadır.

Biyofilmin temelini mikrokoloniler oluşturmaktadır. Ağırlıklı olarak *Pseudomonas* türleri polar flagellaları ile yüzeye rahat tutunarak çoğalmakta ve mikrokolonilerin

oluşumunda öncül olmaktadır (Wolfaardt, 1990). Genç biyofilm, bu öncü popülasyonların düşük çeşitliliğini yansıtan az sayıda tür içermesine rağmen, biyofilm olgunlaştıkça kararlı bir mikroorganizma topluluğu oluşumuna doğru tür çeşitliliğinde de artış gerçekleşmektedir. Biyofilm gelişirken, maddelerin (besin ve gaz) değişimi sadece bir bölgede gerçekleştiği için biyofilm içerisinde çeşitli gradyanlar oluşmaktadır (Characklis, 1983). Biyofilmin üst tabakasında aerobik solunum, orta tabakasında ise fermentasyon sebebi ile bir besin gradyanı gelişir (Pfennig, 1984). Aynı zamanda, mikrokoloninin yüzeye yakın hücreleri yüksek miktarda oksijene maruz kalırken, merkezde bakterilerin yaptığı solunum sebebi ile oksijen miktarında azalma gerçekleşmekte ve biyofilmin üst tabakasındaki bakterilerin aerobik solunumu ile bir oksijen gradyanı meydana gelmektedir. Biyofilm tabakası 10-25 µm kalınlığa ulaştığı zaman, alt kısımlarda anaerobik koşullar oluşmaktadır. Böylece biyofilm, yüksek miktarda tür çeşitliliğine ve stabiliteye sahip olgunlaşma durumuna yaklaşır (Hamilton, 1985; Stewart ve Franklin, 2008).

Soğutma kulelerinde *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Acinetobacter* ve *Bacillus* cinsleri gibi geniş bir aerobik bakteri popülasyonu bulunmaktadır (Wiatr, 2006). Aynı zamanda bakımına önem verilmeyen soğutma kuleleri, Lejyoner hastalığı etkeni olan *Legionella pneumophila* bakterisinin üremesi için de ideal bir ortamdır (Landeem ve diğ., 1989; Türetgen, 1998; Sabria ve diğ., 2006). Bununla birlikte olgunlaşan biyofilm tabakası, soğutma kulelerinde korozyona neden olan anaerobik SRB'lerin bulunabilmesine olanak sağlamaktadır (Choudhary, 1998; İlhan-Sungur ve Çotuk, 2005).

Mikrobiyolojik kirliliğe neden olan bakteriler arasında en dikkat çeken komünite, MIC'e sebep olma potansiyelleri yüksek olan SRB'lerdir (Beech ve diğ., 1997; Rao ve diğ., 2000; Miranda ve diğ., 2006). SRB'ler tarafından üretilen H<sub>2</sub>S, su soğutma sistemlerinde bulunan çoğu metalin korozyonuna neden olmaktadır (Rao ve diğ., 2005; Seth ve Edyvean, 2006; Adeeba ve diğ., 2011). Bu nedenle soğutma suyundan kaynaklı sorunların biyolojik yönü üzerine tam kontrolü sağlamak için biyolojik kirlenme olaylarından sorumlu mikroorganizmaların identifikasyonunun yapılması çok önemlidir.

SRB'lerin neden olduğu korozyondan, özellikle soğutma kulelerinin sirkülasyon boruları, metal dolgu malzemesi ve suyun biriktiği havuz kısımları gibi yapılarının zarar

gördüğü belirtilmektedir (Puckorius, 1999). Lu ve diğ. (1989), soğutma kulesindeki SRB sayısının mililitrede 100'den daha az olması gerektiğini belirtmektedir. Korozyon çökeltisinin gramında 10000 veya daha fazla sayıda SRB bulunduğu durumda, sistem önemli derecede zarar görebilmektedir. Nitekim ciddi şekilde zarar görmüş sistemlerde, soğutma kule suyunun mililitresindeki bakteri sayısının genellikle 100000'in üzerinde bulunduğu belirtilmektedir (Choudhary, 1998).

#### 2.4.2. Sülfat İndirgeyen Bakteriler

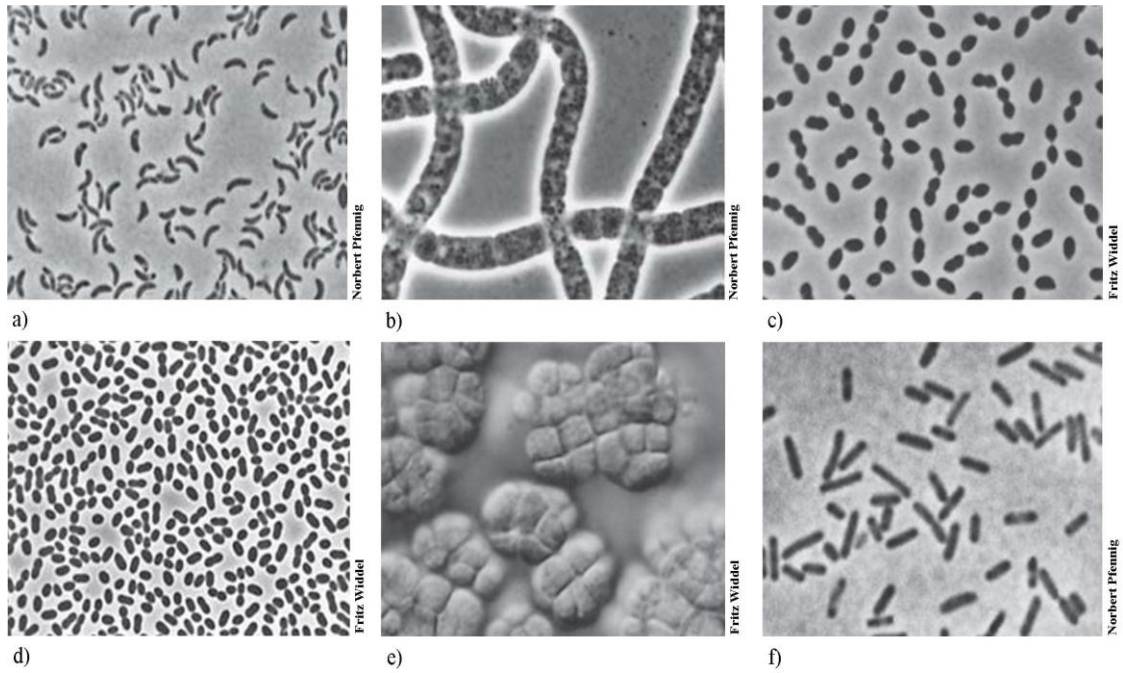
Anaerobik mikroorganizmaların geniş bir grubunu oluşturan SRB'ler, birçok biyokimyasal süreçte önemli bir rol oynamakta, hem biyosferin oluşumundaki köklü geçmişleri hem de enerji metabolizmaları ile oksijen yokluğundaki yaşam süreçlerinin sınırlarına ışık tutmaktadırlar (Barton ve Hamilton, 2007). SRB'ler zorunlu anaerop bakteriler olarak bilinmekle birlikte bazı türlerinin oksijeni tolere edebildiği ve düşük oksijen konsantrasyonlarında üreyebildiği rapor edilmiştir (Beech ve diğ., 2000).

SRB'ler yuvarlak, kok, oval, spiral, düz veya kıvrık çomak gibi farklı şekillerde görülebilmektedirler (Şekil 2.3). Çapları 0.4-3 µm'dir. Tek veya kümeler halinde bulunurlar. Çoğunlukla Gram negatif olmakla birlikte, filamentli ve spor oluşturan türleri Gram pozitif olabilir. Çok az türü, gaz vakuölü içermektedir. Bu bakteriler hareketli veya hareketsiz olup, hareketleri taşıdıkları flagelladan kaynaklanmaktadır (Widdel ve Pfennig, 1984; Widdel ve Bak, 1992; Madigan ve Martinko, 2005).

SRB'ler, sülfatın bulunduğu doğal veya insan yapımı su sistemlerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Deniz, nehir ve göl sedimentleri, hidrotermal yarıklar, hidrokarbon sızıntıları, çok tuzlu mikrobiyal yığınlar, asit-maden drenaj alanları ve soda gölleri gibi ekstrem pH değerlerinin gözlendiği ortamlar, petrol yatakları, derin yer altı tabakaları, atık arıtım tesisleri ve soğutma kuleleri gibi tarımsal ve endüstriyel su sistemlerinden sıklıkla izole edilmişlerdir (Ilhan-Sungur ve Cotuk, 2005; Xu ve diğ., 2006; Zhang ve diğ., 2007; Muyzer ve Stams, 2008; AlAbbas ve diğ., 2013).

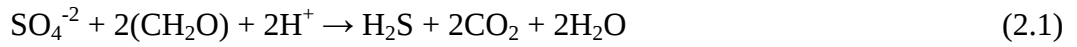
Filogenetik çalışmalar sonucu SRB türleri, 5 tanesi Bacteria ve 2 tanesi de Archaea domainine ait olmak üzere 7 grupta toplanmıştır. Çoğu SRB türü, yaklaşık 26 cinsi içine alan **Deltaproteobacteria** ve **Clostridia** (*Desulfotomaculum*, *Desulfosporosinus*, *Desulfosporomusa* cinsleri) gruplarına aittir. Bacteria domaininin diğer 3 grubu olan

**Nitrospirae** (*Thermodesulfovibrio* cinsi), **Thermodesulfobacteria** (*Thermodesulfobacterium* cinsi) ve **Thermodesulfobiaceae** (*Thermodesulfobium* cinsi) sadece termofilik SRB türlerini içermektedir. Archaea domaini ise, **Euryarchaeota** (*Archaeoglobus* cinsi) ve **Crenarchaeota** (*Caldivirga* ve *Thermocladium* cinsleri) gruplarını içermektedir (Thauer ve diğ., 2007; Muyzer ve Stams, 2008). *Desulfovibrio* sp., Deltaproteobacteria grubuna ait Gram negatif, sporsuz, kıvrık çomak veya spiral şekilde, zorunlu anaerop veya mezofilik bir SRB cinsidir. Halofilik türleri de bulunmaktadır. Hücreleri sitokrom c ve desulfovirdin (sülfid redüktaz) içermektedir. Rapor edilen bir patojenitesi yoktur (Postgate ve Campbell, 1966; Widdel ve Bak, 1992; Madigan ve Martinko, 2005; Muyzer ve Stams, 2008). İlhan-Sungur ve diğ. (2011), *Desulfovibrio* sp.'nin soğutma kulelerinde en yaygın bulunan SRB türlerinden olduğunu rapor etmişlerdir.



**Şekil 2.3:** Bazı SRB türlerine ait faz-kontrast fotoğrafları; a) *Desulfovibrio desulfuricans* (hücre çapı yaklaşık 0.7  $\mu\text{m}$ 'dir), b) *Desulfonema limicola* (hücre çapı yaklaşık 3  $\mu\text{m}$ 'dir), c) *Desulfobulbus propionicus* (hücre çapı yaklaşık 1.2  $\mu\text{m}$ 'dir), d) *Desulfobacter postgatei* (hücre çapı yaklaşık 1.5  $\mu\text{m}$ 'dir), e) *Desulfosarcina variabilis* (hücre çapı yaklaşık 1.25  $\mu\text{m}$ 'dir), f) *Desulfuromonas acetoxidans* (hücre çapı yaklaşık 0.6  $\mu\text{m}$ 'dir) (Madigan ve Martinko, 2005).

SRB, hücre sentezi ve gelişimi için gerekli enerjiyi, son elektron alıcısı olarak kullandığı sülfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), sülfid ( $\text{H}_2\text{SO}_3$ ), tiyosülfat ( $\text{S}_2\text{O}_3$ ) veya diğer kükürt bileşiklerini  $\text{H}_2\text{S}$ 'e indirgeyerek (Denklem 2.1) sağlamaktadır (Widdel ve Pfennig, 1984). Enerji kaynağı olarak ise sınırlı sayıda substratı (laktat,  $\text{H}_2$ , pirüvat, etanol, vb.) kullanabildiği düşünülse de, yeni yapılan çalışmalar metabolizmalarına bağlı olarak türlerin, çok daha fazla sayıda bileşiği (uçucu yağ asitleri, aromatik bileşikler, şekerler, amino asitler vb.) potansiyel elektron vericisi olarak kullanabilme yeteneklerinin olduğunu göstermektedir (Muyzer ve Stams, 2008).



SRB'lerin metabolizması sonucu oluşan  $\text{H}_2\text{S}$ , metalleri ciddi bir şekilde korozyona uğratmaktadır (Choudhary, 1998). Ayrıca  $\text{H}_2\text{S}$ 'in toksik etkisi, çalışanların sağlığı ve güvenliği açısından da büyük bir tehlike oluşturmaktadır (Ilhan-Sungur ve Cotuk, 2005).

## 2.5. KOROZYON

Metal ve alaşımlarının, içerisinde bulundukları ortamlar ile elektrokimyasal ve kimyasal reaksiyonları sonucu uğradıkları hasar korozyon olarak tanımlanmaktadır (Revie ve Uhlig, 2008). Metallerin serbest oksijen içeren sulu ortamlardaki korozyonu, metal iyonlarının çözeltiye geçtiği (anodik reaksiyon) ve ayrılan elektronların, hidroksil iyonlarını meydana getirmek için oksijen ile birleştiği (katodik reaksiyon) elektrokimyasal bir olaydır (Videla, 1996). Bu elektrokimyasal olayda anodik ve katodik reaksiyonlar dengede kalmalı ve korozyonun ilerlemesi için ise elektrokimyasal hücrenin çok uzun bir süre işlevine devam etmesi gerekmektedir (De Bruyn, 1992).

Bir korozyon olayının gerçekleşebilmesi için üç temel koşulun bir araya gelmesi gerekmektedir:

1. Anot ve katot bölgeleri (metal) bulunmalıdır.
2. Anot ve katot arasında potansiyel farkı bulunmalıdır (potansiyel farkı doğuran çok çeşitli sebepler oluşabilir).

3. Anot ve katodu birleştiren elektriksel iletken bir yol (akım yolu) bulunmalıdır. Metallerin ilişkide olduğu ve iki elektrot arasında elektron akışını sağlayan sulu ortam da elektrolittir.

Korozyon, abiyotik ve biyotik koşullar altında oluşabilmektedir (Hamilton, 1985). Metalin elektrolite maruz kalması ile korozyon reaksiyonu başlamakta ve abiyotik (elektrokimyasal) korozyon gerçekleşmektedir.

Metaller genel olarak nötr haldeki atomlarının en dış kabuğundaki serbest elektronları vererek iyon oluşturma eğilimi gösterirler. Metal atomlarının negatif yük kaybederek pozitif yüklü metal iyonlarına dönüşmelerine anodik reaksiyon (Denklem 2.2) denir (Hamilton, 1985).



Anodik reaksiyon sonucu açığa çıkan elektronlar farklı bölgedeki katodik bir reaksiyonda kullanılır. Nötr ve alkali pH değerlerinde, ortamdaki çözünmüş oksijen katodik reaksiyonda (Denklem 2.3) yer alır ve hidroksil iyonlarına indirgenir (Hamilton, 1985).



Bununla birlikte, anaerobik ortamlarda oksijenin yerini katodik reaktant olarak hidrojen iyonları veya su almaktadır (Videla, 1996). Bu durumda, oksijen içermeyen ortamlarda protonlar önce atomik, sonra moleküler hidrojen oluşturarak katodik reaksiyonda (Denklem 2.4) yer alabilirler (Hamilton, 1985).



Anodik ve katodik reaksiyonlar sonucu oluşan ürünler, genellikle korozyon ürünlerini oluşturmak üzere reaksiyona girmektedirler (Denklem 2.5). Reaksiyon sonucunda  $Fe(OH)_2$  çökeltisi oluşmaktadır (Iverson, 1987).



$\text{Fe(OH)}_2$ , oksijen varlığında bir çeşit pas olan ve çözünmeyen  $\text{Fe(OH)}_3$ 'e dönüşmektedir (Denklem 2.6) (Iverson, 1987).



Aslında çelik üstündeki pas çökeltisi üç farklı demir oksit tabakasından oluşmaktadır. En içteki tabaka büyük ölçüde yeşilimsi  $\text{Fe(OH)}_2$  ve en dıştaki tabaka turuncu renkte  $\text{Fe(OH)}_3$  içerirken, arada kalan bölgede magnetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) siyah bir ara tabaka oluşturmaktadır (Lee ve diğ., 1995).

Mikroorganizmalar ise metal ile elektrolit ara yüzündeki ortamı değiştirerek korozyonu etkilemektedirler. Mikrobiyal aktivite, korozyon reaksiyonlarına yol açabilmekte veya arttırabilmektedir (Ford ve Mitchell, 1990).

## 2.6. MİKROBİYOLOJİK OLARAK DESTEKLENEN KOROZYON (MIC)

MIC, mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri ile doğrudan veya kimyasal olarak reaktif ürünleri salgılamaları ile dolaylı olarak meydana gelen korozyon reaksiyonları ile metalin bozulması olayıdır (Hadley, 1948). MIC ayrıca biyolojik korozyon, biyolojik olarak desteklenen korozyon ve biyokorozyon olarak da adlandırılmaktadır (Borenstein, 1994).

Mikroorganizmaların metal korozyonunda rol oynadığı 1900'lerin başından beri bilinmektedir (Videla ve Herrera, 2005). Bakterilerin korozyondan sorumlu olabileceği ilk kez 1910 yılında ileri sürülmüştür (Gaines, 1910). Korozyon mekanizması üzerine esas yorumlar ise 1960'lı yılların başında başlamıştır. Bununla birlikte 1934 yılında von Wolzogen Kühr ve van der Vlugt'un gerçekleştirmiş oldukları ilk öncü çalışma, elektrokimyasal açıdan mikrobiyolojik olarak desteklenen korozyonu yorumlayan tek istisnadır (von Wolzogen Kühr ve van der Vlugt, 1934).

100 yılı aşkın bir süre önce ortaya çıkarılan MIC'in, modern endüstriyel sistemler için ciddi bir problem olduğu son 30 yıldır fark edilmiştir. MIC, metal ve yapı malzemelerine olan korozyon zararlarının yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır. Dünya genelinde direkt olarak sebep olduğu zararın ise yıllık 30-50 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir.

### 2.6.1. MIC Oluşumunda Mikroorganizmaların Etkileri

Klasik korozyon mekanizması elektrokimyasaldır ve MIC için de geçerliliğini korumaktadır (Ford ve Mitchell, 1990; De Bruyn, 1992). Bununla birlikte mikroorganizmaların bu olaydaki işlevini değerlendirmek güçtür (Ford ve Mitchell, 1990). Mikroorganizmalar, metal yüzeyini çevreleyen ortamı aktif bir şekilde etkileyerek korozyon sürecini kolaylaştırmaktadırlar. Korozyonda mikrobiyal katılım, tek mekanizma aracılığıyla veya tek mikroorganizma türü tarafından nadir olarak gerçekleştirilir. Mikrobiyolojik korozyonda farklı durumlarda bile, mikrobiyal katılımın iki temel özelliği görülmektedir (Videla, 1996):

1. Mikrobiyal metabolik aktiviteler sebebiyle, metal/çözelti ara yüzünde değişikliğin gerçekleşmesidir.
2. Biyofilm içerisinde bakteri çoğalması ile yapılandırılmış konsorsiyumların gelişmesini hızlandırarak mikrobiyal metabolik aktivitelerin etkilerinin artırılmasıdır.

Mikroorganizmalar fizyolojik özelliklerine bağlı olarak aşağıda bahsedilen faktörlerin biri veya daha fazlası ile korozyona yol açabilmektedirler (Hadley, 1948; Videla, 1996). Korozyonu başlatan veya hızlandıran mikrobiyal faktörler:

#### 1. Mikroorganizmalar tarafından metabolitlerin üretimi

- Asidik metabolitlerin üretimi (Örnek: Kükürt okside eden bakteriler tarafından  $H_2SO_4$  üretimi),
- İnorganik filmin koruyucu özelliğini azaltan veya etkisiz hale getiren metabolitlerin üretimi (Örnek: Biyojenik sülfürlerin bakır-nikel alaşımlarındaki koruyucu bakır oksit filmini değiştirmesi).

#### 2. Farklı havalandırma hücresi oluşumu

Aerobik mikroorganizmalar metal yüzeyinde çoğalarak koloni oluşturmaktadırlar. Eğer koloniler tüm yüzeyi kaplayamazsa, yüzeyin koloni bulunmayan ve bulunan alanları arasında oksijen konsantrasyonu bakımından farklılık oluşur. Oksijen konsantrasyon farklılığıyla, mikrobiyal yüzey filmi altında elektrokimyasal hücre (farklı havalandırma hücresi) oluşumu olayı, lokal korozyon olarak da tanımlanabilir.



4. Korozyon inhibitörlerinin metabolik tüketimi (Örnek: Benzin/su sistemlerindeki *Hormoconis resinae* türü fungusların, alüminyum korozyon inhibitörü olan nitrati tüketimi).

5. Depolarizasyon etkisi ile korozyon reaksiyonlarından (anodik veya katodik) birinin hızlanması

6. Diğer faktörler

- Metalin kaynak yapılmış bölgesine bakterilerin selektif saldırısı (Örnek: Demir okside eden *Gallionella* cinsi bakterilerin çift fazlı ferrit-östenit kaynaklara tercihli saldırısı).

- Mikrobiyal yapışmanın etkileri ile oyuklanma korozyonunun başlamasını kolaylaştırması (Örnek: Alüminyum alaşımları üzerinde *H. resinae* fungus miselyumunun tutunma noktalarında oyuklanmanın başlaması).

### 2.6.2. MIC'e Neden Olan Mikroorganizmalar

Korozyonu etkilediği bilinen mikroorganizmalar fizyolojik olarak farklıdır ve genellikle elektron alıcısı veya enerji kaynağına göre gruplandırılarak korozyonla ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, tek mikroorganizma grubu ile gerçekleşebilmesine rağmen, farklı türden mikroorganizmalardan oluşan popülasyonların meydana getirdiği korozyonun daha agresif olduğu belirlenmiştir (Little ve Lee, 2007). MIC'e neden olan bazı mikroorganizmalar Tablo 2.1'de verilmiştir.

Paslanmaz çelik, yumuşak çelik ve dökme demir gibi yapılarda korozyona neden olan temel bakteri grupları aşağıda belirtilen şekildedir (Hadley, 1948; Ford ve Mitchell, 1990; Little ve diğ., 1992; Beech ve diğ., 2000):

1. Sülfat indirgeyen bakteriler (SRB); sülfat, sülfid, tiyosülfat gibi oksitlenmiş kükürt bileşiklerinin ve hatta kükürtün  $H_2S$ 'e disimilatör redüksiyonunu gerçekleştiren ve doğada yaygın olarak bulunan anaerobik bir gruptur. SRB tarafından meydana gelen korozyonun belirlenmesine yüzeyde oluşan siyah renkte ve kokulu  $FeS$ 'ün birikimi yardımcı olmaktadır.

**Tablo 2.1:** Mikrobiyolojik korozyon ile yaygın olarak ilişkilendirilen mikroorganizmalar (Little ve Lee, 2007).

| Mikroorganizmalar<br>(Cins veya tür)  | pH    | Oksijene<br>tolerans | Metabolik süreçler                                                                                       |
|---------------------------------------|-------|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Bakteri</b>                        |       |                      |                                                                                                          |
| <i>Desulfovibrio</i>                  | 4-8   | Anaerobik            | $\text{SO}_4^{-2}$ 'yi, $\text{S}^{-2}$ ve $\text{H}_2\text{S}$ 'ye indirgemek için hidrojeni kullanır.  |
| <i>Desulfotomaculum</i>               | 6-8   | Anaerobik            | $\text{SO}_4^{-2}$ 'yi, $\text{S}^{-2}$ ve $\text{H}_2\text{S}$ 'ye indirger.                            |
| <i>Desulfomonas</i>                   | -     | Anaerobik            | $\text{SO}_4^{-2}$ 'yi, $\text{S}^{-2}$ ve $\text{H}_2\text{S}$ 'ye indirger.                            |
| <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>  | 0.5-8 | Aerobik              | Sülfürü, $\text{H}_2\text{SO}_4$ 'e okside eder.                                                         |
| <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> | 1-7   | Aerobik              | $\text{Fe}^{+2}$ 'yi, $\text{Fe}^{+3}$ 'e okside eder.                                                   |
| <i>Gallionella</i>                    | 7-10  | Aerobik              | $\text{Fe}^{+2}$ ve $\text{Mn}^{+2}$ 'yi, $\text{Mn}^{+4}$ 'e okside eder. Tüberkül oluşumunu destekler. |
| <i>Siderocapsa</i>                    | -     | Mikroaerofilik       | Demir okside eder.                                                                                       |
| <i>Leptothrix</i>                     | 6.5-9 | Aerobik              | $\text{Fe}^{+2}$ ve $\text{Mn}^{+2}$ 'yi, $\text{Mn}^{+4}$ 'e okside eder.                               |
| <i>Sphaerotilus</i>                   | 7-10  | Aerobik              | $\text{Fe}^{+2}$ ve $\text{Mn}^{+2}$ 'yi, $\text{Mn}^{+4}$ 'e okside eder. Tüberkül oluşumunu destekler. |
| <i>Pseudomonas</i>                    | 4-9   | Aerobik              | Bazı suşları $\text{Fe}^{+3}$ 'ü, $\text{Fe}^{+2}$ 'ye indirger.                                         |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>         | 4-8   | Aerobik              | -                                                                                                        |
| <b>Fungus</b>                         |       |                      |                                                                                                          |
| <i>Hormoconis resinae</i>             | 3-7   | Aerobik              | Belirli yakıt bileşenlerini metabolize ederek organik asit üretir.                                       |

2. Kükürt oksitleyen bakteriler (SOB); elementel kükürt, tiyosülfat, metal sülfidler,  $\text{H}_2\text{S}$  ve tetratiyonatları okside ederek sülfürik asit oluşturan kemolitotrofik mikroorganizmalardır. Yüzeyde korozyon ürünü olarak sarı renkte birikintilerin oluşması yüzeyin SOB tarafından korozyona uğratıldığına işarettir. Nötral ve asidik pH ortamlarında yaşayanlar olmak üzere iki büyük ekolojik gruba ayrılırlar. *Thiobacillus*, *Beggiatoa* ve *Sulfolobus* en iyi bilinen aerobik kükürt okside eden bakteri cinsleridir.

Asidofilik olanların bazıları ferrus demiri ( $\text{Fe}^{+2}$ ) oksitleyerek korozyonu daha da hızlandırabilmektedir (Örnek: *Thiobacillus ferrooxidans*).

3. Metal indirgeyen bakteriler (MRB); demir ve demir alaşımların yüzeyindeki korozyona dirençli oksit filmlerin çözünmesine yol açarak korozyonun oluşmasına neden olmaktadır. *Pseudomonas* ve *Shewanella* cinsi bakteriler mangan ve/veya demir oksiti indirgeyerek korozyonu hızlandırmaktadır. Demir indirgeyen bakterilerin korozyon ürünleri koyu yeşilimsi renktedir.

Demir indirgeyen bakteriler; düşük pH değerleri haricinde çözünmez formda olan  $\text{Fe}^{3+}$ 'ü, çözülebilir özellikteki  $\text{Fe}^{2+}$ 'ye indirgeyerek, metal yüzey üzerindeki koruyucu  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  filminin ortadan kalkmasına neden olarak, korozyon oluşumuna neden olmaktadır.

4. Metal oksitleyen bakteriler (MOB); demir ve mangan gibi metalleri oksitleyerek enerji elde eden gruptur. *Gallionella*, *Leptothrix*, *Acidithiobacillus*, *Sphaerotilus* cinsi bakteriler en iyi bilinen demir oksitleyicilerdir. *Gallionella* ve *Leptothrix* gibi demir oksitleyen bakteriler, içerisinde bulunduğu çözeltide çözünmüş ya da yüzeye tutunmuş haldeki  $\text{Fe}^{+2}$ 'yi,  $\text{Fe}^{+3}$ 'e oksitlemektedirler. Demir oksitleyen bakteriler yüzeyde kırmızı-kahverengi korozyon ürünleri oluşturmaktadır.

Bu bakteri cinsleri aynı zamanda, mangan iyonlarını da oksitleyerek mangandioksitin birikimine neden olmaktadır. Demir ve mangan oksitleyen bakterilerin metal yüzeyinde yoğun birikimi, farklı konsantrasyon hücreleri oluşturarak korozyon reaksiyonlarını hızlandırmaktadır (Ghiorse, 1984).

5. Asit üreten bakteriler; metabolik ürün olarak hem inorganik (nitrik asit ( $\text{HNO}_3$ ), sülfürik asit ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) vb.) hem de organik (asetik asit ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ), formik asit ( $\text{CH}_2\text{O}_2$ ) ve laktik asit ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ )) üretme yeteneğindedirler.

6. Mantarlar; metabolik aktiviteleri sonucu organik asitleri üreterek ortamın pH değerini düşürürler. Bu durum, mikrobiyolojik korozyonun oluşumunda rol oynamaktadır. *Hormoconis resinae*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. ve *Fusarium* spp. gibi bazı mantar türleri benzin veya petrol tanklarında, yakıttaki hidrokarbonları

metabolizmalarında kullanarak ürettiği organik asitler ile metalin mikrobiyolojik korozyona uğratmaktadır.

7. Metanojenler; anaerobik koşullarda  $H_2$ 'yi elektron vericisi,  $CO_2$ , piruvat, asetat, metillenmiş substratları ise elektron alıcısı olarak kullanarak metan ( $CH_4$ ) oluşturmaktadırlar.

8. Fotosentetik bakteriler ve Algler; fotosentez yaparak oksijeni üreten, böylece metal yüzeyinde oluşan biyofilmin farklı bölgelerinde farklı oksijen konsantrasyonlarına neden olarak farklı konsantrasyon hücrelerinin oluşmasına neden olmaktadır.

Anaerobik korozyon ile ilişkili olan, ekonomik açıdan en önemli ve en yaygın mikroorganizma grubu olarak SRB kabul edilmektedir (Hamilton, 1985; Coetser ve Cloete, 2005).

### **2.6.3. SRB'lerin Korozyon Mekanizmaları**

SRB türleri, metal korozyonunu etkileme yetenekleri bakımından farklılıklar göstermektedirler (Barton ve Hamilton, 2007). SRB'lerin çeliğin korozyonunu nasıl etkilediğini araştırmak için, SRB'lerin korozyon mekanizmalarının anlaşılması gerekmektedir. 1934'ten beri çok sayıda farklı korozyon mekanizması önerilmekte olup, bu mekanizmaların hepsi de bir şekilde sülfat indirgenme aktivitesini içermektedir (Von Wolzogen Kühr ve Van Der Vlugt, 1934; King ve Miller, 1971; Iverson ve Olson, 1983; Beech ve Cheung, 1995; Edyvean ve diğ., 1998; Da Silva ve diğ., 2004; Gu ve diğ., 2009). SRB'lerin korozyon mekanizmaları Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

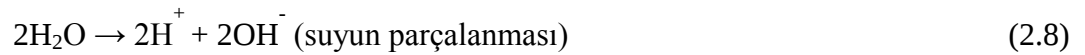
Von Wolzogen Kühr ve Van der Vlugt, 1934 yılında SRB'den kaynaklanan biyokorozyon için “katodik depolarizasyon teorisi” olarak bir mekanizma önermişlerdir. Bu mekanizmaya göre metal, oksijensiz ortamda suya maruz kaldığında, su metal yüzeyinde hidrojen oluşturacak şekilde parçalanır. Bu durumda metal polarize hale gelir (anodik reaksiyon). Serbest elektronlar, sudan gelen protonları indirger (katodik reaksiyon). SRB, polarize olmuş metal yüzeyinden hidrojeni uzaklaştırarak, sülfat indirgenmesini sağlar. Kısacası, “katodik polarizasyon” hidrojenaz enzimi aracılığıyla, katodik yüzeyden hidrojenin uzaklaştırılması, böylece katodun depolarize olmasıdır (Coetser ve Cloete, 2005; Barton ve Hamilton, 2007).

**Tablo 2.2:** SRB'ler için önerilen korozyon mekanizmaları.

| Yıl  | Korozif işlem/madde                                            |
|------|----------------------------------------------------------------|
| 1934 | Hidrojenaz ile katodik depolarizasyon                          |
| 1971 | Demir sülfür presipitasyonu (King'in Mekanizması)              |
| 1983 | Değişken fosfor bileşiği                                       |
| 1984 | Anodik depolarizasyon                                          |
| 1995 | Fe-bağlı EPS                                                   |
| 1995 | Sülfür ve hidrojenin neden olduğu gerilmeli korozyon çatlaması |
| 1998 | Sülfür                                                         |
| 2002 | EPS ile galvanik çift oluşumu                                  |
| 2004 | İndirgenme reaksiyonunu katalizleyen hidrojenaz enzimi         |
| 2005 | Üç aşamalı mekanizma (Romero Mekanizması)                      |
| 2009 | Biyokatalitik katodik sülfat redüksiyonu (BCSR)                |

Katodik depolarizasyon teorisi aşağıdaki denklemlerle özetlenmiştir (Javaherdashti, 2008).

Sulu ortama yerleştirilen demirdeki başlangıç reaksiyonları (Denklem 2.7, 2.8, 2.9):



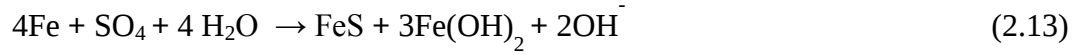
Bakteriyel etkileşim (Denklem 2.10):



Korozyon ürünleri (Denklem 2.11 ve 2.12):



Toplam reaksiyon (Denklem 2.13):



Bu reaksiyonlarda temel olarak katodik depolarizasyon teorisini ifade edebilmek adına reaksiyonlar basitleştirilmiştir. Bu reaksiyonlar sonucu oluşan ürünler korozif özellikte olabilirler. Örneğin FeS, kimyasal olarak metali depolarize edebilmekte ve H<sub>2</sub>O veya onun oksidasyon ürünleri de kimyasal olarak metali korozyona uğratabilmektedirler. Katodik depolarizasyon teorisi ile SRB'lerin metallerdeki korozyonu, Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



- Doğru akım polarizasyon yöntemleri
  - Tafel polarizasyonu
  - Potansiyodinamik tarama teknikleri
  - Polarizasyon direnci yöntemi (Lineer polarizasyon)
- Alternatif akım yöntemleri
- Elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS)
- Elektrokimyasal ses analizi (ENA)
- Yarı-hücre ölçümleri
- Elektriksel direnç problemleri

Bu bölümde, tez çalışması kapsamında kullanılan yöntemler detaylı açıklanmıştır.

#### **2.7.1. Ağırlık Kaybı Yöntemi**

Korozyonun metal yüzeyinde homojen dağılımlı olduğu koşullarda azalan ağırlığın, malzemenin yüzey alanı ve yoğunluğu yardımıyla yüzeyin tamamındaki incelme ile belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Yüzeyin belirli yerlerinde gelişen ve homojen dağılım göstermeyen korozyon olayında, ağırlık kaybı fazla anlamlı olmayacağından, ağırlık kaybı yöntemi ile korozyon hızı belirlenmek istendiğinde, öncelikle korozyonun yerel mi yoksa genel dağılımlı mı olduğu hakkında bilgi sahibi olunmalıdır. Korozyon hızının belirlenmesinde kullanılan bu yöntemin sağlıklı sonuç vermesi, diğer yöntemler gibi uygun örnekleme ve duyarlı ölçümlerin gerçekleştirilebilmesi ile mümkündür. Elektrokimyasal yöntemlerden farklı olarak, örneklerin korozif ortama uzun süre maruz bırakılması gerektiğinden, uzun süreli ölçümler gerektirmektedir.

Yöntem uygulanırken, ağırlık kaybı deneyleri için hazırlanmış ve yüzeyi temizlenmiş metal kupon tartıldıktan sonra, araştırma süresince korozif ortama maruz bırakılır. Deney sonunda korozyon ürünleri uzaklaştırılarak yeniden tartılan kuponların korozyon hızı, g, mg veya % kütle azalması ifadesi ile belirlenir.

#### **2.7.2. Açık Devre Potansiyeli (ADP)**

Açık devre potansiyeli veya korozyon potansiyeli, metalin daldırıldığı ortam ile uygun referans elektrot (genellikle doymuş kalomel elektrot (SCE) tercih edilir) arasındaki potansiyel farkın ölçülmesi ile belirlenmektedir. Genel olarak metal yüzeylerde nötr halde bir denge olduğu ve herhangi bir yükseltgenme/indirgenme reaksiyonu

gerçekleşmediği kabul edilir. Korozi ortamda ise, metalin korozyona uğraması sonucunda bir potansiyel fark oluşur. Elektrokimyasal hücredeki potansiyel farkı, metalin daldırıldığı ortamda referans elektroda karşı potansiyelini verir (Üneri, 2011). Açık devre potansiyelinin, referans elektrodun potansiyeline göre daha pozitif olması metalin korozyona karşı dirençli, daha negatif olması ise korozyona karşı dirençsiz olduğunu gösterir.

ADP değeri rapor edilirken, potansiyel değeri ve işareti ile birlikte kullanılan referans elektrot belirtilmelidir. ADP değerinin büyüklüğü ve işareti, elektrolitin içeriğine ve sıcaklığına bağlıdır. Bu teknik, kolay uygulanabilirliği ile mikrobiyolojik korozyon çalışmalarında yıllardır kullanılmaktadır. Hem laboratuvar hem de sahada kullanımı mümkün olan ADP tekniği, pasif davranış ve lokal korozyon arasındaki ayrımın belirlenebilmesine olanak sağlamaktadır. Bununla birlikte, hem anodik hem de katodik süreçleri eş zamanlı ölçerek, yalnızca metalin korozyon davranışının eğilimi hakkında bilgi verebilir (Videla, 1996).

### **2.7.3. Doğru Akım Polarizasyon Yöntemleri**

Doğru akım polarizasyon yöntemleri, anot ve katodun tersinir potansiyeli ile anodik ve katodik reaksiyonların polarizasyon davranışı arasındaki ilişkiyi grafiksel olarak gösteren akım-potansiyel (Evans) diyagramlarını temel almaktadır. Tersinir potansiyelleri ve korozyon akımının doğrudan ölçülmesi mümkün olmadığından, doğru akım polarizasyon yöntemleri uygulanırken referans elektrot ile bağlantılı bir potansiyostat kullanılması gerekmektedir. Potansiyostat, çalışma elektroduna akım uygulayarak potansiyelin kontrol edilebilmesine olanak sağlayan cihazdır. Metal anodik, katodik veya her ikisindeki korozyon potansiyelinden polarize olmaktadır. Kullanılan yonteme bağlı olarak, uygulanan potansiyel veya akım kontrol edilebilmekte, farklı potansiyel aralıkları ve tarama hızları kullanılabilir. Tez çalışması kapsamında, potansiyodinamik polarizasyon eğrileri yardımıyla metalin korozyon davranışında mikrobiyal etki araştırılmıştır.

#### **2.7.3.1. Potansiyodinamik Tarama Teknikleri**

Potansiyodinamik tarama teknikleri, yüzeyinde koruyucu veya pasif film oluşan metallerin elektrokimyasal davranışını öngörmek veya karakterize etmek için kullanılırlar. Metalin sadece  $E_{kor}$  değerinin belirlenmesi korozyon hızı hakkında fazla

bilgi vermemektedir. Bununla birlikte,  $E_{kor}$  değişimi sistemde mikrobiyolojik değişiklikler olduğunu göstermektedir. Korozyon potansiyelinden ( $E_{kor}$ ) itibaren belirli bir tarama aralığında ve hızında, katodik yönden anodik yöne doğru tarama yapılarak, potansiyodinamik polarizasyon eğrileri elde edilmektedir. Potansiyodinamik polarizasyon eğrileri, metalin korozyon davranışındaki değişimi belirlemek için oldukça önemlidir.

Metalin ideal anodik polarizasyon eğrisi, saldırgan ortamda pasifleşme eğilimindedir. Metalin tersinir potansiyelinin başlangıcında, eğri üzerinde artış gösteren ve genel korozyonun gerçekleştiği bölge, aktif bölgedir.  $E_{pp}$  (potansiyel pasifleştirici) değerine ulaşıldığında stabil oksit film oluşturabilir. Bu şartlar altında metal pasif davranır ve korozyon yoğunluğu,  $I_{krit}$  (kritik akım yoğunluğu) olan maksimum değerinden, metalin pasif bölgesinde başlayan ve  $I_p$  (pasif akım yoğunluğu) olarak adlandırılan çok düşük bir akım değerine ulaşır. Eğrinin bu bölümünde korozyon davranışı potansiyelden bağımsızdır. Daha soy potansiyellerinde ise transpasif bölge bulunur. Metalin pasif bölgede kalabilmesi için düşük  $I_{krit}$ , yüksek  $E_{pp}$  ve anodik ile katodik eğrilerin pasif bölgede kesişmesi için, transpasif bölgenin yeterli soy başlangıca sahip olması gereklidir.

Potansiyodinamik tarama teknikleri, mikroorganizmaları içeren ortamlarda bulunan ve/veya yüzeyinde biyofilm oluşan pasif metallerin korozyon davranışını tahmin etmek, farklı metallerdeki korozyon davranışı üzerine mikrobiyal etkilerin ölçülmesine izin vermektedir. Bununla birlikte, elde edilen sonuçlar tarama hızı ve deneysel koşullara bağlıdır. Yavaş tarama hızları, metal/elektrolit ara yüzeyindeki koşulları etkileyebilmektedir.

#### 2.7.4. Görüntüleme Yöntemleri (SEM, EDS)

Görüntüleme yöntemlerinden en çok kullanılan taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizidir. SEM analizi, metal yüzeylerde biyofilm tabakası ve korozyon oluşumunu tespit edebilmek adına vazgeçilmez bir yöntemdir. SEM ve enerji dağılım spektroskopisi (EDS) analizlerinin birlikte kullanımı, metal yüzeylerdeki morfolojinin değişimi ile birlikte, korozyon ürünlerinin elementel analizinin de yapılmasına olanak sağlamaktadır.

## 2.8. SOĞUTMA KULELERİNDE KULLANILAN İYİLEŞTİRME YÖNTEMLERİ

Herhangi bir sistem için kullanılacak iyileştirme programı, sistemin koşulları göz önünde bulundurularak belirlenmelidir. Açık sistem soğutma kulelerinin koşulları değerlendirildiğinde, sistemde kullanılacak suyun özellikleri, suyun sürekli etkileşim halinde olduğu havada bulunan ve suda çözünebilen gazların ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{SO}_2$  vb.) etkisi, ısıtma-soğutma etkisi ile su kirliliği ve birikintinin oluşması, buharlaşma sonucu sürekli beslenen sistemlerde çözünmüş katı madde miktarının artması gibi durumlar göz önünde bulundurularak, kabuk birikimi, korozyon, mikrobiyal büyüme ve kirlenme (fouling) oluşumu kontrol edilmelidir (Lane ve Peck, 2003; Electric Power Research Institute, 2003; Erbil, 2012).

Su ile temas halinde olan tüm metalik malzemelerde korozyon kaçınılmaz bir olaydır. Üstelik suyun kirliliği, birikinti ve korozyonu arttırıcı etki yapmaktadır. Kirlenme (fouling), biyolojik ve biyolojik olmayan kirlenme olarak iki şekilde sınıflandırılabilir. Biyolojik kirlenme alg, bakteri ve fungus gibi yaşayan organizmaları içerirken, biyolojik olmayan kirlenme silt, doğal organikler, korozyon ürünleri vb. gibi canlı olmayan maddelerden oluşmaktadır. Sudaki kirlenmenin kontrolü, suyun filtrasyonunun gerçekleştirilmesi, dispersanların kullanımı ve kulenin düzenli temizliği ile sağlanabilmektedir (Lane ve Peck, 2003; Electric Power Research Institute, 2003). Su sistemlerinde, bir kez kullanılıp döngüsünü tamamlamış suyun, önce dinlendirme havuzlarında çökebilan kirliliklerden kurtarılıp, daha sonra sisteme tekrar verilmek üzere şartlandırılması ve tüm şartlandırma parametreleri uygun koşullara getirildikten sonra suyun tekrar kullanımının sağlanması oldukça önemlidir (Erbil, 2012). Soğutma suyu sistemlerindeki mikrobiyal kontaminasyon, suyun kirlenmesi ve malzemenin korozyonu gibi çeşitli problemlere yol açmaktadır.

### 2.8.1. Mikrobiyolojik Korozyona Karşı Korunma Yöntemleri

Herhangi bir sistemde oluşan mikrobiyolojik korozyonu engellemek adına uygun yöntemi uygulamadan önce, sistemdeki korozyonun mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirildiği hakkında kesin bilgi sahibi olunmalıdır. Bunun için en doğru yol, malzemeden alınan örneğin kültürünün yapılarak mikroorganizmanın tayin edilmesi ve oluşan korozyon ürünlerinin araştırılmasıdır. MIC'e karşı korunabilmek amacıyla

biyosit uygulaması, katodik koruma ve metalin kaplanması gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır (Üneri, 2011; Erbil, 2012; Abdolahi ve diğ., 2014):

**1. Katodik koruma:** Katodik korumanın temel ilkeleri elektrokimyasal korozyon teorisine dayanmaktadır. Her korozyon olayında metalin korozyona uğradığı anodik bölgelerde akım metalin çevresindeki elektrolite akarken, akımın elektrolitten yapıya aktığı bölgelerde katodik bölgeler oluştuğu için bu bölgeler korozyona uğramamaktadır. Katodik koruma metalin potansiyelini, ölçülen korozyon potansiyelinden (açık devre potansiyelinden) daha negatif potansiyellere kaydırarak yapılan korumanın genel adıdır. Bunun için metale dışarıdan bir potansiyel uygulanabileceği (dış akım uygulamalı katodik koruma) gibi, korunacak metale göre daha aktif bir metalle bağlantı sağlanarak (galvanik anotla katodik koruma) da katodik koruma uygulanabilir. Her iki şekilde de metalin anottan uzak olduğu bölgelerinde akım dağılımı düşük olduğundan, akım dağılımını yeterli düzeyde tutmak adına çok sayıda anot kullanılır.

**2. Metalin kaplanması:** Metal yüzeylerin kaplanması, yüzeyin dış ortamla ilişkisini kesmek amacıyla yapılmakta olup, kaplama malzemesinin metal, oksit veya organik maddeler olmasına göre uygulama farklılıkları göstermektedir. MIC'in ilk aşaması, metal yüzeylerde bakterinin tutunması ve biyofilm oluşumunu içerdiğinden, bu ilk aşamada MIC'i engellemek adına bir antibakteriyel kaplama kullanılabilir. Antibakteriyel kaplama geliştirilirken biyosidal salınım, bağlanma direnci ve öldürücü bağlantı olmak üzere üç farklı strateji kullanılmaktadır. Bu stratejilerden bağlanma direnci ve öldürücü bağlantı, biyosidal ajanların çevreye yayılımına neden olmamaları sebebiyle çevre dostu uygulamalardır.

**Biyosidal salınım,** antibakteriyel ve antifouling kaplamalar için geleneksel bir stratejidir. Biyolojik kirlenmeyi (biyofouling) engellemek amacıyla yapılan kaplamalarda kalay, bakır, çinko gibi metallerden köken alan biyosidal ajanlar kullanılmaktadır. Bu ajanlar suyla temas ettiklerinde metal iyonlar çevreye salınmakta ve böylece bakterilerin ölümüne neden olmaktadırlar. Biyositler, bakteri ve diğer mikroorganizmaları öldüren, hem çevre için toksik hem de insan sağlığı için tehlikeli maddelerdir. Kaplamadan biyosidal ajanların salınımı serbest veya kontrollü salınım şeklinde gerçekleşebilmektedir. Kontrollü biyosit salınımında, polimerik matrikse bağlı

biyositler, polimerlerin degradasyonu sonucu çevreye salınmakta ve böylece biyosidal aktiviteyi gerçekleştirmektedirler.

Gümüş, biyofilm oluşumu ve bakteriyel gelişimi engellemek amacıyla en yaygın kullanılan antibakteriyel maddelerden biridir. Gümüş bakteri hücrelerdeki tiyol gruplarıyla etkileşime girmekte ve böylece hücresel enzimler ve DNA'nın deaktivasyonu yoluyla bakterilerin ölümüne yol açarak biyosidal etki göstermektedir. İyi biyosidal özelliklere sahip olmasına rağmen gümüş, çoğu mikroorganizma için toksik ve insan vücudu için zararlıdır. Ayrıca yüksek konsantrasyonları, insanlarda ağır deri hastalıklarına neden olmaktadır.

**Bağlanma direnci**, bakterinin tutunmasını önleyen kaplamanın yüzey özelliklerine dayanan bir stratejidir. Bu strateji, bakteriyi öldürmeksizin yüzeye tutunmasını engellediği için biyopasif bir uygulamadır. Metal yüzeye bakteriyel kolonizasyon gerçekleşirken, bakteri hücreleri ilk olarak hızlı ve tersinir şekilde yüzeye tutunur ve daha sonra EPS üreterek biyofilm oluştururlar. Bağlanma direnci çoğunlukla bakteriyel kolonizasyonun ilk aşamasında bakteriyel tutunmayı önlemektedir. Bu amaçla hidrofilik, hidrofobik, ampifilik ve superhidrofobik kaplama çeşitleri uygulanmaktadır.

**Öldürücü bağlantı**, biyokimyasal olarak yüzeyle temas ettiğinde bakterinin ölümüne neden olan bir stratejidir. Pozitif yüklü bileşikler (kuaterner amonyum tuzları, guanidin polimerleri, fosfonyum tuzları, kitosan, peptidler vb.), negatif yüklü bakteri hücre duvarıyla elektrostatik etkileşim sonucu bakteriler yüzeyde hareketsiz hale gelirler ve bu durum bakteri hücrelerinin hasarı ve ölümü ile sonuçlanır. Katyonik gruplar içeren biyosidal salınımsız kaplamalar antibakteriyel kaplamaların dizaynı ve MIC inhibisyonu için aşağıda belirtilen sebeplerden dolayı oldukça ilgi çekicidir:

- Yalnızca kaplamayla temasta olan bakteriyi öldürür. Çevre için toksik değil ve diğer mikroorganizmlara karşı duyarsızdır.
- Hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilere karşı etkilidir.
- Uzun bir süre biyosidal özellik gösterir.
- Bakteriler bu kaplamalara karşı direç gösterememektedir.

**3. Biyosit uygulaması:** Sistemdeki mikroorganizmaları öldürmek veya çoğalmalarını baskılamak için biyosit adı verilen kimyasal ajanlar kullanılmaktadır. Her kimyasal

ajanın mikroorganizmalar üzerine etki mekanizması farklıdır. Bu nedenle de bu ajanlar, koruyucular, dezenfektanlar ve steril ediciler olarak farklı ve yaygın kullanım şekillerine sahiptirler (Kaşger-Ataer, 2001; Lane ve Peck, 2003; Electric Power Research Institute, 2003). Biyositler, oksitleyici biyositler (klor, brom, iyot, klorindioksit, kloraminler, halojenatlı hidantoinler, ozon, hidrojen peroksit, potasyum permanganat vb.) ve oksitleyici olmayan biyositler (heterosiklik ketonlar, guanidin, tiyokarbamat, aldehitler, aminler, tiyosiyanatlar, organotin bileşikleri, halojenli amidler, halojenli glikoller, kuaternar amonyum bileşikleri vb.) olarak sınıflandırılmaktadır.

