ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

HAM PETROL SAHALARINDAN İZOLE EDİLEN SÜLFAT İNDİRGEYEN BAKTERİLERİN KOROZYON ETKİSİNİN BELİRLENMESİ VE ÖNLENMESİ

DEMET ÇETİN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2007

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ danışmanlığında, **Demet ÇETİN** tarafından hazırlanan **"Ham Petrol Sahalarından İzole Edilen Sülfat İndirgeyen Bakterilerin Korozyon Etkisinin Belirlenmesi ve Önlenmesi"** adlı tez çalışması …./…../….. tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan: *(Unvanı, Adı ve Soyadı, Kurumu)* *(imza)*
(Üniversite Adı, Anabilim Dalı)

Üye : *(Unvanı, Adı ve Soyadı, Kurumu)* *(imza)*
(Üniversite Adı, Anabilim Dalı)

Üye : *(Unvanı, Adı ve Soyadı, Kurumu)* *(imza)*
(Üniversite Adı, Anabilim Dalı)

Üye : *(Unvanı, Adı ve Soyadı, Kurumu)* *(imza)*
(Üniversite Adı, Anabilim Dalı)

Üye : *(Unvanı, Adı ve Soyadı, Kurumu)* *(imza)*
(Üniversite Adı, Anabilim Dalı)

Yukarıdaki sonucu onaylarım

(imza)

Prof. Dr.Ülkü MEHMETOĞLU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

HAM PETROL SAHALARINDAN İZOLE EDİLEN SÜLFAT İNDİRGEYEN BAKTERİLERİN KOROZYON ETKİSİNİN BELİRLENMESİ VE ÖNLENMESİ

Demet ÇETİN
Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Bu çalışmada, petrol üretim sahalarından izole edilen anaerobik sülfat indirgeyen bakteriler (SRB) içeren ortamda düşük alaşım çeliğinin korozyon davranışı incelenmiştir. Çalışmada kullanılan SRB izolatları Türkiye Petrolleri Anonim Ortaklığı (TPAO) Batman ve Adıyaman Bölgesi ham petrol üretim kuyularından alınan su petrol karışımından izole edilmiştir. Elde edilen izolatlardan H_2S üretimi yüksek olan 12 izolat seçilerek morfolojik ve fizyolojik özelliklerine göre karakterizasyonu yapılmıştır. *Desulfotomaculum* sp., *Desulfovibrio* sp., *Desulfoarculus* sp., *Desulfobacter* sp., *Desulfotignum* sp. olarak tanımlanan bu izolatların neden olduğu korozyon kütle kaybı yöntemiyle belirlenmiştir. En yüksek korozyon hızına sahip olarak tanımlanan *Desulfotomaculum* sp. izolatının korozyon hızı, kütle kaybı yöntemiyle 31.6×10^{-3} mg cm^{-2}.$saat^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Korozyon kuponlarındaki biyofilm oluşumu ve korozyon hasarı, taramalı elektron mikroskobu (SEM) incelemeleri ve enerji dağıtıcı X ışını analizleri (EDAX) ile belirlenmiştir. İzolatların çelik kuponlar üzerinde neden olduğu korozyona biyositlerin (gluteraldehit ve formaldehit) etkisi kütle kaybı yöntemi ve hücre sayımı ile belirlenmiştir.

En yüksek korozyon hızının elde edildiği *Desulfotomaculum* sp. izolatı elektrokimyasal polarizasyon çalışmaları için kullanılmıştır. Çeliğin korozyon davranışı steril besi ortamında ve mikrobiyel kültürün inokülasyonundan sonra günlük olarak incelenmiştir. Korozyon hızına demir konsantrasyonlarının etkisi Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenmiştir. Bu yönteme göre steril ortamda, artan demir konsantrasyonlarında, E_{kor} (korozyon potansiyeli) değerlerinin daha anodik potansiyellere kaydığı ve I_{kor} (korozyon akım yoğunluğu) değerlerinin oldukça arttığı görülmektedir. *Desulfotomaculum* sp.'nin inokülasyonu ile 10 ve 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren ortamlarda E_{kor} değeri daha katodik değerlere kaymış, korozyon akım yoğunlukları zamanla artmıştır. En yüksek I_{kor} değeri 112.2 µA cm^{-2} olup *Desulfotomaculum* sp. ve 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren ortamda 1 günlük inkübasyon süresi sonunda bulunmuştur. Ayrıca biyosit olarak seçilen gluteraldehit ve formaldehitin etkinliği de aynı ortamda belirlenmiştir. Çalışma sonucunda *Desulfotomaculum* sp.' nin korozyon aktivitesinde demir sülfür, hidrojen sülfür, demir fosfür gibi bakteriyel metabolitlerin, ortam demir konsantrasyonunun ve katodik depolarizasyonun etkili olduğu görülmüştür.

2007, 124 sayfa

Anahtar Kelimeler: Mikrobiyel korozyon, sülfat indirgeyen bakteriler (SRB), kütle kaybı, taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağıtıcı X ışını analizleri (EDAX), Tafel ekstrapolasyonu, biyosit

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

DETERMINATION AND PREVENTION OF CORROSION EFFECTS OF SULPHATE REDUCING BACTERIA ISOLATED FROM CRUDE OIL FIELD

Demet ÇETİN

Ankara University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

In this study corrosion behavior of low alloy steel, in the presence of anaerobic sulfate reducing bacteria which was isolated from an oil production well, was investigated. SRB isolates used for the study was isolated from oil-water mixture obtained from production well on Turkish Petroleum Corporation (TPAO) Batman and Adıyaman crude oil fields. Among isolates, high H_2S producing 12 isolates were selected and characterised according to morphological and physiological examinations. Corrosion rates caused by these isolates (*Desulfotomaculum* sp., *Desulfovibrio* sp., *Desulfoarculus* sp., *Desulfobacter* sp., *Desulfotignum* sp.) were determined with mass loss method. Corrosion rate of *Desulfotomaculum* sp., which was the isolate described as having the highest corrosion rate, was determined as 31.6×10^{-3} mg $cm^{-2}.h^{-1}$ with mass loss measurements. Scanning electron microscopic (SEM) observations and energy dispersive X-ray spectra (EDS) analysis were made on steel coupons to determine biofilm development and corrosion damage. The effect of biocides (glutaraldehyde and formaldehyde) on the corrosion caused by isolates was evaluated by cell counts and by mass loss measurements.

Desulfotomaculum sp. which has the highest corrosion rate was used for electrochemical polarization studies. Corrosion behavior of steel sample was investigated daily in sterile microbial growth medium and after inoculation of microbial culture. The effects of iron and on corrosion rates were determined by Tafel extrapolation method. With this method, in sterile culture medium, as $FeSO_4.7H_2O$ concentration increased, corrosion potential (E_{cor}) values shifted towards more anodic potentials and corrosion current density (I_{cor}) values considerably increased. The highest corrosion current density (112.20 µA cm^{-2}) was obtained in medium containing *Desulfotomaculum* sp. and 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ after 1 day incubation period. After inoculation of sulfate-reducing bacteria (SRB), E_{cor} shifted towards cathodic values. I_{cor} values increased with increasing incubation time for 10 and 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ concentration.
Efficacy of two biocides; formaldehyde and glutaraldehyde was evaluated in the same media. Results have shown that the corrosion activity of *Desulfotomaculum* sp. was changed due to the several factors such as bacterial metabolites, ferrous sulfide, hydrogen sulfide, iron phosphide, and cathodic depolarization effect.

2007, 124 pages

Key Words: Microbial corrosion, sulfate reducing bacteria (SRB), mass loss, scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive X-ray spectra (EDS), Tafel extrapolation, biocide

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde yardım ve desteğini benden esirgemeyen ve araştırmalarımın her aşamasında beni destekleyen ve yönlendiren danışmanım Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ'e, elektrokimyasal deneylerimin her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek çalışmalarımı yönlendiren Prof. Dr. Semra BİLGİÇ'e, tez çalışmasındaki katkı ve desteklerinden dolayı Prof. Dr. Mustafa AKÇELİK'e, anaerobik çalışma teknikleri konusunda kendisinden çok bilgi edindiğim Prof. Dr. Sedat DÖNMEZ'e, tezimde kullandığım petrol örneklerinin alımında yardımcı olan TPAO personeline, çalışmalarımı destekleyen tüm arkadaşlarıma ve çalışmalarım süresince maddi manevi desteklerini esirgemeyen değerli aileme en derin duygularla teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Proje No: 2005-165 ile desteklenmiştir. TÜBİTAK/BİDEB tarafından yurt içi doktora bursu desteği alınmıştır.

Demet ÇETİN
Ankara, Ekim 2007

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
TEŞEKKÜR ..... **iii**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. KURAMSAL TEMELLER **3**
2.1 Korozyon Tanımı **3**
2.2 Korozyon Çeşitleri **4**
2.2.1 Genel (üniform) korozyon **5**
2.2.2 Çatlak korozyonu **6**
2.2.3 Çukurcuk korozyonu **6**
2.2.4 Çevresel koşullara bağlı korozyon kırılması **6**
2.2.5 Galvanik korozyon **7**
2.2.6 Erozyonlu korozyon (Akış hızlandırıcı korozyon) **7**
2.2.7 Aşınmalı korozyon **8**
2.2.8 Atmosferik korozyon **8**
2.2.9 Seçimli korozyon **8**
2.2.10 Taneler arası korozyon **8**
2.2.11 Mikrobiyel korozyon **9**
2.3 Mikrobiyel Korozyonu Belirleme ve Hızını Ölçme Yöntemleri **9**
2.3.1 Mikroskopi **9**
2.3.2 Spektroskopi **10**
2.3.3 Kütle kaybı yöntemi **10**
2.3.4 Elektrokimyasal yöntemler **11**
2.3.4.1 Korozyon potansiyeli **13**
2.3.4.2 Korozyona uğrayan metallerin polarizasyon davranışı **15**
2.3.4.3 Tafel ekstrapolasyon yöntemi **15**
2.3.4.4 Lineer polarizasyon (polarizasyon direnci yöntemi) **16**
2.3.4.5 Alternatif akım empedans ölçümü **18**
2.3.4.6 Elektrokimyasal gürültü ölçümleri **19**
2.4 Mikrobiyel Korozyon Oluşumunda Sülfat İndirgeyen Bakteriler ve Biyofilmlerin Rolü **19**
2.5 Sülfat İndirgeyen Bakteriler **33**
2.5.1 Habitatları **36**
2.5.2 Geliştirme teknikleri **36**
2.5.3 Sülfat indirgenmesinin biyokimyası **37**
2.6 Mikrobiyel Korozyonun Engellenmesi ve Kontrolü **39**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **49**
3.1 Örnek Alımı **49**
3.2 Besiyeri Hazırlanması **51**
3.3 İzolasyon **53**
3.4 İzolatların Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İle İncelenmesi **54**
3.5 İzolatların Karakterizasyonu **54**

3.6 İzolatların Neden Olduğu Korozyonun Kütle Kaybı Yöntemiyle Belirlenmesi 55
3.7 Çelik Kuponlardaki Korozyonun Stereo Mikroskop ve SEM ile Görüntülenmesi 55
3.8 İzolatların Neden Olduğu Korozyona Biyositlerin Etkisinin Kütle Kaybı Yöntemiyle Belirlenmesi 56
3.9 Elektrokimyasal Korozyon Ölçümleri 57
3.10 Çelik Örneğinin Korozyonuna Demir Konsantrasyonunun Etkisinin Elektrokimyasal Yöntemle Belirlenmesi 59
3.11 Çelik Örneğinin Korozyonuna Biyosit Etkisinin Elektrokimyasal Yöntemle Belirlenmesi 59
4. ARAŞTIRMA BULGULARI 61
4.1 SRB İzolasyonu 61
4.2 İzolatların Karakterizasyonu 69
4.3 İzolatların Neden Olduğu Korozyonun Kütle Kaybı Yöntemiyle Belirlenmesi 72
4.4 Çelik Kuponlardaki Korozyonun Stereo Mikroskop ve SEM ile Görüntülenmesi 73
4.5 İzolatların Neden Olduğu Korozyona Biyositlerin Etkisinin Kütle Kaybı Yöntemiyle Belirlenmesi 84
4.6 Elektrokimyasal Korozyon Ölçümleri 88
4.6.1 Çelik örneğinin korozyonuna demir konsantrasyonunun etkisinin elektrokimyasal yöntemle belirlenmesi 88
4.6.2 Çelik örneğinin korozyonuna biyosit etkisinin elektrokimyasal yöntemle belirlenmesi 91
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 98
KAYNAKLAR 105
ÖZGEÇMİŞ 112

SİMGELER DİZİNİ

SCE	Doygun kalomel elektrot
EDAX	Enerji dispersif X-ışınları analizi
g	Gram
g/L	Gram/litre
L	Litre
I_{kor}	Korozyon akım yoğunluğu
E_{kor}	Korozyon potansiyeli
µA	Mikroamper
$\mu A/cm^2$	Mikroamper/santimetrekare
µm	Mikrometre
mg	Miligram
mg/L	Miligram/litre
$mg.\ cm^{-2}.saat^{-1}$	Miligram/santimetre kare. saat
mL	Mililitre
mV	Milivolt
°C	Santigrad derece
SRB	Sülfat indirgeyen bakteriler