Mikroorganizmaların gelişiminde oksitleyici olmayan biyositlerin etkili kullanımı, klorun kullanımından 2-10 kat daha pahalıdır (Martinez ve diğ., 2004). Bu nedenle klor, endüstriyel sistemlerde en yaygın kullanılan biyositlerdir. Ucuz ve dozajının kolay olması nedeni ile sık tercih edilen klor, yüksek oranda korozyondur ve korozyon etkisini hafifletmek için yapılacak işlemler de oldukça pahalıdır. Metal yüzeyinde oluşan korozyon, bakterilerin tutunma olasılığını arttıran pürüzlü yüzeyler meydana getirmektedir. Biyofilm oluşumunu teşvik eden bu durum, biyofilme giricilik özelliği bulunmayan klorun kullanımı ile engellenememekte ve biyofilm oluşumunun önlenememesine neden olmaktadır. Ek olarak insan ve çevreye karşı toksik etki gösteren klorun, sıcaklık ile etkisinin bozulduğu, yüksek pH değerlerinde etkili olmadığı ve tek başına mikroorganizmaları öldüremediği, sadece üremelerini baskıladığı tespit edilmiştir (Wilsey, 1997; Martinez ve diğ., 2004). Tüm bu sınırlamalarından dolayı son yıllarda soğutma suyunun dezenfeksiyonunda oksitleyici olmayan biyositlerin ve metal iyonlarının kullanımı artmaktadır. Özellikle son yıllarda su sistemlerinin iyileştirilmesinde, biyositlere göre daha ucuz ve etkili olması sebebi ile Ag-Cu iyonizasyon sistemi yaygın olarak tercih edilmektedir.

### **2.8.2. İyileştirme Yöntemi Olarak Ag-Cu İyonlarının Kullanılması**

Metal iyonları, binlerce yıldır dezenfeksiyon için kullanılmaktadır. Antik Yunanlar, Romalılar ve Mısırlılar su, şarap ve yağı gümüş varillerde depolamışlardır. Gümüş, 1884 yılında ilk kez Carl Siegmund Franz Crede tarafından antiseptik olarak kullanılmıştır. Crede, %1'lik gümüş nitrat çözeltisini gonococcal ophthalmia enfeksiyonuna (gözde gonore enfeksiyonu) karşı korumak amacıyla, yeni doğan bebeklerin gözlerine uygulamıştır. Bu uygulama dünya çapında etkili olmuş ve daha

sonra, ciddi yanıkların tedavilerinde iyileşmeyi desteklemek ve enfeksiyonu önleyebilmek amacıyla gümüş sülfadiazin içeren merhemler kullanılmıştır. Gümüşün, kayda değer sağlık etkisi veya alerjik reaksiyon olmadan, su arıtımı ve hastalık kontrolü için kullanımının 2500 yıllık bir tarihi olduğu belirlenmiştir. Bakır ise yüzyıllardır biyosit olarak kullanılmaktadır ve bilinen en iyi algisitlerden biridir. Antik Mısır'da su ve yaraların sterilizasyonu, Antik Yunanlarda pulmoner hastalıklar ve içme suyunun arıtımı için kullanılmıştır. 18. yüzyıla gelindiğinde bakır, pulmoner rahatsızlıklar ve zihinsel bozuklukların tedavisinde geniş bir klinik kullanım alanına ulaşmıştır. İkinci Dünya Savaşı'nda dizanteriyi önlemek amacıyla, Japon askerlerin su mataralarına bakır parçaları koyduğu bilinmektedir. Bakır sülfat, tatlı su göl ve göletlerindeki vejetasyonu, sudaki hayvanlara zarar vermeden öldürmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Bakır bileşikleri, algisidal ajanlar olarak deniz boyalarına karıştırılmaktadır. Bakır ayrıca kuvvetli bir fungusittir (Sharp, 1999; Borkow ve Gabbay, 2009).

Ag ve Cu iyonlarının birlikte kullanıldığındasinerjistik etki yarattığı ve böylece daha güçlü bir dezenfektan etki gösterdiği rapor edilmiştir. Nitekim, 1960'lı yıllarda NASA tarafından uzay araçlarında içme suyu temini ve atık suyun tekrar kullanımı amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda da Ag-Cu iyonizasyon teknolojisi geliştirilmiştir. Su hijyeni konusunda Amerika'da yaygın olarak kullanılan ve Dünya Sağlık Örgütü ile Avrupa Birliği'ne bağlı *Legionella* Enfeksiyonları Avrupa Çalışma Grubu (EWGLI) tarafından Avrupa Birliği standartlarında ilk sıralarda kullanımı tavsiye edilen bir yöntemdir. İngiltere'de, Ag-Cu iyonizasyon sistemi, *Legionella* bakterisini devre dışı bırakmak amacıyla başarılı bir şekilde yaklaşık 120 hastanede uygulanmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde ise havuz suyu dezenfeksiyonu, su şişeleme şirketleri, su geri dönüşüm şirketleri ve soğutma kulelerinde kullanılmaktadır. Soğutma Teknolojisi Enstitüsü (CTI) verilerine göre iyonizasyon sisteminin *Legionella* bakterisine karşı en etkili yöntem olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, biyosit özellikleri açısından yaygın kullanım alanları bulunan Ag ve Cu iyonlarının *Legionella pneumophila*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Mycobacterium avium*, *Naegleria fowleri*, total koliformlar, bazı insan enterik virüsleri gibi mikroorganizmalar üzerine etkileri rapor edilmiştir (Cassells ve diğ., 1989; Landeen ve diğ., 1989; Yahya ve diğ., 1990; Abad ve diğ., 1994; Lin ve diğ., 1996; Lin ve diğ., 1998; Blanc ve diğ., 2005; Chen ve diğ., 2008).

Bakteriyosidal ajanlar olarak kullanılabilen Ag ve Cu iyonları gibi metal iyonları elektrolitik olarak üretilmeye uygundur. Elektrokimyasal olarak istenilen miktarlarda üretilen gümüş ( $\text{Ag}^{+1}$ ) ve bakır ( $\text{Cu}^{+2}$ ) iyonları sinerjistik dezenfeksiyon etkisi göstermektedir (Yahya ve Gerba, 1992; Lin ve diğ., 1996).

Bazı çalışmalar, bu iyonların temel biyosidal süreçlerinden birinin mikroorganizmaların hücre penetrasyonu olduğunu rapor etmektedir (Domek ve diğ., 1987; Thurman ve Gerba, 1989; Yahya ve Gerba, 1992). Bu süreç esnasında pozitif yüklü Cu iyonlarının, negatif yüklü bakteri hücre duvarı ile elektrostatik bağlanma bölgeleri oluşturması, hücre zarının güçsüzleşmesine neden olmaktadır. Bu avantajdan yararlanan Ag iyonları, hücrel proteinlere (DNA ve RNA) ve solunum enzimlerine bağlanmakta, böylece hücrenin yaşam sisteminin yapısını etkisiz hale getirmektedir (Feng ve diğ., 2000).

Günümüzde Ag-Cu iyonları yüzme havuzlarında, sıcak su sistemlerinde, içme sularında ve soğutma kulelerinde kullanılmaktadır (Lin ve diğ., 2002; Blanc ve diğ., 2005; Chen ve diğ., 2008). Elektrolitik olarak üretilen Ag-Cu iyonlarının, soğutma kulelerindeki sularda minimum çevresel etki ile mikrobiyal kirliliğin kontrolü açısından alternatif, yeni ve potansiyelli bir kullanım alanı bulunmaktadır. Çünkü, sudaki mikroorganizmalar dezenfeksiyon amacıyla kullanılan kimyasallara veya zarar verecek birçok dış etkene karşı bağışıklık mekanizması geliştirerek hayatta kalmaya devam etmektedir. Ag ve Cu iyonları ise elektriksel çekim kuvveti ile bakteriyi bulup, yüzeylerine tutunarak, bakterilerin seçici hücre geçirgenliğini bozmakta ve bakterilerin bu iyonlara karşı bağışıklık geliştirmesini engellemektedirler. Ayrıca bu iyonların, kimyasallarda olduğu gibi yarılanma sürelerinin bulunmaması ve uçucu olmamalarından dolayı dezenfeksiyon etkisi uzun süre kaybolmamaktadır. Ek olarak suyun pH dengesini değiştirmemeleri ve doğal birer dezenfektan olmaları, içme, kullanma ve soğutma sularının iyileştirilmesinde, iyonizasyon sistemini diğer dezenfeksiyon yöntemlerine göre daha üstün kılmaktadır. Ag-Cu iyonları ile iyileştirme yöntemindeki dezavantaj, iyonizasyon sisteminin kurulumu esnasındaki maliyeti ve iyonların uygulandığı su sistemindeki standartlara uygunluğunun denetiminin yapılmasını zorunlu kılmasıdır.

Etkili, ucuz ve çevre dostu bir su iyileştirme yöntemi olan Ag-Cu iyonizasyon teknolojisinin su sistemlerinde kullanılmaya başlanması zaman almıştır. Çünkü

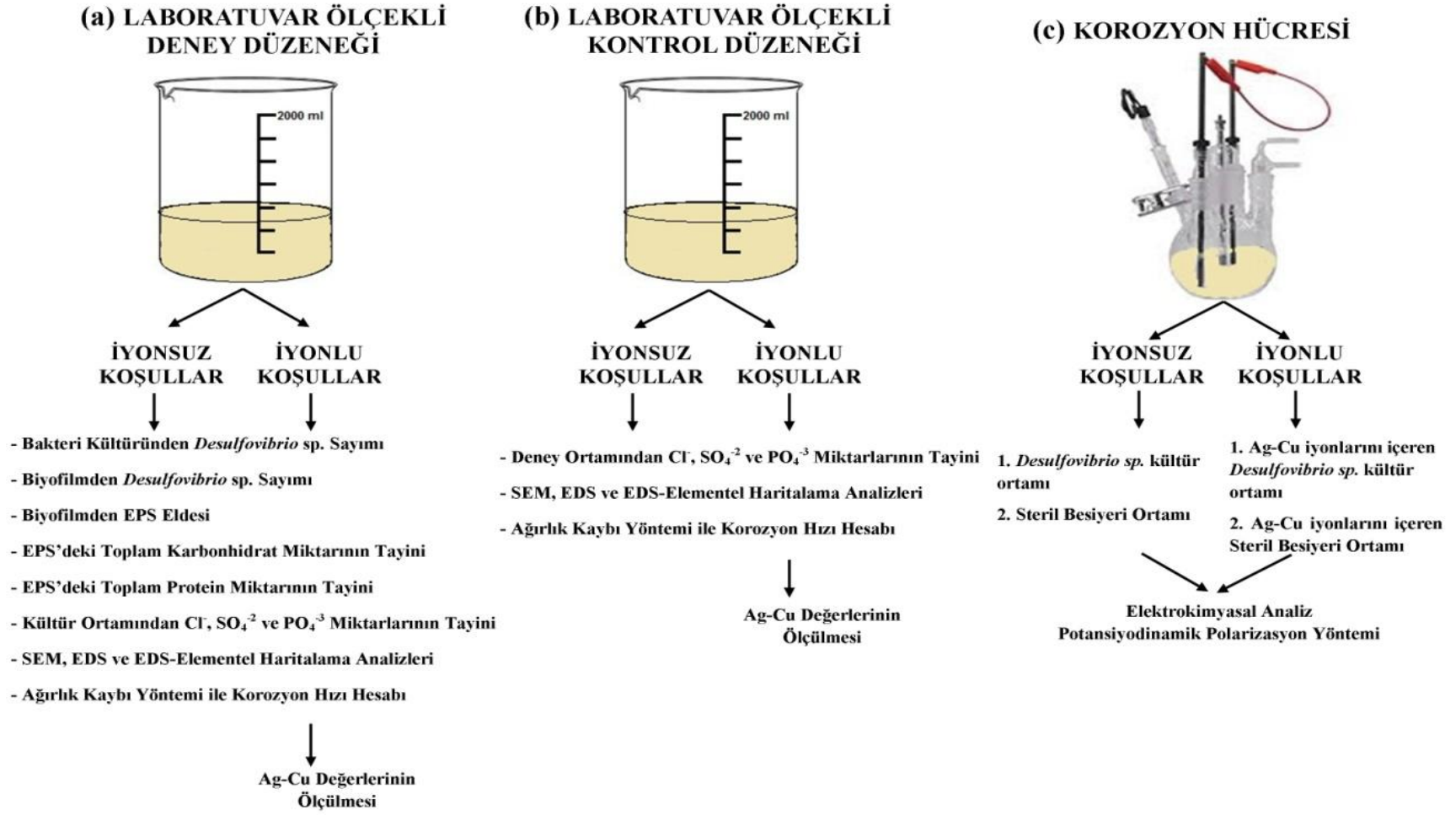
kullanıcılar, iyonizasyon sistemi yerine uygulama kolaylığından dolayı alışlagelmiş dezenfektanların kullanımını tercih etmişlerdir. Ülkemizde ve dünyada geleneksel dezenfeksiyon yöntemlerine ciddi bir yatırım söz konusudur. Türkiye’de su sistemleri dezenfeksiyonunda köklü ve geniş bir pazar payına sahip olmalarından dolayı dezenfektan satan firmalar, genellikle dezenfektanların kontrolsüz kullanımları sonucu meydana gelen sağlık, çevre ve korozyon kaynaklı ekonomik sorunları göz ardı etmektedirler. Ek olarak ülkemizde, Ag-Cu iyonizasyon sistemi hakkında yeterli bilgiye sahip olunmaması ve ayrıca bilinçsiz kullanımı sebebiyle de suyun iyileştirilmesinde etkin bir sonuç alınamaması, bu sistemin insan yapımı su sistemlerinde suyun iyileştirilmesinde yaygın olarak kullanımını engellemektedir.

Bu çalışmada, Cu ve Ag için sırasıyla 0.3 ppm ve 0.13 ppm olarak kullanılan iyon konsantrasyon değerleri, soğutma kuleleri için önerilen dozlara göre belirlenmiştir. Aynı zamanda TSE’nin (Türk Standartları Enstitüsü) endüstriyel tesisler için belirlediği atık su deşarj limitlerinin (Ag için 5 ppm, Cu için 2 ppm) altında olması nedeniyle, endüstriyel uygulamalara referans niteliğindedir.

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

Tez çalışması kapsamında saf *Desulfovibrio* sp. varlığında 316L paslanmaz çeliğin mikrobiyolojik korozyonuna Ag-Cu iyonlarının etkisi ile birlikte, Ag-Cu iyonlarının paslanmaz çelikte korozyona yol açıp açmadığı incelenmiştir. Deneyler üç farklı düzenekte gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).

1. Laboratuvar ölçekli deney düzeneği; *Desulfovibrio* sp. bakteri kültürü ile iyonlu ve iyonsuz olmak üzere iki kez kurulmuş ve her bir düzenek 720 sa süresince işletilmiştir (Şekil 3.1a). Deney düzeneklerinden 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa'larda mikrobiyolojik, kimyasal ve biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir.
2. Laboratuvar ölçekli kontrol düzeneği; steril Postgate C besiyeri ile iyonlu ve iyonsuz olmak üzere iki kez kurulmuş ve her bir düzenek 720 sa süresince işletilmiştir (Şekil 3.1b). Kontrol düzeneklerinden 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa'larda kimyasal analizler gerçekleştirilmiştir.
3. Korozyon hücresi; hem steril Postgate C besiyeri hem de *Desulfovibrio* sp. bakteri kültürü ile iyonlu ve iyonsuz olmak üzere dört kez kurulmuş ve her bir düzenek 720 sa süresince işletilmiştir (Şekil 3.1c). Korozyon hücresinden 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa'larda elektrokimyasal deneyler gerçekleştirilmiştir.



**Şekil 3.1:** Deney düzenekleri ve yapılan analizler; (a) Laboratuvar ölçekli deney düzeneği, (b) Laboratuvar ölçekli kontrol düzeneği, (c) Korozyon hücresi.

### 3.1. MİKROORGANİZMA

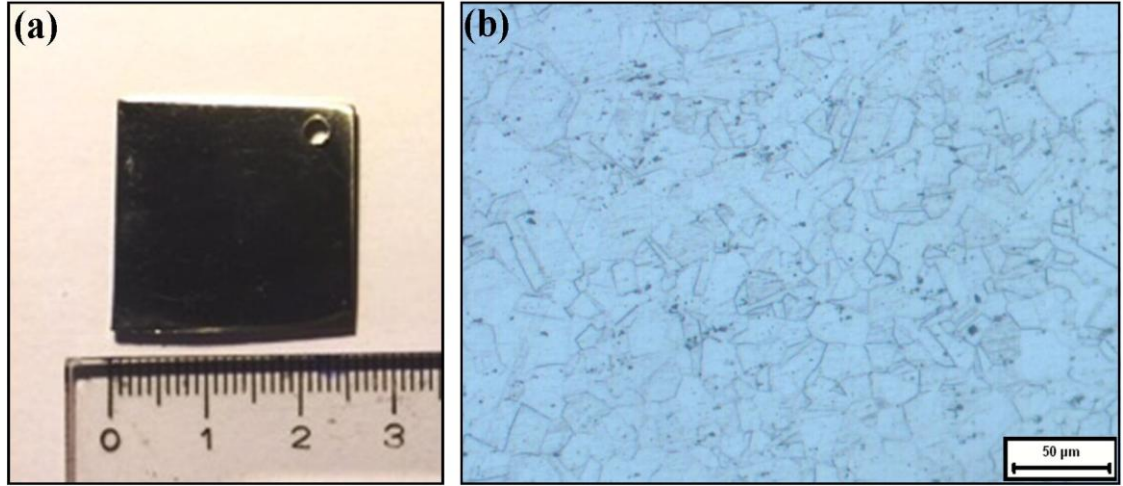
Bu çalışma kapsamında, Ilhan-Sungur ve Çotuk (2005) tarafından izole edilen *Desulfovibrio* sp. suşu kullanılmıştır. Saf *Desulfovibrio* sp. kültüründen 2 ml alınarak, içinde 18 ml sıvı Postgate B besiyeri bulunan 30 ml hacimli, steril cam serum şişelerine ekim yapılmıştır. Bakteri ekim işlemleri anaerobik koşulların sağlandığı (<1 ppm O<sub>2</sub>) glovebox cihazı (Innovative Technology- System One Glovebox) içerisinde gerçekleştirilmiştir. 24 sa'lık inkübasyon sonrasında Postgate B besiyerinin renginin siyahlaşması, *Desulfovibrio* sp. bakterilerinin ürediğinin bir göstergesidir (Postgate, 1984; Feio ve diğ., 1998).

### 3.2. 316L PASLANMAZ ÇELİK KUPONLARIN HAZIRLANMASI

Deney numunesi olarak, bir çeşit soğutma kulesi malzemesi olan 316L paslanmaz çelik kullanılmıştır. 316L paslanmaz çeliğin kimyasal bileşimi Tablo 3.1'de verilmiştir. Deneylerde toplam 212 adet 316L paslanmaz çelik kupon kullanılmıştır. Kuponlar, 316L paslanmaz çelik levhadan 25 x 25 x 1 mm boyutlarında kesilerek hazırlanmıştır (Şekil 3.2a). Düzeneklere asabilmek için kuponların bir köşesinden 2.5 mm çapında delik açılmıştır. Deney kuponları hazırlanırken öncelikle, malzemenin gerçek yapısını açığa çıkarmak ve standardizasyonu sağlamak amacı ile kuponların her iki yüzeyi de metalografik numune hazırlama prosedürüne uygun olarak, zımparalama ve parlatma aşamalarından geçirilmiştir (Vander Voort ve diğ., 2004). Zımparalama işlemi, döner disk sisteminde (Metkon, Gripo) sırasıyla 240, 320, 400, 600 ve 800 numaralı zımpara kağıtları kullanılarak yapılmıştır. Kuponlar yıkandıktan ve Pasteur fırınında 70°C'de kurutulduktan sonra parlatma işlemine geçilmiştir. Parlatma işlemi, üzerine alüminyum oksit çözeltisi dökülmüş keçenin bulunduğu döner disk kullanılarak yapılmıştır. 316L paslanmaz çelik kuponun iç yapısı optik mikroskop (Leica, DFC 280) ile incelenmiştir (Şekil 3.2b). Parlatma işlemi sonrası kuponlar, distile su ile yıkanıp kurutulmuş ve kuponların boyutları ölçülerek, toplam yüzey alanları hesaplanmıştır. Daha sonra aseton ile temizlenen kuponlar, Pasteur fırınında tekrar kurutulmuş ve ağırlıkları ölçülmüştür. Hazırlıkları tamamlanan kuponlar, deneye kadar hava almayacak şekilde desikatörde saklanmıştır.

**Tablo 3.1:** 316L paslanmaz çeliğin kimyasal bileşimi.

| % C   | % Cr  | % Ni  | % Mo | % Mn  | % Si  | % P   | % S   |
|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|
| 0.022 | 16.02 | 11.44 | 1.95 | 0.984 | 0.382 | 0.035 | 0.010 |

**Şekil 3.2:** 316L paslanmaz çelik kupon; (a) makroskobik görüntüsü, (b) optik mikroskop görüntüsü.

### 3.3. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ DENEY DÜZENEGİ

Laboratuvar ölçekli deney düzeneğinde gerçekleştirilen deneyler ile Ag-Cu iyonları varlığında veya yokluğunda, saf *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çeliğin mikrobiyolojik korozyonuna etkisi incelenmiştir.

#### 3.3.1. Deney Düzeneklerinin Kurulumu

Laboratuvar ölçekli deney düzeneği, 2 l hacimli cam beher, kupon taşıyıcı, kuponlar ve deney ortamından oluşmaktadır (Şekil 3.3):

**Beher;** içerisinde deneyin gerçekleştirildiği 2 l hacimli cam malzemedir (Şekil 3.3a). Deney öncesinde Pasteur fırınında 170°C’de 1 sa bekletilmek suretiyle steril edilmiştir.

**Kupon taşıyıcı;** metal kuponların deney ortamı içerisinde birbirlerine değmeyecek şekilde bulunmasını sağlayan delikli plastik bir malzemedir. Kuponlar, köşelerinde açılan deliklerden geçirilen iplerin düğümlenmesiye, kupon taşıyıcıya asılmaya hazır hale getirilmiştir. Daha sonra kuponların her iki yüzü de 260 nm dalga boyundaki UV

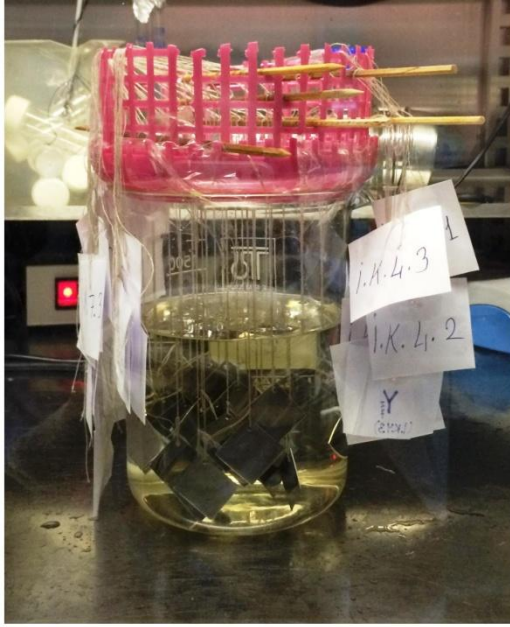
lamba altında 12 sa maruz bırakılmak suretiyle steril edilmiştir. Köşelerinden ip geçirilen kuponlar, steriliteyi bozulmayacak ve birbirlerine değmeyecek şekilde eküvyon çubuklarına asılmıştır. Kuponların dizili olduğu eküvyon çubukları da kupon taşıyıcı olarak adlandırılan delikli ve plastik malzemeye yerleştirilmiştir (Şekil 3.3a). Bu işlemler, laminar flow cihazı içerisinde, aseptik koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, kupon taşıyıcıyı içeren steril cam beherin üzeri steril alüminyum folyo ile örtülerek sterilitesi bozulmayacak şekilde glovebox içerisine alınmıştır. Bir deney düzeneği için 316L paslanmaz çelikten hazırlanan 52 adet kupon kullanılmıştır. Düzenek, Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen deney ortamlarının her ikisi ile de kurulduğu için toplam 104 adet kupon kullanılmıştır.

**Deney ortamı;** kuponların maruz bırakıldığı ve deneylerin gerçekleştirildiği ortamdır. Deney ortamı olarak, Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen 24 sa'lık *Desulfovibrio* sp. kültürü kullanılmıştır. Bakteri kültürü, glovebox içerisinde kuponları içeren steril deney düzeneğine eklenmiş ve deney süresince 150 rpm hızla karıştırılmıştır (Şekil 3.3b). Paslanmaz çelik kuponların bakteri kültürüne maruz kaldığı an, deney süresi başlatılmıştır. Düzenek kurulduktan sonra, üzeri steril alüminyum folyo ile kapatılmış ve deney süresince 30°C'lik glovebox içerisinde muhafaza edilmiştir (Marchal ve diğ., 2001; Padilla-Viveros ve diğ., 2006; Midander ve diğ., 2006).

### 3.3.1.1. Ag-Cu İyonlarını İçermeyen Deney Ortamının Hazırlanması

Bölüm 3.3.1'de anlatıldığı şekilde kurulan deney düzeneğinde, Ag-Cu iyonlarını içermeyen deney ortamı olarak 24 sa'lık saf *Desulfovibrio* sp. kültürü kullanılmıştır. *Desulfovibrio* sp. bakterileri, SRB'ler için spesifik bir besiyeri olan Postgate C besiyerinde kültüre edilmişlerdir. Deneyde kullanılacak Postgate C besiyeri hazırlanarak, otoklav cihazında 121°C ve 1 atm basınç altında 15 dk steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besiyeri sterilitesi bozulmayacak şekilde, glovebox cihazı içerisine alınarak anaerobik koşullarda (< 1 ppm O<sub>2</sub>) soğumaya bırakılmıştır. Oda sıcaklığına soğuyan besiyeri içerisine, litresinde 10 ml olacak şekilde vitamin solüsyonu eklenmiştir. Daha sonra steril Postgate C besiyerinin 1440 ml'si, glovebox içerisinde steril cam behere aktarılmıştır. Besiyerine, %10 oranını sağlayacak şekilde 24 sa'lık saf *Desulfovibrio* sp. kültürünün 160 ml'sinden ekim yapılmıştır. 30°C'de, 24 sa'lık inkübasyon sonrasında 25x10<sup>6</sup> h/ml başlangıç konsantrasyonu sağlanmıştır (Ilhan-Sungur ve diğ., 2007). *Desulfovibrio* sp.'lerin üremeleri, besiyerinde oluşan FeS

çöktellerinden doğrulanmıştır. Üremenin pozitif olduğu 1600 ml hacimli kültür, deney düzeneğinin kurulumu için kullanılmıştır.



(a)



(b)

**Şekil 3.3:** Glovebox içerisindeki taşıyıcı düzenek, eküvyon çubuklara asılı metal kuponlar ve içerisinde deney ortamı bulunan beherden oluşan laboratuvar ölçekli düzenekler; (a) laboratuvar ölçekli kontrol düzeneğindeki besiyeri (düzeneğin üstünün açık şekli), (b) laboratuvar ölçekli deney düzeneğindeki *Desulfovibrio* sp. kültürü (düzeneğin üstünün kapalı şekli).

### 3.3.1.2. Ag-Cu İyonlarının Üretilmesi ve İyonlu Deney Ortamının Hazırlanması

Bölüm 3.3.1’de anlatıldığı şekilde kurulan deney düzeneğinde Ag-Cu iyonlarını içeren deney ortamı olarak, Cu ve Ag için final konsantrasyonları sırasıyla 0.3 ppm ve 0.13 ppm olan 24 sa’lık saf *Desulfovibrio* sp. kültürü kullanılmıştır.

İyonlar, elektrolitik olarak % 99.9 saf haldeki Ag ve Cu elektrotlarından üretilmiştir. Elektrotların kalınlığı 38 mm, alanı  $1.133 \text{ mm}^2$ ’dir. Ag-Cu iyonlarının üretim işlemi, laminar flow içerisinde aseptik koşullar altında gerçekleştirilmiştir. İyonların üretileceği cam beherler, 3N nitrik asit çözeltisi içinde 1 gece bekletilmiş ve asidin uzaklaştırılması için sıcak bidistile su ile yıkandıktan sonra Pasteur fırınında kurutulmuştur. Beherler, Pasteur fırınında  $170^\circ\text{C}$ ’de 1 sa bekletilmek suretiyle steril edildikten sonra içlerine, aseptik koşullar altında, 500 ml steril bidistile su eklenmiştir. Ag ve Cu elektrotları, her

biri farklı bir beherde bulunmak suretiyle, beherler içerisindeki bidistile suya daldırılmıştır. Ag-Cu iyonları, iyonizasyon cihazı (Carefree Clearwater, 1200-R) ile 17 volt ve 340 mA akımın uygulandığı elektrotlar ile steril bidistile sular içerisinde elektrolitik olarak üretilmiştir. Farklı steril beherlerde ayrı ayrı üretilen Ag ve Cu iyonlarının, üretildiği bidistile su içerisindeki konsantrasyonları ICP-OES cihazı (Perkin Elmer, Optima 7000 DV) ile belirlenerek stok iyon çözeltileri hazırlanmıştır. Stok iyon çözeltileri deney düzeneği kurulmadan birkaç gün önce hazırlanmış ve 0.22 µm por çaplı filtreden (Sartorius) geçirilerek steril edildikten sonra, taze olarak deney düzeneğindeki bakteri kültürüne eklenmiştir.

*Desulfovibrio* sp. bakteri kültürü için bölüm 3.3.1.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanan steril Postgate C besiyeri kullanılmıştır. Glovebox içerisindeki 2 l hacimli steril beherdeki 1440 ml steril Postgate C besiyerine, %10 oranını sağlayacak şekilde 24 sa’lık saf *Desulfovibrio* sp. kültürünün 160 ml’sinden ekim yapılmıştır. 30°C’de, 24 sa’lık inkübasyon sonrasında  $25 \times 10^6$  h/ml başlangıç konsantrasyonu sağlanmıştır (Ilhan-Sungur ve diğ., 2007). *Desulfovibrio* sp. bakterilerinin üremeleri, besiyerinde oluşan FeS çökeltilerinden doğrulanmıştır. Üremenin pozitif olduğu 1600 ml kültürden gerekli miktarda eksiltip stok iyon çözeltileriyle tamamlanarak, final konsantrasyonları Cu ve Ag için final konsantrasyonları sırasıyla 0.3 ppm ve 0.13 ppm olacak şekilde iyonlu deney ortamı hazırlanmıştır. 1600 ml hacimli iyonlu kültür, iyonlu deney düzeneğinin kurulumu için kullanılmıştır.

### **3.3.2. Ag-Cu İyonları Yokluğunda ve Varlığında Hazırlanan Deney Ortamları ile Laboratuvar Ölçekli Deney Düzeneklerinin İşletilmesi**

Saf *Desulfovibrio* sp. kültürü içeren iyonlu ve iyonlu deney ortamlarına, 316L paslanmaz çelik kuponların daldırılması ile deney düzenekleri kurulmuş ve 720 sa süresince işletimleri gerçekleştirilmiştir.

Bakteriyolojik ve korozyon analizleri için 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa’larda deney düzeneklerinden 4 adet kupon çıkartılmış ve eş zamanlı olarak da 30 ml bakteri kültüründen alınmıştır. Biyofilm tabakasındaki *Desulfovibrio* sp. sayısının en muhtemel sayı (MPN) yöntemi ile tespiti için bir adet kupon kullanılmıştır. Çıkartılan ikinci kuponun yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasından EPS elde edilerek içeriğindeki toplam karbonhidrat ve toplam protein miktarları tayin

edilmiştir. Üçüncü kupon ise iyonlu ortamda biyofilmdeki Ag ve Cu miktarının tespiti amacı ile kullanılmıştır. Deney öncesi ve sonrası yapılan ağırlık ölçümleri ile bu üç kuponun ağırlık kayıpları hesaplanmıştır. Paslanmaz çelik kuponlardaki korozyon hızı ağırlık kaybı yöntemi ile belirlenmiştir. Dördüncü kupon ise yüzeydeki biyofilm oluşumunun ve korozyon ürünlerinin tespiti amacıyla, SEM, EDS ve EDS-elementel haritalama analizleri için kullanılmıştır.

Örnekleme saatlerinde deney düzeneğinden alınan bakteri kültüründeki mevcut *Desulfovibrio* sp. sayısı MPN yöntemi ile belirlenmiştir. Aynı zamanda kültürdeki  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $PO_4^{3-}$  ve pH değerleri de tespit edilmiştir.

### 3.3.3. Bakteriyolojik Analiz

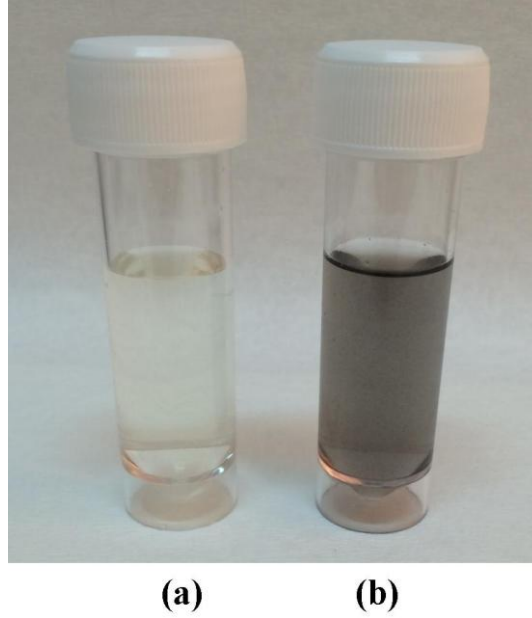
#### 3.3.3.1. Kültürdeki *Desulfovibrio* sp. Sayısının Tespiti

Kültürdeki planktonik *Desulfovibrio* sp. bakterilerinin sayımı için öncelikle belirlenen örnekleme saatlerinde deney düzeneğinden alınan bakteri kültüründen,  $10^{-1}$ 'den  $10^{-10}$ 'a kadar sulandırım serileri hazırlanmıştır. Hazırlanan sulandırmalardan Postgate B besiyeri içeren MPN serilerine ekim yapılmıştır. Ekim yapılan tüpler  $30^\circ C$ 'lik etüvde 90 gün bekletilmiştir. Postgate B besiyerinin renginin, Şekil 3.4'te gösterildiği gibi siyahlaşması, ortamda SRB'nin ürediğinin bir göstergesidir ve pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Postgate, 1984). Ekimler çift tekrarlı yapılmıştır.

#### 3.3.3.2. Biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. Sayısının Tespiti

Sesil *Desulfovibrio* sp. bakterilerinin sayımı için her örnekleme saatinde deney düzeneğinden bir adet kupon çıkartılmıştır. Kupon yüzeyindeki biyofilm tabakası alınmadan önce, yüzeye gevşek tutunmuş bakterilerin uzaklaştırılması için kuponlar birkaç kez dikkatlice steril Postgate C besiyerine daldırılmıştır. Bu işlem sonrasında, kuponun her iki yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası steril eküvyon ile alınmış ve içerisinde 5 ml steril Postgate C besiyeri bulunan santrifüj tüpüne aktarıldıktan sonra en yüksek devirde 120 sn vortekslenerek bakterilerin sıvı besiyerine geçişi sağlanmıştır (Gagnon ve Slawson, 1999). Biyofilm süspansiyonundan,  $10^{-1}$ 'den  $10^{-10}$ 'a kadar sulandırım serileri hazırlanmıştır. *Desulfovibrio* sp. bakterilerinin sayımı için her bir sulandırmadan, Postgate B besiyeri içeren MPN serilerine ekim yapılmıştır. Ekim yapılan tüpler  $30^\circ C$ 'lik etüvde 90 gün bekletilmiştir. Postgate B besiyerinin renginin

siyahlaşması, pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Postgate, 1984). Ekimler çift tekrarlı yapılmıştır.



**Şekil 3.4:** SRB izolasyonunda kullanılan Postgate B besiyeri;  
(a) ekim yapılmamış, (b) SRB pozitif.

### 3.3.4. EPS Eldesi ve İçeriğindeki Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarlarının Tayini

#### 3.3.4.1. EPS Eldesi

Biyofilmden EPS eldesi için her örnekleme saatinde deney düzeneğinden bir adet kupon çıkartılmıştır. Kuponların yüzeyindeki biyofilm tabakası alınmadan önce, planktonik veya yüzeye gevşek tutunmuş bakterilerin uzaklaştırılması için kupon birkaç kez dikkatlice steril Postgate C besiyerine daldırılmıştır. EPS eldesi yıkama, ayırma, ekstraksiyon ve filtrasyon olmak üzere dört aşamada gerçekleştirilmiştir (Zhang ve diğ., 1999):

Yıkama işlemi aşamasında, kuponun her iki yüzeyindeki biyofilm tabakası steril eküvyon ile toplanmış ve içerisinde 10 ml steril bidistile su bulunan santrifüj tüpünde süspanse edilmiştir. Biyofilm süspansiyonu 6000 g'de 10 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant başka bir steril santrifüj tüpüne aktararak saklanmıştır.

Ayırma aşamasında, yıkama işleminden geriye kalan biyofilm peleti üzerine 10 ml %8.5 NaCl ve %0.22 formaldehit içeren çözeltiden eklenmiş ve en yüksek devirde 1 dk vorteks ile karıştırılmıştır. Daha sonra ilk iki aşamadaki örnekler steril bir santrifüj tüpünde birleştirilmiştir (toplam hacim 20 ml).

Ekstraksiyon aşamasında, toplam hacmi 20 ml olan birleştirilmiş örnek kombinasyonu 11227 g'de 30 dk santrifüj edilmiştir.

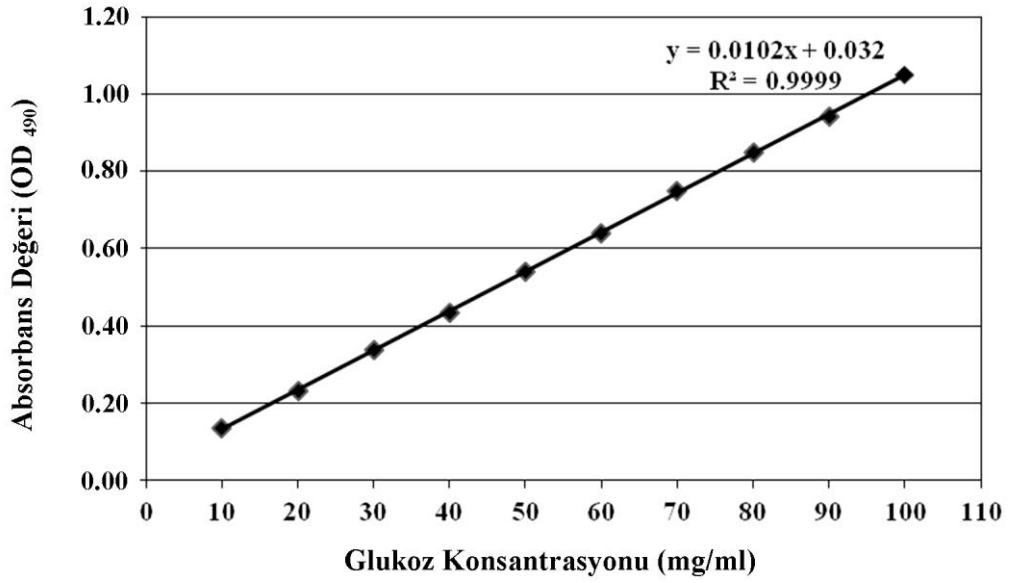
Filtrasyon işleminin yapıldığı son aşamada ise, üçüncü aşamadaki santrifüj işlemi sonucunda elde edilen süpernatant, 0.22 µm por çaplı steril membran filtreden (Sartorius) geçirilerek steril edilmiştir.

#### **3.3.4.2. Toplam Karbonhidrat Miktarının Tayini**

Biyofilmden elde edilen EPS içeriğindeki toplam karbonhidrat miktarının tayini, fenol sülfürik asit yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Dubois ve diğ., 1956).

Geniş çaplı (18x20 mm) deney tüplerine aktarılan 1 ml EPS solüsyonu üzerine, polisakkaritleri dimerlerine ayırmak için 1 ml %5'lik fenol çözeltisi eklenmiş ve hemen ardından 5 ml konsantre H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edilerek 10 dk bekletilmiştir. Süre sonunda tüpler vorteks ile karıştırılmıştır. Kimyasal reaksiyon sonucu yükselen sıcaklığın düşürülmesi ve oluşan reaksiyonun durdurulması amacıyla tüpler, 25-30°C'lik su banyosunda 10-20 dk soğumaya bırakılmıştır. Gerçekleşen reaksiyon sonucunda, sarı-turuncu renk oluşumu gözlemlenmiş ve rengin koyuluğu spektrofotometre cihazında (Perkin Elmer, Lambda 35) 490 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Toplam karbonhidrat miktarı, spektrofotometredeki ölçüm sonucu elde edilen absorbans değerinin, standart eğriye ait denklemde yerine koyulması ile hesaplanmıştır. Ölçümler 4 tekrarlı yapılmıştır.

Standart eğriyi oluşturmak için öncelikle 10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml, 40 µg/ml, 50 µg/ml, 60 µg/ml, 70 µg/ml, 80 µg/ml, 90 µg/ml ve 100 µg/ml konsantrasyonlarda standart glukoz çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltilere fenol sülfürik asit yöntemi uygulanmıştır. Kör referans olarak distile su kullanılmıştır. Her bir konsantrasyona ait absorbans değerleri ile standart grafik çizilmiş ve eğri denklemi elde edilmiştir (Şekil 3.5). Kontrol amacıyla 10 µg/ml, 50 µg/ml ve 100 µg/ml konsantrasyonlardaki standart glukoz çözeltileri deneylerle eş zamanlı olarak ölçülmüştür.



**Şekil 3.5:** Fenol sülfürik asit yöntemi ile standart glukoz konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.

#### 3.3.4.3. Toplam Protein Miktarının Tayini

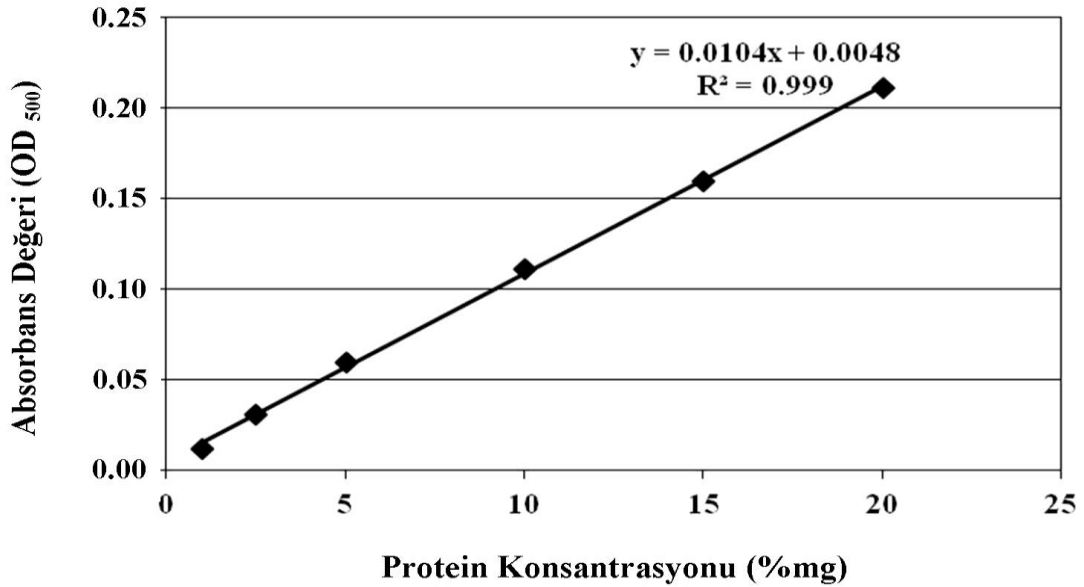
Biyofilmden elde edilen EPS içeriğindeki toplam protein miktarının tayini, Lowry yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Lowry ve diğ., 1951).

Lowry yöntemi uygulanmadan önce EPS solüsyonlarına, tuzların uzaklaştırılması amacı ile diyaliz işlemi uygulanmıştır. Diyaliz işlemi sırasında, MW: 6000-8000 diyaliz tüpü (Spectra/Por) kullanılmıştır. Diyaliz işlemi öncesinde diyaliz tüpü, 30 dk bidistile suda bekletilerek yumuşatılmıştır. Daha sonra diyaliz tüpünün bir ucu kıvrılmış ve ip ile bağlanmıştır. Diyaliz tüpünün kıvrılarak ip ile düğümlenen ucuna kilitli diyaliz klipsi takılmıştır. Diyalizi yapılacak EPS solüsyonundan 5 ml alınarak, diyaliz tüpüne eklendikten sonra, tüpün açık olan ucu da aynı şekilde ip ile bağlanıp, kilitli diyaliz klipsi ile kapatılmıştır. Daha sonra diyaliz tüpü, bidistile su içerisinde 24 sa süresince 150 rpm hızla karıştırılarak bekletilmiş ve bu süre boyunca 4 sa'da bir diyaliz suyu değiştirilerek, taze bidistile su ile yenilenmiştir (Temizkan ve Arda, 2007).

Diyalizi yapılan EPS solüsyonundan 0.5 ml alınarak geniş çaplı (18x20 mm) deney tüpüne aktarılmış ve üzerine 2.5 ml C reaktifi (A reaktifi + B reaktifi) eklendikten sonra vorteks ile karıştırılmış ve oda ısısında 10 dk bekletilmiştir. Süre sonunda solüsyona, 0.25 ml folin reaktifi eklenmiş ve solüsyon vorteks ile karıştırıldıktan sonra, oda

ısısında 30 dk bekletilmiştir. Bu süre boyunca, proteinlerin yapısındaki aromatik halka içeren amino asitler, alkali ortam ve bakır varlığında folin reaktifinde bulunan fosfomolibdotungustik asiti indirgeyerek mavi renkli bir kompleks oluştururlar. Reaksiyon sonucunda oluşan mavi rengin koyuluğu spektrofotometre cihazında (Perkin Elmer, Lambda 35) 500 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Toplam protein miktarı, spektrofotometrede ölçülen absorbans değerinin, standart eğriye ait denklemde yerine koyulması ile hesaplanmıştır. Ölçümler 4 tekrarlı yapılmıştır.

Standart eğriyi oluşturmak için öncelikle 100 mg sığır serum albuminin (BSA), %0.9'luk fizyolojik tuzlu su (FTS) ile 100 ml'ye tamamlanması ile stok bir çözelti hazırlanmıştır. Bu stoktan seyreltmeler yapılarak %1, %2.5, %5, %10, %15 ve %20'lik standart protein çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltilere de Lowry yöntemi uygulanmıştır. Kör referans olarak %0.9'luk FTS kullanılmıştır. Her bir konsantrasyona ait absorbans değerleri ile standart grafik çizilmiş ve eğri denklemi elde edilmiştir (Şekil 3.6).



**Şekil 3.6:** Lowry yöntemi ile standart protein konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.

### 3.3.5. Ag ve Cu Analizi

İyonlu bakteri kültürü ile kurulan deney düzeneklerindeki kuponların yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasındaki Ag ve Cu iyonlarının konsantrasyonları belirlenmiştir.

Biyofilmdeki Ag ve Cu konsantrasyonlarının belirlenebilmesi için her örnekleme saatinde, deney düzeneğinden 1 adet kupon çıkartılmıştır. Planktonik bakterilerin uzaklaştırılması için deney kuponu birkaç kez dikkatlice steril Postgate C besiyerine daldırılmıştır. Daha sonra kuponun her iki yüzeyinde de oluşan biyofilm tabakası steril eküvyon ile toplanmış ve içerisinde 20 ml steril bidistile su bulunan santrifüj tüpüne aktarılmıştır. Biyofilm süspansiyonu 3N HNO<sub>3</sub> ile pH:3 olacak şekilde asitlendirilmiş ve sonrasında en yüksek hızda 4 dk vorteks ile karıştırılmıştır. Karıştırma işleminden sonra, asitli biyofilm süspansiyonları 0.45 µm por çaplı membran filtreden (Sartorius) geçirilerek solüsyondaki büyük partiküller ortamdan uzaklaştırılmıştır (Percival ve diğ., 1998). Biyofilm içeriğindeki Ag ve Cu konsantrasyonları, ICP-OES cihazı (Perkin Elmer, Optima 7000 DV) ile ölçülmüştür. Ölçümler 3 tekrarlı yapılmıştır.

### 3.3.6. Deney Düzeneğindeki Bakteri Kültürünün Kimyasal Parametrelerinin Analizi

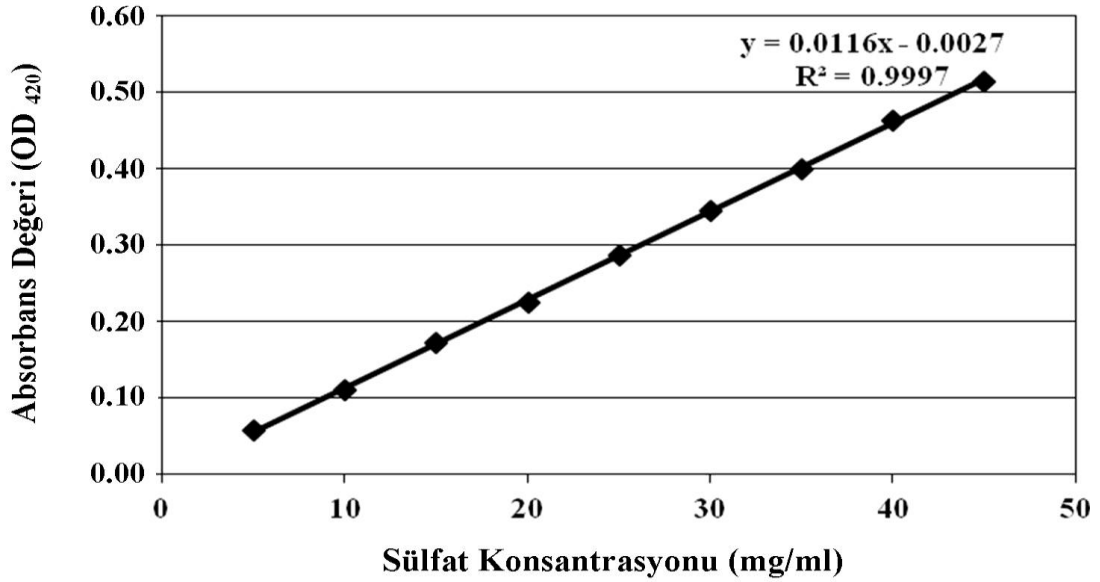
#### 3.3.6.1. Sülfat (SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>)

Bakteri kültürü içeriğindeki SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> miktarı turbidimetrik yöntem ile ölçülmüştür (APHA, 1981). 100 ml örnek üzerine 5 ml kondisyonlama çözeltisi eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Çözeltiye 0.5 g BaCl<sub>2</sub> kristali eklendikten hemen sonra süre başlatılarak, sabit hızda 1 dk daha karıştırma işlemine devam edilmiştir. Sürecin sonunda, oluşan BaSO<sub>4</sub> bulanıklığının absorbans değeri, spektrofotometre cihazında (Perkin Elmer, Lambda 35) 420 nm dalga boyunda, 4 dk süresince her 30 sn'de bir ölçülerek saptanmıştır. Ölçümler 2 tekrarlı yapılmıştır.

Standart eğriyi oluşturmak için öncelikle 5 mg/l, 10 mg/l, 15 mg/l, 20 mg/l, 25 mg/l, 30 mg/l, 35 mg/l, 40 mg/l ve 45 mg/l konsantrasyonlarda standart Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltilere turbidimetrik yöntem uygulanmıştır. Kör referans olarak distile su kullanılmıştır.

Elde edilen absorbans değerleri ile standart grafik çizilmiş ve eğri denklemi elde edilmiştir (Şekil 3.7). Kontrol amacıyla 5 mg/l, 25 mg/l ve 45 mg/l

konsantrasyonlardaki standart sülfat çözeltileri deneylerle eş zamanlı olarak ölçülmüştür.



Şekil 3.7: Turbidimetrik yöntem ile standart  $\text{SO}_4^{2-}$  konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.

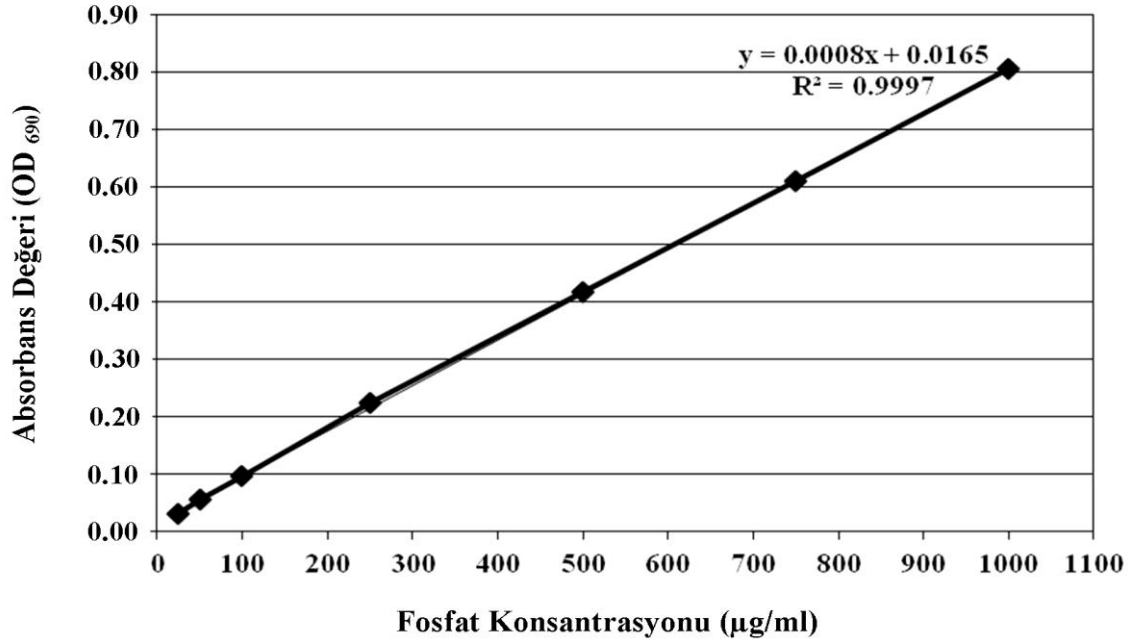
### 3.3.6.2. Ortofosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ )

Bakteri kültüründeki  $\text{PO}_4^{3-}$  miktarı, kalay klorür yöntemi ile ölçülmüştür (APHA, 1981). 100 ml örneğe, 0.05 ml (1 damla) fenolftalein indikatörü damlatılmıştır. Kültür örneklerinde pembe renk oluşumu gözlemlenmediği için örneklere güçlü asit çözeltisi damlatılmamıştır.

İndikatör ekleme işlemini takiben örnek üzerine önce 4 ml amonyum molibdat  $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$  çözeltisi, daha sonra 0.5 ml (10 damla) kalay klorür ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) çözeltisi eklenmiş ve 10 dk sonra (fakat 12 dk'dan önce) spektrofotometrede (Perkin Elmer, Lambda 35) 690 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülmüştür. Ölçümler 4 tekrarlı gerçekleştirilmiştir.

Standart eğriyi oluşturmak için öncelikle 25  $\mu\text{g/l}$ , 50  $\mu\text{g/l}$ , 100  $\mu\text{g/l}$ , 250  $\mu\text{g/l}$ , 500  $\mu\text{g/l}$ , 1000  $\mu\text{g/l}$  konsantrasyonlarda standart  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltilere kalay klorür yöntemi uygulanmıştır. Kör referans olarak distile su kullanılmıştır. Elde

edilen absorbans değerleri ile standart grafik çizilmiş ve eğri denklemi elde edilmiştir (Şekil 3.8). Kontrol amacıyla 25 µg/l, 250 µg/l ve 1000 µg/l konsantrasyonlardaki standart fosfat çözeltileri deneylerle eş zamanlı olarak ölçülmüştür.



**Şekil 3.8:** Kalay klorür yöntemi ile standart  $\text{PO}_4^{3-}$  konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.

#### 3.3.6.3. Klorür ( $\text{Cl}^-$ )

Deney düzeneğindeki bakteri kültüründe bulunan  $\text{Cl}^-$  iyonu miktarı, fotometre cihazı (Lovibond, MD600) ile ölçülmüştür.

#### 3.3.6.4. pH Değeri

Deney düzeneğindeki bakteri kültürünün pH değeri, pH metre cihazı (Denver Instrument, Meridian MR-10) ile ölçülmüştür.

#### 3.3.7. Korozyon Hızı Hesabı

316L paslanmaz çelik kuponların korozyon hızı, deney öncesi ve sonrası ölçülen ağırlık farkı yardımıyla hesaplanmıştır. Deney süresince her örnekleme saatine ait 3 adet kupon çıkartılmıştır. Kuponların yüzeylerinde oluşan biyofilm tabakası ve korozyon ürünleri eküvyon ile alınarak yüzeyden uzaklaştırılmıştır. Daha sonra kuponlar,  $\text{HNO}_3$  çözeltisi

(1 hacim %67'lik  $\text{HNO}_3$  + 3 hacim distile su) içeren beher içine konularak ultrasonik su banyosu (Alex) ile 2-5 dk bekletilmek suretiyle temizlenmiş, distile su ile yıkanmış ve %100'lük etanol ile muamele edildikten sonra Pasteur fırınında  $70^\circ\text{C}$ 'de kurutulmuştur (Sheng ve diğ., 2007). Deney öncesi ve sonrası alınan ağırlık ölçüm değerleri arasındaki fark, ağırlık kaybı olarak not edilmiştir. Korozyon hızı 3.1'de belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır (American Society for Testing and Material, 1986).

$$\text{Korozyon hızı (mdd)} = (K \times W) / (A \times t \times d) \quad (3.1)$$

$$\text{mdd} = \text{mg/dm}^2 \cdot \text{gün}$$

$$K = 2.40 \times 10^6 \times d$$

$$W = \text{ağırlık kaybı (g)}$$

$$A = \text{alan (cm}^2\text{)}$$

$$t = \text{deney süresi (sa)}$$

$$d = \text{yoğunluk (g/cm}^3\text{)}$$

### 3.3.8. SEM, EDS ve EDS-Elementel Haritalama Analizleri

Deney kuponlarının yüzeylerinde oluşan biyofilm tabakası ve korozyon ürünleri SEM ve EDS analizi ile belirlenmiştir. Ag ve Cu elementlerinin kupon yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasındaki dağılımları EDS-elementel haritalama analizi ile tespit edilmiştir. Görüntüleme analizlerinin yapılabilmesi amacıyla deney süresince her örnekleme saatinde, deney düzeneğinden bir adet kupon çıkartılmıştır.

Kuponların yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasını SEM ile inceleyebilmek amacıyla, analiz öncesi kuponlar %2.5 glutaraldehit çözeltisinde,  $+4^\circ\text{C}$ 'de 1 sa bekletilerek fikse edilmiş ve birkaç kez steril bidistile suya daldırıldıktan sonra suyun uzaklaştırılması için etanol serisi (%30, %50, %80 ve %95) içerisinde 10'ar dk bekletilmişlerdir. Bekleme süresi sonunda kuponlar, havada kurumaya bırakılmıştır (Campanac ve diğ., 2002). İnceleme öncesi kuponların yüzeyi 15 nm kalınlıkta palladyum ile kaplanmış ve örnekler Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde, SEM cihazında (ZEISS (LS-10)) incelenmiştir.

### 3.4. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ KONTROL DÜZENEGİ

Postgate C besiyerinin, Ag-Cu iyonları varlığında ve yokluğunda, 316L paslanmaz çeliğin korozyonuna etkisi steril laboratuvar ölçekli kontrol düzeneğinde incelenmiştir. Kontrol düzeneği, bölüm 3.3.1’de anlatıldığı gibi laboratuvar ölçekli deney düzeneğine benzer şekilde 2 l hacimli steril cam beher, kupon taşıyıcı ve kuponlar ile birlikte deney ortamından oluşmaktadır. Bununla birlikte, laboratuvar ölçekli deney düzeneğinden farklı şekilde, deney ortamı olarak steril Postgate C besiyeri kullanılmıştır. Steril Postgate C besiyeri Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında hazırlanarak, glovebox içerisinde steril deney düzeneğine eklenmiştir.

Paslanmaz çelik kuponların Postgate C besiyeri ile temas ettiği an, deney süresi başlatılmıştır. Düzenek, deney süresince 30°C’lik glovebox içerisinde, üzeri steril alüminyum folyo ile örtülü olarak muhafaza edilmiştir. Steril Postgate C besiyeri deney süresince manyetik karıştırıcı ile 150 rpm hızda karıştırılmıştır.

#### 3.4.1. Ag-Cu İyonlarını İçermeyen Deney Ortamının Hazırlanması

Laboratuvar ölçekli deney düzeneğinde *Desulfovibrio* sp. bakterisinin üretilirken Postgate C besiyeri kullanıldığı için kontrol düzeneğinde de deney ortamı olarak steril Postgate C besiyeri kullanılmıştır. Deneyde kullanılacak Postgate C besiyeri hazırlanarak, otoklav cihazında 121°C ve 1 atm basınç altında 15 dk steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besiyeri sterilitesi bozulmayacak şekilde, glovebox cihazı içerisine alınarak anaerobik koşullarda (< 1 ppm O<sub>2</sub>) soğumaya bırakılmıştır. Oda sıcaklığına soğuyan steril Postgate C besiyerinden 1600 ml alınarak, glovebox içerisinde bölüm 3.3.1’de anlatıldığı şekilde kurulan kontrol düzeneğine deney ortamı olarak eklenmiştir. Kontrol düzeneğinde meydana gelebilecek herhangi bir kontaminasyonu engellemek amacıyla, steril Postgate C besiyerine gentamisin (50 µg/l) eklenmiştir.

#### 3.4.2. Ag-Cu İyonlarının Üretilmesi ve İyonlu Deney Ortamının Hazırlanması

Bölüm 3.3.1.2’de anlatıldığı şekilde Ag ve Cu iyonları elektrolitik olarak üretilmiş ve filtreden geçirilerek steril stok iyon çözeltileri hazırlanmıştır. Stok iyon çözeltilerindeki Ag ve Cu iyonlarının konsantrasyonları ICP-OES cihazı (Perkin Elmer, Optima 7000 DV) ile ölçülmüştür.

Bölüm 3.3’te anlatıldığı şekilde kurulan kontrol düzeneğinde deney ortamı olarak 0.3 ppm Cu ve 0.13 ppm Ag iyonlarını içeren steril Postgate C besiyeri kullanılmıştır.

Hazırlanan Postgate C besiyeri, 121°C ve 1 atm basınç altında 15 dk steril edilmiştir. Glovebox içerisinde steril Postgate C besiyerine, steril stok iyon çözeltilerinden eklenerek final konsantrasyonları 0.3 ppm Cu ve 0.13 ppm Ag olacak şekilde steril iyonlu besiyeri hazırlanmıştır. Kontrol düzeneğindeki besiyerinin kontaminasyonunu engellemek amacıyla, steril Postgate C besiyerine gentamisin (50 µg/l) eklenmiştir .

#### **3.4.3. Ag-Cu İyonları Yokluğunda ve Varlığında Hazırlanan Deney Ortamları ile Laboratuvar Ölçekli Kontrol Düzeneklerinin İşletilmesi**

Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen steril Postgate C deney ortamlarına, 316L paslanmaz çelik kuponların daldırılması ile kontrol düzenekleri kurulmuş ve 720 sa süresince işletilmiştir. Kuponlar 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa'larda periyodik olarak sistemden çıkartılmıştır.

Her örnekleme saatinde, kontrol düzeneğinden 4 adet kupon çıkartılmış ve eş zamanlı olarak düzenekteki deney ortamından 30 ml alınmıştır. Çıkartılan kuponlardan biri, iyonlu ortamdaki kupon yüzeyinde oluşan film tabakasındaki Ag ve Cu miktarlarının tespiti amacı ile kullanılmıştır. Kontrol düzeneğinden çıkartılan üç kuponun yüzeyi Bölüm 3.3.7'de anlatıldığı şekilde temizlenmiş, deney öncesi ve sonrası yapılan ağırlık ölçümleri ile bu üç kuponun ağırlık kayıpları hesaplanmıştır. Dördüncü kupon ise korozyon ürünlerinin tespiti amacıyla, SEM, EDS ve EDS-elementel haritalama analizleri için kullanılmıştır. Aynı örnekleme saatlerinde, kontrol düzeneğinden alınan deney ortamının  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $PO_4^{3-}$  ve pH değerleri tespit edilmiştir. Paslanmaz çelik kuponlardaki korozyon hızı ağırlık kaybı yöntemi ile belirlenmiştir.

#### **3.4.4. Ag ve Cu Analizi**

İyonlu deney ortamı ile kurulan kontrol düzeneklerindeki kuponların yüzeyinde oluşan film tabakasındaki Ag ve Cu iyonlarının konsantrasyonları belirlenmiştir.

Ag ve Cu analizi için örnekler, bölüm 3.3.5'te belirtilen yöntemle uygun şekilde analize hazırlanmıştır (Percival ve diğ., 1998). Film tabakası içeriğindeki Ag ve Cu konsantrasyonları, ICP-OES (Perkin Elmer, Optima 7000 DV) cihazı ile belirlenmiştir.

#### **3.4.5. Kontrol Düzeneği Deney Ortamının Kimyasal Parametrelerinin İncelenmesi**

Kontrol düzeneğindeki deney ortamının  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $PO_4^{3-}$  ve pH değerleri, bölüm 3.3.6'da anlatıldığı şekilde tespit edilmiştir (APHA, 1981; Cord-Ruwisch, 1985).

### 3.4.6. Korozyon Hızı Hesabı

Deney süresince belirli saatlerde, kontrol düzeneğinden çıkartılan 3 adet kuponun deney öncesi ve sonrası ağırlık kayıpları belirlenerek korozyon hızları hesaplanmıştır. Kupon temizliği ve korozyon hızı hesabı bölüm 3.3.7’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir (American Society for Testing and Material, 1986; Sheng ve diğ., 2007).

### 3.4.7. SEM, EDS ve EDS-Elementel Haritalama Analizleri

Kontrol kuponlarının yüzeylerinde oluşan film tabakası ve korozyon ürünleri SEM ve EDS analizi ile belirlenmiştir. Ag ve Cu elementlerinin film tabakasındaki dağılımları EDS-elementel haritalama analizi ile tespit edilmiştir. Bu analizler için paslanmaz çelik kuponlar, bölüm 3.3.8’de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır (Campanac ve diğ., 2002). Kuponlar, Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi’nde, SEM cihazında (ZEISS (LS-10)) incelenmiştir.

## 3.5. ELEKTROKİMYASAL ÖLÇÜMLER

### 3.5.1. Elektrokimyasal Deneyler İçin 316L Paslanmaz Çelik Kuponların Hazırlanması

Korozyon hücresinde çalışma elektrodu olarak 316L paslanmaz çelik kuponlar kullanılmıştır. Deney kuponları standart yüzey koşullarını sağlamak amacıyla, metalografik numune hazırlama prosedürüne uygun şekilde zımparalama ve parlatma aşamalarından geçirilmiştir. Kuponlara, korozyon hücresine yerleştirildiğinde elektriksel bağlantıyı sağlayabilmesi amacıyla bakır tel geçirilmiştir. Bakır tel geçirilen kuponların yüzeyleri, 1 cm<sup>2</sup> alan açıkta kalacak şekilde sıcak silikon ile kaplanarak soğumaya bırakılmıştır. Metal kupon, korozyon hücresine yerleştirilmeden önceki son yüzey temizliği için etanol ile yıkanmış ve havada kurutulmuştur.

### 3.5.2. Korozyon Hücresinin Hazırlanması

Elektrokimyasal ölçümler korozyon hücresinde gerçekleştirilmiştir. Ölçümler öncesinde, korozyon hücresine ait cam malzemeler otoklavda 121 °C ve 1 atm basınç altında 15 dk steril edildikten sonra, laminar flow içerisinde aseptik koşullar altında bir araya getirilmiştir. Yüzeyi alkolle temizlenen metal kuponların her iki yüzeyi, deneyler öncesinde UV lamba altında 12 sa bekletilerek steril edilmiş ve daha sonra korozyon

hücrelerine yerleştirilmiştir. Glovebox içerisine alınan steril korozyon hücrelerine, hazırlanan deney ortamından 800 ml eklenmiştir. Glovebox cihazından çıkartıldıktan sonra korozyon hücrelerine oksijen girişini engellemek amacıyla korozyon hücrelerinin giriş ve bağlantı yerleri vazelin ve parafilm ile iyice kapatılarak, korozyon hücresi elektrokimyasal ölçümlerin alınabilmesi için hazır hale getirilmiştir.

### 3.5.3. Korozyon Hücresi Deney Düzenekleri

#### 3.5.3.1. *Desulfovibrio* sp. Kültür Ortamı

*Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çeliğin mikrobiyolojik korozyonuna etkisinin elektrokimyasal yöntemler ile incelenmesi amacıyla deneyler, korozyon hücresinde gerçekleştirilmiştir. Korozyon hücresi, bölüm 3.5.2’de anlatıldığı şekilde ölçüme hazırlanmıştır. Deney ortamı olarak 24 sa’lık saf *Desulfovibrio* sp. kültürü kullanılmıştır. Bu amaçla korozyon hücrelerine ilk olarak 720 ml steril Postgate C besiyeri eklenerek, içerisine %10 oranını sağlayacak şekilde 24 sa’lık saf *Desulfovibrio* sp. kültürünün 80 ml’sinden ekim yapılmıştır. 30°C’de, 24 sa’lık inkübasyon sonrasında  $25 \times 10^6$  h/ml başlangıç konsantrasyonu sağlanmıştır (Ilhan-Sungur ve diğ., 2007). *Desulfovibrio* sp.’lerin üremeleri, oluşturdukları FeS çökeltilerinden doğrulanmıştır. Üremenin pozitif olduğu 800 ml hacimli kültür, korozyon hücrelerinin kurulumu için kullanılmıştır.

#### 3.5.3.2. Ag-Cu İyonlarını İçeren *Desulfovibrio* sp. Kültür Ortamı

Ag-Cu iyonları varlığında, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin paslanmaz çeliğin mikrobiyolojik korozyonuna etkisi elektrokimyasal yöntemler ile korozyon hücresinde incelenmiştir. Korozyon hücresi, bölüm 3.5.2’de anlatıldığı şekilde ölçüme hazırlanmıştır. Deney ortamı olarak, final konsantrasyonları 0.3 ppm Cu ve 0.13 ppm Ag olacak şekilde 24 sa’lık saf *Desulfovibrio* sp. kültürü kullanılmıştır. Bu amaçla korozyon hücrelerine ilk olarak 720 ml steril Postgate C besiyeri eklenerek, içerisine %10 oranını sağlayacak şekilde 24 sa’lık saf *Desulfovibrio* sp. kültürünün 80 ml’sinden ekim yapılmıştır. 30°C’de, 24 sa’lık inkübasyon sonrasında  $25 \times 10^6$  h/ml başlangıç konsantrasyonu sağlanmıştır (Ilhan-Sungur ve diğ., 2007). *Desulfovibrio* sp. bakterilerinin üremeleri, oluşturdukları FeS çökeltilerinden doğrulanmıştır. Üremenin pozitif olduğu 800 ml kültürden gerekli miktarda eksiltiye stok iyon çözeltileriyle tamamlanarak, final konsantrasyonları Cu ve Ag için sırasıyla 0.3 ppm ve 0.13 ppm

olacak şekilde iyonlu deney ortamı hazırlanmıştır. 800 ml hacimli iyonlu kültür, korozyon hücresinin kurulumu için kullanılmıştır.

#### **3.5.4. Korozyon Hücresi Kontrol Düzenekleri**

##### **3.5.4.1. Steril Postgate C Besiyeri Ortamı**

Postgate C besiyerinin, 316L paslanmaz çeliğin korozyonuna etkisi elektrokimyasal yöntemler ile korozyon hücresinde incelenmiştir. Korozyon hücresi, bölüm 3.5.2’de anlatıldığı şekilde ölçüme hazırlanmıştır. Deney ortamı olarak korozyon hücresine, 800 ml steril Postgate C besiyeri eklenmiştir. Korozyon hücresinde meydana gelebilecek herhangi bir kontaminasyonu engellemek amacıyla, steril Postgate C besiyerine gentamisin (50 µg/l) eklenmiştir.

##### **3.5.4.2. Ag-Cu İyonlarını İçeren Steril Postgate C Besiyeri Ortamı**

Ag-Cu iyonları varlığında Postgate C besiyerinin, 316L paslanmaz çeliğin korozyonuna etkisi elektrokimyasal yöntemler ile korozyon hücresinde incelenmiştir. Korozyon hücresi, bölüm 3.5.2’de anlatıldığı şekilde ölçüme hazırlanmıştır. Deney ortamı olarak korozyon hücresine, final konsantrasyonları 0.3 ppm Cu ve 0.13 ppm Ag olacak şekilde 800 ml steril iyonlu Postgate C besiyeri eklenmiştir. Korozyon hücresinde meydana gelebilecek herhangi bir kontaminasyonu engellemek amacıyla, steril Postgate C besiyerine gentamisin (50 µg/l) eklenmiştir.

#### **3.5.5. Elektrokimyasal Analizler**

Tez çalışması kapsamında, 316L paslanmaz çeliğin mikrobiyolojik korozyon davranışı elektrokimyasal deneylerle de incelenmiştir. Bunun için potansiyodinamik korozyon deneyleri yapılmış, çizilen Tafel eğrileri ile korozyon davranışı değerlendirmeleri yapılmıştır. 316L paslanmaz çelik kuponları içeren korozyon hücresi 720 sa süresince işletilmiş ve ölçümler, deney/kontrol düzeneğiyle aynı örnekleme saatlerinde (8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa’larda) gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal ölçümler potansiyostat/galvanostat (Gamry, İnterface 1000) cihazı ile yapılmıştır.

Elektrokimyasal deneylerde üç elektrot tekniği kullanılmıştır. Karşı elektrot olarak karbon çubuk, referans elektrot olarak doymuş kalomel elektrot (SCE) ve çalışma elektrodu olarak da 316L paslanmaz çelik kuponlar kullanılmıştır. Her örnekleme

saatinde, korozyon potansiyelinden ( $E_{kor}$ ) itibaren yaklaşık 500 mV katodik yönden başlanarak, yaklaşık 1500 mV anodik yöne gidilerek tarama yapılmıştır. Bu potansiyel tarama aralığında, 1 mV/s tarama hızında akım-potansiyel eğrileri elde edilmiştir.

Korozyon hücresindeki deney ortamı, deney süresince ısıtıcılı manyetik karıştırıcı ile 150 rpm hızla karıştırılmış ve sıcaklığı 30°C’de sabit tutulmuştur. Deney süresince anaerobik koşulların korunduğu, besiyerindeki resazurin indikatör boya aracılığıyla gözlemlenmiştir.

### 3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen istatistiksel analizlerde SPSS 21.0 programı kullanılmıştır. *Desulfovibrio* sp. sayıları, EPS’deki toplam karbonhidrat ve toplam protein miktarları, 316L paslanmaz çelik kuponlara ait ağırlık kaybı ve korozyon hızı değerleri, deney ortamlarının kimyasal parametreleri, biyofilm tabakalarındaki Ag ve Cu konsantrasyonları arasındaki ilişki Pearson korelasyon katsayıları testi ile gösterilmiştir. Deney ve kontrol düzenekleri yanı sıra, Ag-Cu iyonları içeren ve içermeyen deney ortamları arasındaki değerlerin de ortalamalar açısından farkının değerlendirilmesi t-testi ile gerçekleştirilmiştir.

Kontrol düzeneklerinde Ag-Cu iyonları içeren ve içermeyen deney ortamlarının kimyasal parametreleri, bu deney ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponlara ait ağırlık kaybı ve korozyon hızı değerleri, kuponların yüzeyindeki film tabakalarındaki Ag ve Cu konsantrasyonları ile bu değerlerin aralarındaki ilişki Pearson korelasyon katsayıları testi ile gösterilmiştir.

Hem deney hem kontrol düzeneklerinde, Ag-Cu iyonları içeren ve içermeyen deney ortamlarına ait veriler ile deney ve kontrol düzeneklerindeki verilerin ortalamaları açısından farkının değerlendirilmesi t-testine göre yapılmıştır.

### 3.7. ARAŞTIRMADA KULLANILAN BESİYERLERİ VE KİMYASAL MADDELER

#### 3.7.1. Postgate B Besiyeri

*Desulfovibrio* sp. sayısının tespitinde kullanılan Postgate B besiyerinin bileşimi aşağıda belirtilmiştir (Postgate, 1984):

|                                                                               |         |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )                       | 0.5 g   |
| Amonyum klorür ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )                                     | 1.0 g   |
| Kalsiyum sülfat ( $\text{CaSO}_4$ )                                           | 1.0 g   |
| Magnezyum sülfat heptahidrat ( $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ )   | 2.0 g   |
| Sodyum laktat ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$ )                   | 3.5 g   |
| Maya özütü                                                                    | 1.0 g   |
| Resazurin ( $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{NO}_4$ )                            | 0.001 g |
| Sodyum L-askorbat ( $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Na}$ )               | 0.1 g   |
| Sodyum asetat ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ )                          | 2.46 g  |
| Sodyum tiyoglikolat ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{SNa}$ )            | 0.1 g   |
| Demir (III) sülfat heptahidrat ( $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ) | 0.5 g   |
| Distile su                                                                    | 1000 ml |

pH =  $7.2 \pm 0.2$  (% 10 m/V NaOH ile ayarlanır),  $121^\circ\text{C}$ 'de ve 1 atm basınçta, 15 dk steril edilmiştir.

#### 3.7.2. Postgate C Besiyeri

Deney ortamlarının hazırlanmasında kullanılan Postgate C besiyerinin bileşimi aşağıda belirtilmiştir (Postgate, 1984):

|                                                                             |         |
|-----------------------------------------------------------------------------|---------|
| Potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )                     | 0.5 g   |
| Amonyum klorür ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )                                   | 1.0 g   |
| Sodyum sülfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )                                  | 4.5 g   |
| Kalsiyum klorür heksahidrat ( $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ )  | 0.06 g  |
| Magnezyum sülfat heptahidrat ( $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ) | 0.06 g  |
| Sodyum laktat ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$ )                 | 6.0 g   |
| Maya özütü                                                                  | 1.0 g   |
| Resazurin ( $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{NO}_4$ )                          | 0.001 g |

|                                                            |         |
|------------------------------------------------------------|---------|
| Sodyum tiyoglikolat ( $C_2H_3O_2SNa$ )                     | 0.1 g   |
| Demir (II) sülfat heptahidrat ( $FeSO_4 \times 7H_2O$ )    | 0.004 g |
| Trisodyum sitrat dihidrat ( $C_6H_5Na_3O_7 \times 2H_2O$ ) | 0.3 g   |
| Distile su                                                 | 1000 ml |

pH =  $7.2 \pm 0.2$  (% 10 m/V NaOH ile ayarlanır), 121°C’de ve 1 atm basınçta, 15 dk steril edilmiştir.

### 3.7.3. R2A Agar Besiyeri

Tez çalışması kapsamında kontrol düzeneğinin sterilitesini kontrol etmek amacı ile heterotrofik bakterilerin sayımında kullanılan R2A agar bileşimi aşağıda belirtilmiştir:

|                                                        |         |
|--------------------------------------------------------|---------|
| Maya özütü                                             | 0.5 g   |
| Pepton                                                 | 0.5 g   |
| Kazein hidrolizatı                                     | 0.5 g   |
| Glukoz ( $C_6H_{12}O_6$ )                              | 0.5 g   |
| Nişasta                                                | 0.5 g   |
| Pirüvik asit ( $C_3H_3O_3Na$ )                         | 0.3 g   |
| Dipotasyum hidrojen fosfat ( $K_2HPO_4$ )              | 0.3 g   |
| Magnezyum sülfat heptahidrat ( $MgSO_4 \times 7H_2O$ ) | 0.05 g  |
| Agar                                                   | 12 g    |
| Distile su                                             | 1000 ml |

121°C’de ve 1 atm basınçta, 15 dk steril edilmiştir.

### 3.7.4. Tiyoglikolat Besiyeri

Tez çalışması kapsamında kontrol düzeneğinin sterilitesini kontrol etmek amacı ile anaerobik bakterilerin sayımında kullanılan tiyoglikolat besiyerinin bileşimi aşağıda belirtilmiştir:

|                                         |       |
|-----------------------------------------|-------|
| Maya özütü                              | 5 g   |
| Pepton                                  | 15 g  |
| D (+) Glukoz ( $C_6H_{12}O_6$ )         | 5.5 g |
| Tiyoglikolik asit ( $C_2H_3O_2SNa$ )    | 0.5 g |
| L-sistin ( $[L-SCH_2CH(NH_2)CO_2H]_2$ ) | 0.5 g |

|                                        |         |
|----------------------------------------|---------|
| Sodyum klorür (NaCl)                   | 2.5 g   |
| Sodyum resazurin ( $C_{12}H_6NNaO_4$ ) | 0.001 g |
| Agar                                   | 7 g     |
| Distile su                             | 1000 ml |

121°C’de ve 1 atm basınçta, 15 dk steril edilmiştir.

### 3.7.5. Vitamin Solüsyonu

Bakterilerin üremesini teşvik amacıyla, 1 l hacimli steril Postgate B ve Postgate C besiyerlerine 10 ml hacimde eklenen vitamin solüsyonunun bileşimi aşağıda belirtilmiştir:

|                                                     |         |
|-----------------------------------------------------|---------|
| Biyotin ( $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ )                   | 2 mg    |
| Folik asit ( $C_{19}H_{19}N_7O_6$ )                 | 2 mg    |
| Piridoksin ( $C_8H_{11}NO_3$ )                      | 10 mg   |
| Tiamin ( $C_{12}H_{17}ClN_4OS$ )                    | 5 mg    |
| Riboflavin ( $C_{17}H_{14}N_2O_6$ )                 | 5 mg    |
| Nikotinik asit ( $C_6H_5NO_2$ )                     | 5 mg    |
| Kalsiyum D Pantotenat ( $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$ ) | 5 mg    |
| Vitamin B12 ( $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ )       | 0.1 mg  |
| p-aminobenzoik asit ( $H_2NC_6H_4COOH$ )            | 5 mg    |
| Lipoik asit ( $C_8H_{14}O_2S_2$ )                   | 5 mg    |
| Distile su                                          | 1000 ml |

### 3.7.6. Protein Tayininde Kullanılan Reaktifler

#### 3.7.6.1. A Reaktifi: %2 $Na_2CO_3$ (0.1 N NaOH içerisinde)

##### 0.1 N NaOH;

|              |                            |
|--------------|----------------------------|
| NaOH         | 4 g                        |
| Bidistile su | 1000 ml’ye tamamlanmıştır. |

##### %2 $Na_2CO_3$ ;

|                      |                           |
|----------------------|---------------------------|
| $Na_2CO_3$           | 2 g                       |
| 0.1 N NaOH çözeltisi | 100 ml’ye tamamlanmıştır. |

### 3.7.6.2. B Reaktifi: %0.5 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (%1 Dipotasyum Tartarat İçerisinde)

#### %1 dipotasyum tartarat;

|                     |                           |
|---------------------|---------------------------|
| Dipotasyum tartarat | 1 g                       |
| Bidistile su        | 100 ml'ye tamamlanmıştır. |

#### %0.5 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Bu çözelti her gün taze olarak hazırlanmıştır);

|                                           |                          |
|-------------------------------------------|--------------------------|
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 0.05 g                   |
| %1 dipotasyum tartarat çözeltisi          | 10 ml'ye tamamlanmıştır. |

### 3.7.6.3. C Reaktifi (Alkali Bakır Çözeltisi)

|            |       |
|------------|-------|
| A reaktifi | 50 ml |
| B reaktifi | 1 ml  |

Bu çözelti kullanımından hemen önce, taze olarak hazırlanmıştır.

### 3.7.6.4. E Reaktifi (Folin Reaktifi)

1500 ml'lik florence balonuna 100 g Na-tungustat, 25 g Na-molibdat, 700 ml bidistile su, 50 ml %85'lik fosfat asidi ve 100 ml derişik HCl eklenmiş ve geri soğutucu altında 10 sa kaynatılmıştır. Daha sonra bu çözeltiye 150 g  $\text{Li}_2\text{SO}_4$ , 50 ml bidistile su ve birkaç damla brom ilave edilmiştir. Bromun fazlasını uzaklaştırmak için tekrar 15 dk kaynatılmış ve soğutulduktan sonra bidistile su ile son hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Reaktif deneyde kullanılırken 1:2 oranında bidistile su ile seyreltilerek kullanılmıştır.

### 3.7.7. 3N Ayarlı Nitrik Asit Çözeltisi

|                |                            |
|----------------|----------------------------|
| $\text{HNO}_3$ | 207.73 ml                  |
| Deiyonize su   | 1000 ml'ye tamamlanmıştır. |

### 3.7.8. Fenolftalein İndikatör Çözeltisi

|                |       |
|----------------|-------|
| Fenolftalein   | 0.5 g |
| %95 Etil alkol | 50 ml |
| Distile su     | 50 ml |

**3.7.9. Kondisyonlama Çözeltisi**

|                |        |
|----------------|--------|
| NaCl           | 7.5 g  |
| Distile su     | 300 ml |
| %37 HCl        | 30 ml  |
| %95 Etil alkol | 100 ml |
| Gliserol       | 50 ml  |

**3.7.10. Güçlü Asit Çözeltisi**

300 ml konsantre  $H_2SO_4$  dikkatli bir şekilde, 600 ml distile suya ilave edilmiş ve soğuduktan sonra 4 ml konsantre  $HNO_3$  eklenip distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

**3.7.11. Amonyum Molibdat Çözeltisi**

25 g  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ , 175 ml distile suda çözündürülmüştür. 280 ml konsantre  $H_2SO_4$  dikkatli bir şekilde, 400 ml distile suya ilave edilmiş ve soğuduktan sonra amonyum molibdat solüsyonu eklenip distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

**3.7.12. Kalay Klorür Çözeltisi**

|                      |        |
|----------------------|--------|
| $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ | 2.5 g  |
| Gliserol             | 100 ml |

**3.7.13. 5 mM Bakır Sülfat Solüsyonu**

|            |                            |
|------------|----------------------------|
| $CuSO_4$   | 1.248 g                    |
| HCl        | 4.15 ml                    |
| Distile su | 1000 ml'ye tamamlanmıştır. |

**3.7.14. 50 mM Hidroklorik Asit**

|            |                            |
|------------|----------------------------|
| HCl        | 4.15 ml                    |
| Distile su | 1000 ml'ye tamamlanmıştır. |

**3.7.15. Korozyon Analizinde Kullanılan Asit Çözeltisi**

|                 |         |
|-----------------|---------|
| %67'lik $HNO_3$ | 1 hacim |
| Distile su      | 3 hacim |

## 4. BULGULAR

### 4.1. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ DENEY DÜZENEGİ

#### 4.1.1. Ag-Cu İyonlarını İçermeyen Deney Ortamı

Ag-Cu İyonlarını İçermeyen deney ortamı ile kurulmuş olan laboratuvar ölçekli deney düzeneğinden 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa'larda çıkartılan kuponlardan ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamından alınan örneklerden mikrobiyolojik, kimyasal ve biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir.

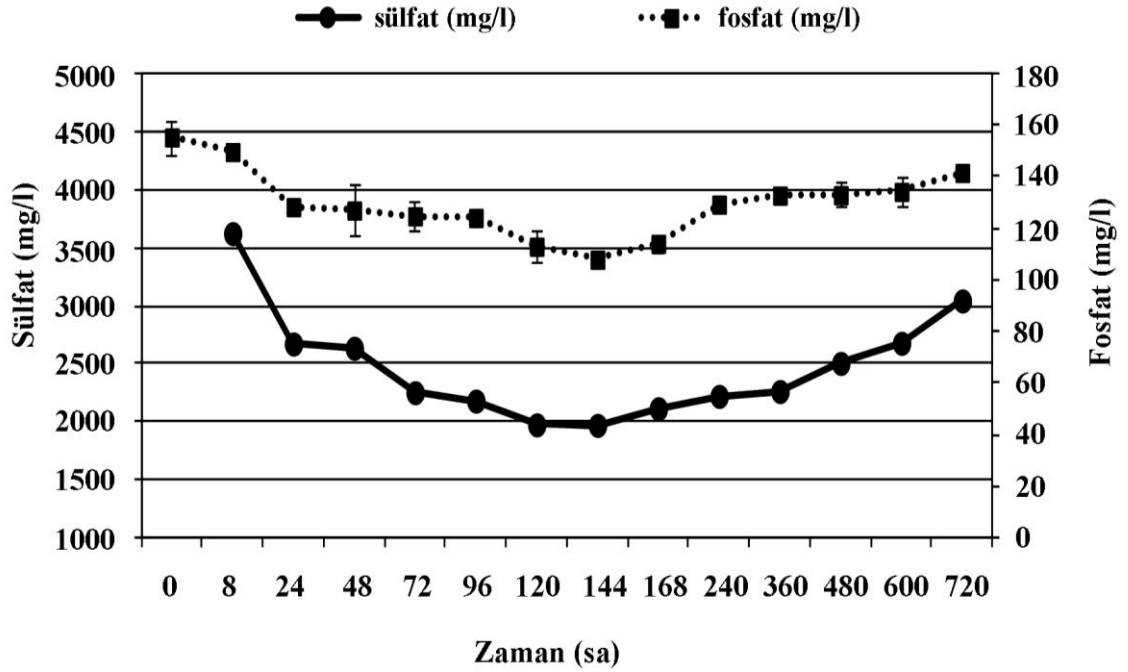
Deney düzeneğinden alınan *Desulfovibrio* sp. kültür ortamının  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  ve pH değerleri ölçülmüştür.  $\text{Cl}^-$  analizi sonucunda, besiyerindeki  $\text{Cl}^-$  miktarının  $<0.01$  ppm değerlerinde olduğu tespit edilmiştir. *Desulfovibrio* sp. kültürünün örnekleme saatlerine ait  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  ve pH değerleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Deney süresince hem  $\text{SO}_4^{-2}$  hem de  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinde 144. sa'ya kadar bir azalma gözlenirken, daha sonra 720. sa'ya kadar düzenli bir artış olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.1, Şekil 4.1). Deney ortamının en yüksek  $\text{SO}_4^{-2}$  konsantrasyonu 8. sa'da  $3624.28 \pm 54.06$  mg/l ve  $\text{PO}_4^{-3}$  konsantrasyonu 0. sa'da  $115.34 \pm 0.07$  mg/l olarak tespit edilmiştir. Hem  $\text{SO}_4^{-2}$  hem de  $\text{PO}_4^{-3}$  için en düşük konsantrasyon değerleri 144. sa'da gözlemlenmiş ve sırasıyla  $1976.03 \pm 35.16$  mg/l ve  $107.95 \pm 0.69$  mg/l olarak saptanmıştır. *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerleri arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir ( $r = 0.883$ ,  $p < 0.01$ ) (Şekil 4.1). *Desulfovibrio* sp. kültür ortamının pH değerlerinin zamanla arttığı ve 720. sa'da  $7.51 \pm 0.01$  değerine ulaştığı tespit edilmiştir ( $r = 0.969$ ,  $p < 0.001$ ).

**Tablo 4.1:** Deney süresince deney düzeneğindeki *Desulfovibrio* sp. kültürünün  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  ve pH değerleri.

| Saatler | $\text{SO}_4^{-2}$ (mg/l) | $\text{PO}_4^{-3}$ (mg/l) | pH              |
|---------|---------------------------|---------------------------|-----------------|
| 0       | *                         | $155.28 \pm 6.64$         | $6.02 \pm 0.10$ |
| 8       | $3624.28 \pm 54.06$       | $149.63 \pm 0.46$         | $6.25 \pm 0.09$ |
| 24      | $2675.38 \pm 41.46$       | $128.31 \pm 0.09$         | $6.32 \pm 0.18$ |
| 48      | $2639.08 \pm 31.55$       | $126.98 \pm 6.68$         | $6.55 \pm 0.12$ |
| 72      | $2256.61 \pm 29.70$       | $124.78 \pm 5.34$         | $6.75 \pm 0.01$ |
| 96      | $2184.43 \pm 27.48$       | $124.15 \pm 0.38$         | $6.82 \pm 0.11$ |
| 120     | $1980.72 \pm 27.45$       | $113.02 \pm 5.96$         | $6.84 \pm 0.01$ |
| 144     | $1976.03 \pm 35.16$       | $107.95 \pm 0.69$         | $6.85 \pm 0.08$ |
| 168     | $2119.01 \pm 27.22$       | $114.14 \pm 2.98$         | $6.89 \pm 0.00$ |
| 240     | $2225.19 \pm 29.13$       | $129.29 \pm 0.05$         | $6.97 \pm 0.01$ |
| 360     | $2266.71 \pm 35.70$       | $132.80 \pm 0.59$         | $7.08 \pm 0.03$ |
| 480     | $2508.67 \pm 44.46$       | $132.95 \pm 4.69$         | $7.29 \pm 0.01$ |
| 600     | $2681.32 \pm 41.26$       | $134.24 \pm 5.40$         | $7.47 \pm 0.01$ |
| 720     | $3045.45 \pm 47.09$       | $141.53 \pm 0.23$         | $7.51 \pm 0.01$ |

± Standart sapma

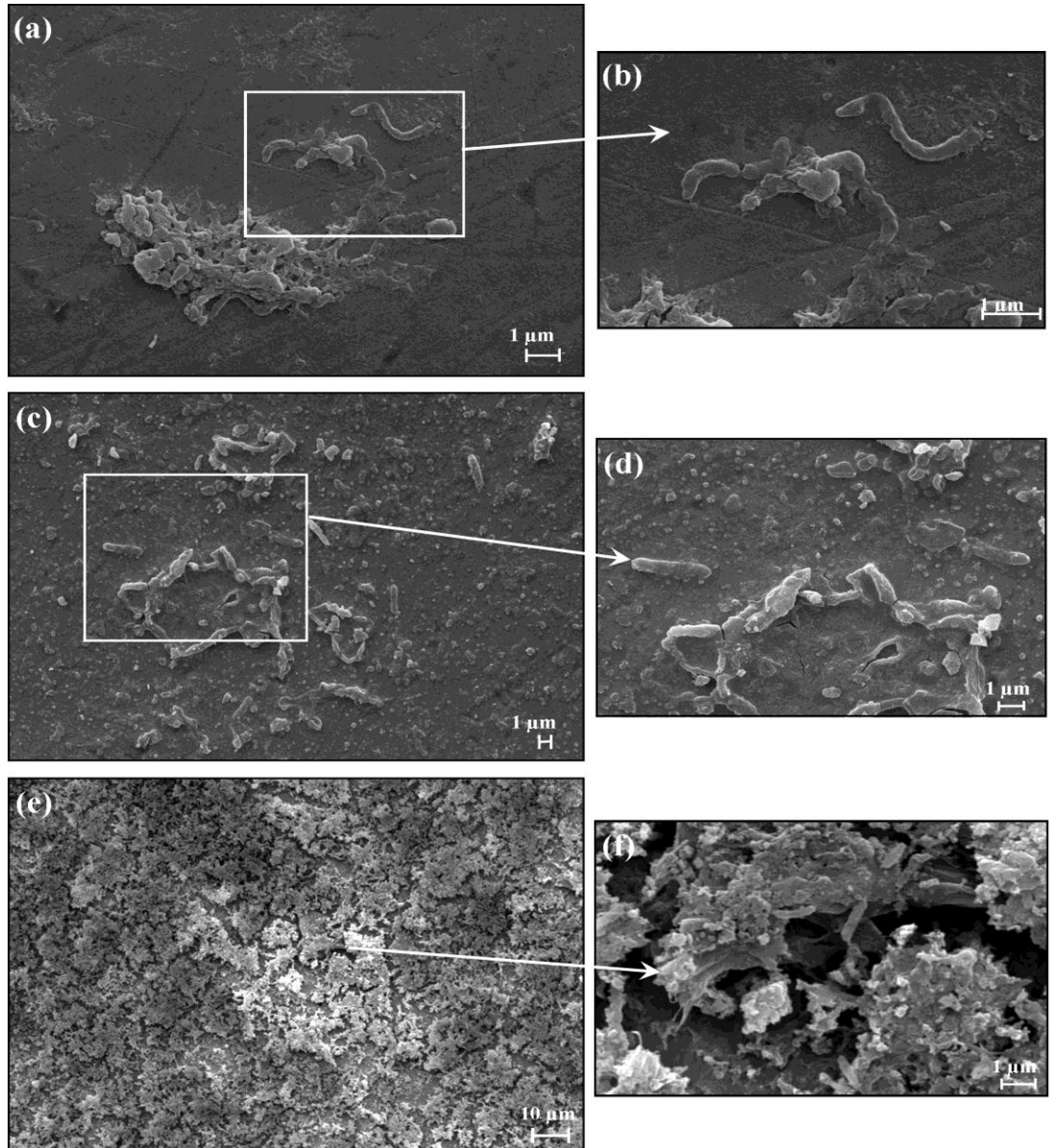
\* Ölçüm yapılamamıştır.



**Şekil 4.1:** Deney düzeneğindeki *Desulfovibrio* sp. kültür ortamının  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  miktarlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

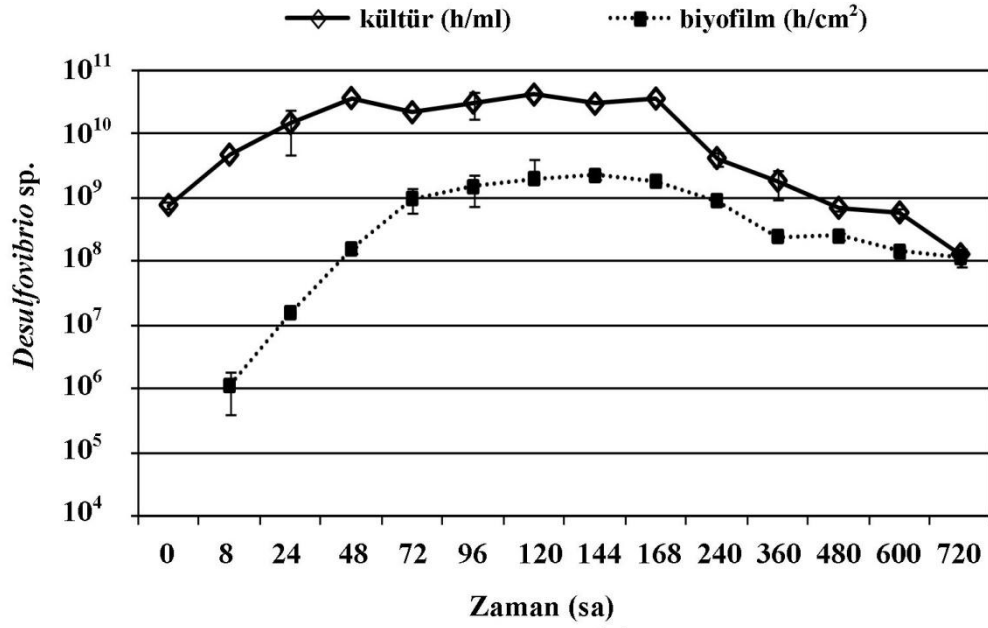
#### 4.1.1.1. Bakteriyolojik Analiz

Deney süresince paslanmaz çelik kuponların yüzeyinde gözle görülebilen, ince, renksiz (şeffaf), yüzeyden kolayca alınabilen, yoğun ve heterojen yapıda bir biyofilm tabakasının oluştuğu gözlemlenmiştir. SEM fotoğrafları da, *Desulfovibrio* sp. bakterilerinin paslanmaz çelik kuponların yüzeyine tutunabildiklerini ve kolonize olabildiklerini göstermektedir (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2:** *Desulfovibrio* sp. kültür ortamına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasının SEM fotoğrafları; (a, b) 8. sa'da, (c, d) 144. sa'da, (e, f) 720. sa'da.

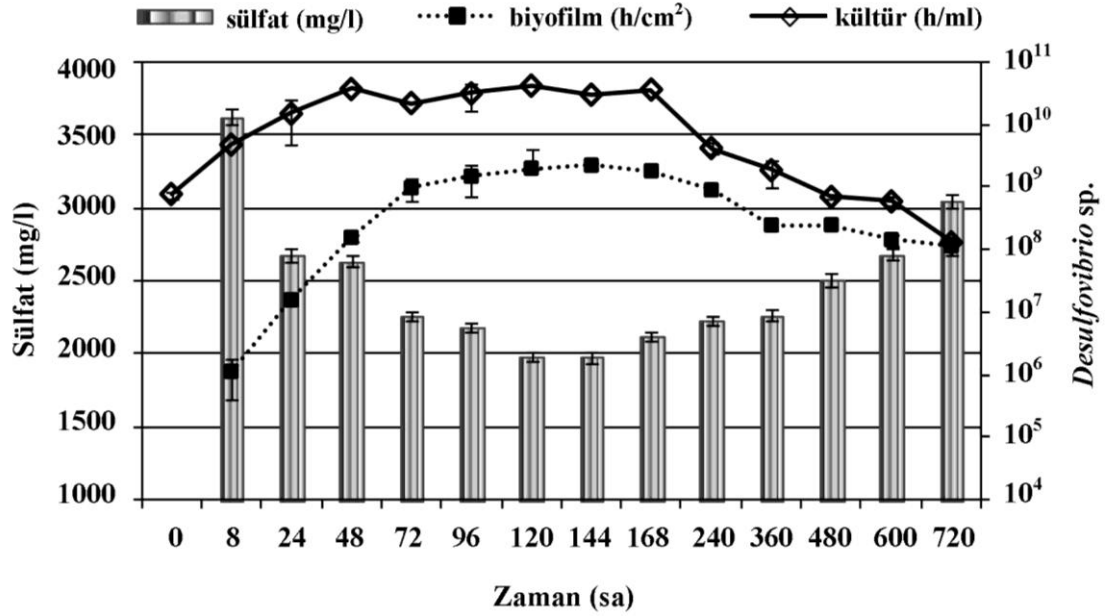
Deney süresince 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa’larda paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan biyofilm tabakasından ve eş zamanlı olarak deney ortamı olan *Desulfovibrio* sp. kültüründen bakteri sayımları gerçekleştirilmiştir. Biyofilm ve kültürdeki *Desulfovibrio* sp. bakterilerinin üreme eğrileri Şekil 4.3’ te verilmiştir.



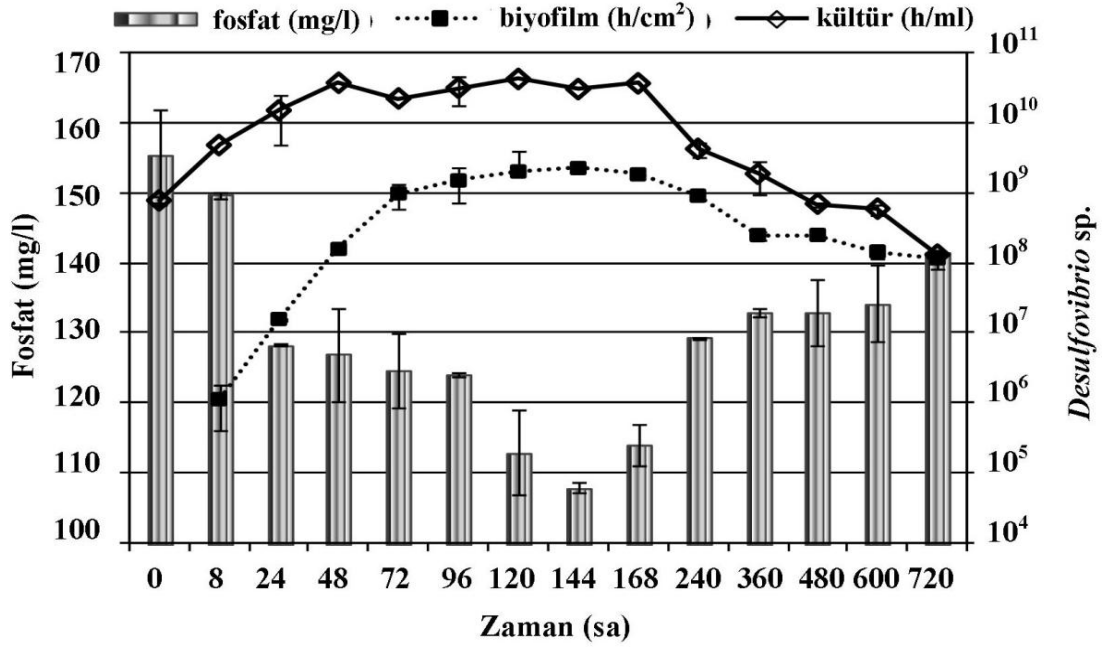
**Şekil 4.3:** Deney süresince kültür ortamındaki ve biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. bakterisinin üreme eğrisi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Deneyin başlatıldığı 0. sa’da kültürde  $7.70 \times 10^8 \pm 1.01 \times 10^8$  h/ml olarak tespit edilen *Desulfovibrio* sp. sayısının, 48. sa’ya kadar artış göstererek  $3.65 \times 10^{10} \pm 2.31 \times 10^7$  h/ml değerine ulaştığı ve daha sonra durgun faza girdiği tespit edilmiştir. 168. sa’da  $3.57 \times 10^{10} \pm 9.48 \times 10^7$  h/ml olan *Desulfovibrio* sp. sayısı, deney sonuna kadar sürekli bir azalma göstermiş ve 720. sa’da  $1.30 \times 10^8 \pm 2.31 \times 10^7$  h/ml olarak saptanmıştır. Biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. sayısının 72. sa’ya kadar arttığı ve daha sonra durgun faza girdiği gözlemlenmiştir. 240. sa’dan itibaren ise bakteri sayısının azaldığı ve 720. sa’da  $1.14 \times 10^8 \pm 3.41 \times 10^7$  h/cm<sup>2</sup> değerinde olduğu tespit edilmiştir. Kültür ve biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. sayıları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu ve kültürdeki *Desulfovibrio* sp. sayılarının, biyofilmdekilerden anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla  $r = 0.719$ ,  $p < 0.01$  ve  $p < 0.01$ ) (Şekil 4.3).