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Korozyonda meydana gelen olayların şematik gösterimi (Tiller 1983'dan değiştirilmiş) 4
Şekil 2.2 En çok rastlanan korozyon tipleri (Schweitzer 1996) 5
Şekil 2.3 MIC testinde kullanılan bir korozyon test hücresi (Antony *et al.* 2007)..... 12
Şekil 2.4 MIC testinde kullanılan düzeneğin şematik gösterimi (Moon *et al.* 2007)..... 12
Şekil 2.5 Çözeltideki bir metalin potansiyostat kullanılarak polarizasyon eğrisinin belirlenmesi için kullanılan düzenek (http://www.npl.co.uk/lmm/docs/the_electrochemistry_of_corrosion_with_figures.pdf, 2007) 14
Şekil 2.6 Asidik bir çözeltide korozyona uğrayan bir metal için log akım yoğunluğu ile potansiyel ilişkisini gösteren anodik ve katodik polarizasyon eğrileri (Riggs and Locke 1981, Üneri 2000) 16
Şekil 2.7 Lineer polarizasyon yöntemiyle korozyon hızının belirlenmesinde akım potansiyel eğrisi (http://www.corrosion-doctors.org/Electrochem/linear.htm, 2007)..... 17
Şekil 2.8 Metal çözelti ara yüzeyinin eşdeğer devresi..... 18
Şekil 2.9 Mikroorganizmanın yüzeye tutunması (Stoecker 2001) 20
Şekil 2.10 Biyofilm ve çukur (pit) oluşumu (Stoecker 2001'den değiştirilmiştir)..... 21
Şekil 2.11 Biyofilm ve çukurun genişlemesi (Stoecker 2001'den değiştirilmiştir) 22
Şekil 2.12 Hidrojenazların mikrobiyel korozyondaki rolü (Bryant and Laishley 1990)..... 24
Şekil 2.13 Karbon çeliğinin anoksik ortamda biyokorozyonunun biyoelektrokimyasal açıklaması (Videla and Herrera 2005)..... 26
Şekil 2.14 Asimilatif ve dissimilatif sülfat redüksiyon mekanizmaları (Madigan *et al.* 1997)..... 38
Şekil 2.15 Sülfat indirgeyen bakterilerde elektron taşıma sistemi ve proton ittirici güç oluşumu (Madigan *et al.* 1997) 39
Şekil 3.1.a. Adıyaman Bölgesi Akgün 4 kuyusu, b. Beşikli T1 üretim tankı 49
Şekil 3.2.a. Anaerobik kabin, b. anaerobik jar 53
Şekil 3.3 Deneylerde kullanılan potansiyostat düzeneği 57
Şekil 3.4 Deneylerde kullanılan üç elektrotlu cam hücre. 58
Şekil 4.1 1 A 1 – 1 izolatının elektron mikrografı..... 63
Şekil 4.2 1 A 1 – 2 izolatının elektron mikrografı..... 63
Şekil 4.3 1 A 1 – 3 izolatının elektron mikrografı..... 64
Şekil 4.4 1 A 1 – 4 izolatının elektron mikrografı..... 64
Şekil 4.5 1 A 1 – 5 izolatının elektron mikrografı..... 65
Şekil 4.6 1 A 1 – 6 izolatının elektron mikrografı..... 65
Şekil 4.7 2 A 1 – 1 izolatının elektron mikrografı..... 66
Şekil 4.8 2 A 1 – 2 izolatının elektron mikrografı..... 66
Şekil 4.9 B 2 – 1 izolatının elektron mikrografı..... 67
Şekil 4.10 B 2 – 2 izolatının elektron mikrografı..... 67
Şekil 4.11 B 5 izolatının elektron mikrografı..... 68
Şekil 4.12 B 10 - 1 izolatının elektron mikrografı..... 68
Şekil 4.13 Steril besiortamında 1 ay bekletilmiş çelik kuponların: a. Stereo mikroskop resmi, b.c. SEM mikrografı, d. EDAX spektrumu..... 74

Şekil 4.14 *Desulfotomaculum* sp. No: 2 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun: a.b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu 75
Şekil 4.15 *Desulfovibrio* sp. No: 2 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun: a.b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu 76
Şekil 4.16 *Desulfotomaculum* sp. No: 5 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun: a. Stereo mikroskop resmi, b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu 77
Şekil 4.17 *Desulfotomaculum* sp. No: 6 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun: a.b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu 78
Şekil 4.18 *Desulfotomaculum* sp. No: 7 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun: a.b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu 79
Şekil 4.19 *Desulfotignum* sp. No: 1 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun a.b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu 80
Şekil 4.20 *Desulfotomaculum* sp. No: 5 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmiş çelik kuponların: a. Stereo mikroskop resmi b.c.d. SEM mikrografı. Çift yönlü oklar korozyona uğramış bölgeleri göstermektedir.. 81
Şekil 4.21 *Desulfotomaculum* sp. No: 2 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmiş çelik kuponların: a. Stereo mikroskop resmi, b.c.d. SEM mikrografı 82
Şekil 4.22 *Desulfovibrio* sp. No: 2 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmiş çelik kuponların: a. Stereo mikroskop resmi, b.c.d. SEM mikrografı 83
Şekil 4.23 Düşük alaşım çeliğinin bakterisiz ortamda, farklı $FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonlarında polarizasyon eğrileri 88
Şekil 4.24 Düşük alaşım çeliğinin *Desulfotomaculum* sp. No: 5 bulunan ortamda 1 gün inkübasyon süresi sonunda, farklı $FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonlarında polarizasyon eğrileri 89
Şekil 4.25 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamına 50 mg/L formaldehit (FA) ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinden sonra elde edilen polarizasyon eğrileri 92
Şekil 4.26 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamına 50 mg/L gluteraldehit (GA) ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinden sonra elde edilen polarizasyon eğrileri 93
Şekil 4.27 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamına *Desulfotomaculum* sp. No: 5 ve 1 gün sonra formaldehit (FA) eklenmesinden sonra elde edilen polarizasyon eğrileri 95
Şekil 4.28 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamına *Desulfotomaculum* sp. No: 5 ve 1 gün sonra gluteraldehit (GA) eklenmesinden sonra elde edilen polarizasyon eğrileri 96

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Grup I Sülfat indirgeyenler: asetat dışındaki maddeleri okside edenlerin özellikleri (Madigan *et al.* 1997, Castro *et al.* 2000, Horikoshi and Grant 1998) 35
Çizelge 2.2 Grup II Sülfat indirgeyenler: asetat okside edenler (Madigan *et al.* 1997, Castro *et al.* 2000) 35
Çizelge 2.3 Endüstride yaygın kullanılan biyositler (Videla 2002, Videla and Herrera 2005) 40
Çizelge 3.1 Batman'dan örnek alınan bölgeler 50
Çizelge 3.2 Adıyamandan örnek alınan bölgeler 50
Çizelge 3.3 Kullanılan çeliğin bileşimi 58
Çizelge 4.1 SRB laktatlı besiyerinde (63) gelişen izolatlar 61
Çizelge 4.2 SRB asetatlı pürüvatlı besiyerinde (63 AP) gelişen izolatlar 62
Çizelge 4.3 İzolatların özellikleri ve belirlenen cins adları 69
Çizelge 4.4 İzolatların kütle kaybı yöntemiyle belirlenen korozyon hızları 73
Çizelge 4.5 *Desulfotomaculum* sp. No: 7 gelişimine formaldehit (FA) ve gluteraldehitin (GA) etkisi 84
Çizelge 4.6 Çelik kupon içeren ortamda *Desulfotomaculum* sp. No: 7 gelişimine formaldehit (FA) ve gluteraldehitin (GA) etkisi 85
Çizelge 4.7 Biyositsiz ortamda *Desulfotomaculum* sp. No: 7 gelişimine çelik kuponun etkisi 85
Çizelge 4.8 Formaldehit (FA) ve çelik kupon içeren ortamda mikroorganizma gelişimi 86
Çizelge 4.9 Gluteraldehit (GA) ve çelik kupon içeren ortamda mikroorganizma gelişimi 86
Çizelge 4.10 Formaldehitli (FA) ve Gluteraldehitli (GA) çelik kuponlu ortamda korozyon hızları 87
Çizelge 4.11 Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri 89
Çizelge 4.12 Farklı $FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonlarında *Desulfotomaculum* sp. No: 5 hücre sayısındaki değişim 91
Çizelge 4.13 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamında formaldehit (FA) ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinin, E_{kor} ve I_{kor} üzerine etkisi 92
Çizelge 4.14 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamında gluteraldehit (GA) ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinin E_{kor} ve I_{kor} üzerine etkisi 94
Çizelge 4.15 Besi ortamına *Desulfotomaculum* sp. No: 5 ve formaldehit (FA) eklenmesiyle belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri 95
Çizelge 4.16 Besi ortamına *Desulfotomaculum* sp. No: 5 ve gluteraldehit (GA) eklenmesiyle belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri 97

1. GİRİŞ

Korozyon, metal ve alaşımların çevrelerindeki ortamla kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyonlara girerek değişime uğraması sonucunda dayanıklılığının azalması olarak tanımlanmaktadır. Korozyon genellikle otomobillerde, ev gereçlerinde, binalarda, gemilerde, petrol tankerlerinde, kimyasal madde üreten fabrikalarda ve benzeri yerlerde görülmektedir. Korozyon, ham petrol depolama ve taşıma tesislerinde büyük problemlere neden olmaktadır. Yeraltında bulunan boru hatları, yeraltı ve yer üstü ham petrol depoları ve birçok makine parçası korozyon tehlikesi ile karşı karşıyadır.

Petrol yapısında içerdiği doğal emülsiyon yapıcı bileşenleri nedeniyle su ile birlikte üretilmektedir. Formasyon suyu olarak tanımlanan sular yüksek miktarlarda olup yeraltına, seçilen enjeksiyon kuyuları aracılığı ile tekrar enjekte edilmektedir. Atık suyu olarak adlandırılan bu sular genellikle yüksek miktarda çözünmüş inorganik maddeler içermektedir. Özellikle sülfatça zengin deniz sularının petrol çıkarılması için enjeksiyonu sülfat indirgeyen bakterilerin (SRB) gelişimini de arttırır. Son yıllarda hidrokarbonların, karbon ve enerji kaynağı olarak oksijensiz koşullarda sülfat indirgeyen bakterilerce kullanıldığı gösterilmiştir. Mikrobiyel aktivite de metallerin korozyon hızını arttırabilir. Özellikle *Desulfovibrio* gibi SRB türleri ham petrolün bileşimindeki çeşitli alkanları, alkilbenzenleri okside ederek ve sülfatı indirgeyerek CO_2 ile toksik ve korozif H_2S üreterek mikrobiyel korozyona yol açmaktadır. Ayrıca SRB'lerin katodik reaksiyonları sonucu, FeS ve $Fe(OH)_2$ gibi korozyon ürünleri oluşmakta ve önemli ekonomik zararlara neden olmaktadır.

Korozyon sonucu meydana gelen hasarın tamiri için geçen sürede tesisin devre dışı kalması, depo, boru vs. delindiğinde ürünün dışarı akması veya korozyona sebep olan mikroorganizmaların üretilen ürünü karbon ve enerji kaynağı olarak kullanıp kalitesini düşürmesi, çözünen korozyon ürünlerinin üretilen malzemeye karışması, korozyonu önlemek için daha kalın ve pahalı malzemelerin ve kaplamaların kullanımı, katodik koruma yapılması, mikroorganizma sayılarının belli değerler altında tutulması için biyositlerin kullanımı ile maliyetin artması korozyon kayıpları arasında yer alır.

Günümüzde son derece önemli bir konu olan ancak uygulamada yeteri kadar üzerinde durulmayan korozyon kontrolü, endüstriyel yatırım ve üretim maliyetlerini etkileyen en önemli faktörler arasında yer almaktadır. Korozyon nedeni ile ülkelerin uğradıkları malzeme, enerji, emek ve bilgi kaybının yıllık değeri Gayri Safi Milli Gelir'in % 3,5 ile % 5'i düzeyindedir. Ülkemiz için bu amaçla çok ayrıntılı bir çalışma yapılmamış olmakla birlikte bu kaybın % 4,5 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Çakır 1994). Bu ise yılda yaklaşık 2,5 milyar dolarlık bir kayıp demektir. Botaş'ın 2004 yılı yatırım faaliyetlerinde, ham petrol tesislerindeki korozyona yönelik çalışmalar için, 2001–2004 yılları arasında 12909 milyar TL ayrıldığı görülmektedir (http:// www.botas.gov.tr/yatirim/yatirimtablolari.asp, 2007). Dünyada korozyon kayıplarının yıllık maliyeti milyarlarca dolardır.

Özellikle Adıyaman ve Batman Petrol üretim tesislerinde görülen korozyonla, etkin ve kapsamlı bir mücadeleye katkıda bulunmak amacıyla amacıyla planlanan bu tezin ilk aşamasında, Türkiye Petrolleri Anonim Ortaklığı (TPAO)'nın petrol arama sahalarından alınan örneklerinden uygun besiyerleri kullanılarak farklı özelliklerdeki SRB'ler izole edilmiştir. Elde edilen saf kültürlerden yüksek korozyon aktivitesi gösteren suşlar belirlenerek, mikroskobik incelemeler ve biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanması yapılmıştır. Yüksek korozyon aktivitesi gösteren suşların korozif etkileri kütle kaybı ve elektrokimyasal polorizasyon yöntemiyle belirlenmiştir. Ülkemizde ham petrol depolama ve taşıma tesislerinde kullanılan düşük alaşım çeliğinden hazırlanmış kuponlarda taramalı elektron mikroskobu incelemeleri ve enerji dağıtıcı X-ışını analizleri yapılmıştır. Korozyon hızına ortamın demir ve biyosit (formaldehit ve gluteraldehit) konsantrasyonunun etkisi Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenmiştir.