Kültür ve biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. sayıları arttıkça kültürdeki  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{PO}_4^{3-}$  değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir ( $\text{SO}_4^{2-}$  değerleri için sırasıyla  $r = -0.547$ ,  $p \leq 0.05$  ve  $r = -0.766$ ,  $p < 0.01$ ;  $\text{PO}_4^{3-}$  değerleri için sırasıyla  $r = -0.786$ ,  $p < 0.01$  ve  $r = -0.873$ ,  $p < 0.001$ ) (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5).



**Şekil 4.4:** Kültür ve biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. sayıları ile  $\text{SO}_4^{2-}$  miktarlarındaki zamana bağlı değişimler. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



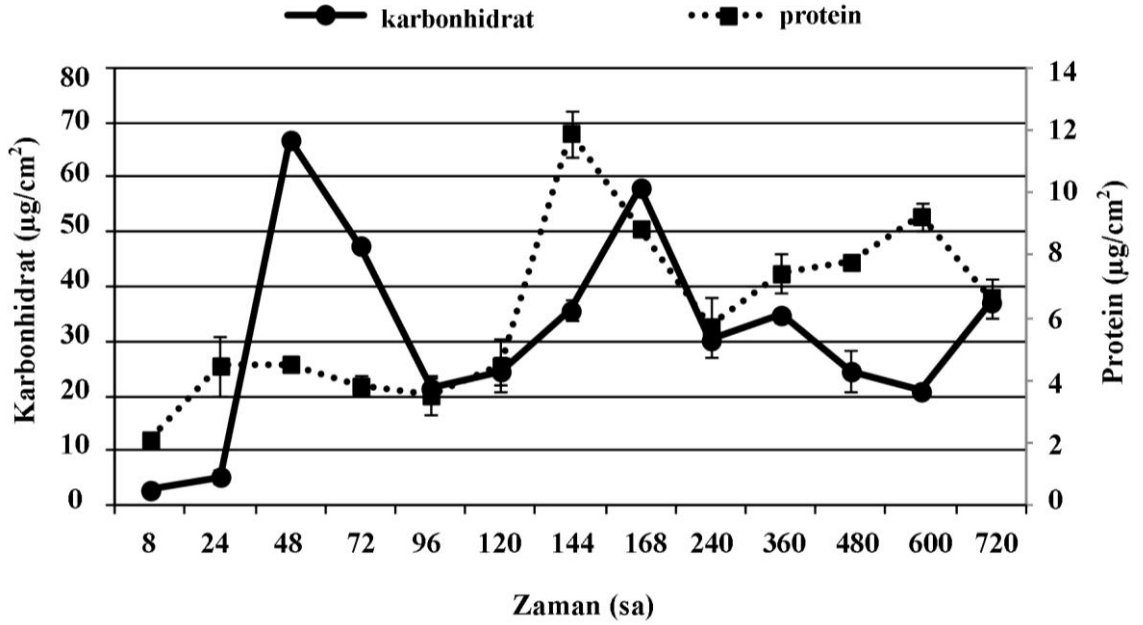
Şekil 4.5: Kültür ve biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. sayıları ile  $\text{PO}_4^{3-}$  miktarlarındaki zamana bağlı değişimler. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir

#### 4.1.1.2. Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarları

Deney düzeneğinden çıkartılan kuponların yüzeyindeki biyofilm tabakalarından elde edilen EPS içeriğindeki toplam karbonhidrat ve protein miktarları Şekil 4.6'da gösterilmiştir. EPS'deki toplam karbonhidrat ve protein miktarlarının zaman içerisinde değişkenlik gösterdiği gözlemlenmiştir.

Toplam karbonhidrat miktarı 48.sa'da en yüksek değere ( $66.81 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) ulaştıktan sonra 96. sa'ya kadar azalmış ve sonrasında tekrar artmaya başlayarak 168. sa'da  $58.09 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  değerine ulaşmıştır (Şekil 4.6). Daha sonra tekrar azalma göstermiş ve en düşük karbonhidrat miktarı 600. sa'da  $20.91 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak tespit edilmiştir.

EPS içeriğindeki toplam protein miktarı ise 144. sa'da  $11.92 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ile en yüksek değerine ulaştıktan sonra azalmış ve 240. sa'da  $5.73 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak tespit edilmiştir. Daha sonra tekrar artış göstermiş ve 600. sa'da  $9.26 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 'ye ulaştıktan sonra, 720. sa'da tekrar azalmıştır. EPS içeriğindeki toplam karbonhidrat ve protein miktarları arasında anlamlı derecede fark olduğu ( $p < 0.01$ ) ve toplam karbonhidrat miktarının proteininkinden daha yüksek değerlerde olduğu saptanmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: Biyofilmdeki karbonhidrat ve protein miktarlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

#### 4.1.1.3. Ağırlık Kaybı ve Korozyon Hızı Verileri

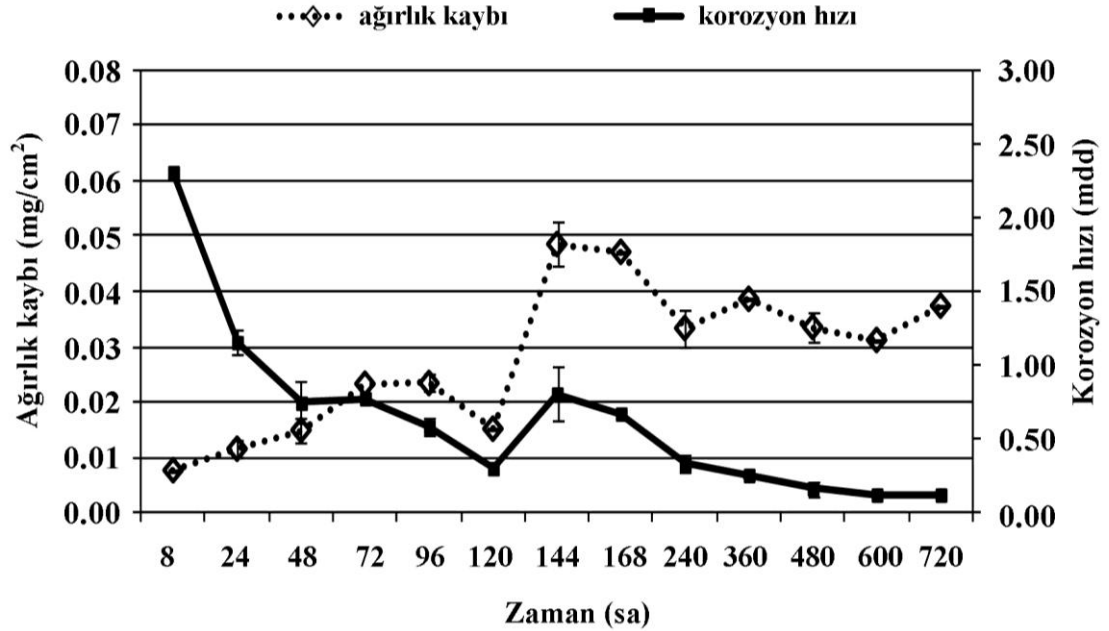
Laboratuvar ölçekli deney ve kontrol düzeneklerine ait deney ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların, deney süresince ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarındaki değişimler Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Deney düzeneğindeki paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamanla arttığı ( $r = 0.731$ ,  $p < 0.01$ ) saptanmakla birlikte, maksimum değer 144. sa’da  $0.0485 \pm 0.0039$  mg/cm<sup>2</sup> olarak tespit edilmiştir. Ağırlık kaybı çalışmaları sonucunda, *Desulfovibrio* sp. bakterilerinin 316L paslanmaz çeliği korozyona uğrattıkları tespit edilmiştir. Kuponların korozyon hızlarının ise zamanla azaldığı ( $r = -0.896$ ,  $p < 0.01$ ) ve 8. sa’da  $2.3087 \pm 0.0056$  mdd olarak belirlenen korozyon hızının azalarak, 720. sa sonunda  $0.1247 \pm 0.0175$  mdd değerine ulaştığı tespit edilmiştir. Kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızları arasında ters yönde anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ( $r = -0.535$ ,  $p < 0.05$ ) (Şekil 4.7).

**Tablo 4.2:** Deney süresince deney ve kontrol düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızı verileri.

| Saatler | Ağırlık kaybı, deney ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ ) | Ağırlık kaybı, kontrol ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ ) | Korozyon hızı, deney (mdd) | Korozyon hızı, kontrol (mdd) | Oran (deney/kontrol) |
|---------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------|
| 8       | $0.0077 \pm 0.0001$                              | $0.0075 \pm 0.0001$                                | $2.3087 \pm 0.0056$        | $2.2945 \pm 0.0414$          | 1.0062               |
| 24      | $0.0116 \pm 0.0016$                              | $0.0119 \pm 0.0000$                                | $1.1572 \pm 0.0843$        | $1.2402 \pm 0.0425$          | 0.9331               |
| 48      | $0.0149 \pm 0.0020$                              | $0.0154 \pm 0.0000$                                | $0.7470 \pm 0.1414$        | $0.7679 \pm 0.0000$          | 0.9727               |
| 72      | $0.0233 \pm 0.0001$                              | $0.0155 \pm 0.0008$                                | $0.7770 \pm 0.0000$        | $0.5174 \pm 0.0184$          | 1.5015               |
| 96      | $0.0234 \pm 0.0015$                              | $0.0152 \pm 0.0007$                                | $0.5860 \pm 0.0658$        | $0.3795 \pm 0.0141$          | 1.5440               |
| 120     | $0.0152 \pm 0.0001$                              | $0.0155 \pm 0.0002$                                | $0.3038 \pm 0.0000$        | $0.3092 \pm 0.0188$          | 0.9824               |
| 144     | $0.0485 \pm 0.0039$                              | $0.0156 \pm 0.0000$                                | $0.8089 \pm 0.1884$        | $0.2600 \pm 0.0000$          | 3.1112               |
| 168     | $0.0471 \pm 0.0001$                              | $0.0153 \pm 0.0016$                                | $0.6732 \pm 0.0000$        | $0.2182 \pm 0.0888$          | 3.0860               |
| 240     | $0.0334 \pm 0.0031$                              | $0.0187 \pm 0.0017$                                | $0.3336 \pm 0.0632$        | $0.1866 \pm 0.0111$          | 1.7884               |
| 360     | $0.0386 \pm 0.0001$                              | $0.0160 \pm 0.0000$                                | $0.2576 \pm 0.0054$        | $0.1070 \pm 0.0000$          | 2.4083               |
| 480     | $0.0336 \pm 0.0026$                              | $0.0148 \pm 0.0014$                                | $0.1678 \pm 0.0479$        | $0.0739 \pm 0.0283$          | 2.2706               |
| 600     | $0.0312 \pm 0.0001$                              | $0.0191 \pm 0.0022$                                | $0.1249 \pm 0.0176$        | $0.0765 \pm 0.0203$          | 1.6323               |
| 720     | $0.0374 \pm 0.0001$                              | $0.0184 \pm 0.0015$                                | $0.1247 \pm 0.0175$        | $0.0615 \pm 0.0166$          | 2.0289               |

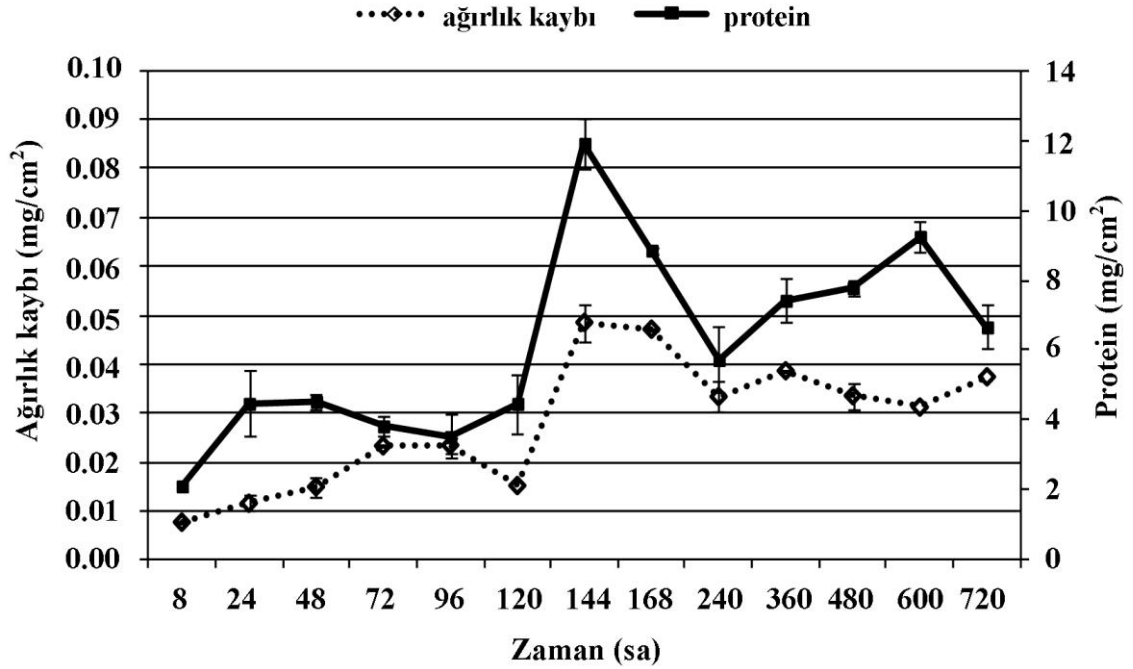
$\pm$  Standart sapma

mdd =  $\text{mg dm}^{-2} \text{ gün}^{-1}$



**Şekil 4.7:** Deney düzeneğindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının ve korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

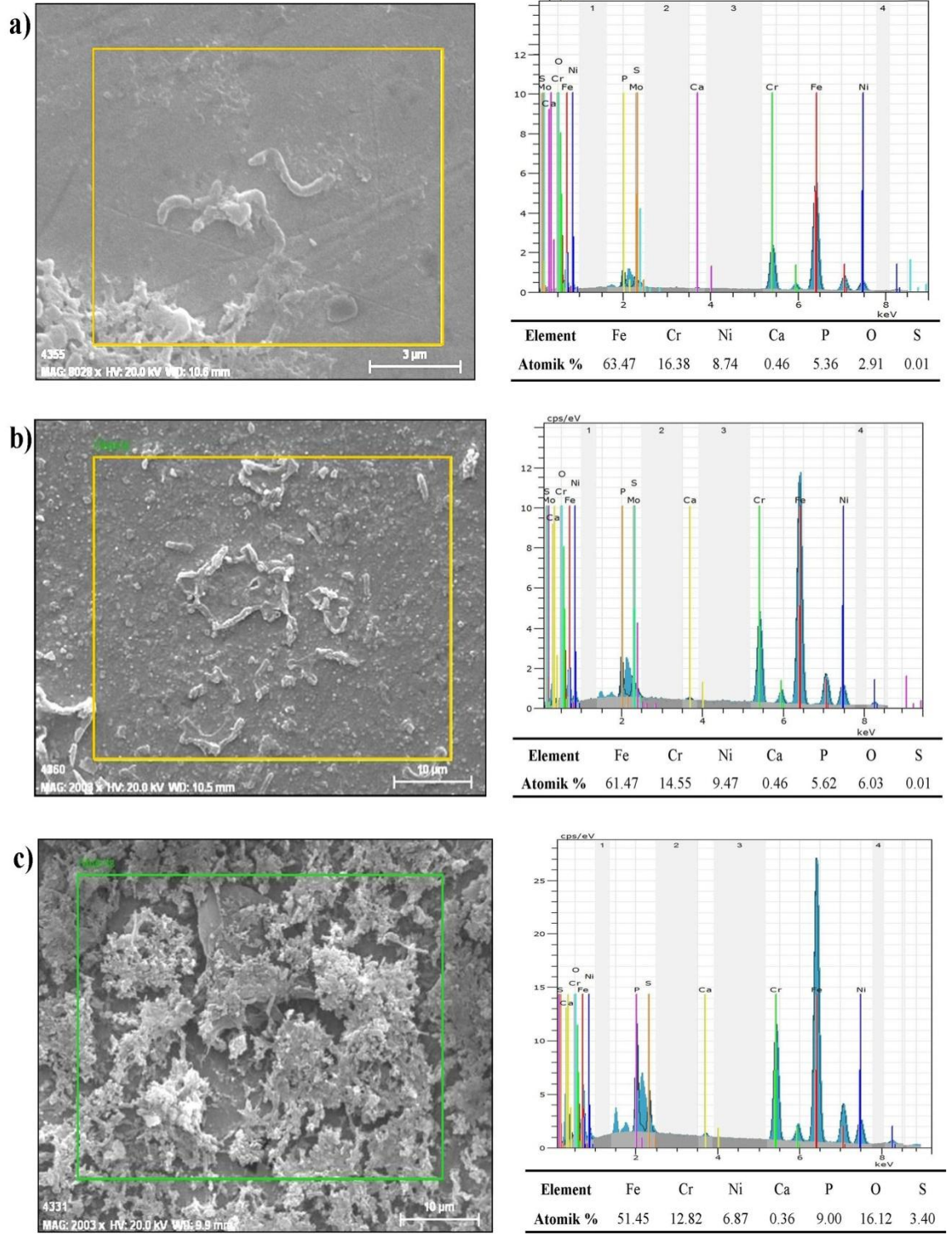
Deney kuponlarındaki ağırlık kaybı ile biyofilmdeki toplam protein miktarı arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir ( $r = 0.862$ ,  $p < 0.001$ ) (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının ve protein miktarlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

#### 4.1.1.4. EDS Analiz Sonuçları

Deney düzeneğindeki 316L paslanmaz çelik kuponların EDS analiz sonuçları Şekil 4.9'da gösterilmiştir. EDS analiz sonuçları, deney süresince 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin yüksek miktarda Fe ile birlikte, Cr, Ni, P ve O içerdiğini, bununla birlikte eser miktarda Ca elementinin de bulunduğunu göstermektedir. Ek olarak, korozyon ürünlerindeki S miktarı, 8. sa ve 144. sa'da eser miktarlarda saptanmasına rağmen (sırasıyla Şekil 4.9a ve Şekil 4.9b), 720. sa'da arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.9c).



Şekil 4.9: *Desulfovibrio* sp. kültür ortamına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi; (a) 8. sa'da, (b) 144. sa'da, (c) 720. sa'da.

#### 4.1.2. Ag-Cu İyonlarını İçeren Deney Ortamı

Ag-Cu iyonlarını içeren *Desulfovibrio* sp. kültürü ile kurulan laboratuvar ölçekli deney düzeneğinden 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa'larda çıkartılan kuponlardan ve eş zamanlı olarak iyonlu kültür ortamından alınan örneklerden mikrobiyolojik, kimyasal ve biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir.

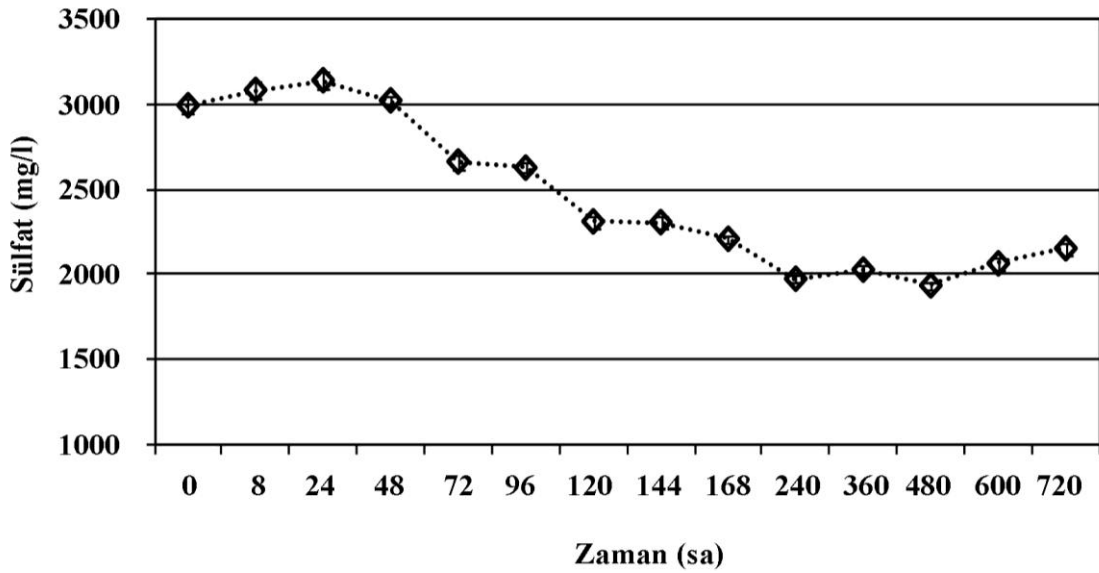
Deney süresince düzeneekten alınan iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültürünün  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  ve pH değerleri ölçülmüştür.  $\text{Cl}^-$  analizi sonucunda, besiyerindeki  $\text{Cl}^-$  miktarının  $<0.01$  ppm değerlerinde olduğu tespit edilmiştir. Deney süresince iyonlu kültür ortamına ait  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  ve pH değerleri ise Tablo 4.3'te verilmiştir.

**Tablo 4.3:** Deney süresince deney düzeneğindeki iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültürünün  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  ve pH değerleri

| Saatler | $\text{SO}_4^{-2}$ (mg/l) | $\text{PO}_4^{-3}$ (mg/l) | pH              |
|---------|---------------------------|---------------------------|-----------------|
| 0       | 2991.38 $\pm$ 40.57       | 135.66 $\pm$ 4.43         | 6.52 $\pm$ 0.10 |
| 8       | 3081.32 $\pm$ 47.39       | 132.49 $\pm$ 5.90         | 6.64 $\pm$ 0.00 |
| 24      | 3137.98 $\pm$ 48.78       | 123.61 $\pm$ 2.71         | 6.73 $\pm$ 0.13 |
| 48      | 3020.11 $\pm$ 31.05       | 120.16 $\pm$ 4.43         | 7.08 $\pm$ 0.11 |
| 72      | 2661.97 $\pm$ 39.46       | 118.20 $\pm$ 1.38         | 7.51 $\pm$ 0.02 |
| 96      | 2626.01 $\pm$ 31.15       | 112.70 $\pm$ 4.14         | 7.60 $\pm$ 0.06 |
| 120     | 2311.35 $\pm$ 36.39       | 119.43 $\pm$ 1.25         | 7.55 $\pm$ 0.02 |
| 144     | 2307.18 $\pm$ 35.08       | 114.72 $\pm$ 2.08         | 7.64 $\pm$ 0.07 |
| 168     | 2209.39 $\pm$ 19.58       | 114.08 $\pm$ 1.09         | 7.72 $\pm$ 0.06 |
| 240     | 1975.57 $\pm$ 21.13       | 117.06 $\pm$ 3.10         | 7.61 $\pm$ 0.01 |
| 360     | 2028.88 $\pm$ 34.48       | 108.06 $\pm$ 2.93         | 7.38 $\pm$ 0.03 |
| 480     | 1936.69 $\pm$ 23.48       | 115.86 $\pm$ 0.75         | 7.16 $\pm$ 0.04 |
| 600     | 2065.66 $\pm$ 32.85       | 117.08 $\pm$ 0.57         | 7.02 $\pm$ 0.06 |
| 720     | 2153.78 $\pm$ 35.42       | 137.37 $\pm$ 6.40         | 6.93 $\pm$ 0.02 |

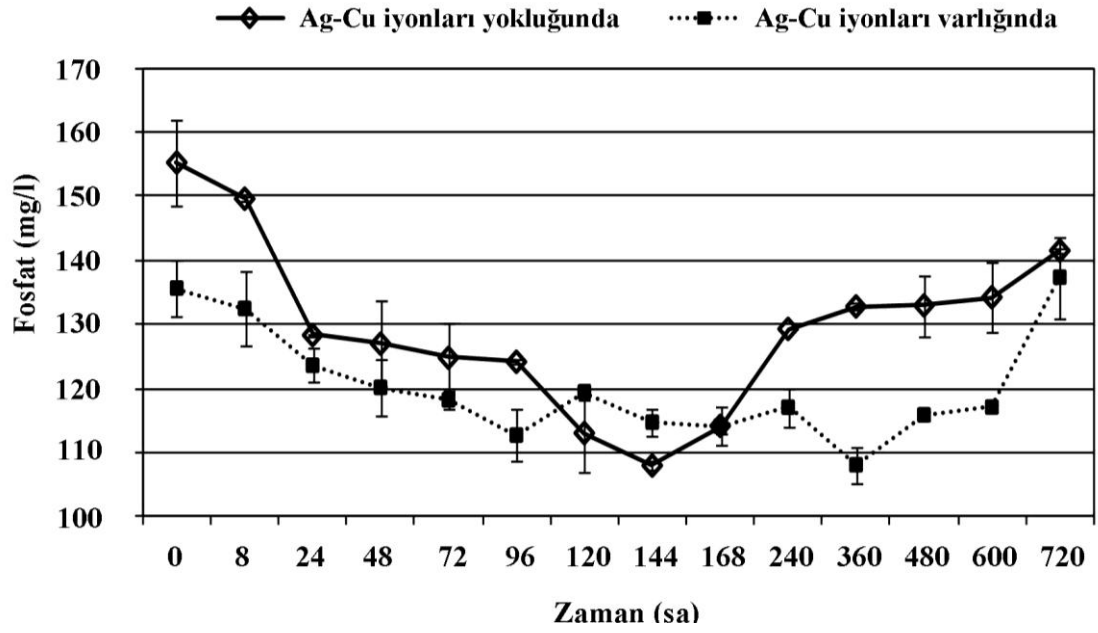
$\pm$  Standart sapma

Deneyin başlatıldığı 0. sa'da iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki  $\text{SO}_4^{-2}$  değeri  $2991.38 \pm 40.57$  mg/l olarak saptanmış ve deney süresince de zamanla azaldığı tespit edilmiştir ( $r = -0.721$ ,  $p < 0.01$ ) (Şekil 4.10).  $\text{PO}_4^{-3}$  miktarı ise 168. sa'ya kadar azalmış ve daha sonra artış ve tekrar azalış göstererek en düşük değeri 360. sa'da  $108.06 \pm 2.93$  mg/l olarak tespit edilmiştir. Sonrasında tekrar artış göstererek, 720. sa'da en yüksek değerine ( $137.37 \pm 6.40$  mg/l) ulaşmıştır. İyonlu *Desulfovibrio* sp. kültür ortamının pH değerlerinin 168. sa'ya kadar arttığı, daha sonra azaldığı ve 720. sa'da  $6.93 \pm 0.02$  değerinde olduğu tespit edilmiştir.



**Şekil 4.10:** İyonlu *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki  $\text{SO}_4^{-2}$  miktarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

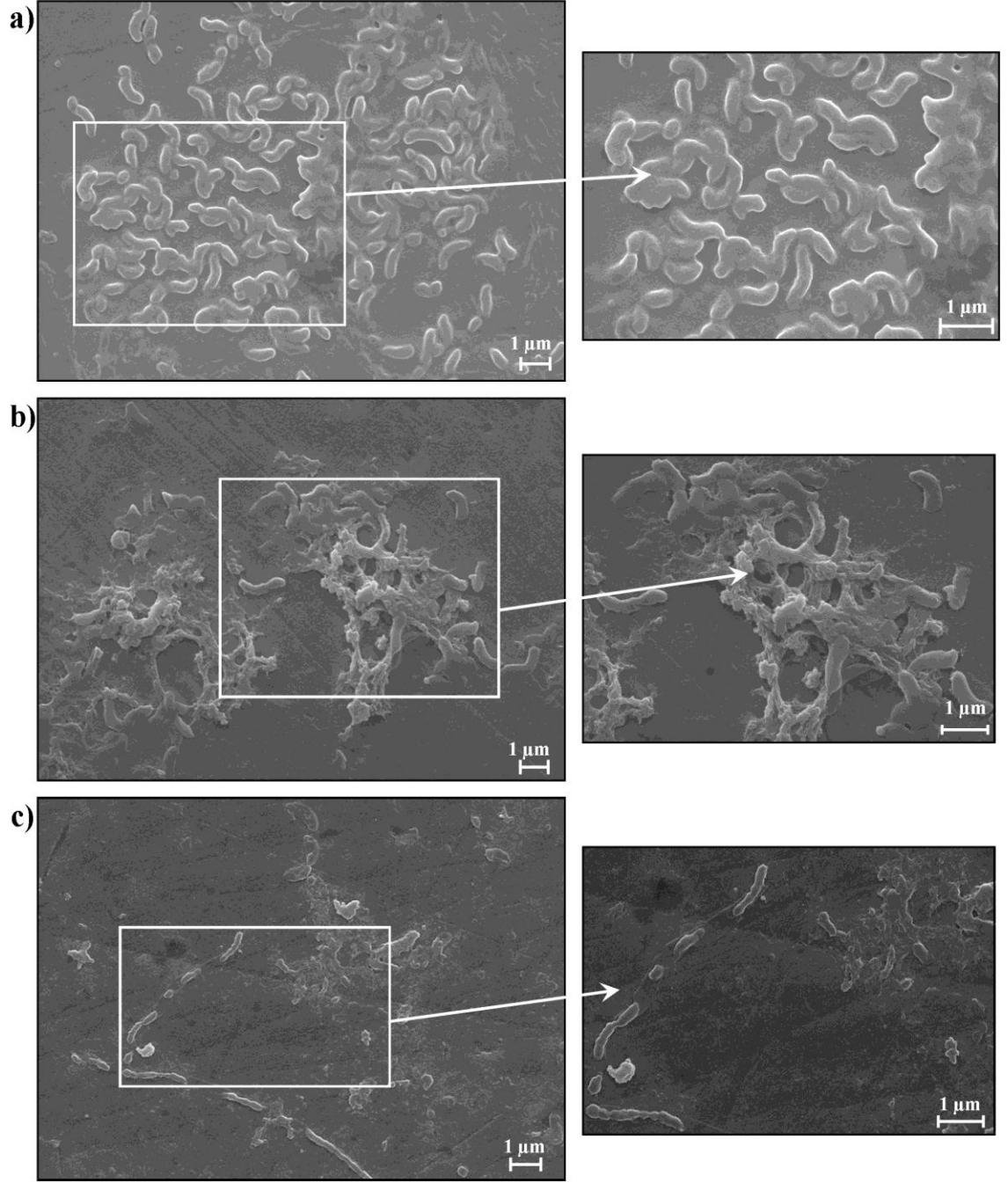
Laboratuvar ölçekli deney düzeneğinde Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında gerçekleştirilen deneylerde, iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültüründeki  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındakinden anlamlı derecede daha düşük olduğu belirlenmiştir ( $p \leq 0.05$ ) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11: Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında *Desulfovibrio* sp. kültüründeki  $\text{PO}_4^{-3}$  miktarlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

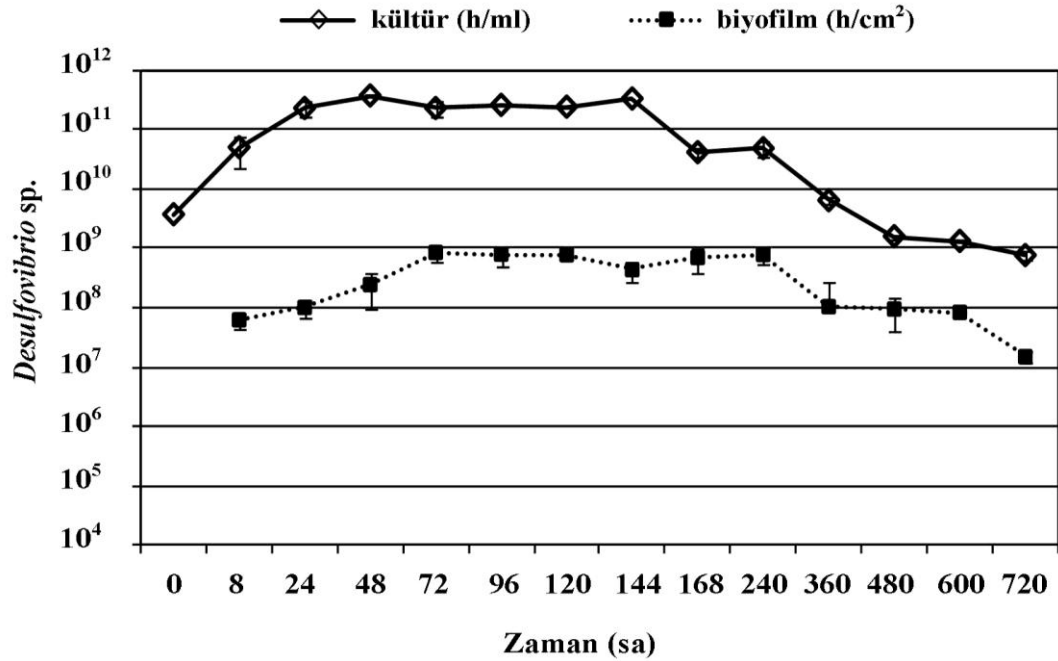
#### 4.1.2.1 Bakteriyolojik Analiz

Ag-Cu iyonları içeren *Desulfovibrio* sp. kültür ortamına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeyinde, iyon içermeyen ortama benzer şekilde gözle görülebilen, ince, şeffaf bir biyofilm tabakasının oluştuğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte SEM fotoğraflarında, Ag-Cu iyonları varlığında oluşan biyofilm tabakasının iyonsuz ortama göre daha yoğun EPS tabakası içerdiği, bakterilerin bu tabaka içine gömülü durumda ve kümeler halinde oldukları gözlemlenmiştir (Şekil 4.12).



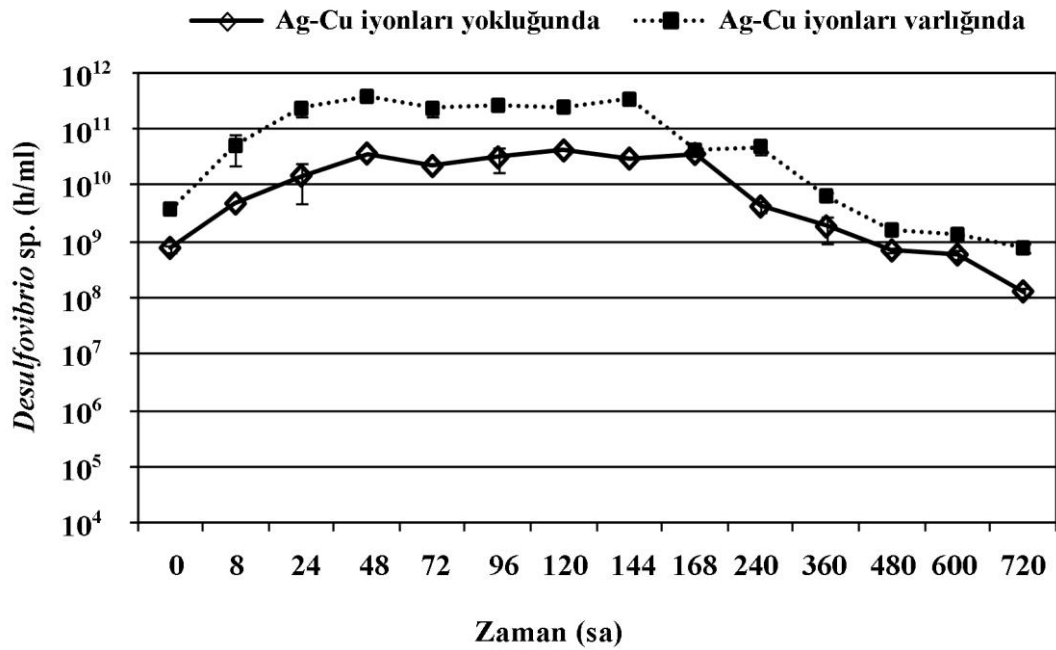
**Şekil 4.12:** Ag-Cu iyonlarını içeren *Desulfovibrio* sp. kültür ortamına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasının SEM fotoğrafları; (a) 8. sa'da, (b) 144. sa'da, (c) 720. sa'da.

Biyofilm ve kültürdeki *Desulfovibrio* sp. bakterilerine ait üreme eğrileri Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Kültürdeki *Desulfovibrio* sp. sayısının 48. sa'ya kadar bir artış gösterdiği ve 48. sa'da  $3.76 \times 10^{11} \pm 4.00 \times 10^9$  h/ml değerine ulaştıktan sonra, durgun faza girdiği gözlemlenmiştir. 144. sa'dan sonra ise bakteri sayısının zamanla azaldığı ve 720. sa'da  $7.70 \times 10^8 \pm 1.40 \times 10^8$  h/ml olduğu tespit edilmiştir. Biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. sayısının ise 72. sa'ya kadar artış gösterdiği ve deney süresince en yüksek değeri olan  $8.52 \times 10^8 \pm 2.60 \times 10^8$  h/cm<sup>2</sup> değerine ulaştıktan sonra, durgun faza girdiği tespit edilmiştir. 240. sa'dan itibaren bakteri sayısında azalma olduğu gözlemlenmiş ve 720. sa'da  $1.49 \times 10^7 \pm 3.42 \times 10^6$  h/cm<sup>2</sup> olarak tespit edilmiştir. Ag-Cu iyonları varlığında kültür ve biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. sayıları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir ( $r = 0.567$ ,  $p < 0.05$ ) (Şekil 4.13). Deney süresince, iyonlu kültür ortamındaki *Desulfovibrio* sp. sayısının, biyofilmdekinden anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.01$ ) (Şekil 4.13).

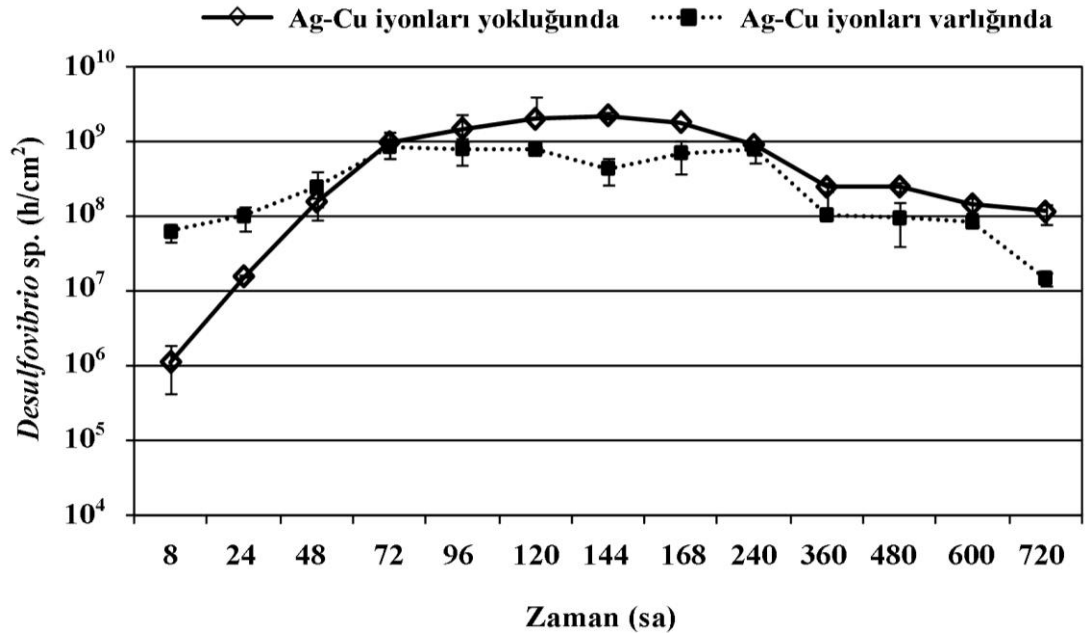


Şekil 4.13: Deney süresince iyonlu kültür ortamındaki ve biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. bakterisinin üreme eğrisi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında kurulan deney düzeneklerindeki *Desulfovibrio* sp. bakterisinin üreme eğrileri arasında farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15). Kültür ortamındaki *Desulfovibrio* sp. bakterisi, hem Ag-Cu iyonları varlığında hem de yokluğunda 48. sa'ya kadar artış göstermiş ve daha sonra durgun faza girmiştir. Bununla birlikte, iyonsuz kültür ortamındaki *Desulfovibrio* sp. bakterisinin durgun fazı 168. sa'ya kadar devam ederken, iyonlu kültür ortamında 144. sa'ya kadar devam etmiş ve sonra her iki ortamdaki bakteri de ölüm fazına girmiştir (Şekil 4.14). Biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. ise hem Ag-Cu iyonları varlığında hem de yokluğunda, 72. sa'ya kadar artış göstermiş ve daha sonra durgun faza girmiştir. Her iki ortamda da, bakterinin durgun fazı 240. sa'ya kadar devam etmiş ve sonrasında bakteri ölüm fazına girmiştir (Şekil 4.15). İyonlu kültürdeki planktonik *Desulfovibrio* sp. sayılarının iyonsuz ortamdakinden anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır ( $p < 0.01$ ) (Şekil 4.14). Bununla birlikte, iyonsuz ve iyonlu kültür ortamlardaki sesil *Desulfovibrio* sp. sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir.



**Şekil 4.14:** Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kültür ortamlarındaki planktonik *Desulfovibrio* sp. bakterisinin üreme eğrisi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

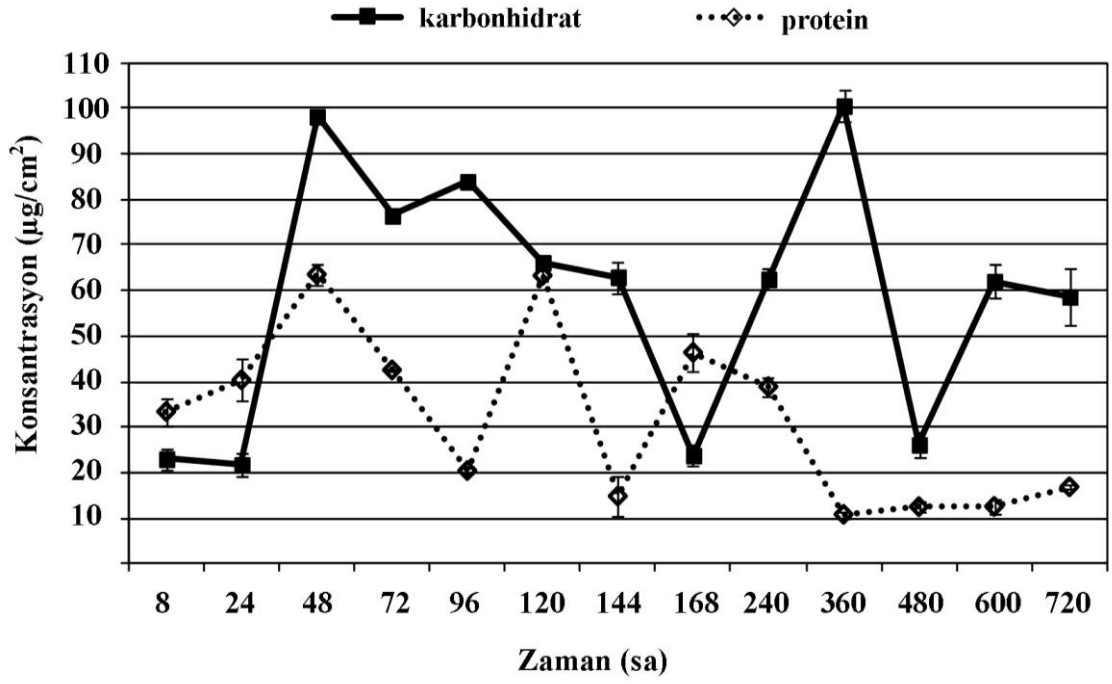


Şekil 4.15: Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kültür ortamlarındaki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeyindeki sesil *Desulfovibrio* sp. bakterisinin üreme eğrisi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

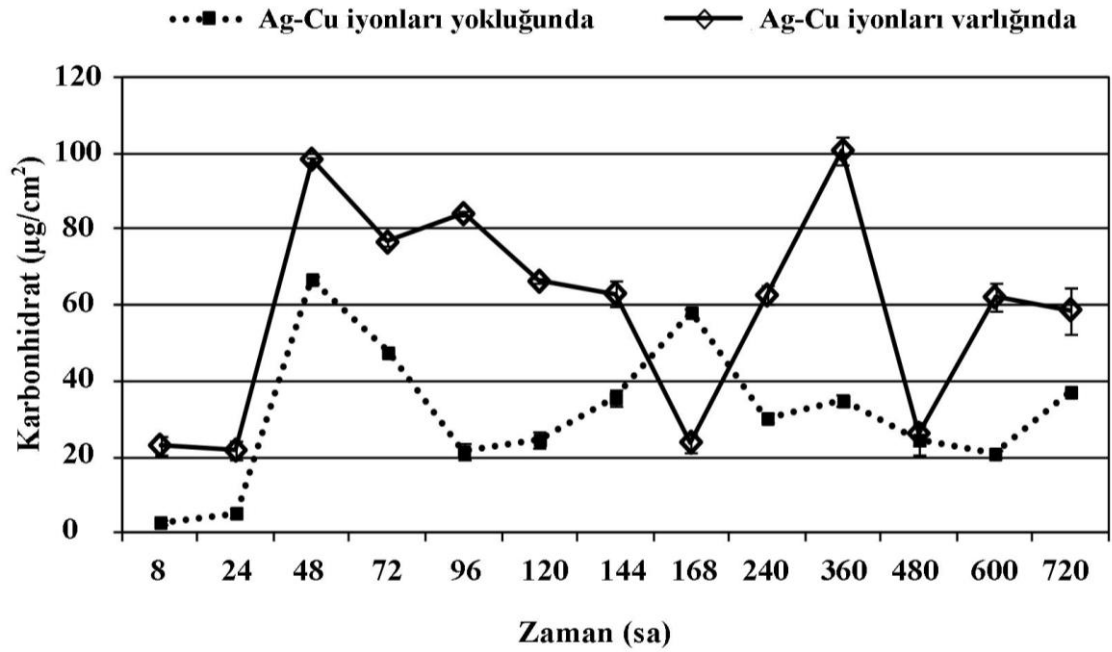
#### 4.1.2.2. Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarları

Deney süresince, Ag-Cu iyonlarını içeren deney ortamına maruz bırakılan kuponlardan elde edilen EPS içeriğindeki toplam karbonhidrat ve protein miktarları Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Deney süresince toplam karbonhidrat miktarı değişkenlik göstermiş, maksimum miktarı 360. sa'da 100.63  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , minimum miktarı ise 24. sa'da 21.78  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak tespit edilmiştir. Toplam protein miktarının da deney süresince değişkenlik gösterdiği tespit edilmiş, maksimum ve minimum miktarları 48. ve 360. sa'larda sırasıyla 63.56  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  ve 10.31  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak saptanmıştır (Şekil 4.16).

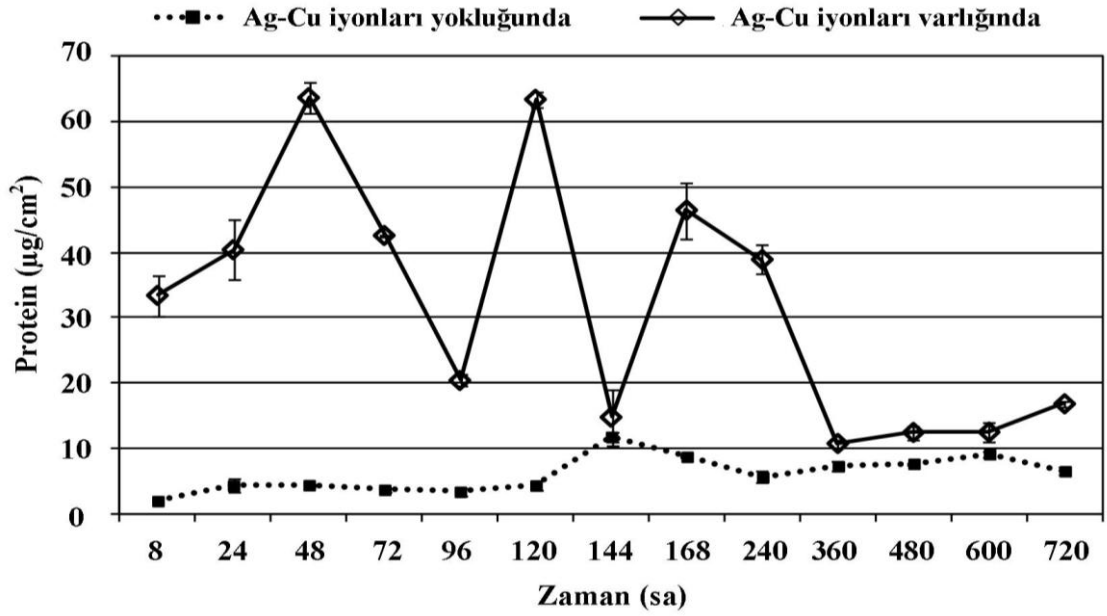
Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında gerçekleştirilen deneylerde, iyonlu deney ortamında oluşan biyofilmdeki toplam karbonhidrat ve protein miktarlarının, iyonsuz ortamdaki değerlerden anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla  $p < 0.01$  ve  $p < 0.001$ ) (Şekil 4.17 ve Şekil 4.18).