Özetle, yapılan tez çalışması petrol üretim sahalarında önemli ekonomik kayıplara yol açan SRB'lerin korozyon hızının ve mekanizmasının belirlenmesi ile korozyon hızını azaltarak kayıpları önleyecek etkin biyositlerin seçilmesini amaçlamaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Korozyon Tanımı

Korozyon, metal ve alaşımlarının çevrelerindeki ortamla kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyonlara girerek değişime uğraması veya dayanıklılığının azalması olarak tanımlanmaktadır. Korozyon genellikle otomobillerde, ev gereçlerinde, binalarda, gemilerde, petrol tankerlerinde, kimyasal madde üreten fabrikalarda ve benzeri yerlerde görülmektedir.

Metal korozyonu elektrokimyasal bir işlemdir. Metal anodik bölgede okside olur ve metal çözünerek yüzeyden ayrılır (Hamilton 2003, Coetser and Cloete 2005).

$$M \rightarrow M^{+n} + ne^{-}$$

Metal yükseltgenmesinden açığa çıkan elektronlar katodik bölgede metal yüzeyi ile temasta olan ortamdaki bir maddeyi indirgerler. Metalin temas ettiği ortam özelliklerine göre değişik indirgenme reaksiyonları meydana gelebilir.

$2H^{+} + 2e^{-} \rightarrow H_2$ (asidik çözeltilerde)

$O_2 + 4H^{+} + 4e^{-} \rightarrow 2H_2O$ (asidik ve oksijen bulunan ortamda)

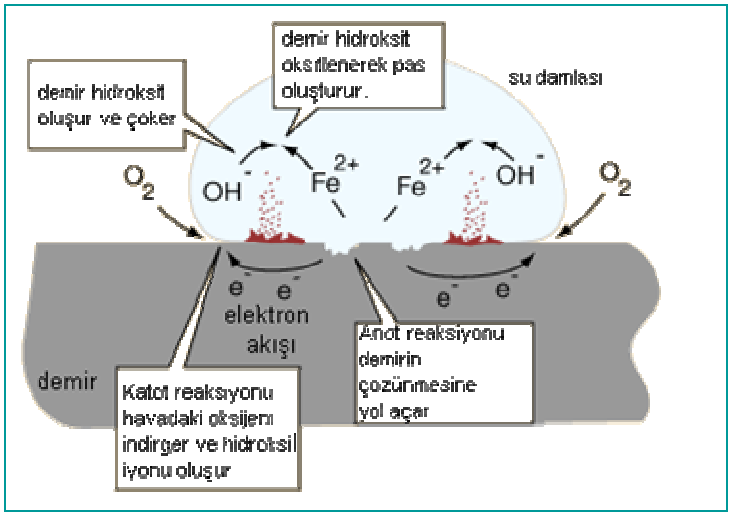
$O_2 + 2H_2O + 4e^{-} \rightarrow 4(OH^{-})$ (nötral ve oksijen bulunan ortamda)

Ortamda başka bir metal bulunuyorsa, elektron değerliği düşebilir veya nötral duruma indirgenebilir.

$$M^{+n} + e^{-} \rightarrow M^{+(n-1)}$$

$$M^{+n} + ne^{-} \rightarrow M$$

Şekil 2.1'de demirin şematik korozyonu gösterilmiştir. Demir demir $^{+2}$ formuna geçerken elektronları havadaki oksijen ve su ile reaksiyona girmekte ve hidroksil oluşmaktadır.



Şekil 2.1 Korozyonda meydana gelen olayların şematik gösterimi (Tiller 1983'dan değiştirilmiş)

Oluşan hidroksil çözünmüş haldeki Fe^{+2} ile birleşerek demir hidroksit ve daha sonra pas oluşumuna neden olmaktadır.

$$Fe + ½\ O_2 + H_2O \rightarrow Fe^{+2} + 2\ OH^- \rightarrow Fe(OH)_2$$

$$2Fe(OH)_2 + ½\ O_2 + H_2O \rightarrow 2\ Fe(OH)_3 \quad \text{(pas)}$$

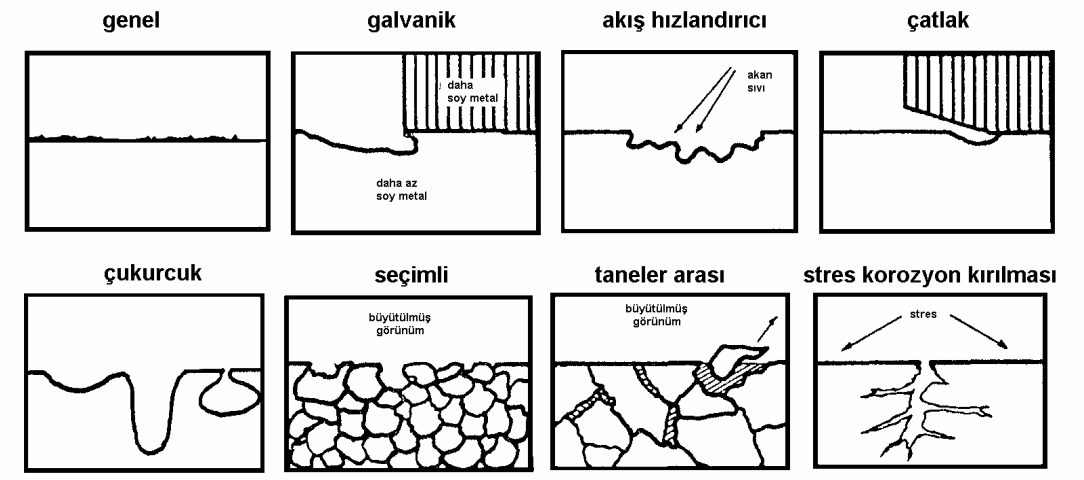
2.2 Korozyon Çeşitleri

Korozyon zararı çevre şartlarına, metal bileşimine ve ortamdaki gerilime bağlı olarak değişik şekillerde (Şekil 2.2) olabilir (Doruk 1982, Brasunas 1984, Schweitzer 1996, Revie 2000).

2.2.1 Genel (üniform) korozyon

Genel korozyon veya düzenli korozyon temas eden tüm yüzeyde eşit hızda ilerleyen korozyon ile karakterize edilir. Genel korozyonda, metal çözünmesi (anodik reaksiyon) ve onu dengeleyen çözünmüş oksijenin veya hidrojenin indirgenmesi reaksiyonu (katodik reaksiyon) metal yüzeyinde özel bölgelerde gerçekleşir (Schweitzer 1996).

Metal üzerinde doğal olarak bulunan koruyucu oksit filmi korozif bir ortamda tamamen çözündüğü veya zayıf olarak yapıştığı ve koruyucu olmadığı zaman gerçekleşir. Paslanmaz çelik, nikel içeren alaşımlar, titanyum gibi metal ve alaşımlar için oksit filmi stabildir ve nötr çözeltilerde koruyucudur. Metal bu durumda pasiftir ve koruyucu oksit filmi pasif film olarak adlandırılır. Metal ve alaşımların üzerindeki pasif filmlerin çözünürlüğü asit veya alkali çözeltilerde artabilir. Koruyucu oksit film olmadığı zaman metal direk olarak çözeltiyle temas eder ve tüm yüzeyde önemli oranda korozyona uğrar. Bu durumda metal yüzeyi pas gibi bir korozyon ürünü ile kaplanabilir. Bu konumdaki metal aktif durumda olarak tarif edilir (Brasunas 1984).



Şekil 2.2 En çok rastlanan korozyon tipleri (Schweitzer 1996)

2.2.2 Çatlak korozyonu

Çatlak korozyonu koruyucu film parçalandığında gerçekleşir. Bu filmlerin bölgesel parçalanması ile beraber katodik reaksiyonların da gerçekleşmesi, hızlanmış çatlak korozyonuna yol açar. Pasif filmlerin koruyuculuğu, nötr sulu ortamda eğer (Cl^- gibi) korozif bir anyon varsa olumsuz etkilenir. Bu anyonlar çözeltinin karıştırılamadığı bölgelerde, örneğin bağlantı yerlerindeki çatlaklarda yoğunlaşabilir. Çatlak ile çözelti arasında kısıtlanmış kütle değişimi başlıca katodik reaksiyonunun, yani oksijenin indirgenmesinin çatlak dışında gerçekleşmesine sebep olur. Aynı zamanda pasif filmdeki küçük bir çözünme akımı Cl^- iyonlarının metal katyonlarının yükünü dengelemek için çatlağın içine doğru hareket etmesine yol açar. Bu durum konsantre metal tuz çözeltisinin artması ve metal katyonların hidrolizi ile pH'ın asidik değerlere gitmesiyle sonuçlanır. Koruyucu oksit filmin çözünmesi devam edebilir, bunu çatlak korozyonu izler (Revie 2000).

2.2.3 Çukurcuk korozyonu

Çukurcuk korozyonu, metal yüzeyindeki koruyucu filmin parçalanmasıyla ve yüzeyde çok küçük bir noktada çukur oluşumu ile başlamaktadır. İlerleyen safhalarda derin ince bir delik olarak gözlenir. Çukurcuk korozyonu oldukça zarar verici olabilir. Toplam metal kaybı fazla olmasa da oluşan deliklerin derinliği böyle bir zarara yol açabilir (Doruk 1982).

2.2.4 Çevresel koşullara bağlı korozyon kırılması

Çevresel koşullara bağlı kırılma terimi gerilim korozyon kırılması ve hidrojen gevretmesini içine alan bir terimdir. Bu tip kırılmanın sonuçları oldukça yıkıcı olabilir. Çünkü bu durumda yapının bütünlüğü bozulur. Gerilim korozyon kırılması özel bir

ortam ve uygulanan basıncın sonucunda oluşan kırılmayı tanımlar. Basınç içerden veya dışardan uygulanıyor olabilir. Hidrojen gevretmesi girinti, çıkıntı, eklenti yerleri gibi mikroyapısal bölgelere toplanan hidrojen atomlarının adsorbsiyonu ile oluşur. Adsorbe olan hidrojen atomları korozyon, galvanik birleşme veya katodik koruma ile oluşabilir. Atomlar moleküler hale dönüşerek hacim artışına ve basınca neden olabilir. Kırılma, bölgedeki hidrojen atomu konsantrasyonuna, basınca ve hassas bir mikro yapının olmasına bağlı olarak gelişebilir (Revie 2000).

2.2.5 Galvanik korozyon

Farklı metaller iletken bir çözeltiye daldırılıp birleştirilirse, metal iyonlarının taşınmasından dolayı yüzeylerinde farklı voltajlar (korozyon potansiyeli) üretirler ve beraberinde elektronlar açığa çıkar. Metallerin biri soy metal ise (korozyon potansiyeli daha pozitif ise) daha az soy olan diğer metalin elektrot potansiyeli, alan oranına ve çözeltinin iletkenliğine bağlı olarak artar. Daha az soy olan metal aktif durumda ise, hızlanmış genel korozyon oluşur, metal pasif durumda ise lokal korozyon meydana gelir. Galvanik korozyon daha soy olan metalin daha az soy olan metale göre alan oranını sınırlayarak düşürülebilir. Ancak galvanik korozyonla mücadele etmek için inhibitör kullanılması gerekli olan pek çok karşık metal sistemleri vardır (Revie 2000).

2.2.6 Erozyonlu korozyon (Akış hızlandırıcı korozyon)

Akış korozyon hızında önemli bir etkiye sahiptir. Aktif durumdaki metaller için akış hızlandırıcı korozyon, yüzeye katodik tepkiyenlerin hızlı bir şekilde sağlanması veya korozyon ürünlerinin uzaklaştırılması demektir. Karışık ve hızlı akan sıvıda eğer tanecikli maddeler varsa ya da yüzey düzensiz ise, korozyon ürünü tabakaları veya engelleyici filmlerde bölgesel film parçalanmaları ve korozyon erozyonu görülebilir (Schweitzer 1996).

2.2.7 Aşınmalı korozyon

Birbirleri üzerinde ileri geri hareket eden ve sürtünen metal yüzeylerinde aşınma görülür ve bu da korozyon hızını arttırmaktadır. Yüzeyler arası temasın azaltılması ve yağ kullanımı gibi önlemlerle korozyon engellenebilir (Doruk 1982).

2.2.8 Atmosferik korozyon

Metaller dış ortamda bırakıldığında yağmur ve yoğunlaşma sonucunda nemli ve kuru hava döngüsünde korozyona uğrayabilirler. Eğer havada sülfür dioksit veya klorür varsa korozyon gücü artar. Atmosferik korozyonun kontrolünde, açık sistemlerde inhibitör kaplamalar, yağlar, su itici sıvılar, kapalı sistemlerde uçucu korozyon inhibitörleri kullanılabilir. Metal kısımların paketlenmesi ve depolanmasında geçici kaplamalar aynı amaçla yapılan uygulamalardır (Schweitzer 1996).

2.2.9 Seçimli korozyon

Bu tip korozyonda bir alaşımdaki elementlerden biri çevresiyle elektrokimyasal etkileşim sonucu uzaklaştırılmaktadır. Korozyon sonucunda gözenekli ve kırılgan bir metal oluşur (Schweitzer 1996).

2.2.10 Taneler arası korozyon

Metaldeki taneciklerin birbirine değdiği sınırlar korozyona daha açıktır. Tane bütünlüğü bozulmaz ancak taneler arası bağ bozulur. Taneler matriksten ayrılınca gözenekli bir yüzey tabakası oluşur (Schweitzer 1996).