Şekil 4.16: Ag-Cu iyonları varlığında oluşan biyofilmdeki karbonhidrat ve protein miktarlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



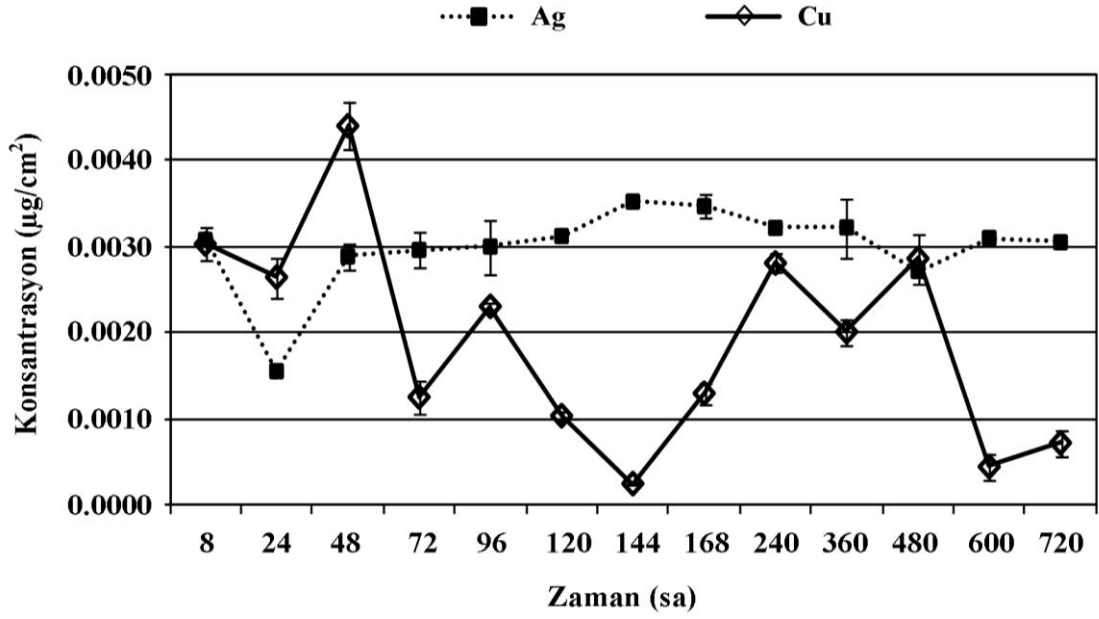
Şekil 4.17: Ag-Cu iyonları içeren ve içermeyen *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarında oluşan biyofilmdeki karbonhidrat miktarlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.18: Ag-Cu iyonları içeren ve içermeyen *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarında oluşan biyofilmdeki protein miktarlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

#### 4.1.2.3. Ag ve Cu Değerleri

Final konsantrasyonları Ag ve Cu için sırasıyla, 0.13 ppm ve 0.3 ppm olarak kurulan deney düzeneğinde, biyofilmdeki Ag-Cu iyonlarının konsantrasyonlarındaki değişimler Şekil 4.20’de gösterilmiştir. Biyofilmdeki Ag miktarı 8. sa’da  $0.0031 \pm 0.0001 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak ölçülmüş ve 24. sa’da  $0.0016 \pm 0.0000 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ’ye azaldıktan sonra, 48. sa’da  $0.0029 \pm 0.0002 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak tespit edilmiştir. 48. sa’dan sonra biyofilmdeki Ag miktarında büyük bir değişiklik saptanmamış ve deney sonunda (720. sa’da)  $0.0030 \pm 0.0000 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.19). Biyofilmdeki Cu miktarı ise deney süresince değişkenlik göstermiş, en yüksek ve en düşük değerleri 48. ve 144. sa’da sırasıyla,  $0.0044 \pm 0.0003 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ve  $0.0003 \pm 0.0000 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak saptanmıştır (Şekil 4.19).



**Şekil 4.19:** Ag-Cu iyonlarını içeren *Desulfovibrio* sp. kültür ortamında oluşan biyofilmdeki Ag ve Cu konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

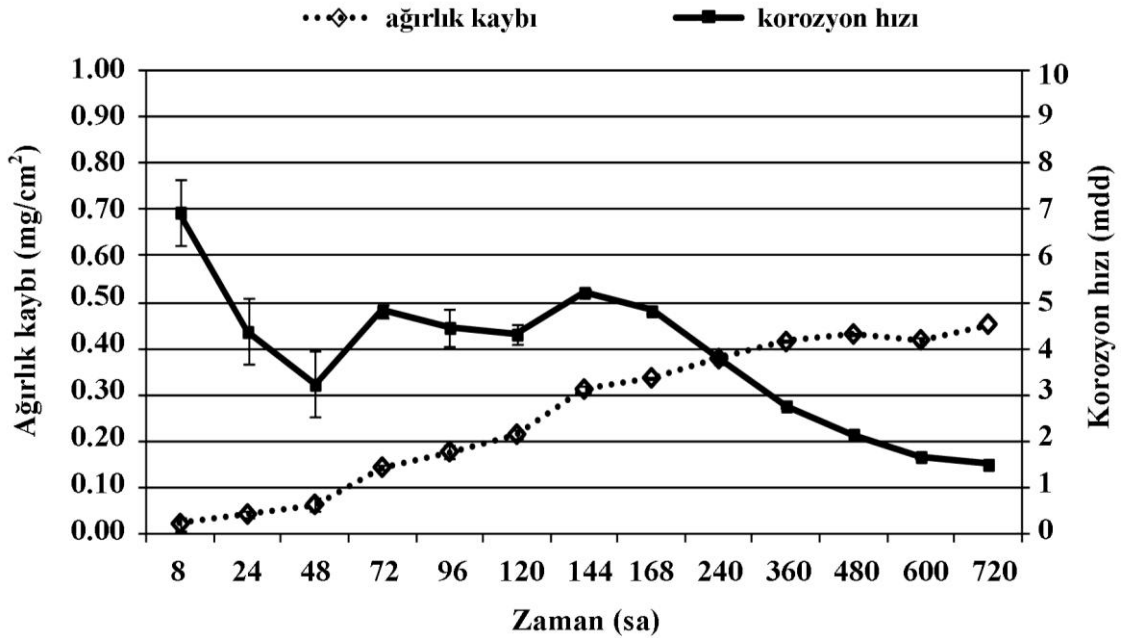
#### 4.1.2.4. Ağırlık Kaybı ve Korozyon Hızı Verileri

Ag-Cu iyonlarını içeren *Desulfovibrio* sp. kültürü ve steril Postgate C besiyeri ile kurulan deney ve kontrol düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların, ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarındaki zamana bağlı değişimler Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Deney düzeneğindeki kuponların ağırlık kayıpları zamana bağlı olarak artmış ( $r = 0.848$ ,  $p < 0.001$ ) ve 720. sa'da  $0.4526 \pm 0.0012$  mg/cm<sup>2</sup> olarak saptanmıştır (Şekil 4.20). Kuponların korozyon hızlarının ise zamanla azaldığı ( $r = -0.848$ ,  $p < 0.001$ ), 720. sa'da  $1.5086 \pm 0.0039$  mdd değerine ulaştığı tespit edilmiştir (Şekil 4.20). Kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızları arasında ters yönde anlamlı bir ilişki bulunduğu saptanmıştır ( $r = -0.687$ ,  $p < 0.01$ ) (Şekil 4.20).

**Tablo 4.4:** Deney süresince Ag-Cu iyonlarını içeren deney ve kontrol düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların, ağırlık kayıpları ve korozyon hızı verileri.

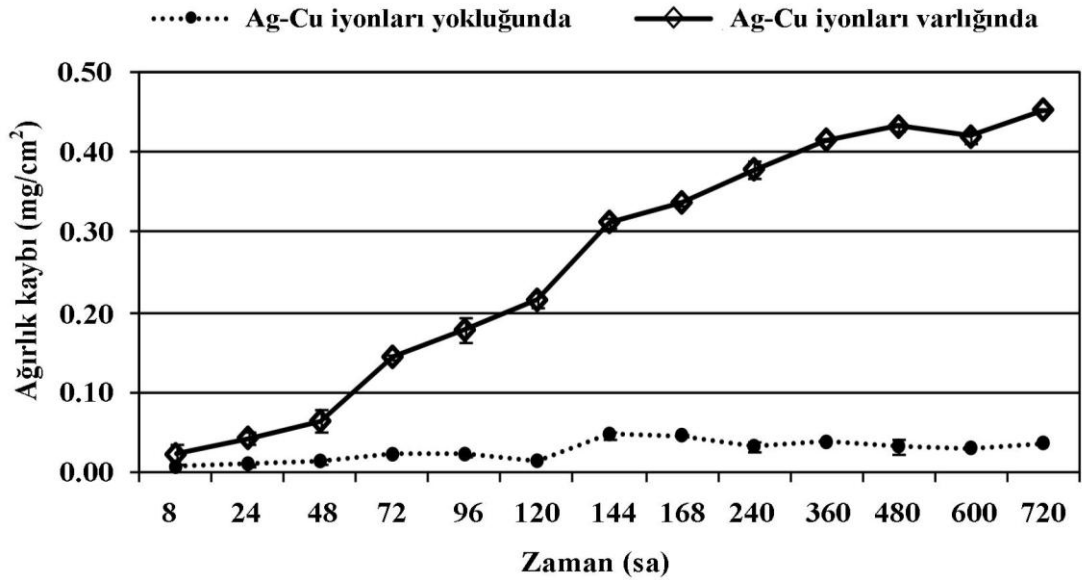
| Saatler | Ağırlık kaybı, deney ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ ) | Ağırlık kaybı, kontrol ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ ) | Korozyon hızı, deney (mdd) | Korozyon hızı, kontrol (mdd) | Oran (deney/kontrol) |
|---------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------|
| 8       | $0.0231 \pm 0.0130$                              | $0.0079 \pm 0.0014$                                | $6.9391 \pm 0.6933$        | $2.3689 \pm 0.0141$          | 2.9292               |
| 24      | $0.0437 \pm 0.0071$                              | $0.0127 \pm 0.0002$                                | $4.3692 \pm 0.7148$        | $1.2707 \pm 0.0235$          | 3.4386               |
| 48      | $0.0647 \pm 0.0143$                              | $0.0125 \pm 0.0001$                                | $3.2339 \pm 0.7134$        | $0.6256 \pm 0.0064$          | 5.1695               |
| 72      | $0.1446 \pm 0.0041$                              | $0.0152 \pm 0.0008$                                | $4.8199 \pm 0.1365$        | $0.5072 \pm 0.0211$          | 9.5040               |
| 96      | $0.1783 \pm 0.0153$                              | $0.0153 \pm 0.0005$                                | $4.4563 \pm 0.3826$        | $0.3825 \pm 0.0373$          | 11.6504              |
| 120     | $0.2156 \pm 0.0099$                              | $0.0152 \pm 0.0004$                                | $4.3121 \pm 0.1986$        | $0.1489 \pm 0.0086$          | 28.9628              |
| 144     | $0.3127 \pm 0.0054$                              | $0.0128 \pm 0.0005$                                | $5.2123 \pm 0.0908$        | $0.2132 \pm 0.0109$          | 24.4495              |
| 168     | $0.3370 \pm 0.0038$                              | $0.0114 \pm 0.0003$                                | $4.8148 \pm 0.0549$        | $0.1625 \pm 0.0326$          | 29.6356              |
| 240     | $0.3784 \pm 0.0113$                              | $0.0119 \pm 0.0020$                                | $3.7835 \pm 0.1126$        | $0.1185 \pm 0.0127$          | 31.9245              |
| 360     | $0.4151 \pm 0.0023$                              | $0.0152 \pm 0.0000$                                | $2.7676 \pm 0.0155$        | $0.1014 \pm 0.0000$          | 27.2982              |
| 480     | $0.4314 \pm 0.0036$                              | $0.0102 \pm 0.0004$                                | $2.1572 \pm 0.0181$        | $0.0512 \pm 0.0168$          | 42.1552              |
| 600     | $0.4189 \pm 0.0076$                              | $0.0150 \pm 0.0006$                                | $1.6757 \pm 0.0304$        | $0.0598 \pm 0.0137$          | 28.0202              |
| 720     | $0.4526 \pm 0.0012$                              | $0.0154 \pm 0.0001$                                | $1.5086 \pm 0.0039$        | $0.0514 \pm 0.0003$          | 29.3431              |

$\pm$  Standart sapma  
mdd =  $\text{mg dm}^{-2} \text{ gün}^{-1}$



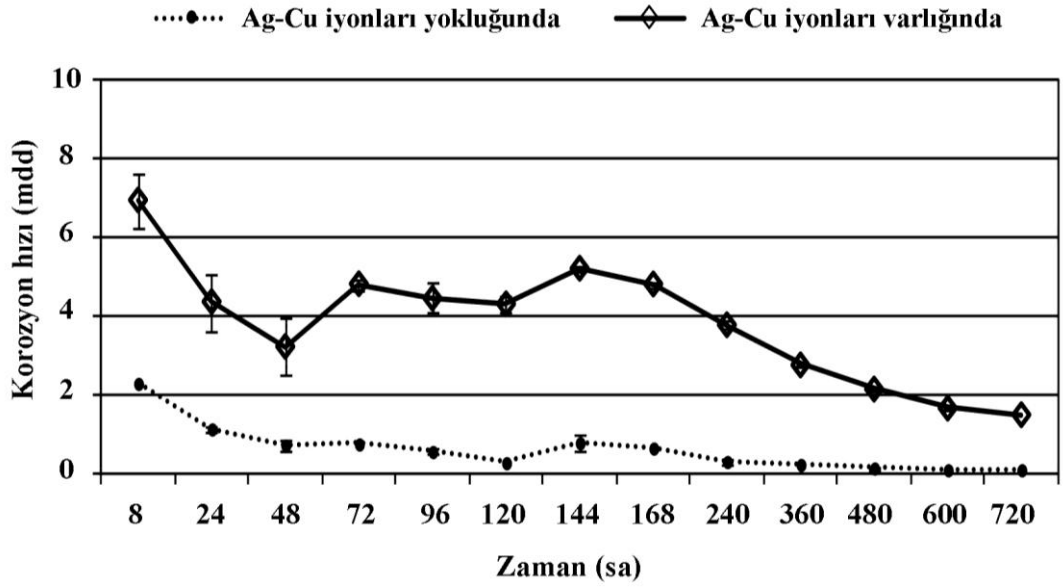
**Şekil 4.20:** Ag-Cu iyonlarını içeren *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen deney ortamları karşılaştırıldığında, iyonlu ve iyonsuz ortama maruz bırakılan kuponların ağırlık kayıplarının ortalamaları arasındaki farkın anlamlı olduğu ( $p < 0.001$ ) ve iyonlu ortamdaki kuponların ağırlık kayıplarının, iyonsuz ortamdaki kuponlarınkinden daha fazla olduğu saptanmıştır (Şekil 4.21). 720. sa'da iyonsuz ortamdaki kuponların ağırlık kaybı değeri  $0.0374 \pm 0.0001 \text{ mg/cm}^2$  olarak ölçülürken, iyonlu ortamda  $0.4526 \pm 0.0012 \text{ mg/cm}^2$  olarak ölçülmüştür. Ağırlık kaybı ölçümlerine göre Ag-Cu iyonlarının, *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarını önemli derecede arttırdığı saptanmıştır.



Şekil 4.21: Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kültür ortamlarındaki deney kuponlarının ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

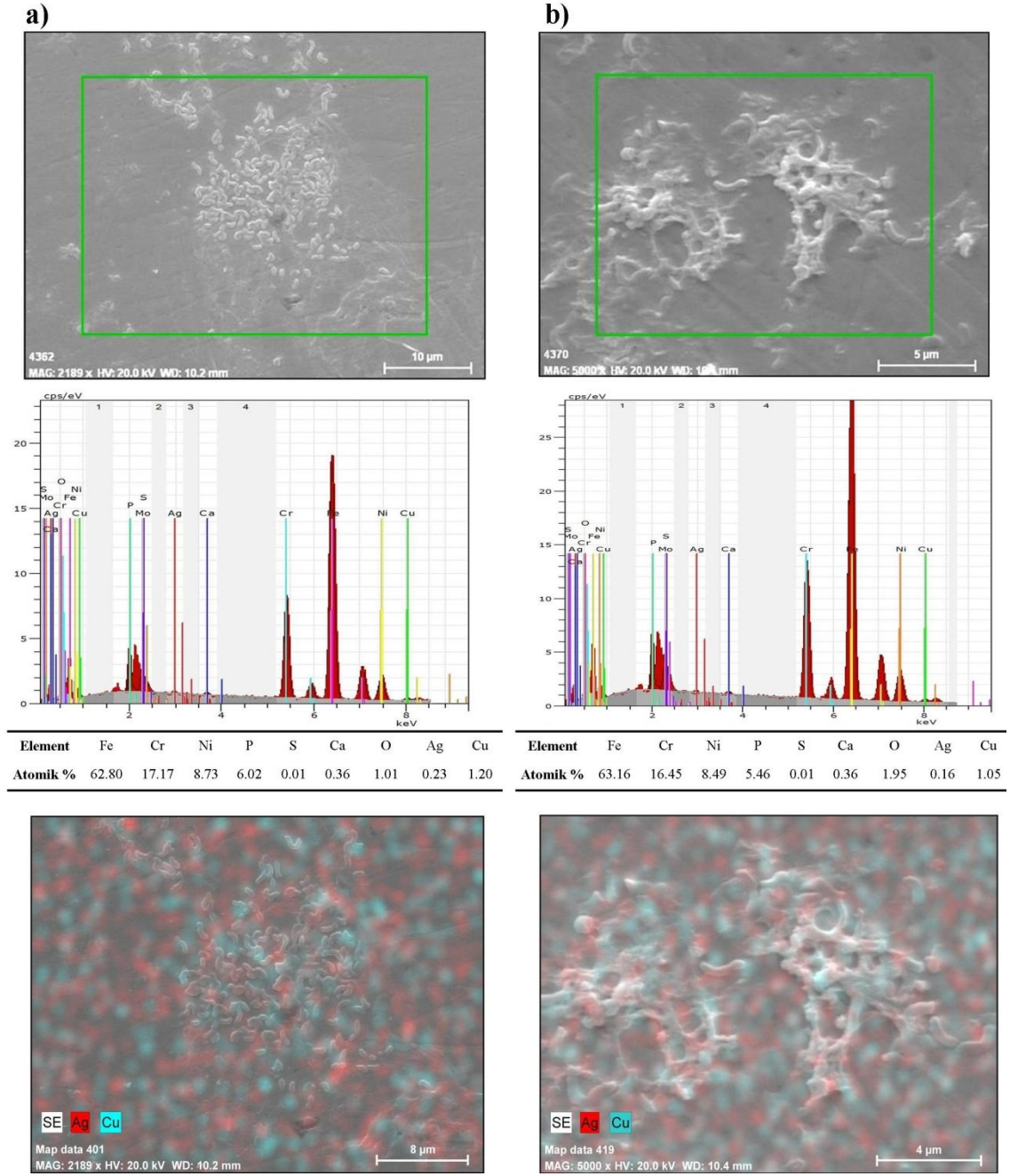
Ag-Cu iyonlarını içeren kültür ortamındaki kuponların korozyon hızlarının da, iyonsuz ortamdakilerden anlamlı derecede yüksek olduğu ( $p < 0.001$ ) ve 720. sa'da yaklaşık 12 katı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.22).



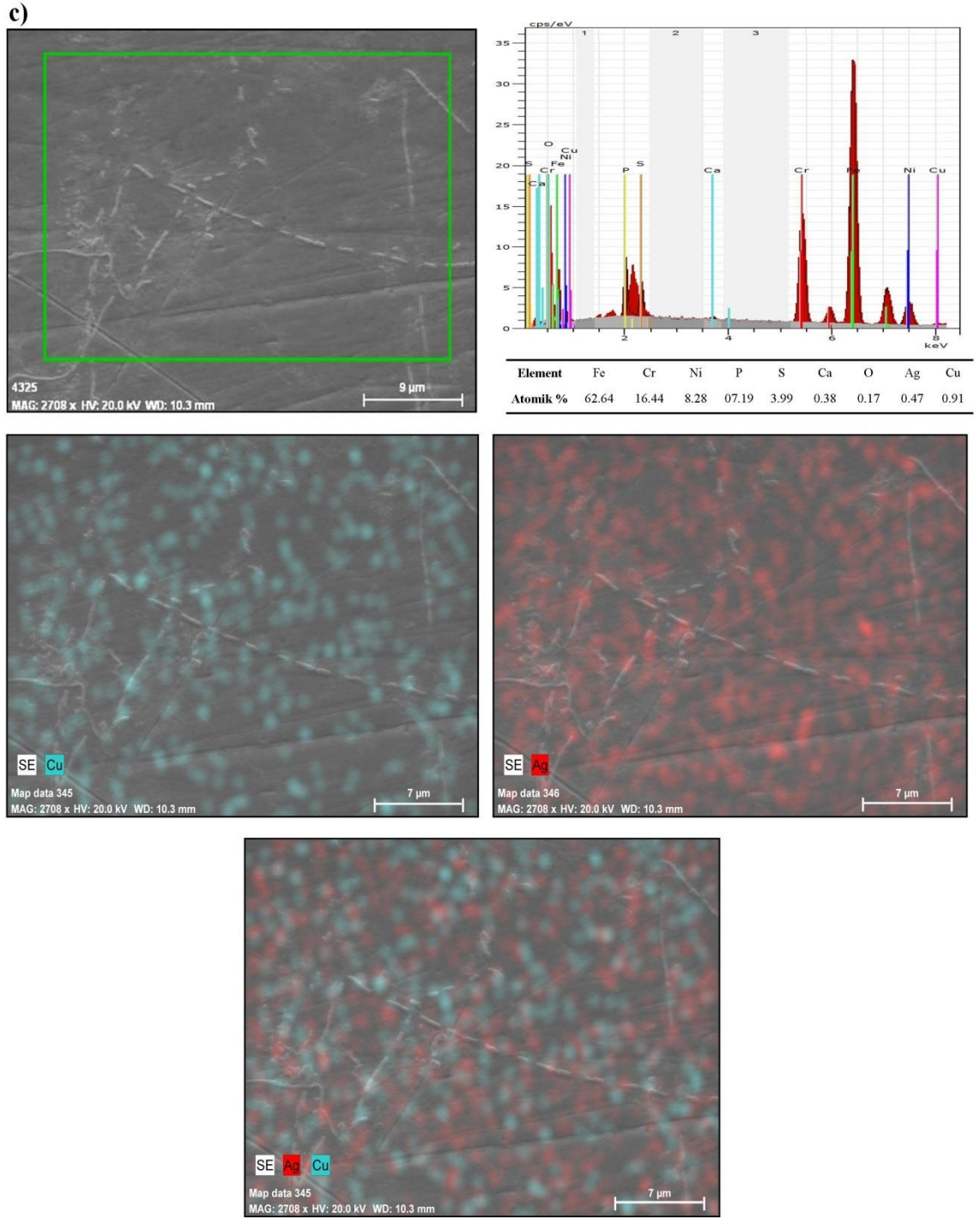
Şekil 4.22: Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kültür ortamlarındaki deney kuponlarının korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

#### 4.1.2.5. EDS ve Elementel Haritalama Analizi Sonuçları

Ag-Cu iyonlarını içeren *Desulfovibrio* sp. kültüründeki deney kuponlarının EDS ve elementel haritalama analizlerine ait veriler Şekil 4.23'te gösterilmiştir. EDS analizleri deney kuponlarının yüzeyindeki korozyon ürünlerinin, ağırlıklı olarak Fe, Cr, Ni, P ve O içerdiğini göstermektedir. Grafikteki bu yüksek piklerin yanı sıra Ca, Ag ve Cu elementlerine ait piklerde görülmektedir. Korozyon ürünlerindeki S miktarı, 8. sa ve 144. sa'da eser miktarlarda saptanmasına rağmen (sırasıyla, Şekil 4.23a ve Şekil 4.23b) zamanla artmış ve 720. sa'da 3.99 değerinde tespit edilmiştir (Şekil 4.23c). Elementel haritalama analizi sonucunda, Ag ve Cu elementlerinin metal yüzeyine dağınık bir şekilde ve korozyon ürünleri üzerine yayıldığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.23).



**Şekil 4.23:** Ag-Cu iyonlarını içeren *Desulfovibrio* sp. kültüründeki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi ve elementel haritalaması; (a) 8. sa'da, (b) 144. sa'da.



**Şekil 4.23 (devam):** Ag-Cu iyonlarını içeren *Desulfovibrio* sp. kültüründeki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi ve elementel haritalaması; (c) 720. sa'da.

## 4.2. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ KONTROL DÜZENEĞİ

### 4.2.1. Ag-Cu İyonlarını İçermeyen Deney Ortamı

Ag-Cu iyonlarını içermeyen steril Postgate C besiyeri ile kurulan laboratuvar ölçekli kontrol düzeneğinden, deney düzeneğine benzer şekilde 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa'larda çıkartılan kuponlardan ve deney ortamından analizler gerçekleştirilmiştir. Kontrol düzeneğinin sterilitesini kontrol etmek amacı ile deney süresince her hafta R2A ve tiyoglikolat besiyerlerine ekim yapılmış ve deney süresince deney ortamında herhangi bir kontaminasyonun olmadığı belirlenmiştir.

Kontrol düzeneğinden alınan steril Postgate C besiyerinden  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  ve pH değerleri ölçülmüştür.  $\text{Cl}^-$  analizi sonucunda, besiyerindeki  $\text{Cl}^-$  miktarının  $<0.01$  ppm değerlerinde olduğu tespit edilmiştir. Steril Postgate C besiyerindeki  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  ve pH değerlerinin zamana bağlı değişimleri Tablo 4.5'te verilmiştir.

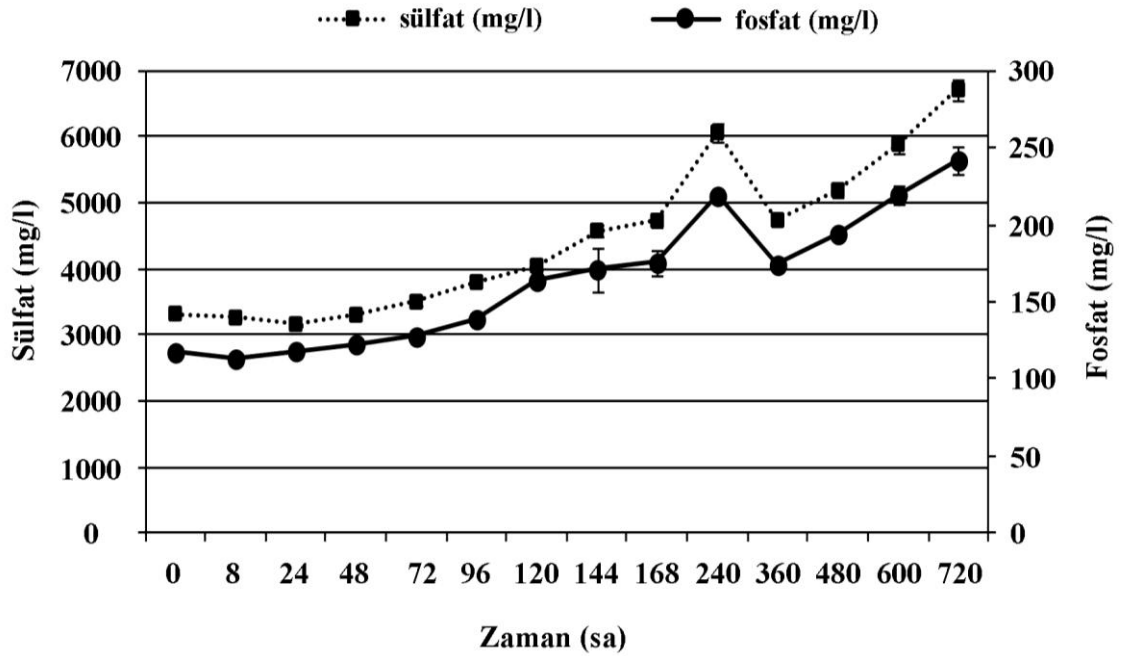
**Tablo 4.5:** Deney süresince kontrol düzeneğindeki besiyerinin  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  ve pH değerleri.

| Saatler | $\text{SO}_4^{-2}$ (mg/l) | $\text{PO}_4^{-3}$ (mg/l) | pH              |
|---------|---------------------------|---------------------------|-----------------|
| 0       | 3323.85 $\pm$ 9.17        | 117.35 $\pm$ 0.11         | 5.36 $\pm$ 0.01 |
| 8       | 3262.84 $\pm$ 13.92       | 113.19 $\pm$ 0.03         | *               |
| 24      | 3163.31 $\pm$ 15.09       | 118.19 $\pm$ 0.03         | 5.58 $\pm$ 0.10 |
| 48      | 3304.60 $\pm$ 49.97       | 122.69 $\pm$ 1.25         | 6.02 $\pm$ 0.01 |
| 72      | 3501.87 $\pm$ 58.29       | 127.58 $\pm$ 2.66         | 5.93 $\pm$ 0.10 |
| 96      | 3800.91 $\pm$ 60.07       | 138.91 $\pm$ 0.27         | 5.96 $\pm$ 0.07 |
| 120     | 4048.66 $\pm$ 69.10       | 163.81 $\pm$ 1.16         | 5.81 $\pm$ 0.06 |
| 144     | 4579.71 $\pm$ 79.63       | 171.21 $\pm$ 13.78        | 6.03 $\pm$ 0.02 |
| 168     | 4730.22 $\pm$ 95.51       | 175.54 $\pm$ 8.62         | 5.94 $\pm$ 0.16 |
| 240     | 6069.01 $\pm$ 140.35      | 218.91 $\pm$ 1.43         | 6.13 $\pm$ 0.01 |
| 360     | 4739.08 $\pm$ 85.19       | 174.18 $\pm$ 0.22         | 6.16 $\pm$ 0.01 |
| 480     | 5193.34 $\pm$ 107.38      | 194.17 $\pm$ 2.08         | 6.21 $\pm$ 0.17 |
| 600     | 5891.76 $\pm$ 134.70      | 219.61 $\pm$ 5.38         | 6.35 $\pm$ 0.01 |
| 720     | 6718.06 $\pm$ 156.34      | 241.89 $\pm$ 8.79         | 6.21 $\pm$ 0.01 |

$\pm$  Standart sapma

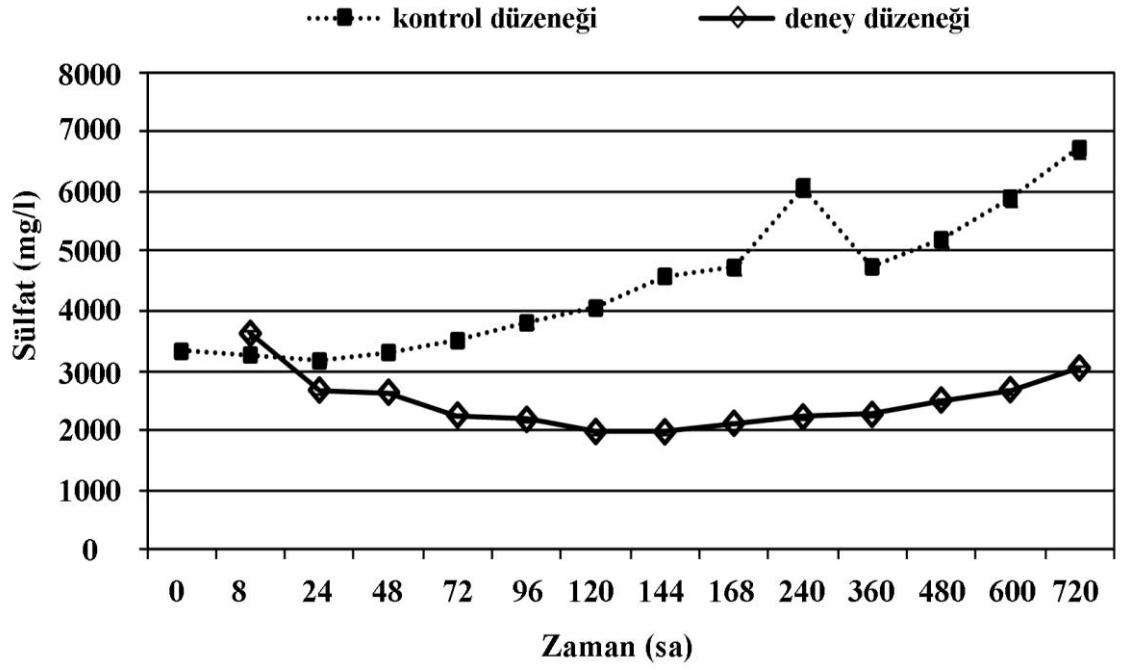
\*Ölçüm yapılamamıştır.

Kontrol düzeneğindeki besiyerinin  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin, deney düzeneğindeki aksine, zamanla arttığı saptanmıştır (sırasıyla  $r = 0.882$ ,  $p < 0.001$  ve  $r = 0.880$ ,  $p < 0.001$ ) (Şekil 4.24). Postgate C besiyerindeki maksimum  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerleri, 720. sa sonunda gözlemlenmiş ve sırasıyla, 6718.06 mg/l ve 241.89 mg/l olarak tespit edilmiştir. Kontrol düzeneğindeki besiyerinin  $\text{SO}_4^{-2}$  ile  $\text{PO}_4^{-3}$  değerleri arasında aynı yönde anlamlı bir ilişkinin varlığı saptanmıştır ( $r = 0.984$ ,  $p < 0.01$ ) (Şekil 4.24). Steril Postgate C besiyerinin pH değerlerinin artıp azalarak değişkenlik gösterdiği ve 720. sa'da  $6.21 \pm 0.01$  olduğu tespit edilmiştir.

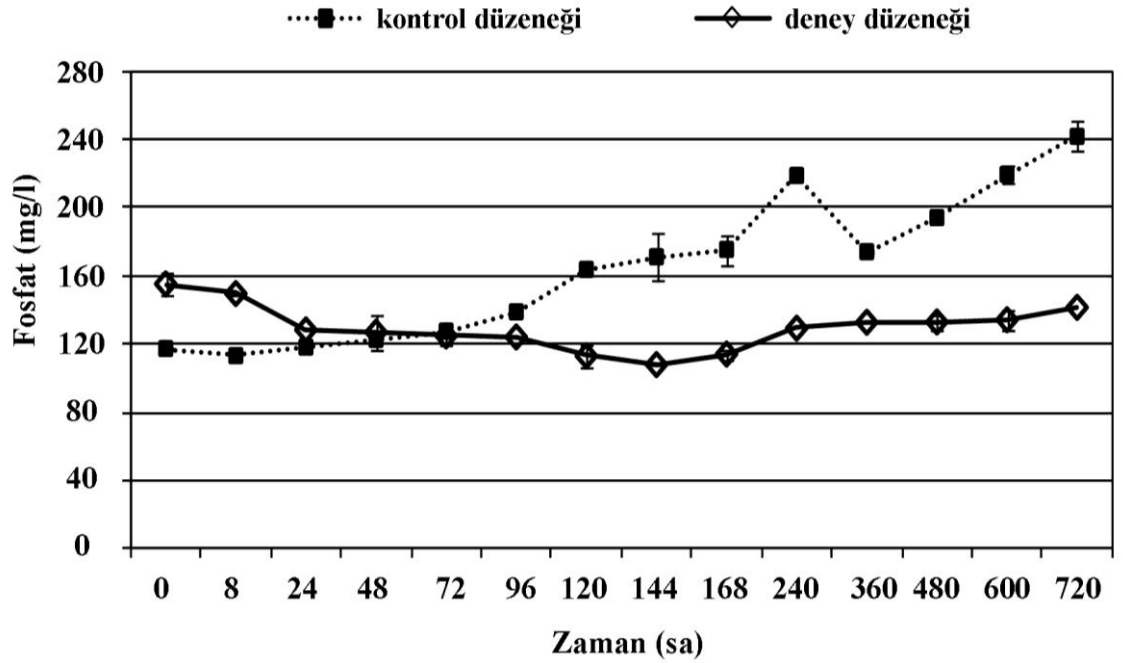


Şekil 4.24: Kontrol düzeneğindeki iyon içermeyen steril Postgate C besiyerinin  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Ag-Cu iyonlarını içermeyen kontrol ve deney düzeneklerindeki  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  miktarları karşılaştırıldığında, steril Postgate C besiyerindeki  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin *Desulfovibrio* sp. kültüründeki değerlerden anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla  $p < 0.001$  ve  $p < 0.01$ ) (Şekil 4.25 ve Şekil 4.26).



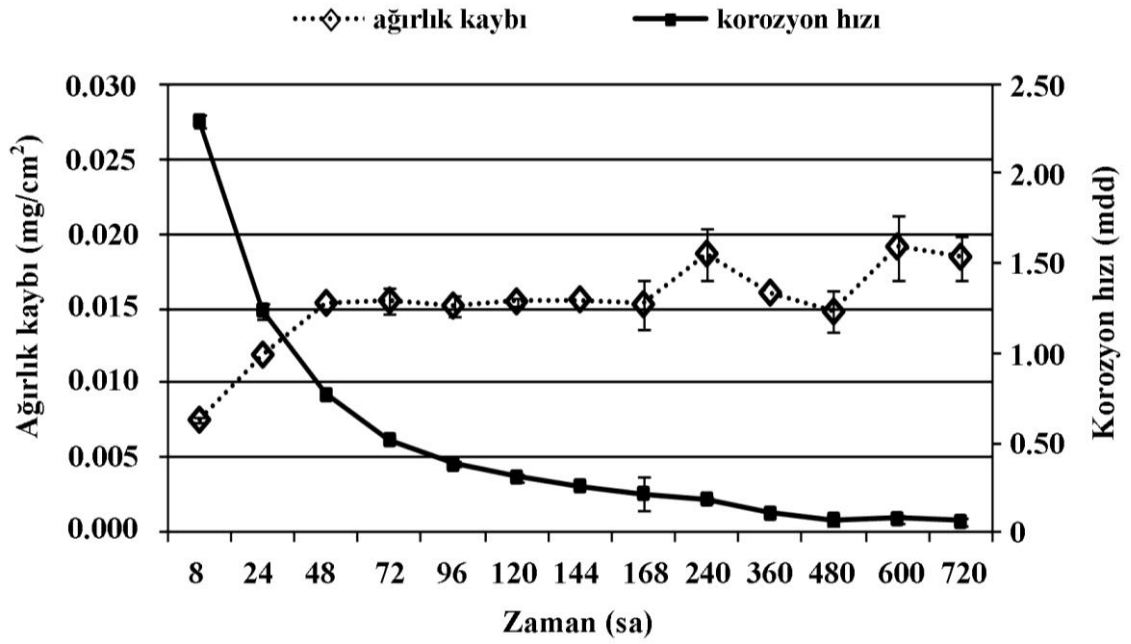
Şekil 4.25: Kontrol ve deney ortamlarındaki  $\text{SO}_4^{-2}$  değerlerinin zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.26: Kontrol ve deney ortamlarındaki  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

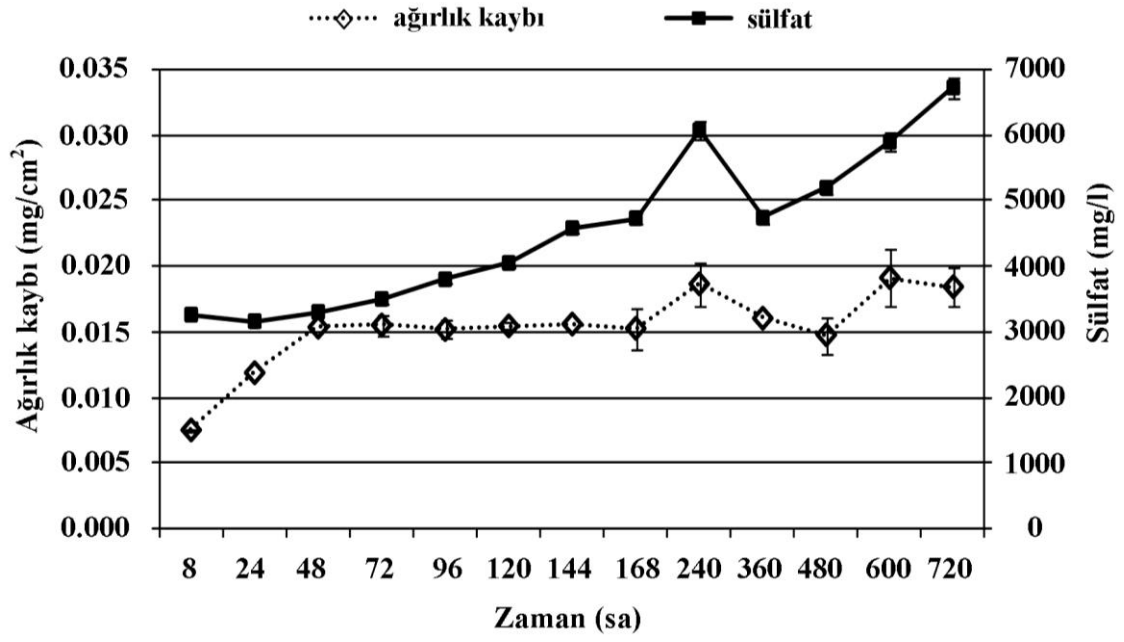
#### 4.2.1.1. Ağırlık Kaybı ve Korozyon Hızı Verileri

Deney süresince kontrol düzeneğindeki 316L paslanmaz çelik kuponların, ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarındaki değişimler Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Kuponların ağırlık kaybı 48. sa’ya kadar artmış ve daha sonra deney sonuna kadar büyük bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Şekil 4.27). Korozyon hızı ise zamanla azalmış ve 720. sa’da  $0.0615 \pm 0.0166$  mdd olarak tespit edilmiştir ( $r = -0.599$ ,  $p < 0.05$ ) (Şekil 4.27).

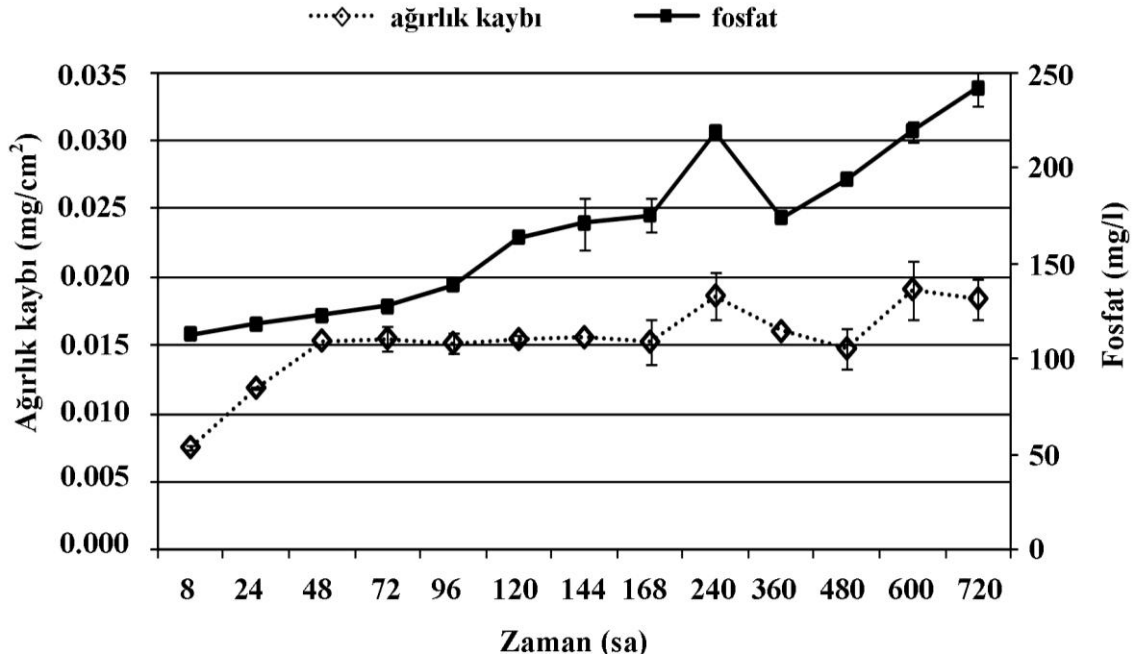


Şekil 4.27: İyon içermeyen kontrol düzeneğindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının ve korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Steril Postgate C besiyerindeki  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{PO}_4^{3-}$  konsantrasyonu ile bu ortama maruz bırakılan kuponların ağırlık kayıpları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla  $r = 0.740$ ,  $p < 0.01$  ve  $r = 0.768$ ,  $p < 0.01$ ) (Şekil 4.28 ve Şekil 4.29).

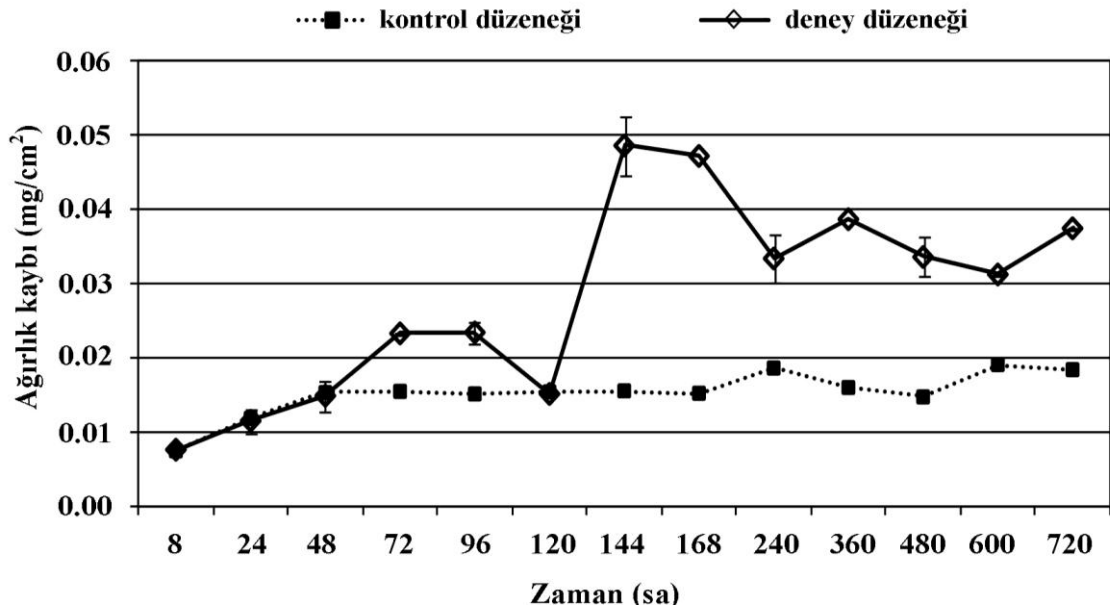


Şekil 4.28: Steril Postgate C besiyerindeki  $\text{SO}_4^{2-}$  değerlerinin ve 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.29: Steril Postgate C besiyerindeki  $\text{PO}_4^{3-}$  değerlerinin ve 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

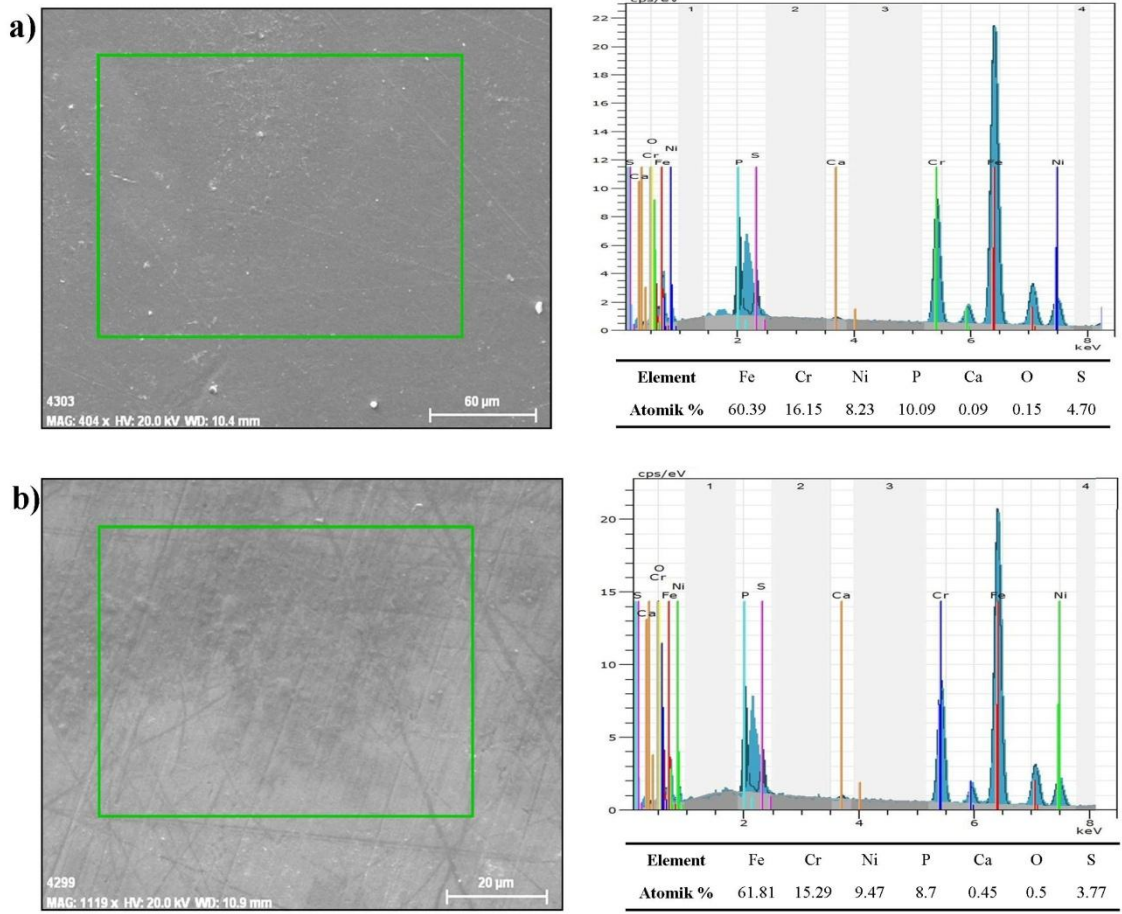
Kontrol ve deney düzeneklerindeki kuponların ağırlık kayıpları karşılaştırıldığında, *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki kuponlara ait ağırlık kaybı değerlerinin, steril Postgate C besiyerindeki değerlerden anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Kontrol düzeneğindeki kuponların 720. sa'daki ağırlık kaybı değeri,  $0.0184 \pm 0.0015$  mg/cm<sup>2</sup> olarak ölçülmüştür (Şekil 4.30). Bununla birlikte, kontrol ve deney düzeneklerindeki kuponların korozyon hızları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı saptanmasına rağmen, *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki kuponların korozyon hızlarının, steril Postgate C besiyerindeki kuponlardan daha yüksek olduğu gözlemlenmiş ve 720. sa'da 2 katı olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.2).



**Şekil 4.30:** Kontrol ve deney düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

#### 4.2.1.2. EDS Analizi Sonuçları

EDS analizleri, steril Postgate C besiyerine maruz bırakılan kuponların yüzeyindeki korozyon ürünlerinin, ağırlıklı olarak Fe, Cr, Ni, P, O ve S içerdiğini göstermektedir (Şekil 4.31).



**Şekil 4.31:** Kontrol düzeneğindeki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan film tabakasının EDS analizi; (a) 8. sa'da, (b) 720. sa'da.

#### 4.2.2. Ag-Cu İyonlarını İçeren Deney Ortamı

Ag-Cu iyonlarını içeren steril Postgate C besiyeri ile kurulan laboratuvar ölçekli kontrol düzeneğinden 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa'larda çıkartılan kuponlardan ve iyonlu deney ortamından analizler gerçekleştirilmiştir.

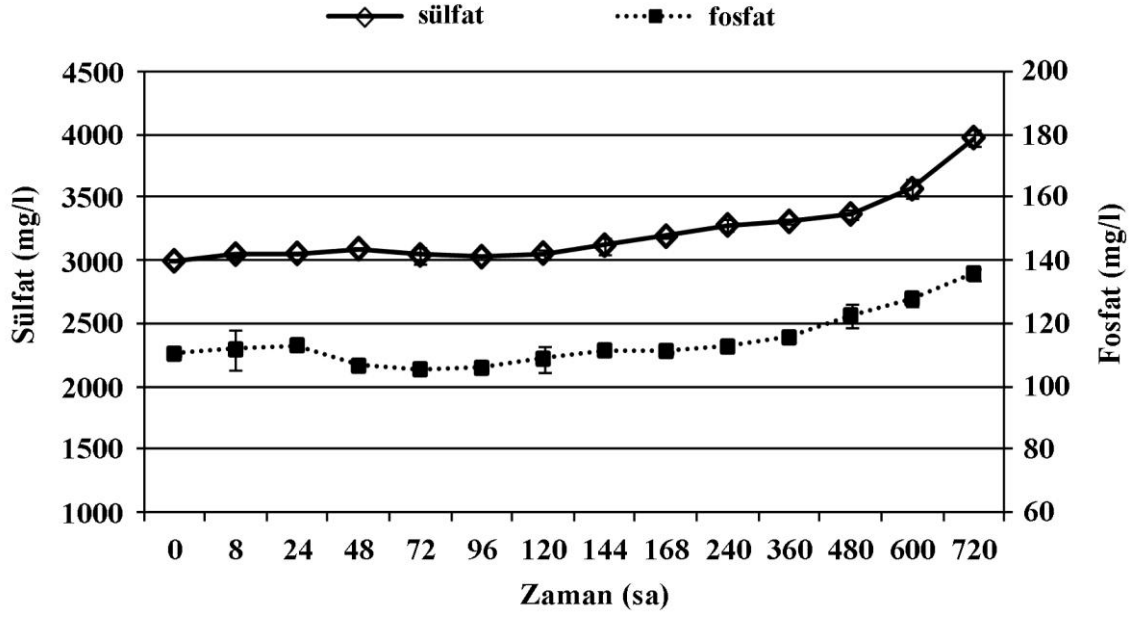
Kontrol düzeneğinden alınan besiyerinin  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  ve pH değerleri ölçülmüştür.  $\text{Cl}^-$  analizi sonucunda, besiyerindeki  $\text{Cl}^-$  miktarının  $<0.01$  ppm değerlerinde olduğu tespit edilmiştir. Ag-Cu iyonlarını içeren steril Postgate C besiyerinin  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  ve pH değerlerinin zamana bağlı değişimleri Tablo 4.6'da verilmiştir. İyonlu steril Postgate C besiyerinin  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{PO}_4^{3-}$  değerlerinin, iyonlu deney düzeneğindeki aksine, zamanla arttığı (sırasıyla  $r = 0.949$ ,  $p < 0.001$  ve  $r = 0.934$ ,  $p < 0.001$ ) ve 720. sa sonunda sırasıyla,  $3972.84 \pm 64.06$  mg/l ve  $135.87 \pm 1.91$  mg/l değerlerine ulaştığı tespit

edilmiştir (Tablo 4.6, Şekil 4.32). İyonlu steril Postgate C besiyerinin pH değerlerinin artıp azalarak değişkenlik gösterdiği ve 720. sa'da  $6.41 \pm 0.04$  olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 4.6:** Deney süresince kontrol düzeneğindeki iyonlu steril Postgate C besiyerinin  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  ve pH değerleri.