2.2.11 Mikrobiyel korozyon

Korozyon hızının mikroorganizmalarca arttırılması mikrobiyel korozyon, biyokorozyon veya mikrobiyolojik etkiden kaynaklanan korozyon (microbially induced veya influenced corrosion, MIC) olarak tarif edilebilir. Mikroorganizmalar biyofilm oluşturarak, yapışkan maddeler üreterek, altında çatlak korozyonunun gelişmesi için uygun bir ortam olan birikintileri üreterek, metabolik ürünleriyle korozif asidik bir ortam yaratarak, ortama korozyonu engellemek için ilave edilen kimyasalları parçalayarak ve korozyon reaksiyonlarını direkt etkileyerek (katodik veya anodik reaksiyonları hızlandırarak) korozyonu hızlandırırlar (Videla 2001, Videla and Herrera, 2005).

2.3 Mikrobiyel Korozyonu Belirleme ve Hızını Ölçme Yöntemleri

2.3.1 Mikroskopi

Işık mikroskobu biyofilmdeki hücrelerin görülmesi ve sayılması için kullanılmaktadır. Görülen hücrelerin fizyolojik durumları veya aktiviteleri hakkında bilgi vermemekle beraber, floresan boyalar ve hibridizasyon teknikleri ile bakteri sayı ve tipleri belirlenebilmektedir. Malzeme bilimciler taramalı elektron mikroskobunu (SEM) metal yüzeyinin durumunu belirlemek için uzun zamandır kullanmaktadırlar (Hurst 2002). Metal ve alaşımların mikroyapısı, tane sınırları, yabancı maddeler, çukurcuk oluşumu ve genel korozyon bu teknikle görülebilmektedir. Bunların görülebilmesi korozyon ürünleri ve biyofilmin uzaklaştırılması ile mümkün olmaktadır. Biyofilm özelliklerinin ve korozyon ürünlerinin de SEM ile kalitatif olarak incelenmesi mümkündür. Fiksasyon ve kaplama aşamalarında gluteraldehit ve altın kaplamasının kullanımı daha iyi görüntü alınmasını sağlamaktadır. Islak ve kaplanmamış örneklerin incelenmesi için çevresel taramalı elektron mikroskobunu (ESEM), üç boyutlu görüntüleme için konfokal taramalı lazer mikroskobu kullanılmaktadır. Bu tekniklerde kulanılan işaretleme yöntemleriyle bakteri aktivitesindeki değişim takip edilebilmektedir. Atomik kuvvet

mikroskobu atomik çözünürlükte üç boyutlu görüntüler vermekte ve lokalize korozyonun başlangıcı olan, SEM ile belirlenemeyecek kadar küçük çukurların belirlenmesini sağlamaktadır (Hurst 2002).

2.3.2 Spektroskopi

Spektroskopik teknikler özellikle korozyon ürünlerinin bileşiminin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bu tekniklerin bir kaç tanesi kullanılarak sonuçların birleştirilmesiyle yeterli bilgi edinilmektedir. Eğer korozyon ürünlerinin hava ile teması sonucunda okside olma tehlikesi varsa, örneğin eylemsiz bir ortamda kurutulması ve analiz edilmesi gerekir. Enerji dispersif X ışınları analizi (EDAX) SEM'de görülen bir alanda elementel bileşimin belirlenmesi için kullanılabilir. Genel olarak bu yöntemle bir alanın veya belirli bir noktanın analizi yapılabilmektedir. Ancak elementlerin yükseltgenme durumu belirlenememektedir. Bazı durumlarda farklı elementlere ait pikler çakışabilmektedir. Metal yüzeyinde analiz derinliği 0.5-1.0 μm'a ulaşabilmektedir. Elektron mikroprop ve dalgaboyu dispersif spektroskopi (EM/WDS) belirlenmiş bir alanda, elementel bileşimi kantitatif olarak belirlemektedir. Örneğin; bir çukurcuk kesitinde ölçüm yapabilmektedir. Bu yöntem EDAX'dan daha hassastır ve element piklerinin çakışması daha azdır. X ışını difraksiyonu (XRD) kristal korozyon ürünlerinin tanımlandığı bir yöntemdir. Analiz derinliği oldukça fazla olduğu için korozyon ürünleri metal yüzeyinden uzaklaştırılır, parçalanarak toz haline getirilir ve analiz yapılır. Bu şekilde metal bileşiminin analiz sonuçlarını etkilemesi engellenir. Bu yöntemler dışında X ışını fotoemisyon spektroskopisi, Raman spektroskopisi, infrared spektroskopisi gibi yöntemler de analizler için kullanılmaktadır (Hurst 2002).

2.3.3 Kütle kaybı yöntemi

Korozyon kuponlarının kullanımı en eski ve basit korozyon izleme yoludur (Davis 1967). Bunlar dikdörtgen kesilmiş küçük metal parçalarıdır. Sisteme yerleştirilir ve belirli bir süre

sonunda çıkartılırlar. Kupon bekleme süresi olarak en az 30 gün geçmesi tavsiye edilmektedir. Test edilecek sistemde farklı noktalarda (boru duvarlarında, kıvrılma bölgelerinde veya merkezde) sıvı akış hızı, konsantrasyon gibi koşular birbirinden farklı olacağından korozyon hızı farklı ölçülebilir. Aynı bölgeden farklı zamanlarda yapılacak ölçümlerle daha doğru değerlere ulaşılabilir (Schweitzer 1996).

Kuponlar mikroskobik incelemeler için kullanılabildiği gibi, kütle kaybı yöntemiyle korozyon hızının belirlenmesi için de kullanılabilir. Korozyon hızının belirlenmesi için, kupon korozyondan önce ve korozyon ortamında belli bir süre bırakıldıktan sonra (korozyon ürünleri ve birikintiler temizlenerek) tartılır (Schweitzer 1996). Korozyon hızı kütle kaybı, kuponun başlangıçtaki yüzey alanı, ve korozyon süresi kullanılarak aşağıdaki denklemden hesaplanır (Tang *et al.* 2003).

$$V = \frac{m_1 - m_2}{S \times t}$$

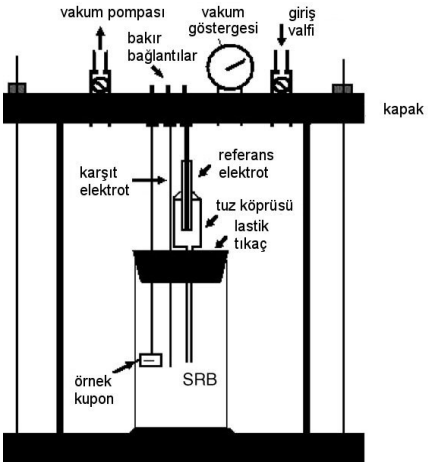
V: korozyon hızı ($mg.cm^{-2}.saat^{-1}$)
m_1: örneğin korozyondan önceki kütlesi (mg)
m_2: örneğin korozyondan sonraki kütlesi (mg)
S: örneğin toplam yüzey alanı (cm^2)
t: korozyon süresi (saat)

Korozyon hızı değişik şekilde de ifade edilebilir (Bryant *et al.* 1991):
Korozyon hızı (mm/yıl: korozyon derinliği) = MPY (miliinç/yıl) x 0.0254
MPY = [534.6 x 1,000 x kütle kaybı (g)] / [çeliğin yoğunluğu (g/cm^3) x örneğin toplam yüzey alanı ($inç^2$) x korozyon süresi (saat)].

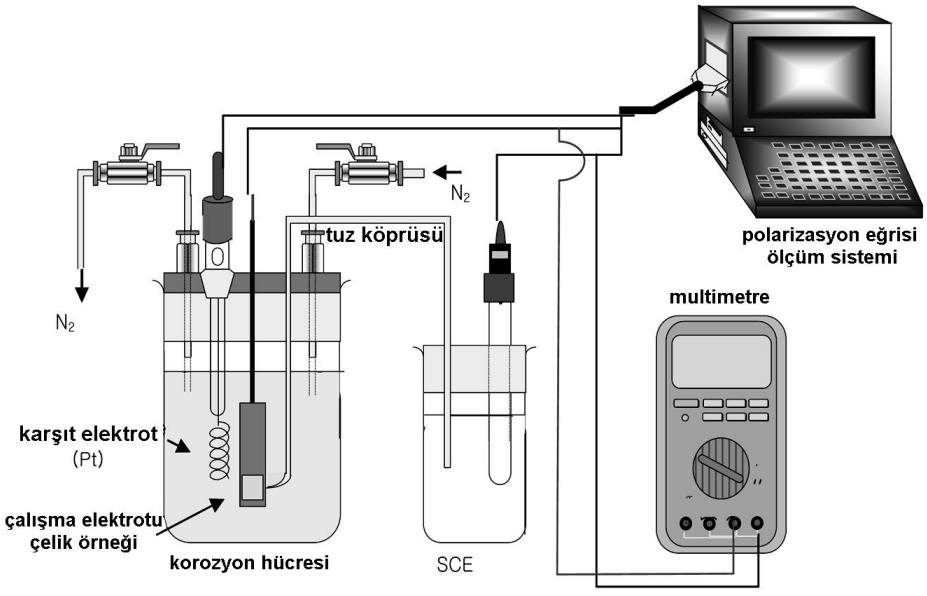
2.3.4 Elektrokimyasal yöntemler

Daha önce belirtildiği gibi korozyon, metalin yükseltgendiği ve çözünerek iyonlar halinde anodik bölgede çevreye salındığı elektrokimyasal bir işlemdir. Metal yükseltgenmesinden gelen elektronlar metal yüzeyinde hareket ederek katodik bölgedeki bir tepkiyeni indirgerler (Hurst, 2002). Bakteriler korozyonun elektrokimyasal mekanizmasını oluşturan katodik ve anodik yarı hücre reaksiyonlarının

hızını etkileyebilirler. Bu reaksiyonların elektrokimyasal reaksiyonlar olması sebebiyle bunları ölçmek için elektrokimyasal yöntemler geliştirilmiştir. Ancak genellikle uygulanan elektrokimyasal testler bakteriyel korozyon için uygun olmayabilir. Kullanılan aşındırıcı veya yakıcı ortamlar yanında steril koşulların sağlanamaması da problem yaratır. Buna karşılık mikroorganizma gelişimine uygun ve steril koşullar sağlanarak da başarılı ölçümler alınabilmektedir. Şekil 2.3 ve Şekil 2.4'de Antony *et al.* (2007) ve Moon *et al.* (2007) tarafından kullanılan düzenekler görülmektedir.



Şekil 2.3 MIC testinde kullanılan bir korozyon test hücresi (Antony *et al.* 2007)



Şekil 2.4 MIC testinde kullanılan düzeneğin şematik gösterimi (Moon *et al.* 2007)

2.3.4.1 Korozyon potansiyeli

Korozyon potansiyeli korozif bir ortama daldırılmış bir metal ile uygun bir referans elektrot arasındaki potansiyel farkını belirleyerek ölçülebilir (Brasunas 1984).

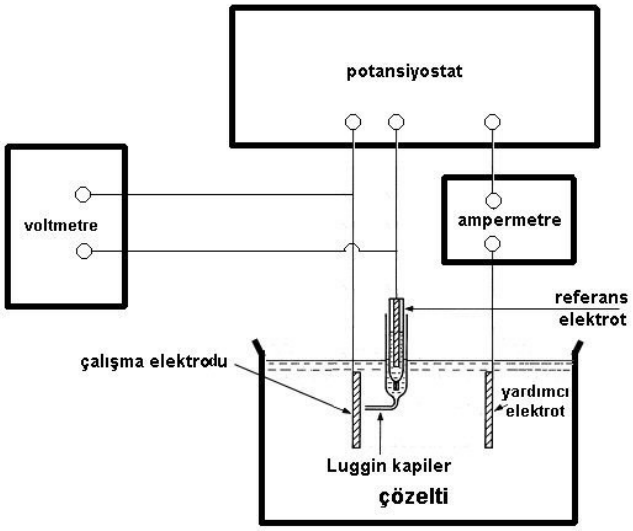
Referans elektrot çözeltide sabit ve tekrarlanabilir potansiyel verecek ve kendisi polarize olmayacak şekilde seçilir. En çok kullanılan referans elektrot doygun kalomel elektrotdur. Bu elektrot civa klorür pastasıyla çevrilmiş cıva ve klorür çözeltisinde civa içerir. Potansiyel, klorür iyonlarının konsantrasyonuna bağlıdır. Bu bakımdan doygun potasyum klorür çözeltisi kullanılır, çünkü test çözeltisi ile hücredeki referans elektrot içindeki çözelti arasında potansiyel atlamalarını en aza indirir. Test çözeltisi ile kalomel elektrodun içindeki doygun potasyum klorür arasındaki temas gözenekli seramik bir tıkaç aracılığıyla olur. Bu tıkaç iki çözeltinin karışmasını en aza indirir. Hücredeki potansiyel farkı metalin test çözeltisinde doygun kalomel elektroda karşı potansiyelini verir (Üneri 2000, http://www.npl.co.uk/lmm/docs/the_electrochemistry_of_corrosion_with_figures.pdf, 2007).

Korozyona uğrayan metallerin potansiyelini ölçmekte kullanılan bir başka referans elektrot ise gümüş/gümüş klorür elektrodudur. Klorür çözeltisi içinde gümüş klorürle kaplanmış gümüş bir telden oluşur. Bu elektrot genellikle deniz suyunda kullanılır. Metallerin topraktaki potansiyellerini ölçmek için bakır/bakır sülfat elektrotları da referans olarak kullanılmaktadır. Bu elektrot doygun bakır sülfat çözeltisi içinde bakır çubuktan oluşur (Brasunas 1984).

Çözeltide direnç nedeniyle oluşan herhangi bir potansiyel düşüşünün etkisini ölçülen potansiyelde azaltmak için referans elektrodu ucu Luggin adı verilen ince bir delikle sonlanan bir kapiler ile çözeltiyle temas eder. Bu delik akım geçişini engellemeyecek biçimde çalışma elektroduna elektrot çapının iki katı kadar bir uzaklıkta olacak şekilde yerleştirilir.

Çalışma elektrodunun potansiyel akım ilişkisi üç yolla belirlenebilir. Galvanostatik yöntemde, çalışma elektrodu ile platin yardımcı elektrot arasında bağlanan sürekli akım güç kaynağından sabit akım sağlanır. Yardımcı (karşıt) elektrot, akımı devrede taşımak için kullanılan platin, titanyum gibi iletken malzemelerden yapılan elektrotdur. Çalışma elektrodunda akım geçmesi sonucu oluşan potansiyel değişimi referans elektroda karşı ölçülür. Kulostatik yöntemde bilinen miktarda küçük bir akım denge durumundaki çalışma elektroduna verilir. Aşırı potansiyelin azalma eğrisi analiz için kaydedilir (Yongtao *et al.* 2004).

Potansiyostatik yöntemde çalışma elektrodunun potansiyeli potansiyostat ile sabit bir değerde kontrol edilir (Şekil 2.5). Bu alet uygun akımı çalışma elektroduna geçirmek için geri besleme devresini kullanır. Böylece referans elektroda karşı okunan potansiyel, korozyon reaksiyonunun hızındaki değişimden kaynaklanan akım değişikliklerine bağlı olmaksızın istenen değerde kalır. Potansiyostatik polarizasyon yöntemi, pasifleştirici filmlerin oluşumu ve parçalanması sırasındaki metal davranışının daha yakından izlenebilmesi bakımından avantajlıdır. Bu davranış öncelikle metalin potansiyeline bağlıdır ve sabit potansiyelde akımda büyük değişiklikler olabilir (Üneri 2000).



Şekil 2.5 Çözeltideki bir metalin potansiyostat kullanılarak polarizasyon eğrisinin belirlenmesi için kullanılan düzenek (http://www.npl.co.uk/lmm/docs/the_electrochemistry_of_corrosion_with_figures.pdf, 2007)

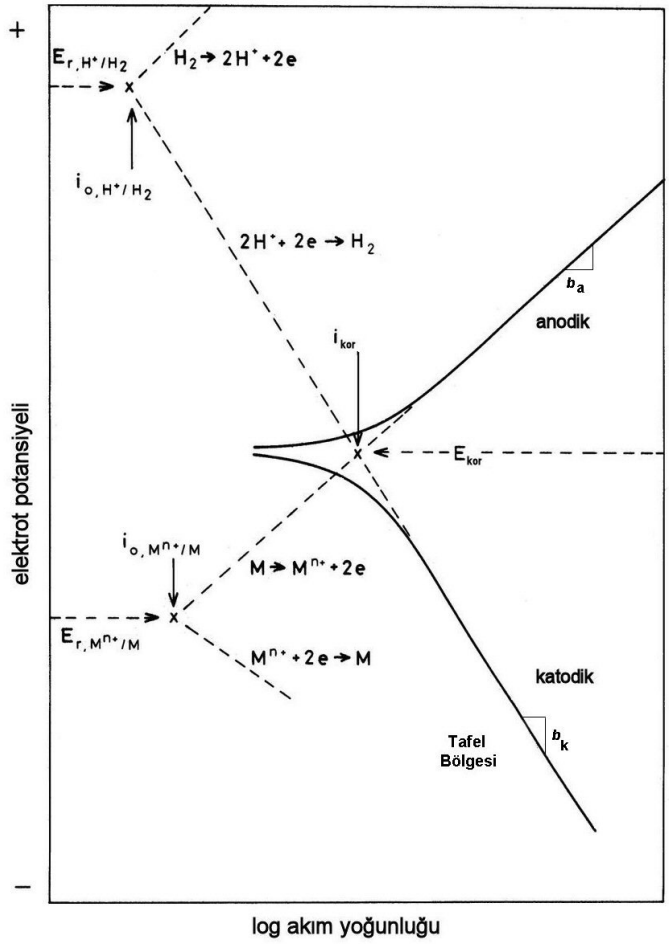
2.3.4.2 Korozyona uğrayan metallerin polarizasyon davranışı

Bir metal elektrot dengede ise anodik ve katodik akımlar (i_a, i_k) eşittir ve net reaksiyon gerçekleşmez. Başka bir deyişle yükseltgenme hızı ile indirgenme hızı eşittir. (anodik reaksiyon hızı yani metalin çözünme hızı, katodik reaksiyon hızına yani hidrojen veya oksijen indirgenme hızına eşittir). Bu eşitlik dışardan bir güç uygulanarak bozulduğunda, metal yüzeyi polarize olur. Metal anodik olarak polarize olabilir (metalden elektronlar uzaklaştırılır ve net anodik akım geçer) veya katodik olarak polarize olabilir (elektronlar metale itilir ve net katodik akım geçer). Yani net akım geçen bir elektrot polarize olmuştur (Schweitzer 1996).

2.3.4.3 Tafel ekstrapolasyon yöntemi

Bu yöntemde, korozyona uğrayan metal için anodik ve katodik yönde ölçüm alınarak yarı logaritmik akım yoğunluğu-potansiyel eğrileri deneysel olarak belirlenir (Riggs and Locke 1981, Üneri 2000). Anodik ve katodik Tafel eğrilerinin çizgisel kısımları uzatılarak kesim noktalarından o sistem için korozyon hızı (I_{kor}) ve korozyon potansiyeli (E_{kor}) belirlenebilir (Şekil 2.6).

Bu yöntem yalnız katodik veya yalnız anodik dal için de uygulanabilir. Polarizasyon eğrisinin gözlenen Tafel bölgesi korozyon potansiyeline ekstrapole edildiğinde, burayı korozyon akım yoğunluğu i_{kor} değerini verecek şekilde keser. Sadece E_{kor}'un belirlenmesi korozyon hızı hakkında fazla bilgi vermemektedir. E_{kor} değişimi sistemde mikrobiyolojik değişiklikler olduğunu göstermektedir. Asit metabolitlerin artışı anodik reaksiyon hızını ve E_{kor} ve i_{kor}'u arttırır (Mansfeld and Little 1991, Hurst 2002).

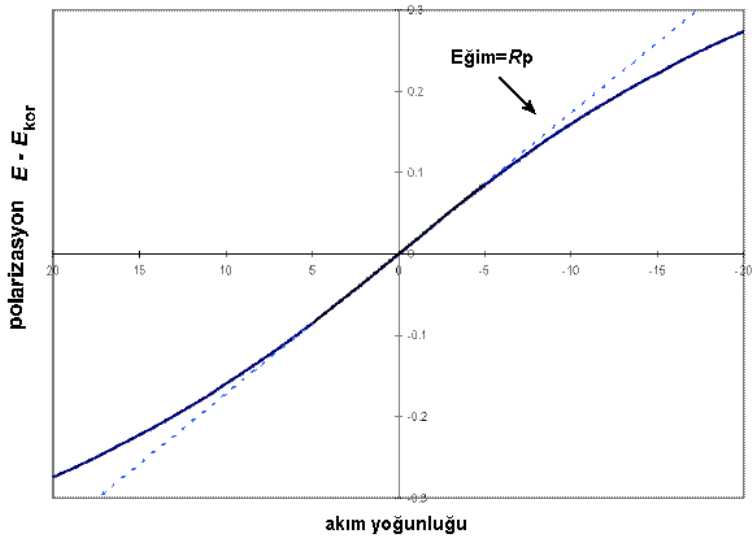


Şekil 2.6 Asidik bir çözeltide korozyona uğrayan bir metal için log akım yoğunluğu ile potansiyel ilişkisini gösteren anodik ve katodik polarizasyon eğrileri (Riggs and Locke 1981, Üneri 2000)

2.3.4.4 Lineer polarizasyon (polarizasyon direnci yöntemi)

Korozyona uğrayan metalin potansiyeli, galvanostatik ya da potansiyostatik polarizasyon ile korozyon potansiyelinden (E_{kor}) farklılaşırsa, potansiyel E, başlangıçta akım yoğunluğunun (birim alandan geçen akım) doğrusal fonksiyonu olur. Bu doğrusal ilişki 10 mV luk bir potansiyel değişiminde geçerlidir. Doğrusal (lineer) polarizasyon eğrisinin eğimi ($\Delta E/\Delta i$) polarizasyon direnci (R_p) olarak adlandırılır (Şekil 2.7). Polarizasyon direnci korozyon akım yoğunluğu ile ifade edilen korozyon hızıyla ters orantılıdır (Stern and Geary 1957)

$$R_p = \frac{\Delta E}{\Delta i} \qquad i_{kor} = \frac{B}{R_p} \qquad B = \frac{b_a \cdot b_k}{2.303 \cdot (b_a + b_k)}$$



Şekil 2.7 Lineer polarizasyon yöntemiyle korozyon hızının belirlenmesinde akım potansiyel eğrisi (http://www.corrosion-doctors.org/Electrochem/linear.htm, 2007)

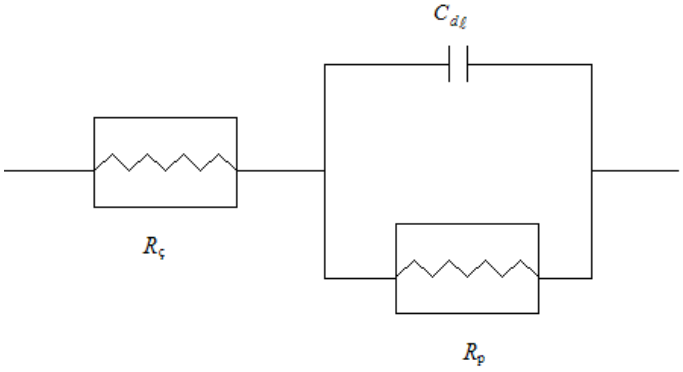
Burada B bir sabittir. Polarizasyon direncinin ölçülmesi metalin anlık korozyon hızının belirlenmesi için kolay bir yoldur. B sabiti kütle kaybı ölçümleri veya elektrokimyasal verilerden belirlenebilir. Anodik ve katodik Tafel eğimleri b_a ve b_k nın ve R_p'nin belirlenmesiyle korozyon hızı hesaplanabilir. Stern-Geary eşitliği:

$$i_{kor} = \frac{b_a \cdot b_k}{2.303 \cdot (b_a + b_k) \cdot R_p}$$

Metalin potansiyelinin korozyon potansiyelinden 10 mV'dan daha büyük bir değişim göstermesi durumunda, polarizasyon eğrisi potansiyel ile akım arasındaki doğrusal ilişkiden sapma gösterir. Bu sapma potansiyelin akım yoğunluğunun logaritmasına doğrusal orantılı olduğu bölgeye kadar devam eder.

2.3.4.5 Alternatif akım empedans ölçümü

Bu yöntemde metal/çözelti ara yüzeyinin elektriksel eşdeğer devresinden yararlanılarak polarizasyon direnci belirlenir (Erbil 1987). Eşdeğer devre Şekil 2.8'de görülmektedir.



Şekil 2.8 Metal çözelti ara yüzeyinin eşdeğer devresi

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) direk akım polarizasyon ölçümlerine frekans boyutunu da getirmiştir. Korozyona uğrayan elektroda küçük, değişken, sinüzoidal, doğrusala yakın aralıkta kontrollü potansiyel sinyalleri yollanır. Bunların elektrot yüzeyindeki bakteri aktivitesine etkisi olmadığı düşünülmektedir. Akımın tepkisi, girdi potansiyeli sinyal frekansının bir fonksiyonu olarak, girdi potansiyelinin gerisinde kalır. Bu gecikme girdi potansiyeli ve akım tepkisi arasındaki faz açısıyla ifade edilebilir (Hurst 2002).

Burada

$R_ç$: çözelti direnci

R_p: elektrokimyasal korozyon reaksiyonlarındaki yük transfer direnci

$C_{d\ell}$: çift tabaka kapasitesi'dir.

$$Z = R_ç + \frac{R_p}{1+(J.W.C.R_p)} \quad \text{ya da} \quad Z = R_ç + \frac{R_p}{1+(W.C.R_p)^2} - \frac{J.W.C.R_p^{\,2}}{1+(W.C.R_p)^2} = Z' + Z''$$

Burada

W: alternatif akım frekansı (2Hf)

C: kapasite

J: $\sqrt{-1}$

Z': gerçek empedans

Z'': sanal empedans' tır.

Bu değerlerden yararlanarak R_p değeri bulunur. R_p değeri Stern-Geary eşitliğinde yerine konarak korozyon hızı hesaplanır.

2.3.4.6 Elektrokimyasal gürültü ölçümleri

Bu yöntem tek bir elektrotta korozyon potansiyel değişkenliğinin frekans ve büyüklüğünü ve iki eş elektrotta dirençsiz akım değişkenliğini ölçer. Bu yöntemde yapay olarak akım veya potansiyel sapması uygulanmadığı için mikroorganizma gelişimi etkilenmemektedir. Arka plan dışındaki periyodik potansiyel ve akım gürültüleri biyofilm ve pasif film kırılması ve tekrar pasivasyon ile ilişkilidir (Mansfeld and Little 1991, Hurst 2002).