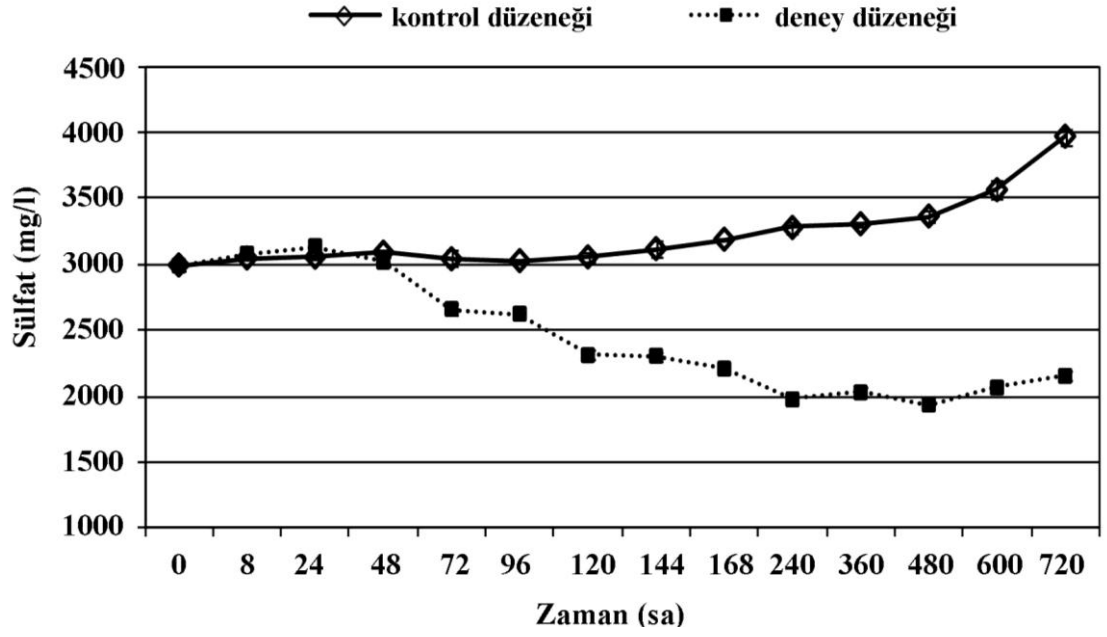
| Saatler | $\text{SO}_4^{-2}$ (mg/l) | $\text{PO}_4^{-3}$ (mg/l) | pH              |
|---------|---------------------------|---------------------------|-----------------|
| 0       | $2995.80 \pm 9.80$        | $110.38 \pm 0.45$         | $6.01 \pm 0.11$ |
| 8       | $3048.77 \pm 9.52$        | $111.76 \pm 6.30$         | $5.89 \pm 0.04$ |
| 24      | $3054.96 \pm 11.50$       | $113.06 \pm 0.00$         | $5.92 \pm 0.13$ |
| 48      | $3092.43 \pm 15.21$       | $106.56 \pm 0.05$         | $5.91 \pm 0.04$ |
| 72      | $3042.58 \pm 61.16$       | $105.45 \pm 0.18$         | $6.09 \pm 0.01$ |
| 96      | $3028.64 \pm 7.48$        | $105.89 \pm 0.23$         | $6.90 \pm 0.11$ |
| 120     | $3057.17 \pm 37.34$       | $108.79 \pm 4.33$         | $6.05 \pm 0.06$ |
| 144     | $3119.98 \pm 66.10$       | $111.44 \pm 0.66$         | $5.98 \pm 0.14$ |
| 168     | $3191.09 \pm 15.87$       | $111.25 \pm 0.39$         | $6.11 \pm 0.13$ |
| 240     | $3280.37 \pm 39.60$       | $112.66 \pm 0.91$         | $6.25 \pm 0.00$ |
| 360     | $3308.52 \pm 12.41$       | $115.57 \pm 1.38$         | $6.34 \pm 0.00$ |
| 480     | $3367.12 \pm 40.84$       | $122.57 \pm 4.02$         | $6.51 \pm 0.04$ |
| 600     | $3567.24 \pm 70.43$       | $127.88 \pm 2.36$         | $6.53 \pm 0.01$ |
| 720     | $3972.84 \pm 64.06$       | $135.87 \pm 1.91$         | $6.41 \pm 0.04$ |

± Standart sapma

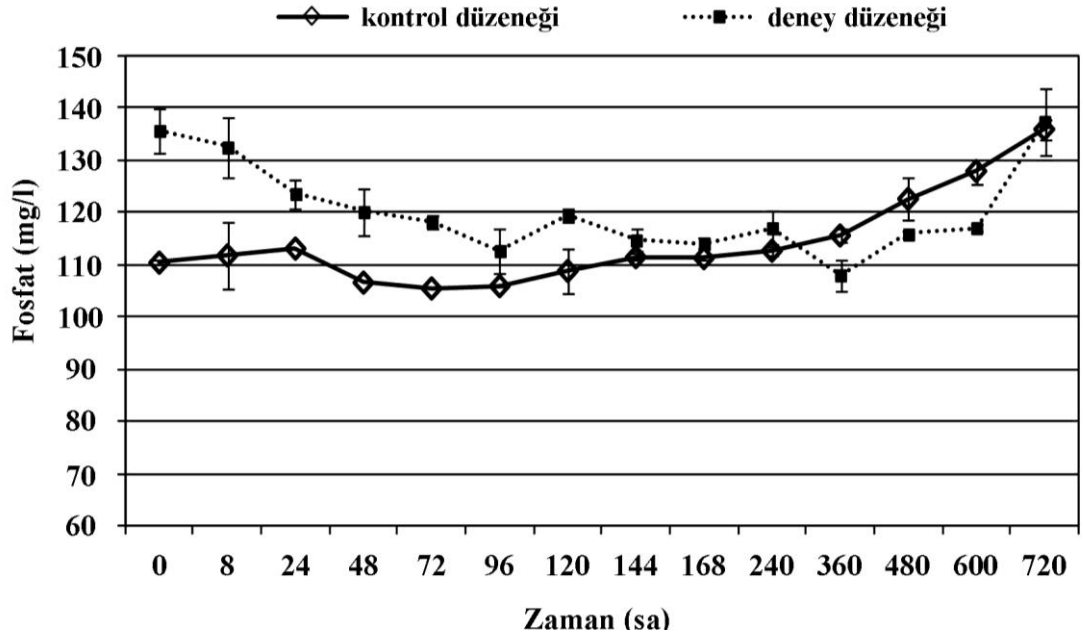


**Şekil 4.32:** Kontrol düzeneğindeki Ag-Cu iyonlarını içeren steril Postgate C besiyerinin  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Ag-Cu iyonlarını içeren kontrol ve deney düzeneklerindeki  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  miktarları karşılaştırıldığında, iyonlu steril Postgate C besiyerindeki  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültüründeki değerlerden anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla  $p < 0.001$  ve  $p < 0.05$ ) (Şekil 4.33 ve Şekil 4.34).

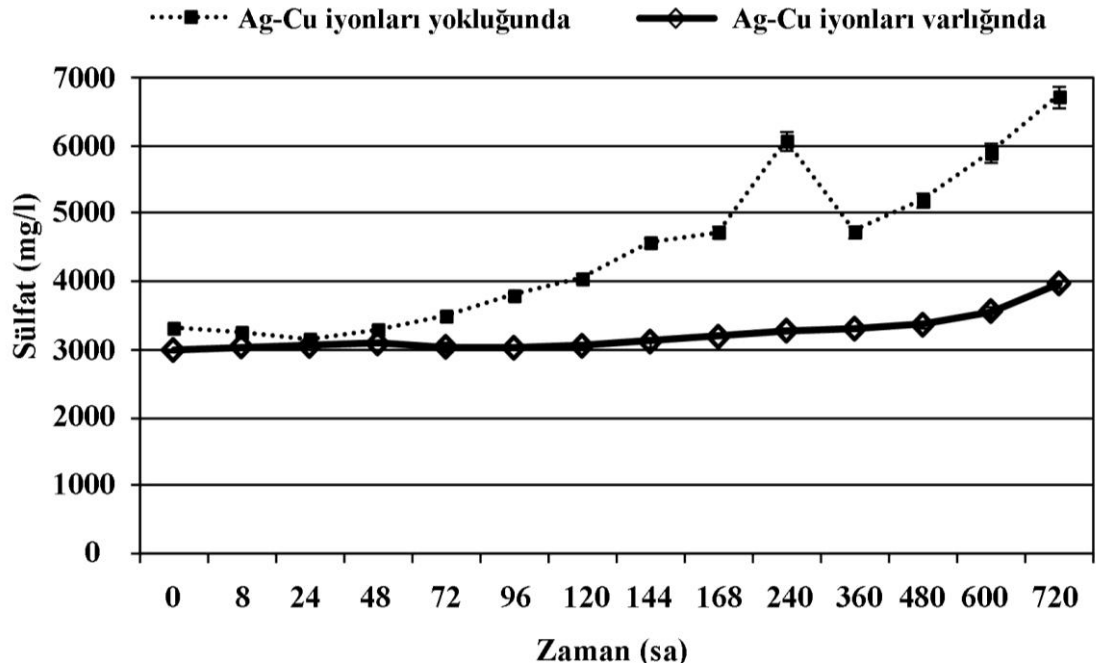


Şekil 4.33: Kontrol ve deney düzeneklerindeki Ag-Cu iyonlarını içeren deney ortamlarındaki  $\text{SO}_4^{-2}$  değerlerinin zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

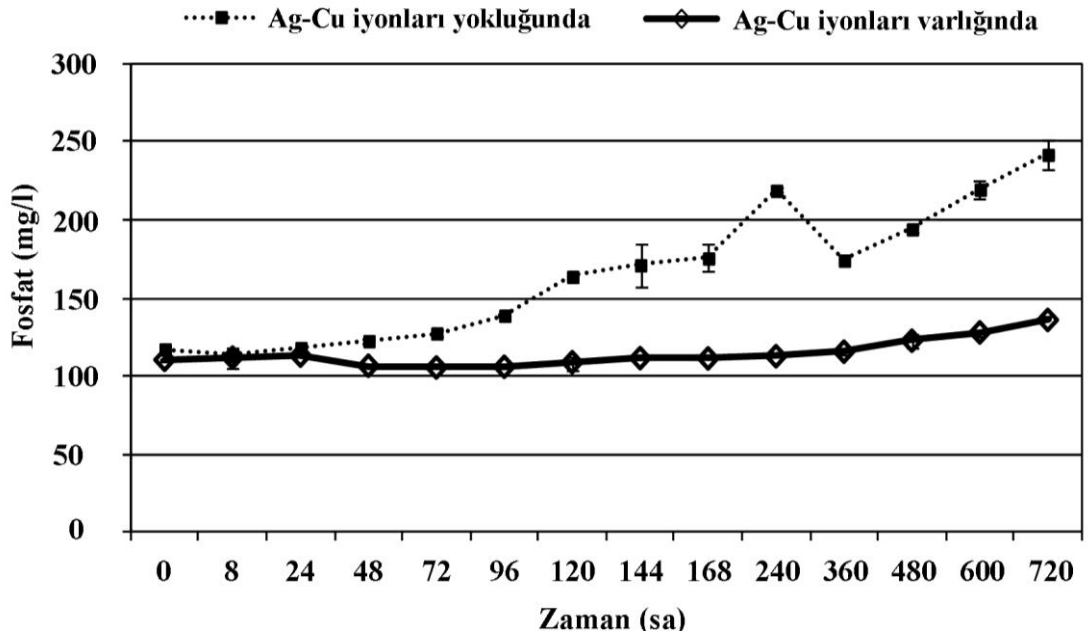


Şekil 4.34: Kontrol ve deney düzeneklerindeki Ag-Cu iyonlarını içeren deney ortamlarındaki  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Laboratuvar ölçekli kontrol düzeneklerinde Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında gerçekleştirilen deneylerde, iyonsuz ortamdaki  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin, iyonlu ortamdaki değerlerden anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.01$  ve  $p < 0.01$ ) (Şekil 4.35 ve Şekil 4.36).



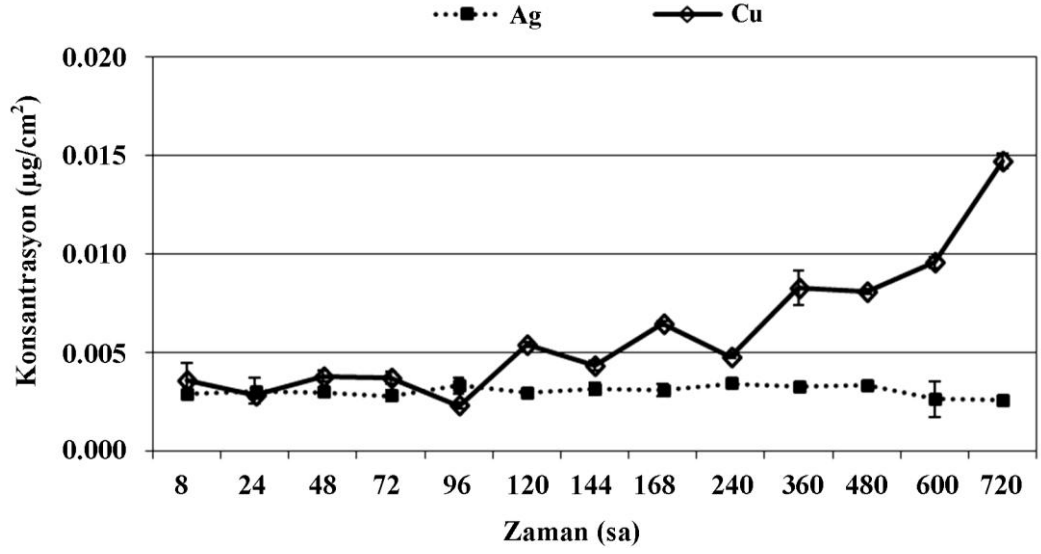
**Şekil 4.35:** Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında kurulan kontrol düzeneklerindeki steril Postgate C besiyerine ait  $\text{SO}_4^{-2}$  değerlerinin zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



**Şekil 4.36:** Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında kurulan kontrol düzeneklerindeki steril Postgate C besiyerine ait  $\text{PO}_4^{3-}$  değerlerinin zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

#### 4.2.2.1. Ag ve Cu Değerleri

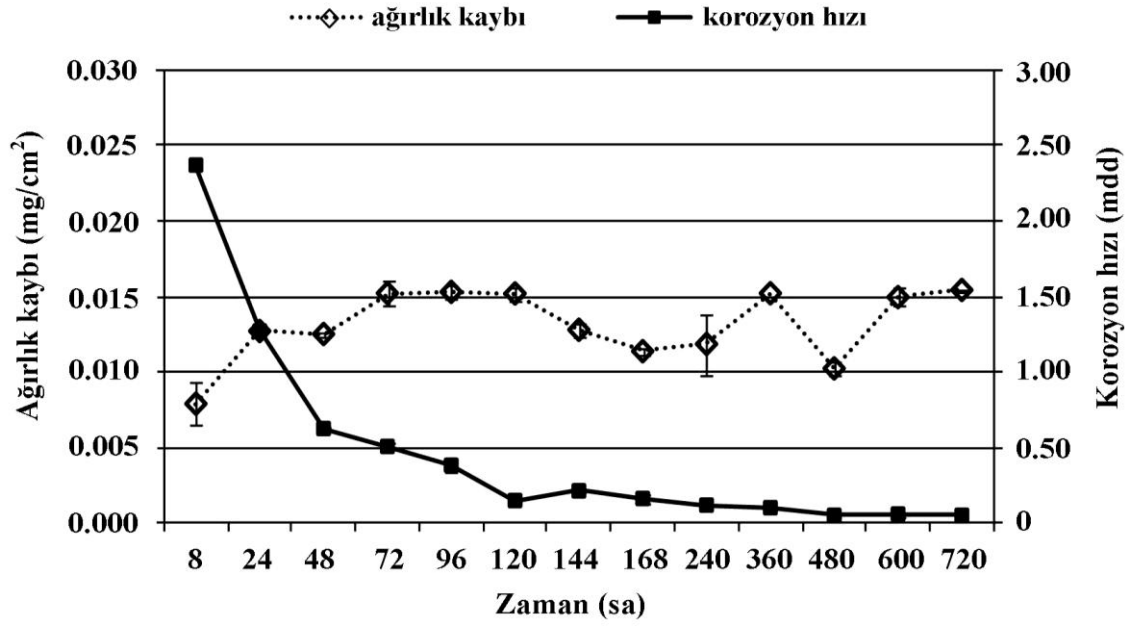
Final konsantrasyonları Ag ve Cu için sırasıyla, 0.13 ppm ve 0.3 ppm olarak kurulan kontrol düzeneğindeki, kuponların yüzeyinden elde edilen filmlerdeki Ag-Cu iyonlarının konsantrasyonlarındaki zamana bağlı değişimler Şekil 4.37’de gösterilmiştir. Film tabakasındaki Ag miktarı 8. sa’da  $0.0029 \pm 0.0000 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak ölçülmüş ve deney süresince büyük bir değişiklik göstermediği gözlenen Ag miktarı deney sonunda (720. sa’da)  $0.0026 \pm 0.0001 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.37). Film tabakasındaki Cu miktarı zamanla artmış ve 720. Sa’da  $0.014 \pm 0.0004 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak değerine ulaşmıştır ( $r = 0.710$ ,  $p < 0.01$ ) (Şekil 4.37).



**Şekil 4.37:** İyonlu kontrol düzeneğindeki kuponlardan elde edilen filmlerdeki Ag ve Cu miktarlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

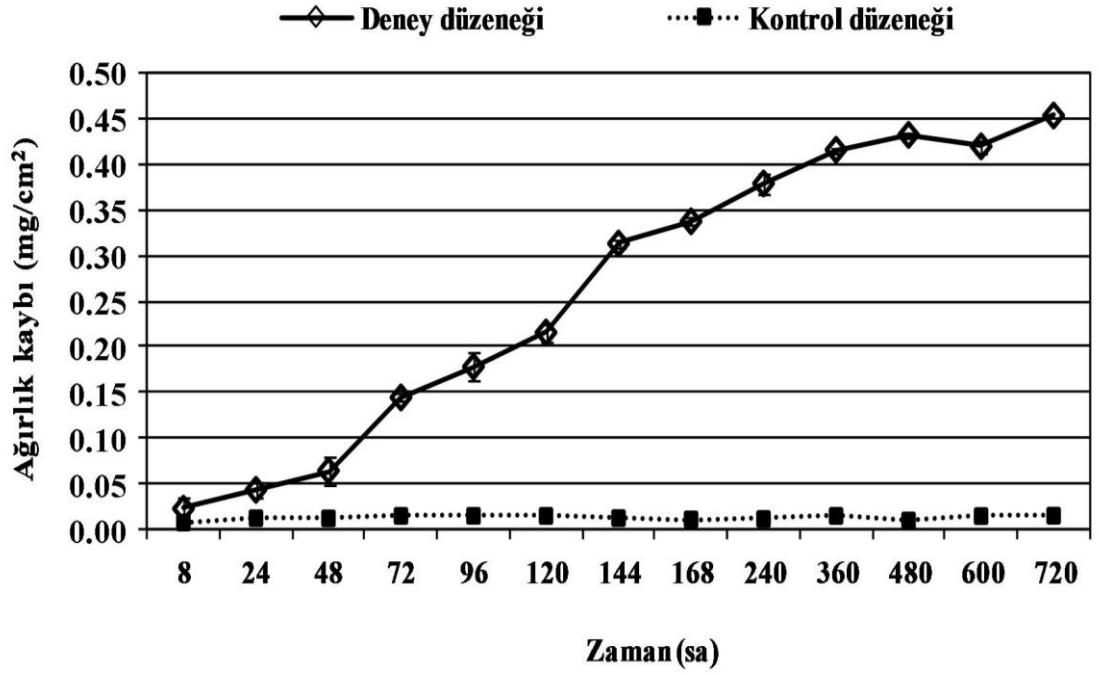
#### 4.2.2.2. Ağırlık Kaybı ve Korozyon Hızı Verileri

Ag-Cu iyonlarını içeren steril Postgate C besiyeri ile kurulan kontrol düzeneğindeki 316L paslanmaz çelik kuponların, ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarındaki değişimler Tablo 4.4 ve Şekil 4.38’de gösterilmiştir. Kuponların ağırlık kaybı 96. sa’ya kadar artmış ve  $0.0153 \pm 0.0005 \text{ mg/cm}^2$  olarak tespit edilmiştir. Daha sonra ağırlık kaybında büyük değişiklikler gözlenmemiş olup, 720. sa sounda  $0.0154 \pm 0.0001 \text{ mg/cm}^2$  olarak saptanmıştır (Tablo 4.4). Deney süresince, kuponların korozyon hızı zamanla azalmış ( $r = -0.563$ ,  $p \leq 0.05$ ) ve 720. sa sonunda  $0.0514 \pm 0.0003 \text{ mdd}$  olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.4, Şekil 4.38).

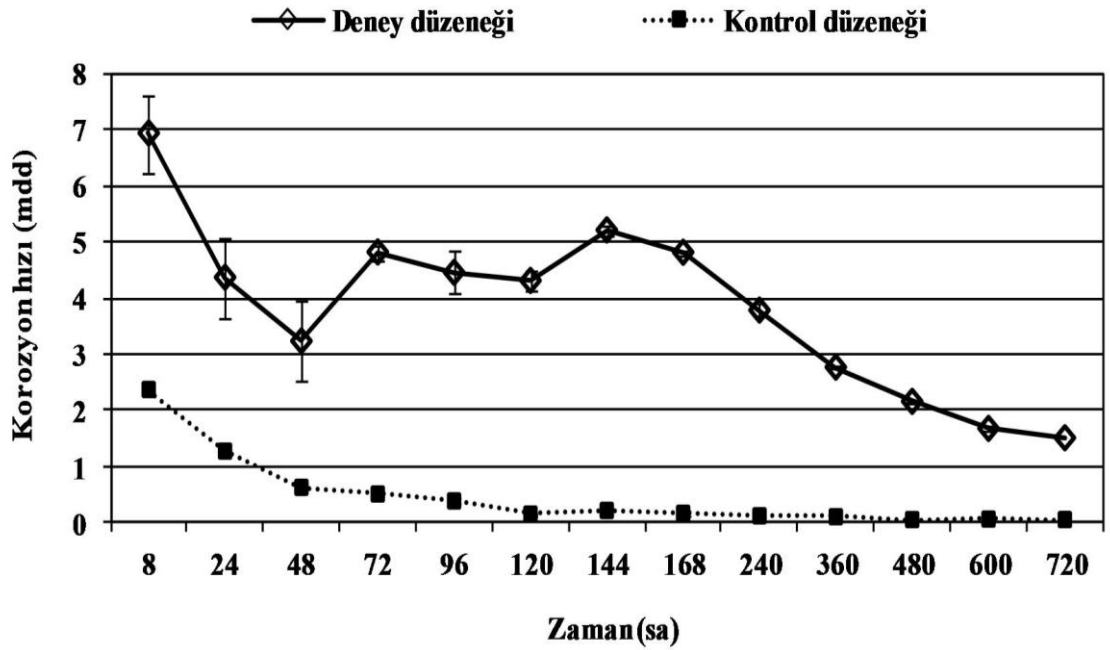


**Şekil 4.38:** Ag-Cu iyonlarını içeren kontrol düzeneğindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının ve korozyon hızlarının zamana bağlı değişimleri. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Ag-Cu iyonlarını içeren deney ve kontrol kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızı değerleri karşılaştırıldığında, iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki kuponlara ait değerlerin, iyonlu steril Postgate C besiyerindeki değerlerden anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla,  $p < 0.001$  ve  $p < 0.001$ ) (Şekil 4.39 ve Şekil 4.40). 720. sa'da, *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki kuponların korozyon hızlarının, steril Postgate C besiyerindeki kuponlardan 29 kat fazla olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.40).

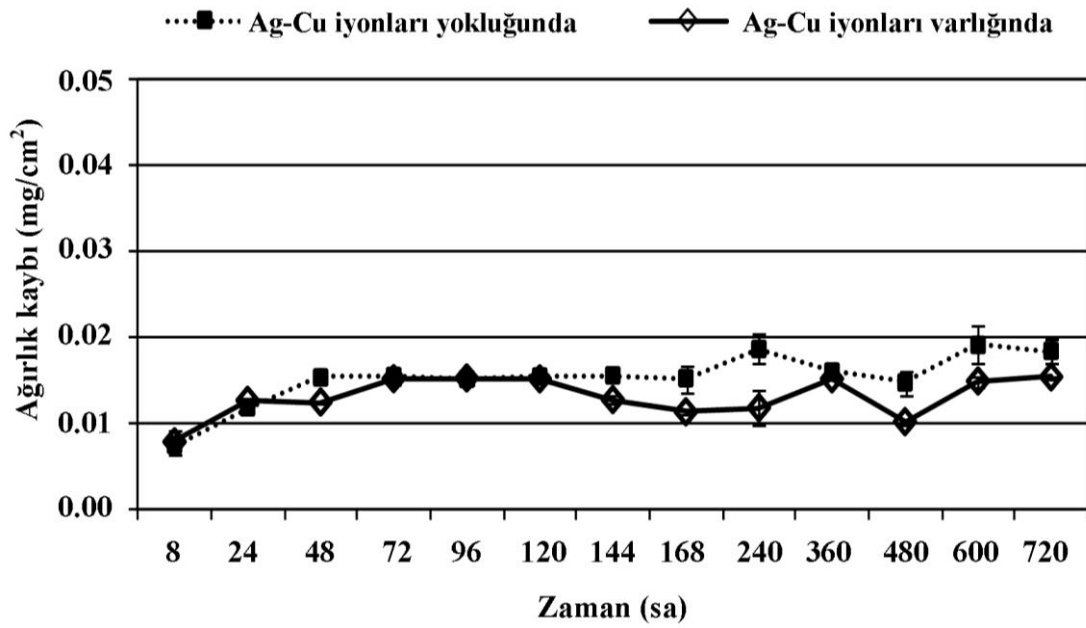


Şekil 4.39: Ag-Cu iyonlarını içeren kontrol ve deney düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

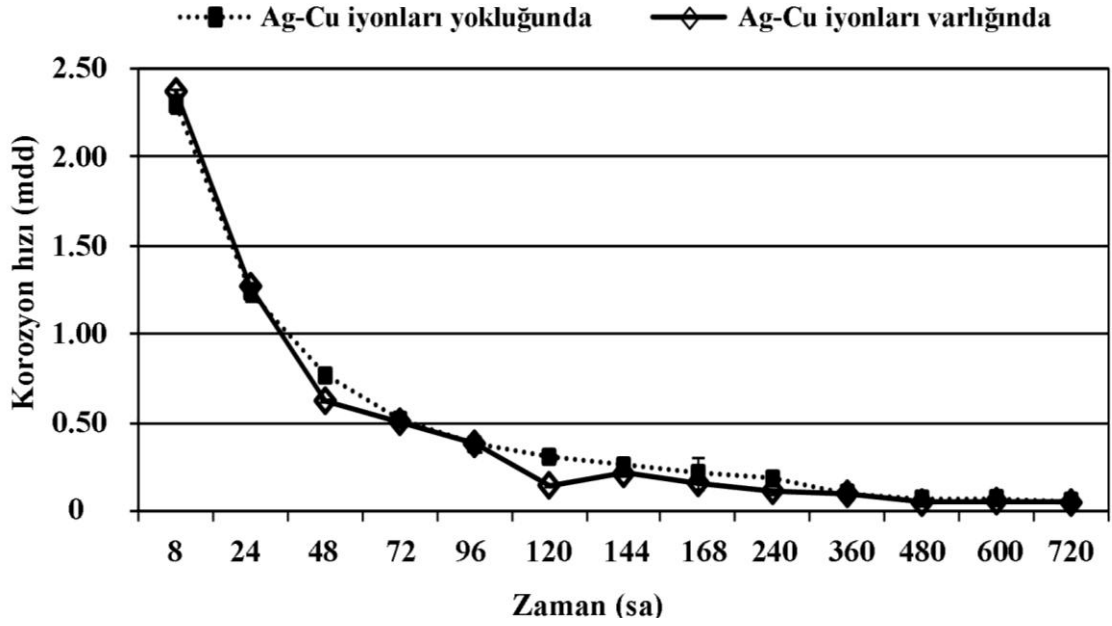


Şekil 4.40: Ag-Cu iyonlarını içeren kontrol ve deney düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Kontrol düzeneklerinde Ag-Cu iyonları yokluğunda ve varlığında gerçekleştirilen deneylerde, iyonlu ve iyonсу ortamdaki kuponların ağırlık kaybı ve korozyon hızı arasında anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.41 ve Şekil 4.42). Bununla birlikte kuponların ağırlık kaybı değeri incelendiğinde, iyonсу ortamdaki değeri 48. sa'dan sonra, iyonlu ortamdakilerin ise 72. sa'dan sonra sabitlendiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.41).



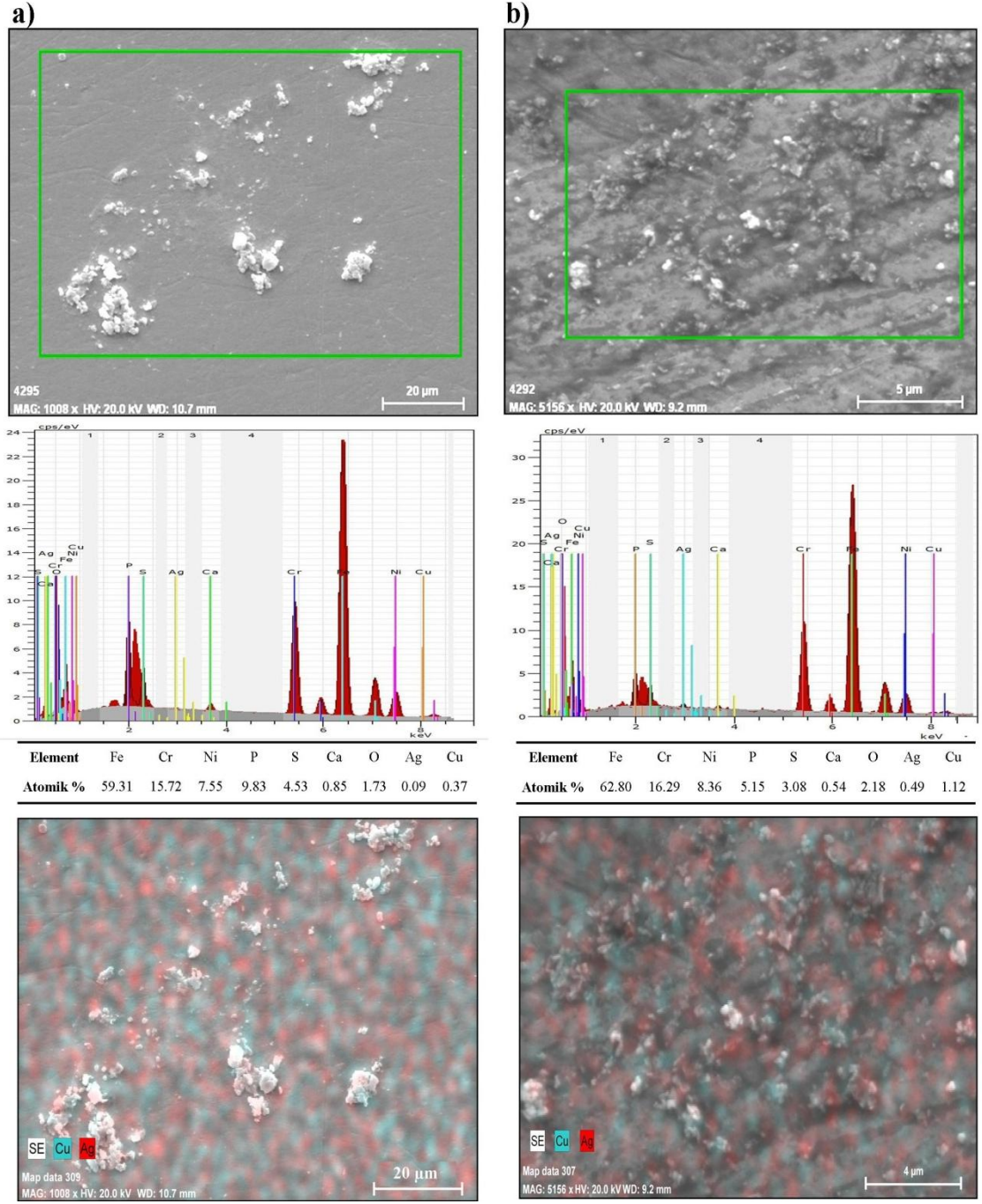
**Şekil 4.41:** Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kontrol düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



**Şekil 4.42:** Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen kontrol düzeneklerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

#### 4.2.2.3. EDS ve Elementel Haritalama Analizi Sonuçları

EDS analizleri, Ag-Cu iyonlarını içeren steril Postgate C besiyerine maruz bırakılan kuponların yüzeyinde oluşan korozyon ürünlerinin ağırlıklı olarak Fe, Cr, Ni, P, O ve S içerdiğini göstermektedir (Şekil 4.43). Grafikteki bu yüksek piklerin yanı sıra eser miktarda Ag ve Cu elementlerine ait piklerde bulunmaktadır. Elementel haritalama analizi sonucunda, Ag ve Cu elementlerinin metal yüzeyine dağınık bir şekilde ve korozyon ürünleri üzerine yayıldığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.43).



**Şekil 4.43:** Ag-Cu iyonlarını içeren steril Postgate C besiyerindeki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi ve elementel haritalaması; (a) 8. sa'da, (b) 720. sa'da.

### 4.3. KOROZYON HÜCRESİ

#### 4.3.1. Ag-Cu İyonlarını İçermeyen Steril Postgate C Besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. Kültür Ortamı

##### 4.3.1.1. Elektrokimyasal Ölçümler

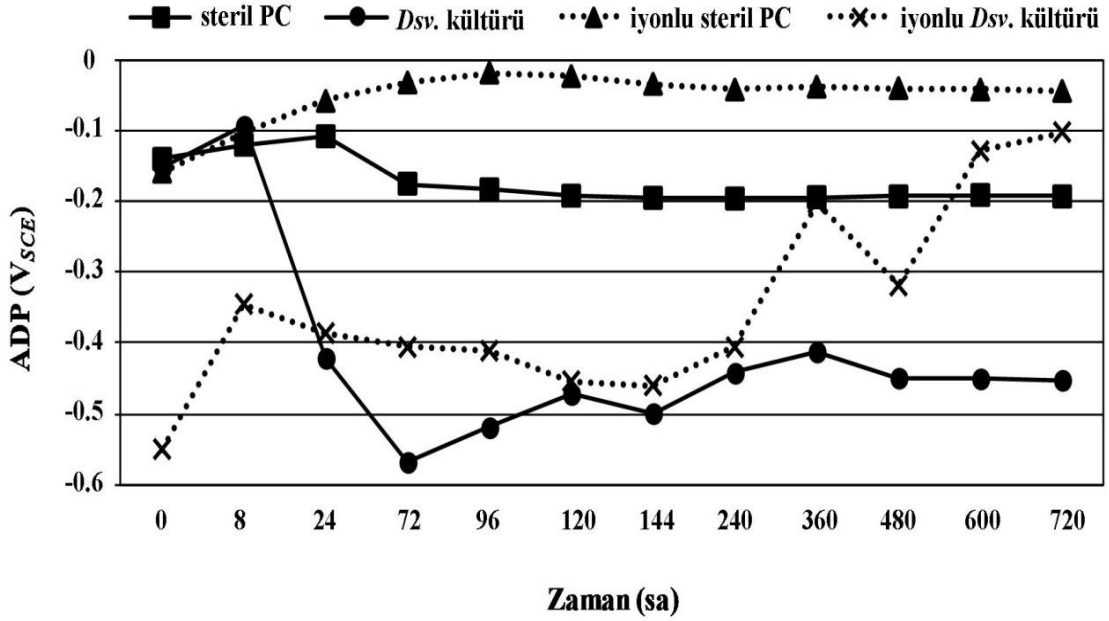
316L paslanmaz çelik kuponlar, Ag-Cu iyonlarını içermeyen steril Postgate C besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarına 720 sa süresince maruz bırakılarak, kuponlardan 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa'larda elektrokimyasal deneyler gerçekleştirilmiştir. 316L paslanmaz çelik kuponların korozyon davranışları, elektrokimyasal ölçümler ile potansiyodinamik korozyon deneyleri ve Tafel eğrileri yardımıyla değerlendirilmiştir.

Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen steril Postgate C besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarının ADP değerlerinin deney süresince değişimi Tablo 4.7 ve Şekil 4.44'te gösterilmiştir.

**Tablo 4.7:** Deney süresince Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen steril Postgate C besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların ADP ve  $E_{kor}$  değerleri.

| Saatler | Steril Postgate C |               | <i>Desulfovibrio</i> sp. |               | İyonlu steril Postgate C |               | İyonlu <i>Desulfovibrio</i> sp. |               |
|---------|-------------------|---------------|--------------------------|---------------|--------------------------|---------------|---------------------------------|---------------|
|         | ADP (V)           | $E_{kor}$ (V) | ADP (V)                  | $E_{kor}$ (V) | ADP (V)                  | $E_{kor}$ (V) | ADP (V)                         | $E_{kor}$ (V) |
| 0       | -0.140            | -0.651        | -0.152                   | -0.475        | -0.158                   | -0.518        | -0.550                          | -0.704        |
| 8       | -0.120            | -0.651        | -0.093                   | -0.333        | -0.102                   | -0.322        | -0.345                          | -0.510        |
| 24      | -0.108            | -0.641        | -0.421                   | -0.613        | -0.058                   | -0.480        | -0.386                          | -0.558        |
| 72      | -0.175            | -0.549        | -0.568                   | -0.646        | -0.032                   | -0.360        | -0.406                          | -0.584        |
| 96      | -0.183            | -0.529        | -0.519                   | -0.638        | -0.018                   | -0.394        | -0.411                          | -0.604        |
| 120     | -0.192            | -0.523        | -0.472                   | -0.636        | -0.023                   | -0.366        | -0.454                          | -0.579        |
| 144     | -0.195            | -0.513        | -0.499                   | -0.653        | -0.034                   | -0.388        | -0.460                          | -0.573        |
| 240     | -0.196            | -0.517        | -0.442                   | -0.621        | -0.042                   | -0.396        | -0.406                          | -0.514        |
| 360     | -0.194            | -0.512        | -0.412                   | -0.543        | -0.038                   | -0.431        | -0.202                          | -0.371        |
| 480     | -0.193            | -0.508        | -0.449                   | -0.544        | -0.040                   | -0.438        | -0.319                          | -0.459        |
| 600     | -0.191            | -0.501        | -0.450                   | -0.549        | -0.042                   | -0.451        | -0.129                          | -0.383        |
| 720     | -0.193            | -0.510        | -0.452                   | -0.542        | -0.044                   | -0.520        | -0.102                          | -0.409        |

*Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki kuponların ADP'lerinin, steril Postgate C besiyerindeki kuponlardan daha aktif değerlerde ve daha değişken olduğu saptanmıştır. *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki kuponların ADP değerleri, 8. sa'da -0.152 V olarak ölçülmüş ve 24. sa'ya kadar negatif değerlere kaydıldıktan sonra, 720. sa'ya kadar -0.500 ile -0.400 V arasında değişiklik göstermiştir (Şekil 4.44).

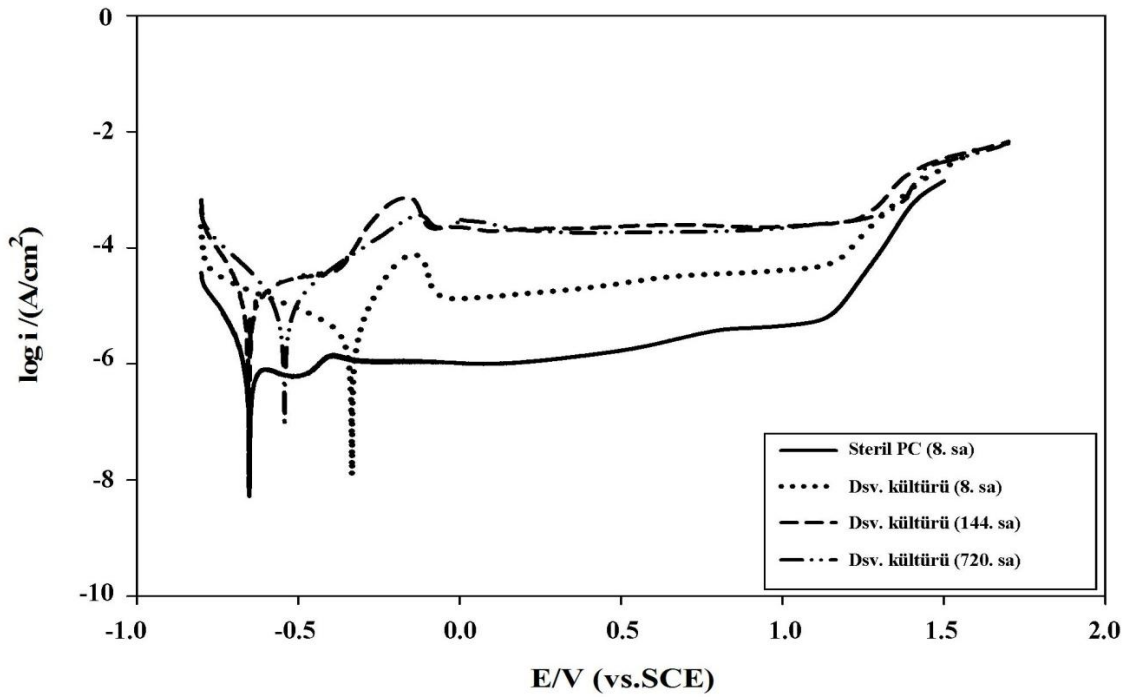


**Şekil 4.44:** Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen steril Postgate C besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların ADP değerlerinin zamana bağlı değişimi.

Steril Postgate C besiyerinden 8. sa sonunda, *Desulfovibrio* sp. kültür ortamından 8, 144 ve 720. sa'lar sonunda elde edilen potansiyodinamik polarizasyon eğrileri Şekil 4.46'da gösterilmiştir. Deney süresince, Ag-Cu iyonlarını içermeyen steril Postgate C besiyerinde 8. sa sonunda  $E_{kor}$  değeri -0.651 V ölçülmüş ve bu değer deney süresince -0.510 V değerine kadar azalmıştır. Anodik eğride geniş bir pasifleşme bölgesi gözlenmiştir.

*Desulfovibrio* sp. varlığında 316L paslanmaz çeliğin  $E_{kor}$  değeri, steril ortam koşullarına göre 8. sa'da daha soy değerlere kaymış, sonraki saatlerde ise değişkenlik göstermiştir. *Desulfovibrio* sp. varlığında anodik eğrideki akımın yükseldiği tespit edilmiştir.

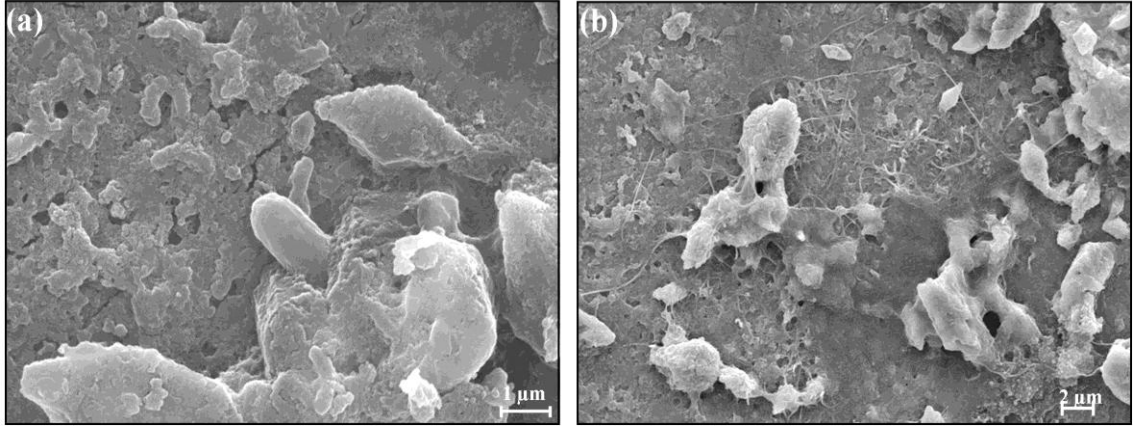
Hem steril ortamda hem de *Desulfovibrio* sp. kültüründe, anodik eğride iki pasifleşme bölgesi tespit edilmiştir. Birinci pasif bölgeden ikinciye geçişte oluşan pikin yüksekliğinin, steril ortamda az olduğu gözlemlenirken, *Desulfovibrio* sp. ortamda zamanla arttığı belirlenmiştir. Ayrıca anodik polarizasyon akım yoğunluğunun steril ortama göre arttığı ve ilk pasif bölgenin ikinci pasif bölgeden daha dar olduğu da gözlemlenmiştir (Şekil 4.45).



**Şekil 4.45:** Steril Postgate C besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.

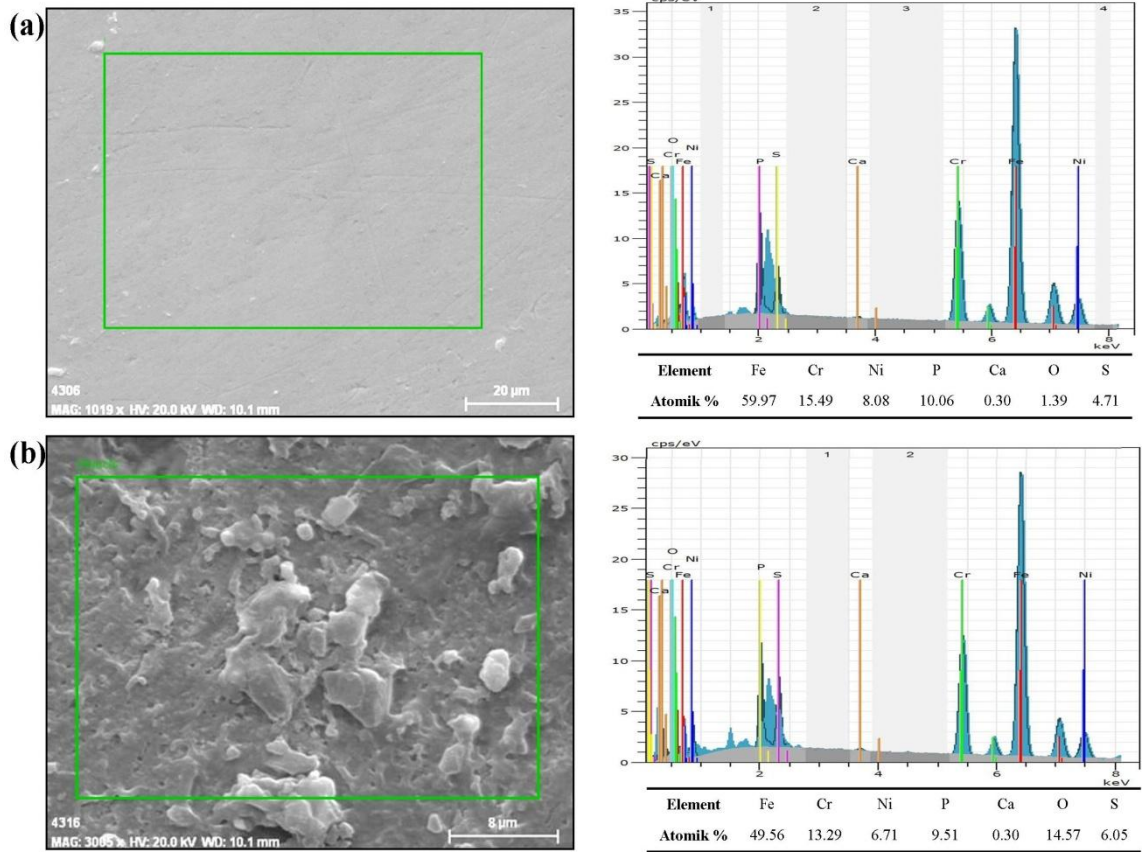
#### 4.3.1.2. SEM ve EDS Analizi Sonuçları

*Desulfovibrio* sp. kültürüne maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların SEM fotoğrafları, kuponların yüzeyinde biyofilm tabakasının oluştuğunu ve metalin tüm yüzeyini örttüğünü göstermektedir. Ayrıca fotoğraflardan, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin biyofilm tabakasında kendi ürettikleri EPS içerisine gömülü halde bulundukları ve çok miktarda nano boyutta uzantılar geliştirdikleri de gözlemlenmiştir (Şekil 4.46).



**Şekil 4.46:** *Desulfovibrio* sp. kültürüne maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların SEM fotoğrafları.

EDS analizi sonuçları, hem steril Postgate C besiyeri hem de *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarındaki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin yüksek miktarda Fe ile birlikte, Cr, Ni, P ve O içerdiğini göstermektedir. Grafikteki bu yüksek piklerin yanı sıra eser miktarda Ca elementi de bulunmaktadır. *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünleri, steril Postgate C besiyerinden daha fazla S içermektedir (Şekil 4.47).



**Şekil 4.47:** 720. sa sonunda 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi; (a) steril Postgate C besiyerindeki kuponlar, (b) *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki kuponlar.