2.4 Mikrobiyel Korozyon Oluşumunda Sülfat İndirgeyen Bakteriler ve Biyofilmlerin Rolü

Mikrobiyel korozyon farklı bakteri türleri tarafından gerçekleştirilen oldukça karmaşık, birbirini etkileyen bir seri reaksiyon sonucu gerçekleşmektedir (Werner *et al.* 1998, Videla 2001, Beech and Sunner 2004).

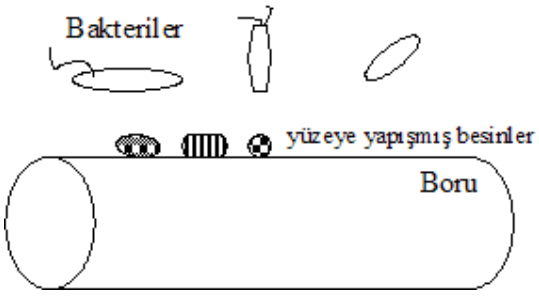
Karasal ve sucul habitatlarda mikrobiyel korozyon ile ilgili başlıca bakteriler SRB'ler (özellikle *Desulfovibrio, Desulfotomaculum, Desulfomonas* cinslerine ait türler), sülfür yükseltgeyen bakteriler, demir indirgeyen/yükseltgeyen bakteriler, manganez okside eden bakteriler ve organik asit ve ekzopolisakkarit (EPS) üreten bakterilerdir. Bu organizmalar metal yüzeyinde doğal olarak oluşan biyofilmde kompleks oluşturarak bir

arada bulunurlar (Fonseca *et al.* 1998, Werner *et al.* 1998, Fang *et al.* 2002, Beech and Sunner 2004). Biyofilm %95'i su olan ve ekzopolisakkarit maddelerden (EPS) oluşan bir matriksi olan, içine hücreler ve inorganik maddeler tutunmuş bir jel olarak kabul edilebilir. EPS, terminolojide "ekzopolisakkarit, ekstraselüler polimerik maddeler, ekzopolisakkaritler" terimlerinin karşılığı olarak kullanılmaktadır.

MIC gelişimi aşağıdaki şekilde gerçekleşir:

1. mikroorganizmanın yüzeye tutunması
2. biyofilm oluşumu ve çukur korozyonu oluşumu
3. biyofilm ve çukurun büyümesi, genişlemesi

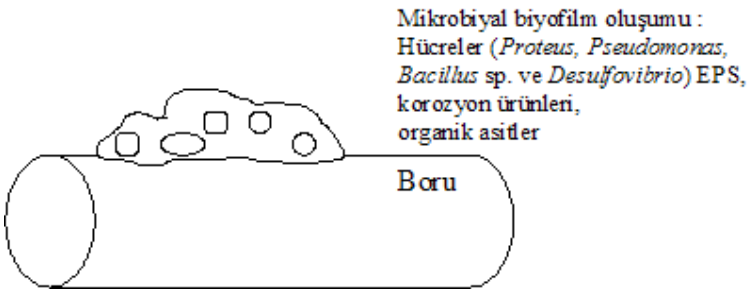
İlk aşamada mikroorganizmanın metalin iç veya dış yüzeyine tutunabilmesi için uygun bir bölge bulması gereklidir (Stoecker 2001). Bu yüzeyler tercihen besinlerin adsorblandığı ve mikroorganizmanın tutunabileceği metalurjik olarak belirgin özelliklere sahip olmalıdır (Şekil 2.9). Örneğin, boruların kaynakla bağlandığı bölgeler, kıvrıldığı bölgeler, daha önceden korozyon gibi sebeplerle boru yüzeyinde oluşmuş eğrilikler, girintiler, mikroorganizmaların yüzeye tutunabilmesini kolaylaştırır (Fang *et al.* 2002).



Şekil 2.9 Mikroorganizmanın yüzeye tutunması (Stoecker 2001)

Belirlenen bölgeye başarılı bir şekilde tutunduktan sonra, ikinci faz yani biyofilm oluşumu başlar. Biyofilm oluşumu metalin çözeltiye daldırılmasıyla başlayan bir birikim sürecinin sonucudur. Mikroorganizmaların ürettiği yapışkan EPS'ler tutunmayı sağladığı gibi ile beslenme için kullanılabilecek organik ve inorganik materyalleri içinde

tutarak metal yüzeyinde biyofilm oluştururlar (Şekil 2.10). Biyofilm içinde tek bir mikroorganizma değil, değişik tipteki mikroorganizmalardan oluşan bir topluluk bulunur. Özellikle, hızlı büyüyen, kapsüllü, ekzopolimer üreten *Pseudomanas, Proteus* ve *Bacillus* türleri biyofilm oluşumunda rol oynarlar. Bu topluluğun etkileşimi sayesinde bazı mikroorganizmalar için mümkün olmayan çevrelerde de gelişim devam eder. Örneğin, aerobik bir ortamda anaerobik bir bakteri gelişemez, ama bir bakteri topluluğu içinde dış yüzeyde yer alan aerobik bakteriler, oksijeni tüketerek, oksijen konsantrasyonunu biyofilmin içine doğru azaltır ve anaerobik bakterilerin gelişebileceği bir ortam oluştururlar (Stoecker 2001, Beech and Sunner 2004).



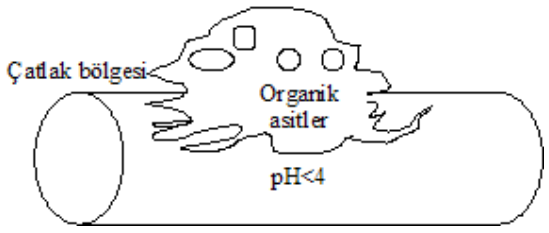
Şekil 2.10 Biyofilm ve çukur (pit) oluşumu (Stoecker 2001'den değiştirilmiştir)

Biyofilm oluşumunun ilk aşamasında yüksek molekül ağırlıklı organik bileşikler ve inorganik bileşiklerin birikmesiyle 20-80 nm kalınlığında ince bir film oluşur. Bu başlangıç filmi elektrostatik yükleri değiştirebilir ve metal yüzeyin ıslanabilirliğini değiştirerek bakteri kolonizasyonunu kolaylaştırır. Saatler veya dakikalar içinde mikroorganizma üremesi ve EPS oluşumu biyofilm oluşumu ile sonuçlanır. Bu biyofilm dinamik bir sistemdir ve metal- çözelti ara yüzeyinde ve biyofilm tabakasında farklı taşıma işlemleri ile kimyasal reaksiyonlar gerçekleşir.

Metal yüzeylerin mikrobiyel korozyonu, inorganik korozyondaki klasik elektriksel ara yüzey kavramını oldukça değiştirir. İyonların çeşit ve konsantrasyonunda, pH değerlerinde, yükseltgenme- indirgenme potansiyellerinde biyofilm etkisiyle meydana gelen önemli değişiklikler, metalin ve korozyon ürünlerinin aktif ya da pasif davranışlarını ve korozyon hızlarının hesaplanmasında kullanılan elektrokimyasal

değişkenleri etkiler. Mikroorganizmalar korozyonu, metal- çözelti ara yüzeyindeki elektrokimyasal koşulları değiştirerek etkiler. Bu değişiklikler farklı etkilere sahiptirler: lokal korozyona sebep olabilir, genel korozyon hızını arttırabilir veya korozyonu durdurabilirler. Korozyon işlemindeki katodik veya anodik reaksiyonlardan birini engelleyen veya kolaylaştıran veya anodik veya katodik bölgeleri birbirinden tamamen ayıran biyolojik reaksiyonlar korozyonu arttırır. Örneğin anodik reaksiyonların asidik metabolitlerle uyarılması veya anodik reaksiyonların mikroorganizmalarca üretilen katodik tepkiyenler örneğin hidrojen sülfür ile uyarılması, koruyucu filmlerin parçalanması, sıvı çevrenin iletkenliğinin artması korozyonu arttırır (Videla and Herrera 2005).

Biyofilm oluştuktan sonra içindeki (altındaki) koşullar çevreleyen yüzeyden kimyasal olarak farklıdır. Bu hızlanmış korozyonun başlangıcıdır ve çukur (pitting) korozyonu ile sonuçlanır. Bu fazda mikrobiyal topluluğun özellikleri şöyledir: mikroorganizmalar biyofilm içinde çoğalır. Asit üreten mikroorganizmaların ürettiği organik asitler ile çatlakta pH seviyesi düşer ve asidik bir ortam oluşur. pH ın azalması ortamın korozif özelliğini arttırır ve bazı mikroorganizmaların gelişimini teşvik eder. Bu organizmalar için (asit üreten mikroorganizmaların ürettiği) organik asitler besin kaynağıdır ve metabolizmaları sonucu hidrojen protonları üreterek ortam pH ını iyice düşürmektedirler. Final aşamasında, genişleyen ve derinleşen çukur üzerinde biyofilm oluşumu sürer. pH 4 den aşağı düşer (Şekil 2.11). Zayıf organik asitler yerini, sudan gelen kloritle oluşan hidroklorik asite bırakır. Çukur bölgesinde pH oldukça düştüğü için çoğu bakteri sadece biyofilm dış bölgesinde gelişebilir. Bu noktada bakteri olmaksızın korozyon bilinen elektrokimyasal işlemle devam edebilir (Stoecker 2001).



Şekil 2.11 Biyofilm ve çukurun genişlemesi (Stoecker 2001'den değiştirilmiştir)

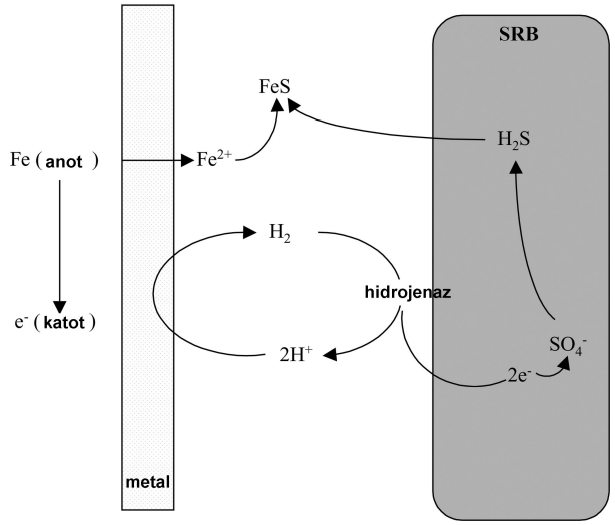
Metal-çözelti ara yüzeyinde biyolojik ve inorganik işlemler aynı zaman dilimi içerisinde fakat farklı yönlerde cereyan eder. Korozyon ve korozyon ürünlerinin birikimi metal yüzeyinden çözeltiye doğru, biyofilm oluşumu ise çözeltiden metal yüzeyine doğru oluşur. Yani korozyon ürünü tabakaları ile biyofilm arasında aktif bir etkileşim vardır. Korozyon ürünleri pasif filmin metal yüzeyine yapışmasını arttırarak korumayı arttırabilir veya yüzeyde heterojenlik oluşturarak korozyonu da arttırabilir (Beech and Sunner 2004).

Videla ve Herrera (2005)'ya göre metal-çözelti ara yüzeyinde biyofilmlerin çeşitli rolleri vardır. Biyofilmler çeşitli kimyasal türler için önemli bir difüzyon engeli oluşturur. Örneğin; mikrobiyel hücrelerden ve EPS'den oluşan bir biyofilm katodik bölgelere oksijenin ve anodik bölgeye klorür gibi agresif anyonların geçmesini engeller. Aynı zamanda metabolitlerin ve korozyon ürünlerinin dışarı difüzyonu engellenir. Bunun dışında biyofilm parçalandığında koruyucu filmin ayrılmasını kolaylaştırır. Ayrıca biyofilmin yüzeyde düzensiz dağılımı nedeniyle farklı havalandırma etkisi gerçekleşebilir. Solunun yapılan bölgelerde kolonileşme olmayan alanlara nispeten oksijenin azaldığı görülmektedir. Bu etkiler potansiyel farklılıklara ve nihayetinde korozyon akımlarında farklılıklara neden olmaktadır. Solunum gerçekleşen alanların altı anodik olmakta ve buralarda metal çözünmesi gerçekleşmektedir. Buna karşılık, çevreleyen katodik bölgelerde oksijen indirgenmesinin tersi meydana gelmektedir. Biyofilm oluşumuyla metal çözelti ara yüzeyinde yükseltgenme indirgenme koşulları değişebilir. Oksijenli sıvı ortamda oksijenin difüzyonu, biyofilmde aerobik metabolitlerin difüzyonu ve reaksiyonu yüzünden engellenir. Mikroelektrot ölçümleri metal yüzeyinden 180 μm uzaklıkta çözünmüş oksijenin sıfıra kadar düştüğünü göstermiştir. İndirgenmiş bir ortam isteyen SRB'ler, suda ölçülebilir çözünmüş oksijen olsa bile, biyofilm tabanında gelişebilirler (Videla and Herrera 2005).

Ekzopolisakkaritlerin metal iyonlarını bağlama özelliği de MIC için önemlidir (Beech ve Sunner 2004). Metal bağlanması metal iyonları ile ekzopolimerlerin protein ve karbonhidrat bileşenlerinde bulunan anyonik fonksiyonel gruplar (karboksil, fosfat, sülfat, gliserat, pürüvat ve süksinat gibi) arasındaki etkileşimi içerir. Farklı yükseltgenme durumundaki iyonların biyofilmde tutulması, standart indirgenme

potansiyellerinde değişimlere yol açabilir. EPS metal iyonlarına bağlanarak elektron mekikleri gibi görev yapar ve metalden direk elektron transferi yaparak yeni redoks reaksiyonlarına yol açabilir. Uygun bir elektron alıcı bulunduğunda bu redoks reaksiyonları katodun depolarizasyonunu sağlayarak korozyonu hızlandırırlar. Depolarizasyon burada korozyon reaksiyonunun (katodik veya anodik tepkiyenlerden birinin uzaklaştırılması ile) hızlandırılması anlamında kullanılmaktadır.

Sülfat indirgeyen bakterilerin metal korozyonuna etki mekanizması von Wolzogen Kuhr ve van der Vlugt (1934) tarafından yapılan bir çalışma ile elektrokimyasal olarak açıklanmaya çalışılmıştır. Araştırmacılar tarafından ortaya atılan katodik depolarizasyon teorisinin (KTD) temel fikri hidrojenin demir yüzeydeki katodik alandan bakteri hidrojenazları ile uzaklaştırılmasıdır, bu işlemin beraberinde sülfat sülfite indirgenir (Şekil 2.12). Yani katodik reaksiyonun depolarizasyonu ile korozyon reaksiyonu indirek olarak hızlandırılır.



Şekil 2.12 Hidrojenazların mikrobiyel korozyondaki rolü (Bryant and Laishley 1990)

Oksijen yokluğunda ortamdaki su, metal yüzeyinde hidrojen oluşturacak şekilde parçalanır. Oluşan hidrojenin yüzeyi kapatması sebebiyle reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Bu durumda metal polarize olmuştur. Hidrojen metal yüzeyinden sülfat

indirgeyen bakterilerce sülfat indirgenmesi sırasında uzaklaştırılmakta ve anottaki metal çözünmesi olayını hızlandırmaktadır. Oluşan korozyon ürünleri ferrosülfür (FeS) ve ferro hidroksittir (Fe $(OH)_2$) (Biezma 2001, Iverson 2001). Gerçekleşen reaksiyonlar aşağıda gösterilmiştir.

$8\ H_2O \rightarrow 8\ OH^- + 8\ H^+$

$4Fe \rightarrow 4Fe^{+2} + 8\ e^-$ (anot)

$8H^+ + 8e^- \rightarrow 8H$ (katot)

$SO_4^{-2} + 8\ H \rightarrow S^{-2} + 4\ H_2O$ (katodik depolorizasyon, mikrobiyal olarak gerçekleşir)

$4Fe^{+2} + S^{-2} + 6OH^- \rightarrow FeS + 3\ Fe(OH)_2$ (korozyon ürünleri)

Depolarizasyon deyimi araştırmacılar tarafından elektrokimyasal olarak kullanılmaktan çok, demirin elektrokimyasal davranışında tanımlanamayan bir değişiklik olduğunu ifade etmek için kullanılır. SRB adsorbe hidrojeni sülfat indirgenmesinde kullanarak, yüksek aktivasyon enerjisi isteyen adsorbe hidrojen atomlarının rekombinasyon aşamasının atlanmasını ve katodik reaksiyonun daha hızlı bir şekilde gerçekleşmesini ve sonuç olarak da korozyon hızının artmasını sağlar. Bu şekilde depolarizasyon etkisi hidrojen uzaklaşması için gerekli aktivasyon enerjisinin azaltılması ve alternatif bir depolarizasyon yolu sağlanması anlamında kullanılır.

Günümüz MIC bilgileri ışığında SRB'nin korozyonu hızlandırmadaki rolünün sadece KTD ile açıklanması oldukça zordur. Bakterinin ürettiği hidrojen sülfürün katodik indirgenmesi ile korozyon hızının arttığı ileri sürülmüştür (Sheng *et al.* 2007). Katodik reaksiyon aşağıdaki gibidir.

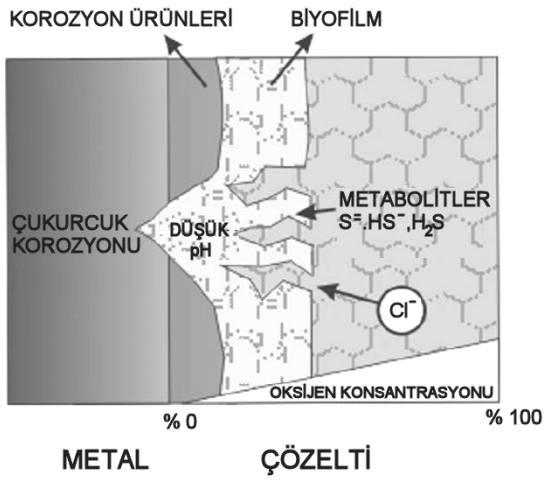
$H_2S + e^- \rightarrow SH^- + ½\ H_2$

Ayrıca hidrojen sülfür ve oksidasyon ürünleri de çeliği korozyona uğratabilir. Demir sülfürlerin oluşumu da dolaylı olarak metali depolarize edebilir. Anodik reaksiyonlar FeS oluşumuyla hızlanmaktadır.

$Fe + S^{-2} \rightarrow FeS + 2e^{-}$

SRB'nin aktivite gösterdiği biyolojik besi ortamlarının karışık yapısı mikrobiyolojik etkinin elektrokimyasal yöntemlerle anlaşılmasını zorlaştırır. Çünkü kimyasal bileşim ve ortam pH'ı bakteri metabolizması sonucu sürekli değişmektedir. Ayrıca, KDT' nin zayıf bir yanı anodik reaksiyonun uyarılmasında sülfürlerin rolü hakkında bilgi verilmemesidir. Son olarak dikkate alınmayan bir nokta da demir yüzeyinde oksitler, sülfürler, hidroksitler ve hatta biyofilmler gibi birikintilerin olmasıdır. Bu koşullarda demirin anaerobik korozyonunun açıklanması için SRB' nin metabolik aktivitesiyle ortama salınan metabolik ürünlerin pasifliği kırması dikkate alınmalıdır (Videla and Herrera 2005).

Biyojenik sülfürlerin korozif etkisi ortamda mevcut olan klorürler gibi diğer korozif iyonlarla ve metal yüzeyindeki biyofilmde bulunan mikrobiyal birlikteliklerin etkisiyle arttırılabilir. Bu biyokimyasal yaklaşım Şekil 2.13'de gösterilmiştir.



Şekil 2.13 Karbon çeliğinin anoksik ortamda biyokorozyonunun biyoelektrokimyasal açıklaması (Videla and Herrera 2005).

Iverson ve Olson (1983) SRB'nin ürettiği veya hidrojen sülfürün inorganik fosfor bileşikleriyle reaksiyonundan oluşan uçucu fosfor bileşiklerinin korozyonda etkili olduğunu göstermişlerdir. Çelik yüzeyinde oluşmuş koruyucu demir sülfür tabakası

parçalandığında uçucu ve oldukça aktif fosfor bileşikleri metal üzeride korozyona yol açmaktadır.

Özetle, SRB'nin yol açtığı korozyonda etkili mekanizmalar katodik depolarizasyon, anodik depolarizasyon, sülfür üretimi, demir sülfür üretimi, uçucu fosforlu bileşiklerin üretimi, metal bağlayan ekzopolimerler, sülfürün yol açtığı gerilim korozyon kırılması, hidrojenin yol açtığı gerilim korozyon kırılması veya kabarcık oluşumudur (Beech and Gaylarde 1999).

Sülfat indirgeyen bakterilerin neden olduğu korozyon ve bu korozyon hızını etkileyen çelik cinsi, mikroorganizma çeşidi, yaşı ve aktivitesi, biyofilm morfolojisi ve yapısı, besi ortamı, korozyon ürünleri gibi faktörlerin belirlenmesi ile ilgili gerçekleştirilmiş pek çok çalışma vardır.

Jung *et al.* (2003) farklı şekilde üretilmiş üç ayrı çeliğin SRB kültür ortamında korozyonunu incelemişlerdir. Üç ayrı çelik benzer polarizasyon davranışı ve korozyon hızı göstermiştir. Bu araştırmacılar, bakteriyel sülfat indirgenmesi sonucu oluşan sülfürlerin anodu başlangıçta uyardığını ve bunun sonucu olarak açık devre potansiyellerinin (devreden hiç akım geçmezken ölçülen potansiyel değeri) daha negatif değerlere kaydığını bildirmişlerdir. Zamanla demir sülfürün elektrot yüzeyinde koruyucu bir film oluşturarak potansiyeli daha pozitif değerlere kaydırdığını ileri sürmüşlerdir. *Desulfovibrio desulfuricans* (KCTC 2360) aktif gelişme fazındayken, sülfat indirgenmesi ve hidrojenin uzaklaşmasıyla kuvvetli bir şekilde katodik depolarizasyon görülmüştür. Kültür yaşlandıkça, sülfat tükenmiş, metabolik ürünler besi ortamında birikmiş ve katodik polarizasyon durmuştur. Bu bakımdan katodik depolarizasyonun SRB aktivitesinin fonksiyonu olduğu ileri sürülmüştür.

Petrol sahası petrol-su ayrıştırıcısından elde edilen *Desulfovibrio capillatus*'un iki farklı çeliğin (St-35.8 ve API-5XL52) korozyonuna etkisi Miranda *et al.* (2006) tarafından araştırılmıştır. Çeliklerden hazırlanan kuponlar steril, steril tiyosülfatlı, bakterili ve bakterili tiyosülfatlı besi ortamlarında toplam 45 gün bekletilmiş ve aralıklarla kütle

kaybı ölçümleri yapılmıştır. Bakteri ve tiyosülfat içeren ortamlarda korozyon hızının oldukça arttığı gözlenmiştir. Daha çok korozyona uğrayan API-5XL52 çelik kuponlarındaki birikintiler üzerinde yapılan SEM-EDAX analizlerine göre korozyon ürünlerinde yüksek oranda Fe ve S bulunduğu gösterilmiştir. Korozyon ürünlerinin temizlenmesinden sonra metal yüzeyinde çukurcukların oluştuğu gösterilmiştir. Araştırmacıların API-5XL52 çeliği ile yaptığı deneylerde açık devre korozyon potansiyeli (E_{kor}) ölçümlerinde ilk 48 saatte potansiyelin önce pozitif sonra negatif değerlere kaydığı ve sonra da -550 mV'da sabitlendiği görülmüştür. Potansiyeldeki düşüşün ortamda biyofilm oluşumu, elektrokimyasal ölçümü etkileyecek metabolitlerin oluşumu ve tersinir (geri dönüşümlü) potansiyeli düşük bir katodik reaksiyon oluşumu ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Bu süre aynı zamanda bu bakterinin logaritmik üreme fazının sonuna ulaşması için geçmesi gereken süredir. Bakterili ortamda E_{kor} değeri, steril ortamdakinden yaklaşık 20 mV düşük bulunmuştur. Bu durum bakterinin daha yüksek elektrokimyasal aktiviteye yol açtığını göstermektedir. Polarizasyon direnci ölçümlerinde bakterili ortamda daha düşük R_p değeri elde edilmiştir. Korozyon hızıyla doğru orantılı olan ortalama akım yoğunluğu bakterili ortamda daha yüksek bulunmuştur. Korozyon hızının artmasıyla azalan gürültü direnci R_n değeri, bakterili ortamda steril ortama göre daha az bulunmuştur. Ölçüm sonuçlarından sistemin direncinin ortamda H_2S birikmesi nedeniyle 48 saat sonra azaldığı belirlenmiştir.

Alfaro-Cuevas-Villanueva *et al.* (2006) paslanmaz çelik ve karbon çeliği üzerinde jeotermal sahalardan izole edilen mezofilik (*Desulfotomaculum* sp.) ve termofilik SRB'nin etkisini incelemişlerdir. Korozyon testleri anaerobik olarak 40 ve 50 °C'de 15, 30, 60 gün süreyle laktat ortamında yapılmıştır. Taramalı elektron mikroskop ve optik mikroskop kullanılarak korozyon morfolojisi ve çukur yoğunluğu belirlenmiştir. Korozyon potansiyeli, anodik potansiyodinamik polarizasyon eğrileri ve pH değerleri ölçülmüştür. Mikrobiyel aktivitenin tüm korozyon işlemini etkilediği, özellikle çukur korozyonu ve lokal korozyon görüldüğü belirlenmiştir. Anodik polarizasyon eğrileri metal yüzeyinde (korozyon ürünleri filmi ve biyofilm oluşumu nedeniyle) pasifleşme ve daha sonra aktifleşmenin gerçekleştiğini göstermiştir. Zamanla pH azalmaktadır. Bu durum bakterilerin ürettiği H_2S'in konsantrasyonunun artışına bağlanmıştır. Her iki bakteri de benzer şekilde korozyon davranışına sebep olmuştur.