#### 4.3.2. Ag-Cu İyonlarını İçeren Steril Postgate C Besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. Kültür Ortamı

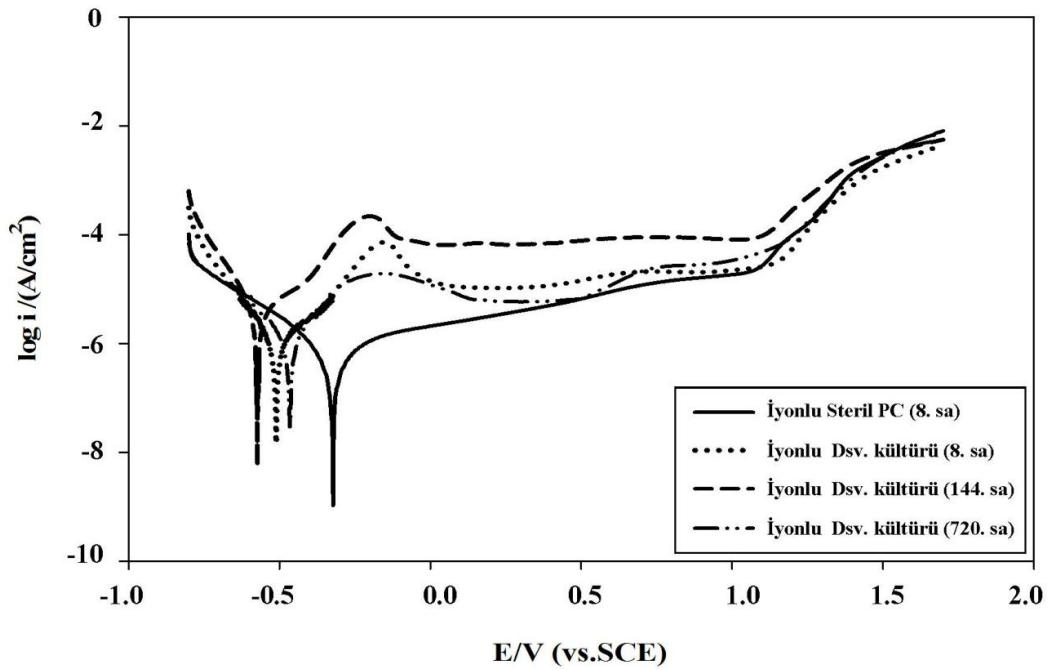
##### 4.3.2.1. Elektrokimyasal Ölçümler

316L paslanmaz çelik kuponlar, Ag-Cu iyonlarını içeren steril Postgate C besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarına 720 sa süresince maruz bırakılarak, kuponlardan 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa'larda elektrokimyasal deneyler gerçekleştirilmiştir. 316L paslanmaz çelik kuponların korozyon davranışları, elektrokimyasal ölçümler ile potansiyodinamik korozyon deneyleri ve Tafel eğrileri yardımıyla değerlendirilmiştir.

Ag-Cu iyonlarını içeren steril Postgate C besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarının açık devre potansiyel değerlerinin deney süresince değişimi Tablo 4.7 ve Şekil 4.44'te gösterilmiştir. Deney süresince, iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültür

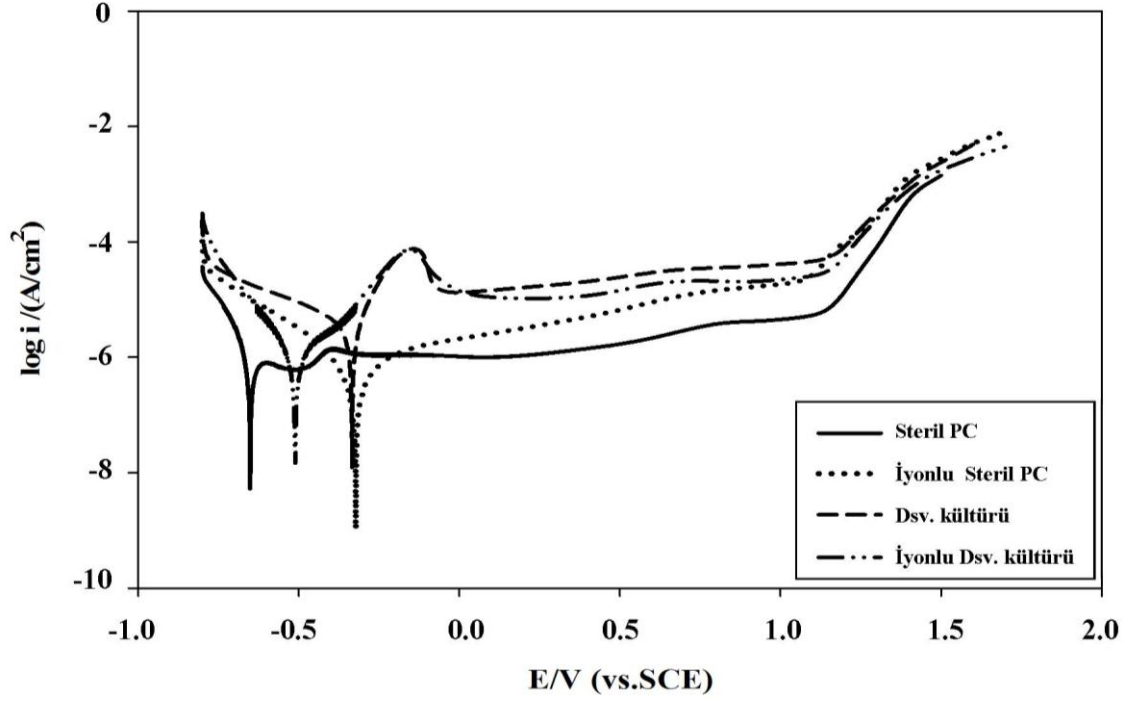
ortamındaki kuponların açık devre potansiyelleri, iyonlu steril Postgate C besiyerindeki kuponlardan daha aktif değerlerde ölçülmüştür. İyonlu *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki kuponların açık devre potansiyelleri, 8. sa'da -0.345 V olarak ölçülmüş ve zamanla artarak 720. sa sonunda -0.102 V olarak saptanmıştır.

Ag-Cu iyonları varlığında, *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki 316L paslanmaz çelik kuponların  $E_{kor}$  değerinin steril ortam koşullarına göre daha aktif değerlere kaydığı ve anodik eğrideki akımın yükseldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.48).

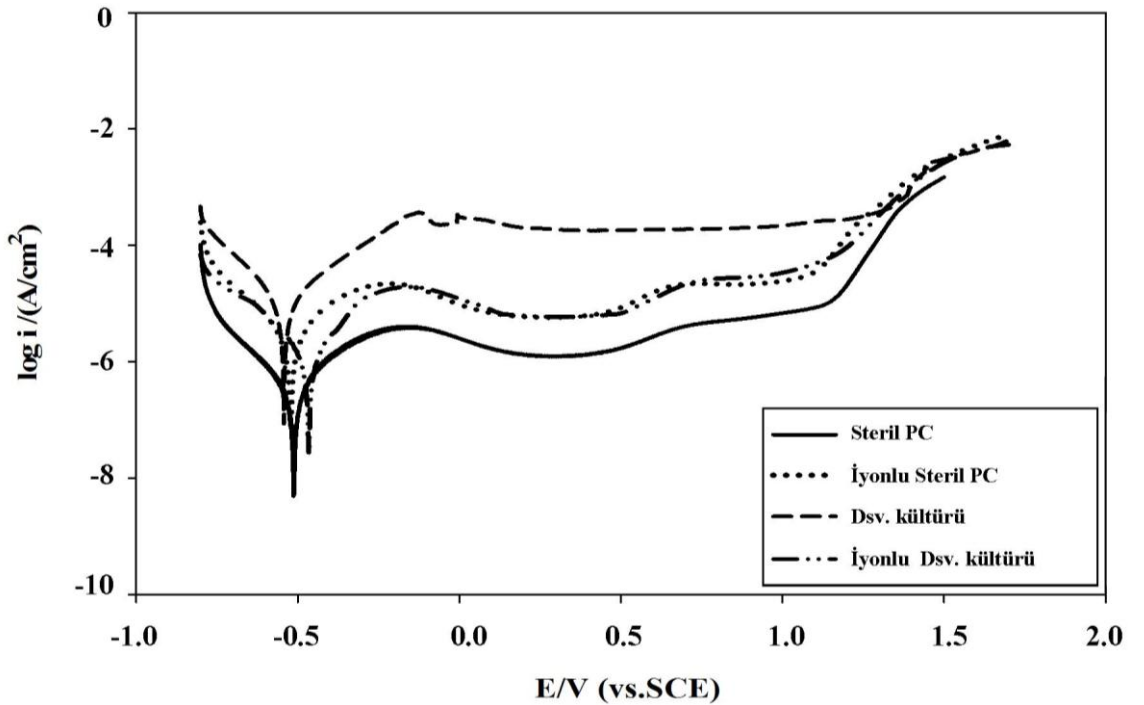


**Şekil 4.48:** Ag-Cu iyonları içeren steril Postgate C besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.

İyonsuz *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki 316L paslanmaz çelik kuponların 8. sa sonundaki  $E_{kor}$  değeri, steril ortama göre daha soy değerlere kaydığı görülürken, iyonlu kültür ortamında daha aktif değerlere kaydığı gözlenmiştir. 720. sa sonunda ise hem iyonlu hem de iyonsuz *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarındaki  $E_{kor}$  değerlerinin birbirine çok yakın olduğu, bununla birlikte iyonsuz ortamdaki akım değerinin iyonlu ortamdakinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.49 ve Şekil 4.50).



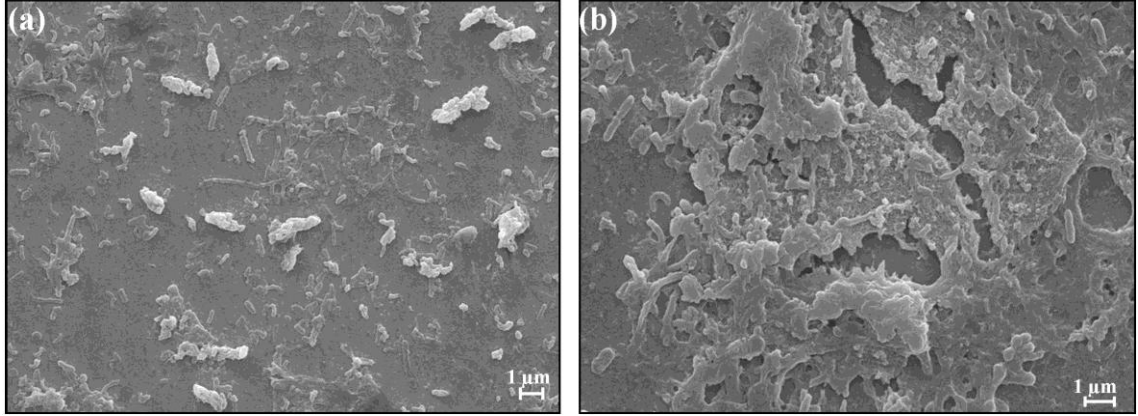
Şekil 4.49: Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen steril Postgate C besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların 8. sa'daki potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.



Şekil 4.50: Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen steril Postgate C besiyeri ve *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların 720. sa'daki potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.

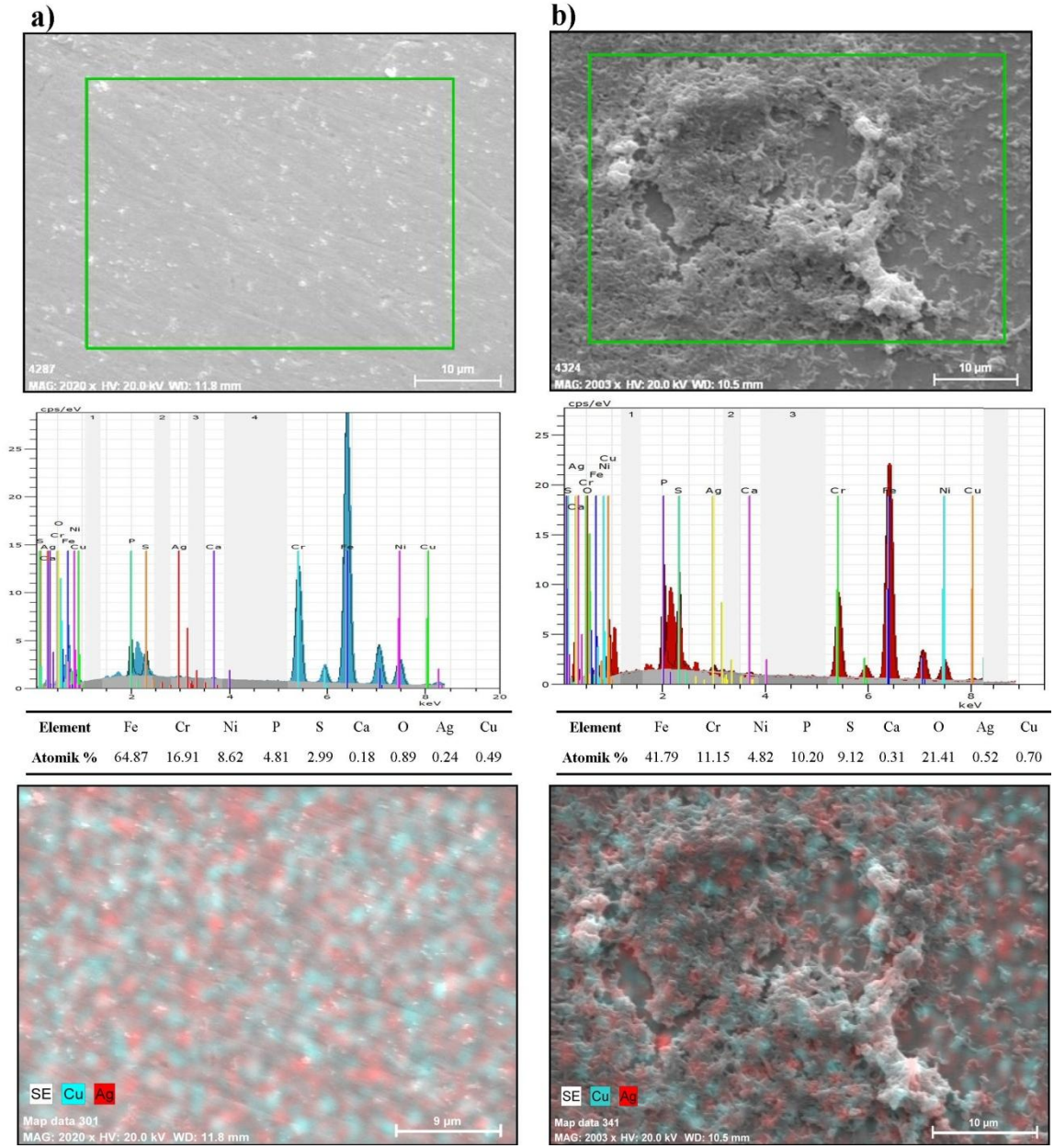
#### 4.3.2.2. SEM, EDS ve Elementel Haritalama Analizi Sonuçları

Ag-Cu iyonlarını içeren *Desulfovibrio* sp. kültür ortamına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların SEM fotoğrafları, kuponların yüzeyinde biyofilm tabakası oluşturduklarını, ancak iyonsuz *Desulfovibrio* sp. kültür ortamından farklı olarak oluşan biyofilm tabakasının çatlaklı bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 4.51).



**Şekil 4.51:** Ag-Cu iyonları içeren *Desulfovibrio* sp. kültürüne maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların SEM fotoğrafları.

EDS analizi sonuçları, hem iyonlu steril Postgate C besiyeri hem de iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarındaki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin yüksek miktarda Fe ile birlikte, Cr, Ni, P ve O içerdiğini göstermektedir. Grafikteki bu yüksek piklerin yanı sıra eser miktarda Ca, Ag ve Cu elementlerine ait pikler de bulunmaktadır. İyonlu *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünleri, iyonlu steril Postgate C besiyerinden daha fazla S içermektedir (Şekil 4.52). Elementel haritalama analizi sonucunda, Ag ve Cu elementlerinin metal yüzeyine dağınık bir şekilde ve korozyon ürünleri üzerine yayıldığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.52).



**Şekil 4.52:** Ag-Cu iyonlarını içeren ortamlardaki 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde 720 sa sonunda oluşan korozyon ürünlerinin EDS ve elementel haritalama analizleri; (a) iyonlu steril Postgate C besiyeri, (b) *Desulfovibrio* sp. kültürü.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tez çalışması kapsamında saf *Desulfovibrio* sp. varlığında 316L paslanmaz çeliğin mikrobiyolojik korozyonuna Ag-Cu iyonlarının etkisi ile birlikte, bu iyonların paslanmaz çelikte kimyasal korozyona yol açıp açmadığı incelenmiştir. Bu amaçla, laboratuvar ölçekli deney düzeneği, kontrol düzeneği ve korozyon hücresi, Ag-Cu iyonları varlığında ve yokluğunda kurularak 720 sa süresince işletilmiştir. Düzeneklerden mikrobiyolojik, kimyasal ve biyokimyasal analizler, korozyon hücresinde ise elektrokimyasal deneyler gerçekleştirilmiştir.

İyonsuz *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerleri arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu ( $r = 0.883$ ,  $p < 0.01$ ) ve her iki parametrede de 144. sa'ya kadar bir azalma olduğu gözlenmiştir. Bu durum, 144. sa'ya kadar bakterinin aktif olarak  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  kullandığının bir göstergesidir. Nitekim SRB'ler, son  $e^-$  alıcısı olarak  $\text{SO}_4^{-2}$ , metabolizmasındaki makromoleküllerin yapımında ise  $\text{PO}_4^{-3}$  kullanmaktadır (John ve diğ., 1994; Little ve Lee, 2014). Deney süresince, kültür ve biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. sayıları arttıkça, kültürdeki  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin azalması da bunu kanıtlar niteliktedir ( $\text{SO}_4^{-2}$  değerleri için sırasıyla  $r = -0.547$ ,  $p \leq 0.05$  ve  $r = -0.766$ ,  $p < 0.01$ ;  $\text{PO}_4^{-3}$  değerleri için sırasıyla  $r = -0.786$ ,  $p < 0.01$  ve  $r = -0.873$ ,  $p < 0.001$ ). Daha sonra 720. sa'ya kadar hem  $\text{SO}_4^{-2}$  hem de  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinde bir artış gözlenmiştir. Bu durum ise *Desulfovibrio* sp. tarafından  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  kullanımının azaldığının ve dolayısıyla besiyerindeki S ve P elementlerinin, yine besiyerindeki  $\text{O}_2$  molekülleri ile okside olarak, besiyeri içeriğinde  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin artışına yol açmış olabileceğinin bir göstergesidir. Nitekim, kontrol düzeneğindeki iyonsuz besiyerinin  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin zamanla artmış olması bu durumu doğrular niteliktedir (sırasıyla  $r = 0.882$ ,  $p < 0.001$  ve  $r = 0.880$ ,  $p < 0.001$ ). Çünkü kontrol ortamında *Desulfovibrio* sp. bakterisinin bulunmamasından dolayı  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  tüketilmemiş, aynı zamanda besiyerinde indirgenmiş durumdaki S ve P elementleri de okside olarak  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  miktarlarında bir artışa yol açmıştır.

İyonlu *Desulfovibrio* sp. kültür ortamında ise  $\text{SO}_4^{-2}$  değerlerinin, iyonsuz ortamdaki değerlerden farklı olarak, zamanla azaldığı saptanmış ( $r = -0.721$ ,  $p < 0.01$ ) ve  $\text{PO}_4^{-3}$

değerleri ile ilgili olarak da istatistiksel bir veri elde edilmemiştir. Bununla birlikte, iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültüründeki  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındakinden anlamlı derecede daha düşük olduğu belirlenmiştir ( $p \leq 0.05$ ). İyonlu kültürde  $\text{PO}_4^{-3}$  değerlerinin daha düşük ölçülmesi, ortamdaki Ag-Cu iyonlarından kaynaklanabilir. Metabolizmada nükleik asit ve fosfolipitlerin sentezinde  $\text{PO}_4^{-3}$  kullanılmaktadır (John ve diğ., 1994; Little ve Lee, 2014). Yapılan çalışmalarda, ağır metaller gibi toksik bileşenlerin EPS üretimini teşvik ettiği rapor edilmiştir (Fang ve diğ., 2002; Pal ve Paul, 2008; Lata ve diğ., 2012). EPS içeriğinde, protein ve karbonhidrata ek olarak lipid ve nükleik asit makromolekülleri de önemli miktarlarda bulunmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında protein ve karbonhidrat miktarları ölçülmekle birlikte, lipid ve nükleik asit miktarları ölçülemediği için deney süresince bu makromoleküllerin miktarlarındaki değişim gözlenememiştir. Bu çalışmada iyonlu kültürdeki  $\text{PO}_4^{-3}$  miktarı, iyonlu kültürdekine göre daha düşük değerlerde ölçülürken, EPS miktarının da daha fazla olması, bakterinin EPS yapımında  $\text{PO}_4^{-3}$  kullandığının bir göstergesidir. Ek olarak, kontrol düzeneğindeki iyonlu besiyerinde  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  miktarlarının zamanla arttığı tespit edilmiştir (sırasıyla  $r = 0.949$ ,  $p < 0.001$  ve  $r = 0.934$ ,  $p < 0.001$ ). Bu sonuçlar, iyon içermeyen deney ve kontrol düzeneklerinden elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir. Üstelik kontrol düzeneğindeki iyonlu besiyerinde,  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  miktarlarının iyonlu *Desulfovibrio* sp. kültüründeki değerlerden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanması (sırasıyla  $p < 0.001$  ve  $p < 0.05$ ), kültürdeki *Desulfovibrio* sp. bakterisinin  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  kullandığının, aynı zamanda da kontrol düzeneğindeki besiyerinin steril olduğunun bir göstergesidir.

Hem iyonlu hem de iyonlu Postgate C besiyerine *Desulfovibrio* sp. ekimi gerçekleştirildikten sonra, pH değerlerinde zamanla artış gözlenmiştir. Bu durum ortamda *Desulfovibrio* sp. varlığının ve çoğaldıklarının bir göstergesidir. Nitekim yapılan çalışmalarda, SRB ile inokülasyonundan sonra gerek Baar's besiyeri gerekse de Postgate C besiyerinin pH değerlerinin arttığı ve bu durumun sülfatın indirgenmesi esnasında gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucunda asiditenin azalmasından kaynaklandığı rapor edilmiştir (Gadd, 1992; White ve Gadd, 1996; Chandraprabha ve diğ., 2012, Singh ve diğ., 2011).

*Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeyinde gözle görülebilen, şeffaf, ince, yüzeyden kolayca alınabilen bir biyofilm tabakası oluşturduğu

gözlenmiştir. SEM fotoğrafları da, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çelik yüzeyinde kolonize olabildiğini doğrulamıştır. Nitekim, paslanmaz çelik kuponlar ile gerçekleştirilen çalışmalarda, SRB'lerin paslanmaz çeliğin yüzeyinde biyofilm tabakası oluşturduğu rapor edilmiştir (Ismail ve diğ., 1999; Xu ve diğ., 2007; Zhang ve diğ., 2012). Deney süresince belirli örnekleme saatlerinde çekilen SEM görüntülerinden, paslanmaz çelik kuponların yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasının heterojen yapıda olduğu gözlenmiştir. Benzer sonuçlar Yuan ve Pehkonen (2009) tarafında da rapor edilmiştir. Yuan ve Pehkonen (2009) çalışmalarında, *Desulfovibrio desulfuricans* bakterisinin anaerobik koşullar altında, 304 paslanmaz çelikte oluşturduğu biyofilm tabakasını atomik kuvvet mikroskopunda (AFM) incelemişler, *Desulfovibrio desulfuricans* bakterisinin kupon yüzeyinde heterojen yapıda bir biyofilm tabakası oluşturduğunu ve heterojenitenin de zamanla arttığını rapor etmişlerdir. Heterojen yapı ile yüzey alanının artması, besin ve ürünlerin daha etkili transferine olanak sağlamaktadır (Santegoeds ve diğ., 1998).

İyonsuz ortama benzer şekilde, Ag-Cu iyonları varlığında da *Desulfovibrio* sp. bakterisi 316L paslanmaz çelik kuponların yüzeyinde kolonize olarak bir biyofilm tabakası oluşturmuştur. Oluşan biyofilm tabakasının heterojen ve yer yer bakterilerin kümелendiği bir yapıda olduğu gözlenmiştir. Nitekim kümelenme oluşumunun, bakterilerin toksisiteye maruz kaldığı yüzey alanını azaltarak, toksik etkiden kaçınmak için verdiği doğal bir tepki olduğu rapor edilmiştir (Nichols, 1989; Fang ve diğ., 2002). Ag-Cu iyonları varlığında EPS tabakasının bakterilerin üzerini örtecek şekilde ve iyon içermeyen ortama göre daha yoğun olduğu gözlenmiştir. Nitekim Fang ve diğ. (2002), ağır metal ve bazı kimyasalların SRB'lerin aktivitesini azalttığı halde biyofilmin gelişmesini inhibe etmediğini, aksine EPS üretimini teşvik ettiğini rapor etmişlerdir.

Ag-Cu iyonlarını içermeyen kültürdeki *Desulfovibrio* sp. sayısının biyofilmdekinden anlamlı derecede daha fazla olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.01$ ). İlhan-Sungur ve diğ. (2007) tarafından kapalı deney düzeneğinde *Desulfovibrio* sp. kültürü ve galvanizli çelik ile gerçekleştirilen benzer çalışmada da, kültürdeki *Desulfovibrio* sp. sayısının, biyofilmdekinden daha fazla olduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte, Singh ve diğ. (2011) *Desulfovibrio desulfuricans* ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında, 316L paslanmaz çelik kuponlardaki sesil bakteri sayısının planktonik bakteri sayısından daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Lata ve diğ. (2012) ise termofilik bir SRB türü olan

*Desulfotomaculum nigrificans* ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında, 316L paslanmaz çelik kuponlardaki sesil ve planktonik bakteri sayılarının birbirine oldukça yakın olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer çalışmalarda rapor edilen planktonik ve sesil bakteri sayılarındaki bu farklılıklar, kullanılan SRB türlerinin ya da deney koşullarının farklı olmasından kaynaklanabilir.

İyonsuz deney ortamında, kültür ve biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. sayıları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir ( $r = 0.719$ ,  $p < 0.01$ ). Nitekim Postgate C besiyerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında Ozuolmez ve Cotuk (2011) kültür ve biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. sayısı arasında, diğer çalışmalarda ise su ve biyofilmdeki SRB sayıları arasında da benzer sonuçlar rapor edilmiştir (Beech ve diğ., 1994; Ilhan-Sungur ve Cotuk, 2010). Kültür ve biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. sayıları arasında saptanan bu durum, SRB'lerin biyofilmdeki gelişim döngüsü esnasında sesil ve planktonik form arasında sürekli olarak bir geçişin olduğunun göstergesidir. Sesil ve planktonik fenotipler prokaryotik yaşamla bütünleşmiş bileşenlerdir (Stoodley ve diğ., 2002). Ayrıca, deneyin gerçekleştirildiği sistemin açık veya kapalı olmasının, SRB'lerin sesil ve planktonik formları arasındaki geçişi etkilemediği de gözlenmiştir.

Deney süresince hem kültürdeki planktonik hem de biyofilmdeki sesil *Desulfovibrio* sp. sayısının oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. Lopes ve diğ. (2006), 304 paslanmaz çelik ve metalik bir malzeme olmayan polimetilmetakrilat ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında, paslanmaz çelik yüzeyinde oluşan biyofilmdeki SRB'lerin sayısının çalışmamıza benzer şekilde yüksek olduğunu ve *Desulfovibrio desulfuricans* varlığında oluşan biyofilmin paslanmaz çeliğin yüzeyindeki pasif filmi güçsüzleştirdiği, metalin yapısındaki Ni iyonlarının çözünmesine yol açtığı, açığa çıkan Ni iyonlarının da SRB metabolizması üzerine olumlu bir etki gösterebileceği rapor edilmiştir. Nitekim bu tez çalışmasındaki bakteri sayılarının, Ilhan-Sungur ve diğ. (2007) tarafından *Desulfovibrio* sp. ve galvanizli çelik kuponlarla gerçekleştirilen çalışmada rapor edilen değerlerden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Saf *Desulfovibrio* sp. bakterisi ile gerçekleştirilen bu çalışmalardaki bakteri sayılarının birbirlerinden farklılık göstermesi, kullanılan metal malzemenin cinsinden kaynaklanabilir.

Bu çalışma kapsamında 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 240, 360, 480, 600 ve 720. sa'larda örneklemeler yapılması, bakterinin üreme eğrisi hakkında bilgi sahibi olmamıza

olanak sağlamıştır. İyonsuz kültür ortamında, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 48. sa'ya kadar logaritmik fazda olduğu, 168. sa'ya kadar durgun fazda kaldığı ve daha sonra ölüm fazına girdiği gözlenmiştir. Biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. bakterisinin ise 72. sa'ya kadar logaritmik fazda kaldığı ve daha sonra durgun faza girdiği ve 240. sa'dan sonra da ölüm fazına girdiği tespit edilmiştir. Nitekim Lopes ve diğ. (2006) çalışmalarında, 304 paslanmaz çelik kuponların yüzeylerinde *Desulfovibrio desulfuricans* tarafından oluşturulan biyofilm tabakasındaki bakteriler için benzer bir üreme eğrisi rapor etmişlerdir. Aynı zamanda biyofilmdeki *Desulfovibrio* sp. bakterisinin logaritmik fazdaki büyüme hızının, kültürdekinden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Nitekim önceki çalışmalarda da benzer sonuçlar rapor edilmiştir (Ilhan-Sungur ve diğ., 2007; Singh ve diğ., 2011; Lata ve diğ. 2012).

Ag-Cu iyonlarının farklı mikroorganizma türleri üzerine bakterisidal etkinliğine dair çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Cassells ve diğ., 1989; Landeen ve diğ., 1989; Yahya ve diğ., 1990; Abad ve diğ., 1994; Lin ve diğ., 1996; Lin ve diğ., 1998; Blanc ve diğ., 2005; Chen ve diğ., 2008). Hem laboratuvar hem de saha çalışmaları göstermiştir ki, metal iyonlarının toksik etkileri mikroorganizma türüne, kimyasal özelliklere ve çevresel faktörlere bağlıdır (Gadd, 1992; Sani ve diğ., 2001; Pal ve Paul, 2008; Gadd, 2010). Bu tez çalışmasında, Ag-Cu iyonlarını içeren kültür ortamındaki planktonik *Desulfovibrio* sp. sayılarının, iyonsuz ortamdakinden anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır ( $p < 0.01$ ). Bununla birlikte Martinez ve diğ. (2004)'nin, Ag-Cu iyonizasyon sisteminin soğutma kulesi suyunda bulunan SRB'ler üzerine biyosidal etkinliğine dair gerçekleştirdikleri çalışmada 1.2 ppm Ag ve 0.6 ppm Cu konsantrasyonları ile SRB sayısının belirgin şekilde azaldığı rapor edilmiştir. Bu tez çalışması ile Martinez ve diğ. (2004)'nin gerçekleştirdikleri çalışmada farklı bulguların elde edilmesi, deneylerin farklı ortam koşullarında gerçekleştirilmiş olmalarından kaynaklanabilir. SRB'lerin üremesi için spesifik olan Postgate C besiyeri içerisinde ve kapalı bir düzenekte gerçekleştirilen bu tez çalışmasından farklı olarak, Martinez ve diğ. (2004) çalışmalarını soğutma kulesi deşarj suyu ile kısmen açık bir sistemde gerçekleştirmişlerdir. Nitekim, SRB'lerin metabolik aktiviteleri sonucu oluşan ve çalışılan sistem kapalı olduğunda okside olamayan toksik  $H_2S$ 'e maruz kalan bakterilerin, sahip oldukları yüksek direnç ile toksik ajanları da tolere etme yeteneği kazanmış olabilecekleri rapor edilmiştir (Dzierzewicz ve diğ., 1997). Ayrıca,

çalışmalarda farklı iyon konsantrasyonlarının kullanılmasının da, farklı sonuçlar elde edilmesine neden olabileceği düşünülmektedir. Martinez ve diğ. (2004)'nin çalışmalarında kullandıkları Ag-Cu iyonlarının, bu tez çalışmasındaki konsantrasyonların Ag için 9 kat, Cu için 2 kat fazlası olduğu gözlenmiştir. Bu veriler doğrultusunda, tez çalışmasında kullanılan Ag ve Cu miktarlarının *Desulfovibrio* sp. üzerine, bakterisidal etki için yeterli olmadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte Martinez ve diğ. (2004), Ag-Cu iyonlarının SRB popülasyonuna etkisi üzerine çalışmış, ancak *Desulfovibrio* sp. bakterisine etkinliğine dair spesifik bir veri rapor etmemişlerdir. Ayrıca, bu tez çalışmasında iyonlar varlığında *Desulfovibrio* sp. sayısının artması, kullanılan iyonların özellikle de Cu'nun bakterinin çoğalmasını desteklemesinden kaynaklanmış da olabilir. Nitekim Cu, bakteri metabolizmasındaki birçok enzim reaksiyonunda kofaktör olmakta ve sitokrom c oksidaz, süperoksit dismutaz vb. enzimlerin sentezinde yer almaktadır (Arredondo ve Nunez, 2005; Madigan ve Martinko, 2005).

Ag-Cu iyonlarını içeren kültür ortamında, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 48. sa'ya kadar logaritmik fazda olduğu, 144. sa'ya kadar durgun fazda kaldığı ve daha sonra ölüm fazına girdiği gözlenmiştir. İyonsuz ve iyonlu kültürdeki bakterilerin logaritmik fazlarını aynı sürede tamamladıkları, buna rağmen iyonlu ortamdaki bakterilerin durgun faz ve ölüm fazına, iyonsuz ortamdakine göre daha erken girdiği gözlemlenmiştir. Bu durum Ag-Cu iyonlarının, bakterinin sayısını azaltmak yerine üreme eğrisindeki fazlarının sürelerine etki ettiğini, dolayısıyla kültürdeki *Desulfovibrio* sp. bakterisinin durgun fazının daha kısa sürede tamamlanarak, bakterinin ölüm fazına daha erken girmesine yol açtığını göstermektedir. Nitekim Cu ve Pb ağır metallerinin oluşturduğu strese, planktonik hücrelerin büyüme evresi olan logaritmik fazlarının durgun fazlarına göre daha dirençli olduğu yapılan çalışmalarla rapor edilmiştir (Teitzel ve Parsek, 2003; Gadd, G.M., 2008). Aynı zamanda Chandraprabha ve diğ. (2012), bu tez çalışmasında kullanılan Cu miktarına göre oldukça yüksek konsantrasyonlar ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında, Cu'nun *Desulfovibrio desulfuricans* bakterisine toksisitesinin uygulanan konsantrasyona bağlı olduğunu, 10 ppm Cu konsantrasyonuna kadar olan uygulamaların bakterinin lag fazına önemli bir etki göstermezken hücrelerin gelişimini yavaşlattığı, daha da artan iyon konsantrasyonu ile de lag fazını uzattığı ve hücre verimini düşürdüğü, 25 ppm Cu konsantrasyonunda ise bakteriyi tamamen inhibe ettiği rapor

edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarla gerçekleştiren diğer çalışmalarda da Cu konsantrasyonu ile *Desulfovibrio* sp. bakterisinin lag fazının uzadığı ve hücrelerin verimin düştüğü rapor edilmiştir (Sani ve diğ., 2001; Cabrera ve diğ., 2006). Sani ve diğ. (2001) çalışmalarında lag fazının uzamasını, Cu'nun periplazmik hidrojenazı inhibe etmesi sebebiyle *Desulfovibrio desulfuricans* bakterisinin eser oksijeni uzaklaştırma yeteneğinin azalmasından ve dolayısıyla da besiyerinin redoks potansiyelini düşürmesinin uzamasından kaynaklandığını rapor etmişlerdir.

Ag-Cu iyonlarının, kültürdeki planktonik hücrelerin büyüme eğrisi üzerine etkisi, biyofilmdeki sesil bakterilerde saptanmamış, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin üreme eğrisinin iyonsuz ortamdaki ile aynı olduğu belirlenmiştir. Bu durum, biyofilmde sesil formundaki *Desulfovibrio* sp. bakterisinin Ag-Cu iyonlarına karşı dayanıklılığının planktonik formuna göre daha fazla olduğunu göstermektedir. Nitekim ağır metaller ile gerçekleştirilen çalışmalarda biyofilmdeki bakterilerin, planktonik formlarına göre ağır metallere karşı daha dirençli olduğu rapor edilmiştir (Spoering ve Lewis, 2001; Teitzel ve Parsek, 2003; Gadd, G.M., 2008). Bu artan direnç mekanizmasına, negatif yüklü fosfat, sülfat, karboksilik asit grupları gibi EPS bileşenlerinin antimikrobiyal ajanlarla bağlanması büyük bir katkı sağlamaktadır. Ek olarak, antimikrobiyal ajanlara metabolik olarak aktif hücreler hedef olduğundan dolayı, metabolik aktivitenin azaldığı biyofilmdeki bakteriler ajanlara karşı daha dirençli hale gelmektedirler (Spoering ve Lewis, 2001; Teitzel ve Parsek, 2003).

Deney süresince, Ag-Cu iyonları varlığında ve yokluğunda *Desulfovibrio* sp. bakterisinin ürettiği EPS'deki karbonhidrat ve protein miktarlarının, zaman içerisinde artıp azalarak değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. EPS'deki karbonhidrat ve protein miktarlarındaki azalma, bakteriler tarafından üretilen EPS'nin tüketildiğine işaret etmektedir. Bazı çalışmalarda karışık kültürdeki bakterilerin açlık fazına girdikleri zaman kendi ürettikleri EPS'yi kullanabildikleri rapor edilmiştir (Boyd ve Chakrabarty, 1994; Zhang ve Bishop, 2003). Genellikle saf kültürdeki bakterilerin kendi ürettikleri EPS'yi kullanamadıkları varsayılsa da, bu çalışmadan elde edilen bulgular ile *Desulfovibrio* sp. bakterisinin kendi ürettiği EPS'yi kullanabilme yeteneği de olduğu saptanmıştır. Nitekim saf SRB suşları ile gerçekleştirilen diğer çalışmalarda da, saf kültürdeki bakterilerin kendi ürettikleri EPS'yi kullanabildikleri rapor edilmiştir (Ilhan-Sungur ve diğ., 2007; Singh ve diğ., 2011; Lata ve diğ., 2012). Ek olarak, iyonlu ve

iyonsuz ortamda hem karbonhidrat miktarlarının hem de karbonhidratı kullanım oranının proteininkinden yüksek olması, metabolik olarak karbonhidrat kullanımının önceliğinden kaynaklanmaktadır. Bakteriler karbon ve enerji kaynağı olarak öncelikle karbonhidratları tercih etmektedirler (Madigan ve Martinko, 2005).

Ag-Cu iyonları varlığında bakterilerin ürettiği toplam karbonhidrat ve protein miktarının, iyonsuz ortamdaki değerlerden anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla,  $p < 0.01$  ve  $p < 0.001$ ). Elde edilen bulgular, Ag-Cu iyonlarının bakterilerin EPS üretimini teşvik ettiğinin bir göstergesidir. Nitekim yapılan çalışmalarda, Cu, Zn, Ni, Pb, Cd, Co gibi ağır metallerin EPS üretimini arttırdığı rapor edilmiştir (Wagner ve Chamberlain, 1997; Fang ve diğ., 2002; Pal ve Paul, 2008). EPS, ağır metalleri bağlama yeteneği sayesinde, ağır metallerin bakteri hücrelerine bağlanmasına karşı koruyucu olmakta veya biyofilme difüze olmasını geciktirmekte, böylece ağır metallerin toksik etkilerini azaltmaktadır (Jang ve diğ., 2001; Pal ve Paul, 2008).

Deneyde *Desulfovibrio* sp. varlığında biyofilmdeki Ag miktarı sabit kalırken, Cu iyonlarının miktarında azalma ve artışlar gözlenmiştir. Bu durum, Ag'nin bakteriler tarafından tüketilmediğinin, bununla birlikte Cu'nun metabolizmada kullanıldığının bir göstergesidir. Nitekim Cu, bakteri metabolizmasındaki birçok enzim reaksiyonunda kofaktör olarak kullanılmakta ve sitokrom c oksidaz, süperoksit dismutaz vb. enzimlerin sentezinde yer almaktadır (Arredondo ve Nunez, 2005; Madigan ve Martinko, 2005). Kontrol ortamında ise yüzeyde Ag miktarı sabit kalırken, Cu miktarının zamanla arttığı gözlenmiştir. Cu miktarının zamanla artması, Cu'nun ortamdan kullanılmadığının ve dolayısıyla da, ortamın steril olduğunun bir göstergesidir.

Korozyon deneyleri sonucunda, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çeliği korozyona uğratabildiği saptanmıştır. Nitekim, SRB'lerin 316L paslanmaz çelik üzerine korozif etkisi olduğunu rapor eden çalışmalar bulunmaktadır (Sheng ve diğ., 2007; Xu ve diğ., 2007; Singh ve diğ., 2011). SRB'lerin metal yüzeylerde neden olduğu anaerobik korozyonu açıklamak adına, katodik depolarizasyon teorisi, Fe/FeS galvanik hücrelerin oluşumu, korozif ve değişken fosfor bileşenleri, sülfür tarafından uyarılan anodik çözünme, EPS tarafından metal iyonların bağlanması gibi çeşitli korozyon mekanizmaları önerilmiş, bununla birlikte sülfatın indirgenmesi sonucu oluşan  $H_2S$  ve

diğer korozif metabolitlerin anaerobik korozyonun şiddetlenmesinde önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir (Von Wolzogen Kühr ve Van Der Vlugt, 1934; Iverson, 1966; Iverson, 1968; King ve Miller, 1971; Beech ve Cheung, 1995; Kuang ve diğ., 2007).

İyonsuz *Desulfovibrio* sp. kültür ortamındaki kuponların ağırlık kayıplarının zamanla arttığı ( $r = 0.731$ ,  $p < 0.01$ ) korozyon hızlarının ise zamanla azaldığı ( $r = -0.896$ ,  $p < 0.01$ ) tespit edilmiştir. Kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızları arasında ters yönde anlamlı bir ilişki bulunduğu saptanmıştır ( $r = -0.535$ ,  $p < 0.05$ ). Çalışmadaki korozyon hızı hesabının, ağırlık kaybı yöntemine göre gerçekleştirilmesi ve dolayısıyla da kuponlardaki korozyonun, birim zamandaki korozyon hızından yararlanılarak değerlendirilmesi nedeniyle korozyon hızı ile ağırlık kaybı arasında ters yönde bir ilişki saptanmıştır. Bu nedenle, zamanla artan ağırlık kaybı aslında artan korozyon hızının bir göstergesidir. Ek olarak, iyonsuz deney düzeneğindeki kuponların ağırlık kayıplarının kontrol düzeneğindikilerden anlamlı derecede daha yüksek olması ( $p < 0.05$ ), *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çeliğin korozyonuna neden olduğunu desteklemektedir.

Paslanmaz çeliğin korozyonu ile SRB'ler arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında, *Desulfovibrio* sp. bakteri sayısı ile korozyon arasında istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır. Daha korozif koşulların SRB'lerin konsantrasyonlarının artmasından kaynaklandığını rapor eden çalışmalar bulunmasına rağmen (Singh ve diğ., 2011; Lata ve diğ., 2012), korozyonu etkileyen asıl etmenler, SRB'lerin metabolik aktiviteleri ve oluşan farklı korozyon mekanizmalarının sayısıdır (Hamilton, 2003; Javaherdashti, 2008; Little ve Lee, 2014). SRB'lerin paslanmaz çelik yüzeylerinde oluşturduğu biyofilmdeki EPS'nin, metal yüzeyinin elektrokimyasal özelliklerini değiştirmesinin yanı sıra, metal iyonlarını bağlama kapasitesi de MIC oluşumu için oldukça etkilidir (Roe ve diğ., 1996; Fang ve diğ., 2002; Beech ve Sunner, 2004; Duan ve diğ., 2006). Farklı oksidasyon değerlerine sahip olan metal iyonları, biyofilm matriksinin standart indirgenme potansiyelini önemli derece kaydırır. Paslanmaz çeliğin büyük bir kısmını Fe oluşturmaktadır. Demirin redoks potansiyeli, farklı değerliklerinde ( $Fe^{+3}/Fe^{+2}$ ) önemli değişiklikler göstermektedir ve EPS-bağlı metal iyonları, elektron taşıyıcıları gibi davranarak biyofilm/metal sisteminde metalden (Fe gibi) veya biyomineralden (FeS gibi) doğrudan elektron transferi gibi yeni redoks reaksiyonları gerçekleştirebilir. Uygun elektron alıcısı varlığında (aerobik koşullarda oksijen,

anaerobik koşullarda nitrat ve sũlfat), bũyle reaksiyon yol izleri katodun depolarize olmasına neden olarak korozyonu arttırmaktadır (Beech ve Sunner, 2004).

İyonsuz *Desulfovibrio* sp. kũltũr ortamındaki EPS'den elde edilen protein miktarları ile deney kuponlarının ağırlık kayıpları arasında aynı yũnde anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ( $r = 0.862$ ,  $p < 0.001$ ). Nitekim SRB'lerin ũrettiėi EPS'deki proteinlerin, Fe alımı ve/veya taşınmasında katkı sağladığı ve ayrıca, EPS'deki protein miktarının diğer EPS bileşenlerine gũre paslanmaz çelikte daha yũksek, cam ve plastik malzemelerde ise daha dũřũk olduğu veya hiç bulunmadığı rapor edilmiştir (Hamilton, 1985; Zinkevich ve diğ., 1996). EPS'deki protein, enzimatik aktivitelerin gerçekleştirilmesinde etkili olmasının yanı sıra, metal iyonları ile de etkileşimde bulunmaktadır. SRB'lerin hidrojenaz enzimlerinde Fe gibi metal merkezlerin bulunduğu ve bu demirin paslanmaz elik kuponların korozyonundan sağlandığı rapor edilmiştir (Zinkevich ve diğ., 1996; Da Silva ve diğ., 2004; Lata ve diğ., 2012). Aynı zamanda SRB varlığında, zamanla artan korozyon hızı ve protein miktarı arasındaki ilişkiyi rapor eden benzer çalışmalar da bulunmaktadır (Singh ve diğ., 2011; Lata ve diğ., 2012).

Ag-Cu iyonları varlığında gerçekleştirilen korozyon deneylerinde de, *Desulfovibrio* sp. kũltũr ortamındaki kuponların ağırlık kayıplarının zamanla arttığı ( $r = 0.848$ ,  $p < 0.001$ ), korozyon hızlarının ise zamanla azaldığı ( $r = -0.848$ ,  $p < 0.001$ ) tespit edilmiştir. İyonlu *Desulfovibrio* sp. kũltũrũndeki kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarının, kontrol dũzeneėindeki kuponlara ait değerlerden anlamlı derecede daha yũksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla  $p < 0.001$  ve  $p < 0.001$ ) Elde edilen bulgular, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin iyonlar varlığında da 316L paslanmaz çeliği korozyona uğratabildiğini gũstermektedir.

Ag-Cu iyonlarını içeren ve içermeyen deney dũzenekleri birlikte değerlendirildiğinde, iyonlu *Desulfovibrio* sp. kũltũrũndeki kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarının, iyonsuz kũltũr ortamındaki kuponlara ait değerlerden anlamlı derecede daha yũksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla  $p < 0.001$  ve  $p < 0.001$ ). Ag-Cu iyonları varlığında *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz elik ũzerine korozif etkinin, iyonsuz kũltũr ortamındakinden 12 kat fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, Ag-Cu iyonlarının *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çelikte neden olduğu korozyona, hızlandırıcı yũnde bir etkisi olduğuna işaret etmektedir. Ag-Cu iyonlarının

besiyerine eklenmesi besiyerinin redoks kalitesini değiştirmiş olabileceğinden, besiyerinin konsantrasyonu metalin karışık potansiyel değerini etkilemiş olabilir. Karışık potansiyel, elektrokimyasal korozyonu yöneten ve oldukça kompleks olan elektrolit (besiyeri) ile temastaki metal yüzeyin etkili potansiyelidir (Perez, 2004). Ek olarak, bakterinin toksik olan Ag-Cu iyonlarından dolayı strese girmiş olması, farklı metabolik yol izlerinin kullanımına, daha asidik yapıda EPS'nin üretimine ve dolayısıyla da, biyofilmden farklı oksidasyon/redüksiyon tepkimelerinin gerçekleşmesine neden olmuş olabilir (Beech ve Sunner, 2004; Gadd, 2010). Bu durum, biyofilmin dolayısıyla da metalin potansiyelinde kaymalara neden olarak, iyonsuz ortamda gerçekleşenlerden farklı korozyon reaksiyonlarının oluşmasına yol açmış olabilir. Ayrıca, bakterilerin EPS üretimi mikroorganizma türüne, büyüme fazlarına, ortamın besin ve stres koşulları gibi çevresel faktörlere göre farklılık gösterdiğinden, ağır metaller varlığında üretimi artan EPS'nin miktarı ve içerdiki maddeler, paslanmaz çeliğe karşı koroziyon etki göstermiş ve çözünmüş metal konsantrasyonunu arttırmış olabilir (Beech ve Cheung, 1995; Poulson ve diğ., 1997; White ve Gadd, 2000; Pal ve Paul, 2008). Aynı zamanda EPS-bağlı metal iyonları elektron taşıyıcıları gibi davranarak, metalden veya korozyon ürününden doğrudan elektron transferi sağlayacak yeni reaksiyonların oluşmasına yol açmış ve bu da korozyonun hızlanmasına neden olmuş olabilir (Beech ve Sunner, 2004). Bir diğer sebep, SRB'lerin hidrojenaz enzimlerinde kullanılan demirin metalin korozyonundan sağlanması ve yüzeyden çözünen demir arttıkça daha fazla sentezlenen hidrojenaz enzimi ile bakterinin metabolik aktivitesinin artması ve böylece korozyon hızının da artması olabilir (Zinkevich ve diğ., 1996; Dzierzewicz ve diğ., 1997; Da Silva ve diğ., 2004; Lata ve diğ., 2012). Nitekim bu tez çalışmasında protein miktarı arttıkça, ağırlık kaybının da arttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bu çalışmada biyofilmden protein ve karbonhidrat türlerinin analizleri yapılamadığı için iyonlu ve iyonsuz *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarında hangi tür metabolik ürünlerin üretildiği ve dolayısıyla da, bu ürünlerin aynı ya da farklı olup olmadığı tespit edilememiştir.

İyonsuz ve iyonlu kontrol düzeneklerindeki steril Postgate C besiyerine maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızları arasında ortalamaları açısından anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bu durum Ag-Cu iyonlarının paslanmaz çelik yüzeylerde korozyona yol açmadığının bir göstergesidir.

Nitekim Kim ve diğ. (2004) inorganik dezenfektanların aksine, Ag-Cu iyonlarının korozyon problemlerine neden olmadığını, Malik ve diğ. (2005) ise çalışmalarında, ağır metallerin (Cu, Ni, Zn) çeliğin korozyonuna neden olmadıklarını rapor etmişlerdir.

316L paslanmaz çelik, yüzeyindeki pasif tabaka sayesinde mükemmel bir korozyon direncine sahiptir. Buna rağmen, organik bileşenler veya metalik ve/veya inorganik maddeler gibi yüzey kontaminantları bu film yapısını bozabilmektedir. Metalin maruz kaldığı ortamın anyon içeriği arttıkça, filmin stabilitesi bölgesel olarak zayıflamakta ve böylece koroziyon hızı da artmaktadır. Nitekim bu tez çalışmasında da, iyonsuz kontrol düzeneğindeki steril Postgate C besiyerindeki  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  değerleri arttıkça, 316L paslanmaz çelik kuponların ağırlık kaybının da arttığı tespit edilmiştir (sırasıyla  $r = 0.740$ ,  $p \leq 0.01$  ve  $r = 0.768$ ,  $p < 0.01$ ). Bununla birlikte yapılan çalışmalarda, metallerin korozyon hızına  $\text{SO}_4^{-2}$  etkisi hakkında farklı görüşler savunulmakla birlikte, pH, sıcaklık gibi faktörlerin veya  $\text{PO}_4^{-3}$  iyonu ile birlikte kullanımının değişik etkilere yol açtığı rapor edilmiştir (Kılınççeker ve diğ., 1999; Kılınççeker ve Erbil, 2008; İsmail, 2014; Little ve Lee, 2014).

Çalışma kapsamındaki elektrokimyasal deneyler, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çeliğin korozyon davranışını değiştirdiğini göstermektedir. *Desulfovibrio* sp. varlığında 316L paslanmaz çeliğin  $E_{\text{kor}}$  değeri, steril ortam koşullarına göre 8. sa'da daha soy değerlere kaymış, sonraki saatlerde ise değişkenlik göstermiştir. Potansiyelin soy değere kayması, *Desulfovibrio* sp.'nin çoğalması ve yüzeyde biyofilm tabakasının oluşumuyla ilişkili olabilir. Nitekim Alabbas ve diğ. (2013), korozyon potansiyelinin pozitif değerlere kaymasının, SRB türlerinin çoğalmaları ve aktiviteleri sonucunda ortamın redoks kalitesini arttırmasından ve böylece, demirin çözünmesini hızlandırmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. *Desulfovibrio* sp. varlığında anodik polarizasyon akım yoğunluğunun, steril ortama göre arttığı tespit edilmiştir. Zamanla akımın artması korozyon ürünlerinin daha az koruyucu olduklarının bir göstergesi olabilir. Bununla birlikte anodik eğrideki düz bölge, bu potansiyel değerlerinde korozyon ürünlerinin yüzeyi koruduğunu da ifade etmektedir.

Hem steril ortamda hem de *Desulfovibrio* sp. kültür ortamında, anodik eğride iki pasifleşme bölgesi tespit edilmiş ve bununla birlikte, birinci pasif bölgeden ikinciye geçişte oluşan pikin yüksekliğinin, steril ortamda daha az olduğu gözlemlenmiştir. İlk

pasif bölgenin ikinci pasif bölgeden daha dar olduğu da gözlemlenmiştir. Anodik bölgede oluşan pikler, metal yüzeyinde ilk oluşan pasif filmin yapısının değiştiğini göstermektedir. Nitekim Marcus (1998) yaptığı çalışmada, SRB'lerin ürettiği  $H_2S$ 'in, 316L paslanmaz çelik yüzeyde oluşan pasif filmin performansını değiştirilebildiğini ve metal yüzeydeki metal-metal bağlarının bağlanma kuvvetini azaltarak, anodik çözünme hızını arttırdığını rapor etmiştir.

Ag-Cu iyonları varlığında gerçekleştirilen elektrokimyasal deneyler de, *Desulfovibrio* sp. kültürüne maruz bırakılan 316L paslanmaz çeliğinde korozyon davranışının değiştiği ve  $E_{kor}$  değerlerinin iyonlu steril ortama göre daha aktif değerlere kaydığı tespit edilmiştir. *Desulfovibrio* sp. varlığında, anodik eğrinin davranışının iyonlu steril besiyerinden farklı olduğu ve anodik eğri başlangıcında bir pik oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca, iyonların varlığında anodik bölgede akım yoğunluğunun arttığı da saptanmıştır. Akımın yükselmesi korozyon ürünlerinin daha az koruyucu olduklarının bir göstergesidir.

İyonsuz *Desulfovibrio* sp. deney ortamındaki kuponların  $E_{kor}$  değerlerinin, iyonlu ortamdakilerden daha aktif değerlerde olduğu saptanmıştır. Ayrıca, iyonsuz ortamdaki akımın da iyonlu ortama göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu veriler, iyonların *Desulfovibrio* sp. bakterisi tarafından 316L paslanmaz çelik yüzeyde oluşturulan MIC'i azalttığına işaret etmektedir. Çalışmada, elektrokimyasal deneylerden elde edilen verilerin ağırlık kaybı yönteminden elde edilenler ile örtüşmediği gözlenmiştir. Bu durumun, yüzeyde koruyucu bir sülfür tabakası oluşmasından ve ağırlık kaybı ölçümleri öncesinde bu tabakanın ultrasonik banyoda nitrik asit ile muamelesi sonucunda kaldırılabilirken, elektrokimyasal deneylerde alınan ölçümler esnasında tahrip olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. İki yöntemden elde edilen sonuçlar, metallerin yüzeyinde oluşan korozyon ürünlerinin elektrokimyasal deneylerin sonuçlarını değiştirebileceğine ve bu nedenle de, kullanılan metale göre deney yöntemlerinin seçilmesi gerekliliğine işaret etmektedir.

Deney düzeneği, kontrol düzeneği ve korozyon hücresindeki deney ortamlarına maruz bırakılan 316L paslanmaz çelik kuponların EDS analizi ile biyofilm/film tabakasındaki korozyon ürünleri incelenmiştir. Kontrol düzeneklerindeki kuponların yüzeyinde oluşan film tabakasındaki korozyon ürünleri Fe, Cr, Ni, P, O ve S içermektedir. Paslanmaz

çelik ile yapılan çalışmalarda, çeliklerin yüzeyinde ana bileşenleri demir (hidro)oksit ve krom (hidro)oksit olan, ince bir pasif filmin varlığı rapor edilmiş ve kantitatif X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) analizleri ile  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  ve  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  tip oksit olduğu kanıtlanmıştır (Olefjord ve diğ., 1985; Duan ve diğ., 2006). Abiyotik ortamdaki paslanmaz çeliğin pasifliği, çeliğin içeriğindeki Fe, Cr ve Ni'nin oksit ve hidroksitlerinin varlığına dayandırılabilir (Singh ve diğ., 2011). Analizde gözlenen S pikinin, besiyerindeki S içeren bileşiklerden geldiği düşünülmektedir.

Deney düzeneğindeki kuponlarda da, yüzeyde oluşan korozyon ürünlerinin yüksek miktarda Fe ile birlikte, Cr, Ni, P, O ve S içerdiği, aynı zamanda içeriğinde eser miktarda Ca bulunduğu saptanmıştır. Ca iyonları biyofilmin yapısında iskelet görevi görmektedir. EPS'lerin negatif yüklü polimerleri ile bağ yapmakta ve gelişen biyofilme daha fazla bağlanma gücü sağlamaktadır. Ca iyonları sayesinde biyofilmin mekanik stabilitesi artmakta, daha kalın ve yoğun bir biyofilm oluşmaktadır (Flemming ve diğ., 2000; Donlan, 2002).

EDS analizlerinde, 720. sa sonunda yüksek S pikleri gözlemlenmiştir. Nitekim korozyon ürünlerindeki yüksek FeS miktarının, SRB'lerin korozyona olan etkisini gösterdiği bilinmektedir (Videla ve Herrera, 2005). SRB'lerin metabolik aktiviteleri sonucu sülfatın indirgenmesi ile açığa çıkan  $\text{S}^{2-}$ , paslanmaz çeliğin yapısındaki Fe, Cr ve Ni ile reaksiyona girmekte ve çelik yüzeyinde bu elementlerin kükürtlü bileşiklerini oluşturmaktadır. Oluşan sülfür bileşikleri, daha iyi elektron iletkenleri olmaları, daha geçirgen ve kararsız yapıda bulunmalarından dolayı, pasif filmin korozyon ataklarına karşı daha az etkili olmasına yol açmaktadırlar. Bunun sonucunda da korozyon hızı artmakta ve metal yüzeyinde daha fazla çukurcuk korozyonu oluşmaktadır (Chen ve Clayton, 1997; Duan ve diğ., 2006; Xu ve diğ., 2007; Singh ve diğ., 2011). İyonlar varlığında ve yokluğunda kurulan kontrol ve deney düzenekleri birlikte değerlendirildiğinde, deney düzeneğinde biyofilmdeki bakteri sayımından yüksek miktarda *Desulfovibrio* sp. tespit edilmesine rağmen, EDS analiz sonuçlarında S piklerinin kontrol düzeneği ile birbirine yakın çıkması şaşırtıcı gelmiştir. Ancak,  $\text{H}_2\text{S}$ 'in biyofilmin dışına difüze olamadığını rapor eden çalışmalar bu durumu açıklar niteliktedir (Santegoeds ve diğ., 1998). EDS analizinde, *Desulfovibrio* sp. kültür ortamında S piklerinin daha da yüksek görülememesinin nedeni, cihaz ile biyofilm yüzeyinden en fazla 1  $\mu\text{m}$  derinliğe inilebilmesi ve alt kısımlarda kalan kükürt

bileşiklerine ulaşamaması olabilir. Nitekim, biyofilmin alt kısımlarındaki  $H_2S$ 'in, 316L paslanmaz çeliğin yapısındaki elementlerin kükürtlü bileşiklerini 2-5 nm kalınlığındaki oksit filme yakın oluşturduğu rapor edilmiştir (Geesey ve diğ., 1996). Bu sonuçlar heterojen yapıdaki olgun biyofilmler ile uzun süreli yapılan çalışmalarda EDS analizinin yeterli olmadığına ve X-ışını difraksiyon spektroskopisi (XRD) analizinin gerekliliğine işaret etmektedir.

Ag-Cu iyonları varlığında *Desulfovibrio* sp. kültür ortamlarının EDS analizlerinde gözlenen S pikleri, iyonsuz ortamdaki bahsedilen Fe, Cr ve Ni içeren kükürt bileşiklerine ek olarak  $CuS$ 'den de kaynaklanmaktadır. Cu genellikle, SRB'lerin metabolik aktivitesi sonucu oluşan  $S^{-2}$  reaksiyona girerek, düşük çözünürlükteki  $CuS$  ve  $Cu_2S$  oluşturmakta ve SRB'lerin oluşturduğu biyofilmlerde birirmektedir (White ve Gadd, 2000). Ag-Cu iyonları varlığında, EDS analizlerine ek olarak gerçekleştirilen elementel haritalama analizi ile kuponların yüzeyindeki Ag ve Cu iyonlarının dağılımı incelenmiştir. Ag ve Cu iyonları SRB varlığında veya yokluğunda metal yüzeyinde benzer ve dağınık bir şekilde bulunmaktadır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilen şekilde özetlenmiştir:

1. Ag-Cu iyonlarının varlığı, *Desulfovibrio* sp. bakterisi tarafından 316L paslanmaz çelik yüzeyde oluşturulan biyofilmin yapısını etkilemiş ve yer yer kümelenmeler şeklinde bir biyofilm tabakasının oluşmasına yol açmıştır.
2. Kültür ortamındaki planktonik *Desulfovibrio* sp. bakterisinin, iyonsuz ortamda 48. sa'dan 168. sa'ya kadar durgun fazda kaldığı ve sonrasında ölüm fazına girdiği saptanmıştır. Ag-Cu iyonları varlığında ise bakteri, 48. sa'dan 144. sa'ya kadar durgun fazda kaldıktan sonra ölüm fazına girmiştir. Aynı zamanda, iyonlu kültür ortamındaki *Desulfovibrio* sp. sayılarının, iyonsuz ortamdakinden anlamlı derecede daha yüksek olduğu da tespit edilmiştir ( $p < 0.01$ ). Bu veriler, Ag-Cu iyonlarının bakterinin sayısını azaltmak yerine üreme eğrisine etki ettiğini, kültürdeki *Desulfovibrio* sp. bakterisinin durgun fazının daha kısa sürmesine neden olarak, bakterinin daha erken ölüm fazına girmesine yol açtığını göstermektedir.
3. Biyofilmdeki sesil *Desulfovibrio* sp. bakterisinin, hem iyonsuz hem de iyonlu ortamda 72. sa'dan 240. sa'ya kadar durgun fazda kaldığı ve sonrasında ölüm

fazına girdiği saptanmıştır. *Desulfovibrio* sp. bakterisinin Ag-Cu iyonları varlığında ve yokluğundaki planktonik formunun üreme eğrilerinde farklılık gözlenirken, sesil formunda gözlenmemiştir. Bu durum, biyofilmdeki mikroorganizmaların planktonik formlarına göre Ag-Cu iyonlarına daha dirençli olduğunun bir göstergesidir.

4. *Desulfovibrio* sp. bakterisinin sesil ve planktonik formlarındaki bakteri sayısı, çalışmada kullanılan *Desulfovibrio* sp. türüne, deney koşullarına ve çalışmada kullanılan metal malzemenin cinsine bağlı olarak değişiklik göstermektedir.
5. *Desulfovibrio* sp. bakterisinin, Ag-Cu iyonları varlığında ve yokluğunda, kendi ürettiği EPS'yi kullanabildiği tespit edilmiştir. Her iki ortamda da *Desulfovibrio* sp. bakterisinin EPS'sinde hem karbonhidrat miktarlarının hem de karbonhidratı kullanım oranlarının proteininkinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durum, bakterinin öncelikli olarak karbonhidratları tükettiğine işaret etmektedir.
6. Ag-Cu iyonları varlığında *Desulfovibrio* sp. bakterisinin ürettiği toplam karbonhidrat ve protein miktarlarının, iyonsuz ortamdaki değerlerden anlamlı derecede daha yüksek olması (sırasıyla,  $p < 0.01$  ve  $p < 0.001$ ), Ag-Cu iyonlarının EPS üretimini teşvik ettiğinin bir göstergesidir.
7. Protein miktarı arttıkça ağırlık kaybının da arttığı saptanmıştır. Bu durum, proteinin korozyonda önemli rolü olduğunun bir göstergesidir.
8. Ag-Cu iyonları varlığında da, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çeliği korozyona uğratabildiği saptanmıştır. İyonlu *Desulfovibrio* sp. kültüründeki kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarının, iyonsuz kültür ortamındaki kuponlardan anlamlı derecede daha yüksek olduğu (sırasıyla  $p < 0.001$  ve  $p < 0.001$ ) ve iyonlar varlığında *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çelik üzerine koroziyon etkisinin, iyonsuz kültür ortamındakinden 12 kat fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, 0.3 ppm Cu ve 0.13 ppm Ag iyon konsantrasyonlarının 316L paslanmaz çeliğin MIC'ine azaltıcı yönde bir etkisi olmadığını, tam aksine bakterinin metabolizmasını ve besiyerinin redoks kalitesini etkileyerek, korozyonu hızlandırıcı yönde bir etki oluşturduğunu göstermektedir.
9. Kontrol düzeneklerinde Ag-Cu iyonları varlığında ve yokluğunda yapılan ölçümler sonucunda, Ag-Cu iyonlarının korozyona yol açmadığı tespit edilmiştir.

10. İyonsuz kontrol düzeneğinde steril Postgate C besiyerindeki  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  miktarları ile kuponların ağırlık kayıpları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki saptanmıştır (sırasıyla  $r = 0.740$ ,  $p \leq 0.01$  ve  $r = 0.768$ ,  $p < 0.01$ ). Bu durum,  $\text{SO}_4^{-2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$  anyonlarının 316L paslanmaz çeliğin korozyonunda önemli bir rol oynadığına işaret etmektedir.
11. Ag-Cu iyonları varlığında ve yokluğunda *Desulfovibrio* sp. bakterisi 316L paslanmaz çeliğin korozyon davranışını değiştirmiştir. Çalışmada, *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çeliğinin korozyonu üzerine elektrokimyasal deneylerden elde edilen verilerin ağırlık kaybı yönteminden elde edilenler ile farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu farklılık, metallerin yüzeyinde oluşan korozyon ürünlerinin elektrokimyasal deneylerin sonuçlarını değiştirebileceğini ve bu nedenle de, kullanılan metale göre deney yöntemlerinin seçilmesi gerektiğini göstermektedir.
12. Elementel haritalama analizi sonuçlarında, kuponların yüzeyindeki Ag ve Cu iyonlarının *Desulfovibrio* sp. varlığında veya yokluğunda metal yüzeyinde benzer ve dağınık bir şekilde bulunduğu saptanmıştır.
13. Kapalı deney düzeneği içerisindeki Postgate C besiyerinde gerçekleştirilen bu tez çalışmasında, 0.3 ppm Cu ve 0.13 ppm Ag konsantrasyonlarının *Desulfovibrio* sp. üzerine bakterisidal etki göstermek için yeterli olmadığı saptanmıştır. Ag-Cu iyonlarının *Desulfovibrio* sp. bakterisi üzerindeki etkisinde, çalışılan sistemin açık veya kapalı olmasının da etken olabileceği göz önünde bulundurulmalı ve iyonların *Desulfovibrio* sp. üzerinde bakterisidal etki oluşturacak dozunun saptanabilmesi için farklı Ag ve Cu iyon konsantrasyonları kullanılarak yeni çalışmalar gerçekleştirilmelidir.

## KAYNAKLAR

- Abad, F.X., Pinto, R.M., Diez, J.M., Bosch, A., 1994, Disinfection of human enteric viruses in water by copper and silver in combination with low level of chlorine, *Applied Environmental Microbiology*, 60(7), 2377-2383.
- Abdolahi, A., Hamzah, E., Ibrahim, Z., Hashim, S., 2014, Application of environmentally- friendly coatings toward inhibiting the microbially influenced corrosion (MIC) of steel: A Review, *Polymer Reviews*, 54(4), 702-745.
- Adeeba, F.K., Patil, A.P., Rao, T.S., 2011, Effect of zinc addition to copper in improving its corrosion resistance in sulfide polluted synthetic seawater, *Transactions of the Indian Institute of Metals*, 64(1-2), 99-103.
- AlAbbas, F.M., Bhola, R., Spear, J.R., Olson, D.L., Mishra, B., 2013, Electrochemical characterization of microbiologically influenced corrosion on linepipe steel exposed to facultative anaerobic *Desulfovibrio sp.*, *International Journal of Electrochemical Science*, 8, 859-871.
- Allison, D.G., 2003, The biofilm matrix, *Biofouling*, 19, 139-150.
- American Public Health Association (APHA), 1981, *Standard methods for the examination of water and wastewater*, American Public Health Association, Washington DC, 0-87553-091-5.
- American Society for Testing And Material, 1986, *Practice for preparing, cleaning and evaluating corrosion test specimens*, In: Annual book of ASTM standards, Designation: G1-81, American Society for Testing Materials, Philadelphia, 89-93.
- Anwar, H., Strap, J.L., Costerton, J.W., 1992, Establishment of aging biofilms: Possible mechanism of bacterial resistance to antimicrobial therapy, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36(7), 1347-1351.
- Arredondo, M., Nunez, M.T., 2005, Iron and copper metabolism, *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4-5), 313-327.
- Barton, L.L., Hamilton, W.A., 2007, *Sulphate-reducing Bacteria: Environmental and Engineered Systems*, Cambridge University Press, New York.
- Beech, I., Bergel, A., Mollica, A., Flemming, H.C. (Task Leader), Scotto, V., Sand, W., 2000, Simple methods for the investigation of the role of biofilms in corrosion, Brite Euram Thematic Network on MIC of Industrial Materials, Task Group1, Biofilm Fundamentals, Brite Euram Thematic Network No. ERB BRRT-CT98-5084.

- Beech, I.B., Cheung, C.W.S., 1995, Interactions of exopolymers produced by sulphate-reducing bacteria with metal ions, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 35, 59-72.
- Beech, I.B., Sunner, J., 2004, Biocorrosion: Towards understanding interactions between biofilms and metals, *Current Opinion in Biotechnology*, 15, 181-186.
- Beech, I.B., Cheung, C.W.S., Chan, C.S.P., Hill, M.A., Franco, R., Lino, A.R., 1994, Study of parameters implicated in the biodeterioration of mild steel in the presence of different species of sulphate-reducing bacteria, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 34, 289-303.
- Beech, I., Zinkevich, V., Tapper, R., Gubner, R., 1997, Direct involvement of an extracellular complex product by a marine sulfate-reducing bacterium in deterioration of steel, *Geomicrobiology Journal*, 15, 121-134.
- Blanc, D.S., Carrara, P., Zanetti, G., Francioli, P., 2005, Water disinfection with ozone, copper and silver ions, and temperature increase to control *Legionella*: Seven years of experience in a university teaching hospital, *Journal of Hospital Infection*, 60(1), 69-72.
- Borenstein, S.W., 1994, *Microbiologically influenced corrosion handbook*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 0-8311-3056-3.
- Borkow, G., Gabbay, J., 2009, Copper, an ancient remedy returning to fight microbial, fungal and viral infections, *Current Chemical Biology*, 3, 272-278.
- Boyd, A., Chakrabarty, A.M., 1994, Role of alginate lyase in cell detachment of *Pseudomonas aeruginosa*, *Applied and Environmental Microbiology*, 60 (7), 2355-2359.
- Bureau of Energy Efficiency, 2004, *Cooling Towers*, Energy efficiency in electrical utilities, In: Ministry of Power, Chapter 7, 135-151, India.
- Cabrera, G., Perez, R., Gomez, J.M., Abalos, A., Cantero, D., 2006, Toxic effects of dissolved heavy metals on *Desulfovibrio vulgaris* and *Desulfovibrio* sp. strains, *Journal of Hazardous Materials*, 135(1-3), 40-46.
- Campanac, C., Pineau, L., Payard, A., Baziard-Mouysset, G., Roques, C., 2002, Interactions between biocide cationic agents and bacterial biofilms, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(5), 1469-1474.
- Cassells, J.M., Yahya, M.T., Gerba, C.P., Rose, J.B., 1989, Efficacy of a combined system of copper and silver and free chlorine for inactivation of *Naegleria fowleri* amoebas in water, *Applied Environmental Microbiology*, 55(12), 3045-3050.
- Ceyhan, N., Ozdemir, G., 2008, Extracellular polysaccharides produced by cooling water tower biofilm bacteria and their possible degradation, *Biofouling*, 24, 129-135.

- Chandraprabha, M.N., Ahalya, N., Jyothi, M., Natarajan, K., 2012, Studies on bioremoval of copper and zinc by *Desulfovibrio desulfuricans*, *Journal of Biochemical Technology*, 3(5), 147-150.
- Characklis, W.G., 1981, Fouling biofilm development: A process analysis, *Biotechnology and Bioengineering*, 23, 1923-1960.
- Characklis, W., Cooksey, K., 1983, Biofilms and microbial biofouling, *Advanced Applied Microbiology*, 29, 93-138.
- Chen, G., Clayton, C.R., 1997, Influence of Sulfate-reducing bacteria on the passivity of type 304 austenitic stainless steel, *Journal of the Electrochemical Society*, 144(9), 3140-3146.
- Chen, Y.S., Lin, Y.E., Liu, Y.C., Huang, W.K., Shih, H.Y., Wann, S.R., Lee, S.S., Tsai, H.C., Li, C.H., Chao, H.L., Ke, C.M., Lu, H.H., Chang, C.L., 2008, Efficacy of point-of-entry copper-silver ionisation system in eradicating *Legionella pneumophila* in a tropical tertiary care hospital: Implications for hospitals contaminated with *Legionella* in both hot and cold water, *Journal of Hospital Infection*, 68(2), 152-158.
- Choudhary, S.G., 1998, Emerging microbial control issues in cooling water systems, *Hydrocarbon Processing*, 77(5), 91-102.
- Coetser, S.E., Cloete, T.E., 2005, Biofouling and biocorrosion in industrial water systems, *Critical Reviews Microbiology*, 31(4), 213-232.
- Cooling Technology Institute, 2014, *What is a (wet, atmospheric) cooling tower?*, <http://www.cti.org/whatis/coolingtowerdetail.shtml>, [Ziyaret tarihi: 21.01.2015].
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., Caldwell, D.E., Korber, D.R., Lappin-Scott, H.M., 1995, Microbial biofilms, *Annual Review of Microbiology*, 49, 711-745.
- Costerton, J.W., Nickel, J.C., Ladd, T.I., 1986, *Bacteria in nature*, Plenum Publishing Corporation, New York, ISBN: 0-30643173-4.
- Costerton, J.W., Stewart, P.S., Greenberg, E.P., 1999, Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections, *Science*, 284 (5418), 1318-1322.
- Da Silva, S., Basseguy, R., Bergel, A., 2004, Electron transfer between hydrogenase and 316L stainless steel: identification of a hydrogenase-catalyzed cathodic reaction in anaerobic MIC, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 561, 93-102.
- Davey, M.E., O'Toole, G.A., 2000, Microbial Biofilms: from ecology to molecular genetics, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(4), 847-867.
- De Bruyn, E., 1992, *Microbial ecology of sulphide-producing bacteria in water cooling systems*, Thesis (PhD), University of Pretoria.
- Domek, M.J., Robbins, J.E., Anderson, M.E., McFeters, G.A., 1987, Metabolism of *Escherichia coli* injured by copper, *Canadian Journal of Microbiology*, 33, 57-62.

- Donlan, R.M., 2002, Biofilms: Microbial life on surfaces, *Emerging Infectious Diseases*, 8(9).
- Donlan, R.M., Costerton, J.W., 2002, Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms, *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167-193.
- Dost, A.T., 2009, Endüstriyel tesislerde soğutma suyu şartlandırması, 9. *Ulusal Tesisat Mühendisliği Kongresi*, 6-9 Mayıs, İzmir, Türkiye.
- Duan, J., Hou, B., Yu, Z., 2006, Characteristics of sulfide corrosion products on 316L stainless steel surfaces in the presence of sulfate-reducing bacteria, *Materials Science and Engineering*, 26, 624-629.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956, Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
- Dunne, M.W., 2002, Bacterial adhesion: Seen any good biofilms lately?, *Clinical Microbiology Reviews*, 15, 155-166.
- Dzierzewicz, Z., Cwalina, B., Chodurek, E., Wilczok, T., 1997, The relationship between microbial metabolic activity and biocorrosion of carbon steel, *Research in Microbiology*, 148, 785-793.
- Edyvean, R.G.J., Benson, J., Thomas, C.J., Beech, I.B., Videla, H.A., 1998, Biological influences on hydrogen effects in steel in seawater, *Materials Performance*, 37(4), 40-44.
- Electric Power Research Institute, 2003, *Use of degraded water sources as cooling water in power plants*, Consultant Report, P500-03-110.
- Erbil, M., 2012, *Korozyon: İlkeler-Önlemler*, Türkiye Korozyon Derneği, Ankara.
- Fang, H.H.P., Xu, L.C., Chan, K.Y., 2002, Effects of toxic metals and chemicals on biofilm and biocorrosion, *Water Research*, 36, 4709-4716.
- Feio, M.J., Beech, I.B., Carepo, M., Lopes, J.M., Cheung, C.W.S., Franco, R., Guezennec, J., Smith, J.R., Mitchell, J.I., Moura, J.J.G., Lino, A.R., 1998, Isolation and characterization of a novel sulphate-reducing bacterium of the *Desulfovibrio* genus, *Anaerobe*, 4, 117-130.
- Feng, Q.L., Wu, J., Chen, G.Q., Cui, F.Z., Kim, T.N., Kim, J.O., 2000, A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *Journal of Biomedical Materials Research*, 52, 662-668.
- Flemming, H.C., 1996, *Biofouling and microbiologically influenced corrosion (MIC)-an economical and technical overview*, Microbial Deterioration of Materials, In: Heitz, E., Sand, W., Flemming, H.C. (eds.), Springer, Heidelberg, ISBN: 3-527-28624-1, 514.

- Flemming, H.C., 2002, Biofouling in water systems- cases, causes and countermeasures, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(6), 629-640.
- Flemming, H.C., Wingender, J., Griegbe, T., Mayer, C., 2000, *Physico-chemical properties of biofilms*, Biofilms: recent advances in their study and control, In: Evans, L.V. (ed.), Harwood Academic Publishers, Amsterdam, ISBN-13: 978-9058230935, 19-34.
- Ford, T., Mitchell, R., 1990, The ecology of microbial corrosion, *Advances in Microbial Ecology*, 11, 231-262.
- Gadd, G.M., 1992, Metals and microorganisms: A problem of definition, *FEMS Microbiology Letters*, 100(1-3), 197-203.
- Gadd, G.M., 2008, *Transformation and mobilization of metals, metalloids, and radionuclides by microorganisms*, Biopysico-Chemical Processes of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments, In: Violante, A., Huang, P.M., Gadd, G.M. (eds.), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, ISBN-13: 978-0471737780, 53-96.
- Gadd, G.H., 2010, Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation, *Microbiology*, 156, 609-643.
- Gaines, R.H., 1910, Bacterial activity as a corrosion influence in the soil, *Journal of Engineering for Industrial Chemistry*, 2, 128-130.
- Gagnon, G.A., Slawson, R.M., 1999, An efficient biofilm removal method for bacterial cells exposed to drinking water, *Journal of Microbiological Methods*, 34, 203-214.
- Geesey, G.G., Gillis, R.J., Avci, R., Daly, D., Hamilton, M., Shope, P., Harkin, G., 1996, The influence of surface features on bacterial colonization and subsequent substratum chemical changes of 316L stainless steel, *Corrosion Science*, 38(1), 73-95.
- Ghiorse, W.C., 1984, Biology of iron- and manganese-depositing bacteria, *Annual Review of Microbiology*, 38, 515-550.
- Gu, T., Zhao, K., Nesic, S., 2009, A practical mechanistic model for MIC based on a biocatalytic cathodic sulfate reduction theory, *NACE Corrosion 2009*, NACE International, Houston.
- Hadley, R.F., 1948, *Corrosion by micro-organisms in aqueous and soil environments*, Corrosion handbook, In: Uhlig, H.H. (ed), John Wiley & Sons, USA, 471895628, 466-470.
- Hamilton, W.A., 1985, Sulphate reducing bacteria and anaerobic corrosion, *Annual Review of Microbiology*, 39, 195-217.

- Hamilton, W.A., 2003, Microbially Influenced Corrosion as a Model System for the Study of Metal Microbe Interactions: A Unifying Electron Transfer Hypothesis, *Biofouling*, 19(1), 65-76.
- Ilhan-Sungur, E., Cansever, N., Cotuk, A., 2007, Microbial corrosion of galvanized steel by a freshwater strain of sulphate reducing bacteria (*Desulfovibrio* sp.), *Corrosion Science*, 49, 1097-1109.
- Ilhan-Sungur, E., Cotuk, A., 2005, Characterization of sulfate reducing bacteria isolated from cooling towers, *Environmental Monitoring and Assessment*, 104(1-3), 211-219.
- Ilhan-Sungur, E., Öztürk, D., Abbas, B., Muyzer, G., 2011, Diversity of microbial communities in cooling tower water, 4<sup>th</sup> Congress of European Microbiologists, *FEMS 2011*, Geneva, Switzerland.
- Ilhan-Sungur, E., Türetgen, İ., Javaherdashti, R., Çotuk, A., 2010, Monitoring and disinfection of biofilm-associated sulfate reducing bacteria on different substrata in a simulated recirculating cooling tower system, *Turkish Journal of Biology*, 34, 389-397.
- Ismail, A., 2014, Corrosion behavior of austenitic stainless steel in high sulphate content, *Advanced Materials Research*, 893, 397-401.
- Ismail, Kh.M., Jayaraman, A., Wood, T.K., Earthman, J.C., 1999, The influence of bacteria on the passive film stability of 304 stainless steel, *Electrochimica Acta*, 4685-4692.
- Iverson, W.P., 1966, Direct evidence for the cathodic depolarization theory of bacterial corrosion, *Science*, 151(3713), 986-988.
- Iverson, W.P., 1968, Corrosion of iron and formation of iron phosphide by *Desulfovibrio desulfuricans*, *Nature*, 217, 1265-1267.
- Iverson, W.P., 1987, Microbial corrosion of metals, *Advances in Applied Microbiology*, 32, 1-36.
- Iverson, W.P., Olson, G.J., 1983, *Anaerobic corrosion by sulfate reducing bacteria due to highly reactive volatile phosphorus compounds*, Microbial Corrosion, The Metals Society, London, 46-53.
- Jang, A., Kim, S.M., Kim, S.Y., Lee, S.G., Kim, I.S., 2001, Effect of heavy metals (Cu, Pb, and Ni) on the compositions of EPS in biofilms, *Water Science and Technology*, 43(6), 41-48.
- Javaherdashti, R., 2008, *Microbiologically Influenced Corrosion: An Engineering Insight*, Springer, London, ISBN-13: 978-1848000735.
- John, G.H., Noel, R.K., Peter, H.A.S., James, T.S., Stanley, T.W., 1994, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9<sup>th</sup> ed., Williams & Wilkins, Baltimore, USA, 0-683-00603-7.

- Kakooei, S., Ismail, M.C., Ariwahjoedi, B., 2012, Mechanisms of microbiologically influenced corrosion: A review, *World Applied Sciences Journal*, 17(4), 524-531.
- Kaşger-Ataer, H.S., 2001, *Çesitli dezenfektan maddelerin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması*, Tez (Doktora), İstanbul Üniversitesi.
- Kazanç, A., 1992, *Soğutma kuleleri*, Tez (Yüksek Lisans), Yıldız Teknik Üniversitesi.
- Kılınççeker, G., Erbil, M., 2008, The influence of temperature, pH and phosphate ion ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) on dissolution and passivation of brass, *Korozyon*, 16(1-2), 8-16.
- Kılınççeker, G., Yazıcı, B., Erbil, M., 1999, The effect of phosphate ions ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) on the corrosion of iron in sulphate solutions, *Turkish Journal of Chemistry*, 23, 41-50.
- Kim, J., Cho, M., Oh, B., Choi, S., Yoon, J., 2004, Control of bacterial growth in water using synthesized inorganic disinfectant, *Chemosphere*, 55(5), 775-780.
- King, R.A., Miller, J.D.A., 1971, Corrosion by the sulphate-reducing bacteria, *Nature*, 233, 491-492.
- Kinzler, K., Gehrke, T., Telegdi, J., Sand, W., 2003, Bioleaching- a result of interfacial processes caused by extracellular polymeric substances (EPS), *Hydrometallurgy*, 71, 83-88.
- Kuang, F., Wang, J., Yan, L., Zhang, D., 2007, Effects of sulfate-reducing bacteria on the corrosion behavior of carbon steel, *Electrochimica Acta*, 52(20), 6084-6088.
- Landeen, L.K., Yahya, M.T., Gerba, C.P., 1989, Efficacy of copper and silver ions and reduced levels of free chlorine in inactivation of *Legionella pneumophila*, *Applied and Environmental Microbiology*, 55(12), 3045-3050.
- Landeen, L.K., Yahya, M.T., Kutz, S.M., Gerba, C.P., 1989, Microbiological evaluation of copper: silver disinfection units for use in swimming pools, *Water Science and Technology*, 21(3), 267-270.
- Lane, J., Peck, D., 2003, Condenser water treatment using pulsed power, *Cooling Technology Institute Annual Conference*, 10-13 February, San Antonio, Texas, Cooling Technology Institute, 1-16.
- Lata, S., Sharma, C., Singh, A., 2012, Microbial influenced corrosion by thermophilic bacteria, *Central European Journal of Engineering*, 2(1), 113-122.
- Lee, W., Lewandowski, Z., Nielsen, P.H., Hamilton, W.A., 1995, Role of sulfate-reducing bacteria in corrosion of mild steel: A review, *Biofouling*, 8, 165-194.
- Lin, E.Y., Vidic, R.D., Stout, J.E., McCartney, C.A., Yu, V.L., 1998, Inactivation of *Mycobacterium avium* by copper and silver ions, *Water Research*, 32(7), 1997-2000.

- Lin, E.Y., Vidic, R.D., Stout, J.E., Yu, V.L., 1996, Individual and combined effects of copper and silver ions on inactivation of *Legionella pneumophila*, *Water Research*, 30(8), 1905-1913.
- Lin, E.Y., Vidic, R.D., Stout, J.E., Yu, V.L., 2002, Negative effect of high pH on biocidal efficacy of copper and silver ions in controlling *Legionella pneumophila*, *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6), 2711-2715.
- Little, B.J., Lee, J.S., 2007, *Microbiologically influenced corrosion*, John Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Jersey.
- Little, B.J., Lee, J.S., 2014, Microbiologically influenced corrosion: an update, *International Materials Reviews*, 59(7), 384-393.
- Little, B.J., Wagner, P.A., Mansfeld, F., 1992, An overview of microbiologically influenced corrosion, *Electrochimica Acta*, 37, 1-17.
- Lopes, F.A., Morin, P., Oliveira, R., Melo, L.F., 2006, Interaction of *Desulfovibrio desulfuricans* biofilms with stainless steel surface and its impact on bacterial metabolism, *Journal of Applied Microbiology*, 101, 1087-1095.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951, Protein measurement with the folin phenol reagent, *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.
- Lu, R.H., Liu, Q., Zhang, Y.H., Xiao, C.S., 1989, Studies on harmful microbes in recirculating cooling tower water system of oil refinery, *Wei Sheng Wu Hsueh Pao*, 29(3), 204-215.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., 2005, *Brock biology of microorganisms*, 11<sup>th</sup> ed., Prentice Hall, London, 0-13-144329-1.
- Majumdar, I., D'Souza, F., Bhosle, N.B., 1999, Microbial exopolysaccharides: effect on corrosion and partial chemical characterization, *Journal of the Indian Institute of Science*, 79, 539-550.
- Malik, A.U., Mobin, M., Andijani, I., Al-Muaili, F., Al-Hajri, M., 2005, *The effect of heavy metal ions on the localized corrosion behavior of steels*, Technical Report: TR. 3804/APP 96010.
- Marchal, R., Chaussepied, B., Warzywoda, M., 2001, Effect of ferrous ion availability on growth of a corroding sulfate-reducing bacterium, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 47(3), 125-131.
- Marcus, P., 1998, Surface science approach of corrosion phenomena, *Electrochimica Acta*, 43(1-2), 109-118.
- Martinez, S.S., Gallegos, A.A., Martinez, E., 2004, Electrolytically generated silver and copper ions to treat cooling water: an environmentally friendly novel alternative, *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 921-932.

- Melo, L.F., Bott, T.R., 1997, Biofouling in water systems, *Experimental Thermal and Fluid Science*, 14, 375-381.
- Midander, K., Pan, J., Leygraf, C., 2006, Elaboration of a test method for the study of metal release from stainless steel particles in artificial biological media, *Corrosion Science*, 48(9), 2855-2866.
- Miranda, E., Bethencourt, M., Botana, F.J., Cano, M.J., Sanchez-Amaya, J.M., Corzo, A., Garcia de Lomas, J., Fardeau, M.L., Ollivier, B., 2006, Biocorrosion of carbon steel alloys by an hydrogenotrophic sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio capillatus* isolated from a Mexican oil field separator, *Corrosion Science*, 48, 2417-2431.
- Mittelman, M.W., 1998, Structure and functional characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operations, *Journal of Dairy Science*, 81, 2760-2764.
- Mittleman, M.W., Geesey, G.G., 1985, Copper-binding characteristics of exopolymers from a fresh water-sediment bacterium, *Applied and Environmental Microbiology*, 49, 846-851.
- Morrison, F., 2008, Living in a Material World: Proper selection of the materials of construction for cooling towers in commercial HVAC and industrial applications, *CTI Journal*, 29(1), 8-33.
- Muyzer, G., Stams, A.J.M., 2008, The ecology and biotechnology of sulphate reducing bacteria, *Nature Reviews Microbiology*, 6, 441-454.
- Nichols, W.W., 1989, *Susceptibility of biofilms to toxic compounds*, Structure and Function of Biofilms, In: Characklis, W.G., Wilderer, P.A. (eds.), John Wiley & Sons, Chichester, ISBN: 0 471 92480 6, 321-331.
- Olefjord, I., Brox, B., Jøvestad, U., 1985, Surface composition of stainless steels during anodic dissolution and passivation studied by ESCA, *Journal of Electrochemical Society*, 132(12), 2854-2861.
- O'Toole, G., Heidi B., Kaplan, H.B., Kolter, R., 2000, Biofilm formation as microbial development, *Annual Review of Microbiology*, 54, 49-79.
- Ozuolmez, D., Cotuk, A., 2011, Biofilm formation on galvanized steel by SRB isolate obtained from cooling tower water, *IUFS Journal of Biology*, 70(2), 35-42.
- Padilla-Viveros, A., Garcia-Ochoa, E., Alazard, D., 2006, Comparative electrochemical noise study of the corrosion process of carbon steel by the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio alaskensis* under nutritionally rich and oligotrophic culture conditions, *Electrochimica Acta*, 51(18), 3841-3847.
- Pal, A., Paul, A.K., 2008, Microbial extracellular polymeric substances: central elements in heavy metal bioremediation, *Indian Journal of Microbiology*, 48, 49-64.

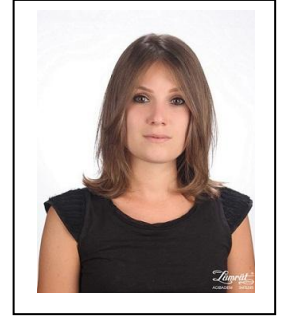
- Percival, S.L., Knapp, J.S., Edyvean, R.G., Wales, D.S., 1998, Biofilm development on stainless steel in mains water, *Water Research*, 32, 243-253.
- Perez, N., 2004, *Electrochemistry and Corrosion Science*, Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Pfennig, N., 1984, *Microbial behaviour in natural environments*, The Microbe 1984, Part II, Prokaryotes and Eukaryotes, In: Kelly, D.P., Carr, N.G. (eds.), 23-50, Oxford University Press, Oxford.
- Poulson, S.R., Colberg, P.J.S., Drever, J.I., 1997, Toxicity of heavy metals (Ni, Zn) to *Desulfovibrio desulfuricans*, *Geomicrobiology Journal*, 14, 41-49.
- Postgate, J.R., 1984, *The sulphate reducing bacteria*, 2<sup>nd</sup> ed., Cambridge University Press, Cambridge, ISBN: 0521257913.
- Postgate, J.R., Campbell, L.L., 1966, Classification of *Desulfovibrio* species, the nonsporulating sulfate-reducing bacteria, *American Society for Microbiology*, 30(4), 732-738.
- Puckorius, P.R., 1999, Water corrosion mechanism, *ASHRAE Journal*, 41(5), 57-61.
- Rao, T.S., Aruna, J.K., Anupkumar, B., Narasimhan, S.V., Feser, R., 2005, Pitting corrosion of titanium by a freshwater strain of sulfate reducing bacteria (*Desulfovibrio vulgaris*), *Corrosion Science*, 47, 1071-1084.
- Rao, T.S., Kora, A.J., Chandramohan, P., Panigrahi, B.S., Narasimhan, S.V., 2009, Biofouling and microbial corrosion problem in the thermo-fluid heat exchanger and cooling water system of a nuclear test reactor, *Biofouling*, 25(7), 581-591.
- Rao, T.S., Sairam, T.N., Viswanathan, B., Nair, K.V.K., 2000, Carbon steel corrosion by iron oxidising and sulphate reducing bacteria in a freshwater cooling system, *Corrosion Science*, 42(8), 1417-1431.
- Revie, R.W., Uhlig, H.H., 2008, *Corrosion and corrosion control: An introduction to corrosion science and engineering*, 4<sup>th</sup> ed., John Wiley&Sons Inc., Hoboken New Jersey, ISBN-13: 978-0471732792.
- Roe, F.L., Lewandowski, Z., Funk, T., 1996, Simulating microbiologically influenced corrosion by depositing extracellular biopolymer on mild steel surfaces, *Corrosion*, 52(10), 744-752.
- Sabria, M., Alvarez, J., Dominguez, A., Pedrol, A., Sauca, G., Salleras, L., Lopez, A., Garcia-Nunez, M.A., Parron, I., Barrufet, M.P., 2006, A community outbreak of Legionnaires' disease: Evidence of a cooling tower as the source, *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 12(7), 642-647.
- Sani, R.K., Peyton, B.M., Brown, L.T., 2001, Copper-induced inhibition of growth of *Desulfovibrio desulfuricans* G20: assessment of its toxicity and correlation with those of zinc and lead, *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10), 4765-4772.

- Santegoeds, C.M., Ferdelman, T.G., Muyzer, G., De Beer, D., 1998, Structural and functional dynamics of sulfate-reducing populations in bacterial biofilms, *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 3731-3739.
- Seth, A.D., Edyvean, R.G.J., 2006, The function of sulfate reducing bacteria in corrosion of potable water mains, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 58, 108-111.
- Sharp, R.M., 1999, *Effects of copper and silver ionic solutions on E. coli bacteria and testing of a prototype ion-generation device*, Thesis (Master), Oklahoma State University.
- Sheng, X., Ting, Y.P., Pehkonen, S.O., 2007, The influence of sulphate-reducing bacteria biofilm on the corrosion of stainless steel AISI 316, *Corrosion Science*, 49(5), 2159-2176.
- Simoës, L.C., Simoës, M., 2013, Biofilms in drinking water: problems and solutions, *The Royal Society of Chemistry*, 3, 2520-2533.
- Simoës, M., Simoës, L.C., Vieira, M.J., 2010, A review of current and emergent biofilm control strategies, *Food Science and Technology*, 43, 573-583.
- Singh, A., Sharma, C., Lata, S., 2011, Microbial influenced corrosion due to *Desulfovibrio desulfuricans*, *Anti-Corrosion Methods and Materials*, 58(6), 315-322.
- Spoering, A.L., Lewis, K., 2001, Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials, *Journal of Bacteriology*, 183(23), 6746-6751.
- Stewart, P.S., Franklin, M.J., 2008, Physiological heterogeneity in biofilms, *Nature*, 6, 199-210.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J.W., 2002, Biofilms as complex differentiated communities, *Annual Review of Microbiology*, 56, 187-209.
- Sutherland, I.W., 2001, Biofilm exopolysaccharides: A strong and sticky framework. *Microbiology*, 147, 3-9.
- Sutherland, I.W., 2001, The biofilm matrix- an immobilized but dynamic microbial environment, *Trends in Microbiology*, 9, 222-227.
- Teitzel, G.M., Parsek, M.R., 2003, Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*, *Applied and Environmental Microbiology*, 69(4), 2313-2320.
- Temizkan, G., Arda, N., 2007, *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*, 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, ISBN: 9789754205831.
- Thauer, R.K., Stackebrandt, E., Hamilton, W.A., 2007, *Energy metabolism and phylogenetic diversity of sulphate-reducing bacteria*, Sulphate-reducing Bacteria:

- Environmental and Engineered Systems, In: Barton, L.L., Hamilton, W.A. (eds), Cambridge University Press, New York.
- Thurman, R.B., Gerba, ChP., 1989, The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses, *Critical Reviews in Environment Control*, 18(4), 295-315.
- Türetgen, İ., 1998, *Soğutma kulelerinin suyunda Legionella cinsi bakterilerin araştırılması*, Tez (Yüksek Lisans).
- Üneri, S., 2011, *Korozyon ve Önlenmesi*, Türkiye Korozyon Derneği, Ankara.
- Vander Voort, G.F., Lucas, G.M., Manilova, E.P., 2004, *Metallography and Microstructures of Stainless Steels and Maraging Steels*, Metallography and Microstructures, Vol 9, ASM Handbook, ASM International, 670-700.
- Videla, H.A., 1996, *Manual of biocorrosion*, CRC Press, UK, ISBN: 9780873717267.
- Videla, H.A., Herrera, L.K., 2005, Microbiologically influenced corrosion: Looking to the future, *International Microbiology*, 8(3), 169-180.
- Von Wolzogen Kühr, C.A.H., Van Der Vlugt, L.S., 1934, The graphitization of cast iron as an electrochemical process in anaerobic soils, *Water*, 18, 147-165.
- Wagner, D., Chamberlain, A.H.L., 1997, Microbiologically influenced copper corrosion in potable water with emphasis on practical relevance, *Biodegradation*, 8(3), 177-187.
- White, C., Gadd, G.M., 1996, Mixed sulphate-reducing bacterial cultures for bioprecipitation of toxic metals: factorial and response-surface analysis of the effects of dilution rate, sulphate and substrate concentration, *Microbiology*, 142, 2197-2205.
- White, C., Gadd, G.M., 2000, Copper accumulation by sulfate-reducing bacterial biofilms, *FEMS Microbiology Letters*, 183, 313-318.
- Wiatr, C.L., 2006, Bacterial Resistance to biocides in recirculating cooling water systems, *CTI Journal*, 27(1).
- Widdel, F., Bak, F., 1992, *Gram-negative mesophilic sulfate-reducing bacteria*, The Prokaryotes (2<sup>nd</sup> ed.) A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications, In: Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. (eds.), Springer Science Business Media, New York, ISBN: 3352-3378.
- Widdel, F., Pfennig, N., 1984, *Dissimilatory sulfate reducing bacteria*, Systematic Bacteriology, In: Noel, R.K. (ed.), 663-679, Williams&Wilkins, Baltimore, USA, ISBN: 0-683-04108-8.
- Wilsey, C.A., 1997, Alternative water treatment for cooling towers, *ASHRAE Journal*, 44-46.

- Wolfaardt, G.M., 1990, *Technologies for studying biofouling and aspects influencing biofouling in industrial water systems*, Thesis (M.Sc.), University of Pretoria.
- Xu, C., Zhang, Y., Cheng, G., Zhu, W., 2006, Corrosion and electrochemical behavior of 316L stainless steel in sulfate-reducing and iron-oxidizing bacteria solutions, *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 14(6), 829-834.
- Xu, C., Zhang, Y., Cheng, G., Zhu, W., Zhu, W., 2007, Localized corrosion behavior of 316L stainless steel in the presence of sulfate-reducing and iron-oxidizing bacteria, *Materials Science and Engineering*, 443(1-2), 235-241.
- Yahya, M.T., Gerba, C.P., 1992, Water disinfection system and method, *Chemical Abstract Service*, 118:87342.
- Yahya, M.T., Landeen, L.K., Messina, M.C., Kutz, S.M., Gerba, C.P., 1990, Disinfection of bacteria in water systems by using electrolytically generated copper:silver and reduced levels of free chlorine, *Canadian Journal of Microbiology*, 36(2), 109-116.
- Yuan, S.J., Pehkonen, S.O., 2009, AFM study of microbial colonization and its deleterious effect on 304 stainless steel by *Pseudomonas* NCIMB 2021 and *Desulfovibrio desulfuricans* in simulated seawater, *Corrosion Science*, 51, 1372-1385.
- Zhang, Q., Wang, P., Zhang, D., 2012, Stainless steel electrochemical corrosion behaviors induced by sulphate-reducing bacteria in different aerated condition, *International Journal of Electrochemical Science*, 7, 11528-11539.
- Zhang, X., Bishop, L.P., 2003, Biodegradability of biofilm extracellular polymeric substances, *Chemosphere*, 50(1), 63-69.
- Zhang, X., Bishop, P.L., Kinkle, B.K., 1999, Comparison of extraction methods for quantifying extracellular polymers in biofilms, *Water Science and Technology*, 39(7), 211-218.
- Zhang, Y.H., Xu, C.M., Cheng, G.X., Zhu, W.S., 2007, Pitting Initiation of 316L stainless steel in the media of sulfate-reducing and iron-oxidizing bacteria, *Inorganic Materials*, 43(6), 614-621.
- Zinkevich, V., Bogdarina, I., Kang, H., Hill, M.A.W., Tapper, R., Beech, I.B., 1996, Characterisation of exopolymers produced by different isolates of marine sulphate-reducing bacteria, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 37(3-4), 163-172.

## ÖZGEÇMİŞ



### Kişisel Bilgiler

|                    |                         |
|--------------------|-------------------------|
| Adı Soyadı         | Simge ARKAN             |
| Uyruğu             | Türkiye Cumhuriyeti     |
| Doğum tarihi, Yeri | 13.02.1990, Kadıköy     |
| Telefon            | 0537 713 85 47          |
| E-mail             | simge_arkan@hotmail.com |

### Eğitim

| Derece        | Kurum/Anabilim Dalı/Programı                                                                        | Yılı |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Yüksek Lisans | İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü / Biyoloji Anabilim Dalı / Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programı | 2015 |
| Lisans        | İ.Ü. Fen Fakültesi / Biyoloji Bölümü                                                                | 2012 |
| Lise          | Ümraniye Anadolu Lisesi                                                                             | 2008 |

### Makaleler / Bildiriler

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Ünsal-İstek, T., İlhan-Sungur, E., Cansever, N., Arkan, S., 2015, Soğutma kulelerinde kullanılan galvanizli çelik ve 316L paslanmaz çeliğin mikrobiyolojik korozyon davranışları, <i>Korozyon</i>, baskıda.</p> <p>Arkan, S., İlhan-Sungur, E., Cansever, N., Unsal-Istek, T., 2015, Investigation of the effect of Ag-Cu ions on microbial activity of sulphate reducing bacteria leading to corrosion, <i>European Corrosion Congress-EUROCORR'2015</i>, 6-10 September, Graz, Austria.</p> <p>Ünsal-İstek, T., Arkan, S., İlhan-Sungur, E., Cansever, N., 2014, Soğutma kulelerinde kullanılan galvanizli çelik ve 316L paslanmaz çeliğin mikrobiyolojik korozyon davranışları, <i>13. Uluslararası Korozyon Sempozyumu</i>, 15-17 Ekim, Elazığ, Türkiye, 82-87.</p> <p>Arkan, S., Unsal-Istek, T., İlhan-Sungur, E., Cansever, N., 2014, The effects of Ag-Cu ions on the microbial corrosion of 316L stainless steel in the presence of <i>Desulfovibrio</i> sp., <i>European Corrosion Congress-EUROCORR'2014</i>, 8-12 September, Pisa, Italy.</p> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