Antony *et al.* (2007) yaptıkları çalışmada 2205 dupleks paslanmaz çeliğinin korozyonunu *Desulfovibrio desulfuricans* içeren NaCl'li besi ortamında incelemişlerdir. E_{kor} değerinin steril ortamda 40 gün boyunca fazla değişmediği, bakterili ortamda ise negatif yöne kaydığı ve -0.53 V (SCE) değerinde sabit kaldığı gösterilmiştir. SRB'li ortamda bırakılan çelik kuponlar 40 gün sonunda SEM ile incelendiğinde yüzeyde biyofilmin oluştuğu, biyofilmin uzaklaştırılmasıyla metal yüzeyinde çiziklerin, küçük çukurların ve siyah renkli bir yüzey filminin bulunduğu görülmüştür. Kuponların 14 gün SRB'li ortamda bekletilip, anodik olarak polarize edildikten sonra alınan SEM görüntüleri, çeliğin çukur korozyonu yanında çatlak korozyonuna da uğradığını göstermiştir. Özellikle tane sınırlarında yarılmalar olmuştur. Düşük Cr ve Mo içeriğine sahip bölgelerden tanelerin ayrıldığı gösterilmiştir. Polarize olmuş ya da olmamış kuponlarda biyofilm altındaki pasif filmde demir sülfür ve diğer metal sülfürlerin bulunduğu ve pasif filmin sülfürlenmesinin katodik reaksiyonu depolarize ettiği belirtilmiştir.

Gayosso *et al.* (2004) gaz taşıma borularından izole edilen sesil (tutunan) ve planktonik (yüzen) bakterilerin API XL52 çeliğinin korozyon hızına etkisini incelemişlerdir. Bu incelemeleri sonucunda sıvı ortamda 5 çeşit planktonik bakteri, metal yüzeyinde ise sadece *Desulfovibrio vietnamensis* bulunduğu belirlenmiştir. Planktonik bakterilerin maksimum populasyon sayısına (10^7 bakteri/ml) 150 saatte, sesil bakterinin ise 600 saatte ulaştığı belirlenmiştir. Biyofilm yüzey analizlerinden inorganik korozyon ürünlerinin oluşturduğu siyah bölgelerin Fe ve S içerdiği, bakteri ve ekzopolimer bulunan açık renkli bölgelerin azot ve karbon içerdiği belirlenmiştir. Polarizasyon direnci yöntemiyle belirlenen korozyon hızlarına bakıldığında steril besi ortamında önce 0.15 mm $yıl^{-1}$ hızında korozyon ölçülmüş, bu değer zamanla 0.005 mm $yıl^{-1}$'a düşmüştür. Besi ortamındaki klor, sülfat, kükürt gibi anyonların başlangıçta korozyona neden olduğu daha sonra oluşan korozyon ürünlerinin metal yüzeyi ile besiyeri arasındaki teması kestiği belirtilmiştir. Öte yandan bakteri kültürü bulunan ortamda korozyon hızı zamanla artarak 998 saat sonunda 0.5 mm $yıl^{-1}$'a ulaşmıştır. Elektrokimyasal gürültü ölçümleriyle hesaplanan korozyon hızı da benzer sonuçlar

vermiştir. Bakterili ortamda 400 saatten sonra korozyon hızının artışı, planktonik bakterilerin gelişmesinden bağımsız olarak gerçekleşmiştir. Öte yandan bu sürede sesil bakteri konsantrasyonu 10^5 bakteri/cm^2'ye ulaşmıştır. Yani korozyon hızı planktonik değil sesil bakteri sayısından etkilenmektedir. Sesil bakteri sayısı sabit kalsa bile metal yüzeyinde biriken metabolik ürünler korozyonu arttırmaktadır. Taramalı elektron mikroskobu incelemelerine göre steril koşullarda bekletilen kuponlarda uniform (genel), biyofilm altındaki kuponlarda ise lokal korozyon görülmüştür.

Sheng *et al.* (2007) tarafından yapılan bir çalışmada *Desulfovibrio desulfuricans* ATCC 27774 ile deniz izolatı bir SRB'nin paslanmaz çelik üzerinde neden oldukları korozyon ve biyofilm yapıları incelenmiştir. Araştırmacılar farklı SRB suşlarının farklı biyofilm morfolojisi ve polarizasyon direnci gösterdiğini tespit etmişlerdir. *D. desulfuricans* gözenekli ve ağ yapısı şeklinde biyofilm oluştururken, deniz izolatı kristal ve bütün yapıda bir biyofilm oluşturmuştur. *D. desulfuricans*'ın oluşturduğu biyofilmin sürekli biriktiği, deniz izolatının biyofilminin ise yüzeye yapışıp, büyüyerek, yüzeyden ayrıldığı ve tekrar yapıştığı gözlenmiştir. Oluşan çukurların şeklinden bakteri hücrelerinin direk olarak lokal korozyonda etkili olduğu ileri sürülmüştür. Deniz izolatının biyofilm tabakası altında ayrıca demir sülfür tabakası oluşturduğu da gözlenmiştir.

Hidrojenaz aktivitesinin çeliğin korozyonuna etkisi Bryant *et al.* (1991) tarafından araştırılmıştır. Araştırmacılar korozyona uğramış ve uğramamış petrol borularından karışık SRB kültürleri izole etmişlerdir. Çelik kuponlarda gelişen biyofilmlerde hidrojenaz aktivitesi gösterenlerde korozyon hızı 7.79 mm/yıl olarak, hidrojenaz aktivitesi göstermeyenlerde ise 0.48 mm/yıl olarak belirlenmiştir. Boru sisteminin korozyona duyarlılığında karışık kültürün mikrobiyel yapısının ve hidrojenaz enzim aktivitesinin de etkili olduğu bu araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir.

Rainha ve Fonseca (1997) *Desulfovibrio desulfuricans'*ın yumuşak çelik üzerinde korozyonuna bakteri kültür yaşının etkisini incelemişlerdir. Çalışmada 1 günlük kültürle elde edilen korozyon akım yoğunlukları, 5 günlükle elde edilenin yaklaşık 2 katı

kadardır. Araştırmacılar yaşlı kültürde bulunan yüksek miktarda sülfürün, demir sülfür pasif filmi oluşturacak kadar çok olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ayrıca bakteri kültür ortamında elde edilen korozyon potansiyellerinin steril ortama göre daha negatif yöne kaydığını belirtmişlerdir.

SRB'nin gelişme aşamalarının karbon çeliğinin deniz suyu ortamında korozyonuna etkisi Kuang *et al.* (2007) tarafından elektrokimyasal olarak belirlenmiştir. Sülfür, pH değeri ve redoks potansiyeli değişimi gelişme aşamalarında takip edilmiştir. Potansiyodinamik polarizasyon ölçümlerine göre, karbon çeliğinin korozyon hızı bakterinin eksponansiyel büyüme fazında artmış, gerileme ve ölme fazında ise durağan kalmıştır. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ölçümlerinden hesaplanan polarizasyon direnci (R_p) bakterinin eksponansiyel büyüme fazında azalmış. Gerileme ve ölme fazında ise durağan kalmıştır. Sonuçlar, çeliğin korozyon hızının, aktif SRB sayısından çok SRB metabolizmasının ürünlerinin ortamda birikmesine bağlı olduğunu göstermiştir.

Soğutma kulesi suyundan izole edilen *Desulfovibrio* sp. nin galvanize çelik üzerinde neden olduğu korozyon İlhan-Sungur *et al.* (2007) tarafından araştırılmıştır. Yapılan hücre sayımları, hücre sayısı ile kütle kaybı yöntemiyle hesaplanan korozyon hızının orantılı olmadığını göstermiştir. Karbonhidrat analizleri ise biyofilmde bulunan toplam karbonhidrat miktarının kütle kaybıyla ters orantılı olduğunu göstermiştir. Bakterinin aktivitesinin bir göstergesi olarak çözünmüş metal analizi yapılmış, çinko miktarı biyofilmdeki karbonhidrat miktarıyla doğru orantılı olarak ölçülmüştür. Ayrıca kuponlardan büyük miktarlarda kütle kaybı olduğu zaman, çözünmüş çinko miktarının azaldığı bildirilmiştir.

Fonseca *et al.* (1998), *D. desulfuricans'*ın çelik üzerinde neden olduğu korozyona iki farklı besi ortamının (Laktat/sülfat ve laktat/nitrat) etkisini incelemiştir. Laktat/sülfat ortamına SRB inokülasyonundan sonra E_{kor} daha katodik değerlere kaymıştır. Tafel eğrilerinin ekstrapolasyonundan elde edilen I_{kor} değerleri bakteri inoküle edilmiş

ortamda, steril ortama oranla daha yüksektir. Demirin anlık çözünme hızının sülfür çökelmesinden daha hızlı gerçekleştiği ileri sürülmüştür.

Feio *et al.* (2000) *D. desulfuricans* 14 ATCC 27774'ın çelik üzerindeki korozif etkisini elektrokimyasal olarak iki besi ortamınında incelemiştir. Kütle kaybı ölçümleri laktat/nitrat ortamında gelişen *D. desulfuricans'*ın çeliğin korozyonunu hızlandırmadığını, ancak laktat/sülfat ortamında gelişen SRB'nin çeliğin korozyon hızını oldukça arttırdığı gözlenmiştir. Laktat/sülfat ortamında bakterinin metabolik aktivitesinin 7 günden sonra durduğunu, ortamda laktat ve sülfat olsa bile üretilen H_2S'in toksik etkisi nedeniyle hücre gelişimini sürdüremediğini bildirmişlerdir. Laktat/nitrat ortamında ise nitrat indirgenmesi sonucu üretilen amonyağın bakteri üzerinde toksik etkisi olmadığı, gelişimin ortamdaki laktat ve nitrat konsantrasyonlarıyla sınırlandığı bildirilmiştir. SEM mikrograflarına göre, inoküle edilmiş Laktat/sülfat ortamında bırakılmış kuponlarda oluşan çukurlar küçük ve düzenli, laktat/nitrat ortamında bırakılan kuponlardaki çukurlar ise daha geniş ve düzensizdir.

Wang ve Liang (2007) laktat eklenmiş ve SRB'li deniz suyu ortamında 10 CrMoAl çeliğinin korozyonunu araştırmışlardır. SRB'li ortamda 7 ve 14 günlük inkübasyon sürelerinden sonra elde edilen potansiyodinamik polarizasyon eğrilerine göre korozyon potansiyelinin 7 gün sonunda -614 mV' dan -718 mV'a ve 14 gün sonunda -768 mV'a kaydığı görülmüştür. Aynı potansiyel uygulandığında anodik akım yoğunluğunun SRB'li ortamda steril ortamdakinden daha yüksek olduğu görülmüştür. SRB'nin bu tip çelikte anodik depolarizasyon işlemini hızlandırdığı bildirilmiştir. Demirin sülfürle birleşerek FeS oluşturmasının anodik çözünmeyi hızlandırdığı ileri sürülmüştür. Laktat eklenmiş deniz suyu ortamında ortama SRB eklenmesi korozyon hızını 0.017 mm/a'dan 0.019 mm/a'ya çıkarmıştır. Ortama C vitamini ve ferro amonyum sülfat eklendiğinde ise SRB eklenmesi korozyon hızını 0.046 mm/a'dan 0.073 mm/a'ya çıkarmıştır. Korozyon ürünlerinin EDAX analizinde ise SRB'li ortamda steril ortama göre kükürt içeriğinin oldukça arttığı görülmüş ve bu durum korozyon ürünlerinden FeS oluşumuna bağlanmıştır.

2.5 Sülfat İndirgeyen Bakteriler

Sülfatın enerji elde etme işlemlerinde son elektron alıcısı olarak kullanılması ve bol miktarda sülfat indirgenmesi, dissimilatif sülfat indirgeyen bakterilere özgü bir özelliktir. Sülfat indirgeyen bakteriler, prokaryotların çok çeşitlilik içeren bir grubudur. Sınıflandırılmalarında hücre şekli, hareketlilik, DNA'nın GC içeriği, 16S rRNA analizi, sitokrom bulunması, optimum gelişme sıcaklığı, asetatın tamamen veya kısmen okside edilmesi gibi değişik özellikleri kullanılmaktadır (Madigan *et al.* 1997) .

SRB'ler filogenetik olarak incelendiğinde Proteobakterilerin Deltaproteobakteriler sınıfında *Desulfovibrionales* ordosunda, *Desulfovibrionaceae*, *Desulfomicrobiaceae*, *Desulfohalobiaceae*, *Desulfonatronumaceae* familyalarında *Desulfovibrio, Desulfomicrobium, Desulfohalobium, Desulfonatronovibrio, Desulfothermus, Desulfonatronum* cinslerine ait SRB türleri bulunduğu görülmektedir. Delta alt bölümündeki dissimilatif sülfat indirgeyen bakterilerin çoğunun mezofil, gram negatif, spor oluşturmayan anaeroblar olduğu bildirilmiştir (Castro *et al.* 2000, Garrity *et al.* 2005). *Desulfobacterales* ordosunda *Desulfobacteraceae* ve *Desulfobulbaceae* familyasında *Desulfobacter, Desulfobacterium, Desulfobacula, Desulfobotulus, Desulfocella, Desulfococcus Desulfofaba, Desulfofrigus, Desulfonema, Desulfosarcina, Desulfospira, Desulfotignum, Desulfobulbus, Desulfocapsa, Desulfofustis, Desulforhopalus* ve *Desulfotalea* cinslerine ait SRB türleri bulunmaktadır. *Desulfofaba* ve *Desulfofrigus* cinsleri psikrofil SRB türlerini içerirler. *Desulfarcales* ve *Syntrophobacterales* ordolarında bulunan SRB cinsleri *Desulfarculus, Desulfacinum, Thermodesulforhabdus, Desulforhabdus, Desulfovirga, Desulfobacca* ve *Desulfomonile'*dir. Bunlardan *Desulfacinum* ve *Thermodesulforhabdus*'un optimum gelişme sıcaklıkları 60 °C'dir (Garrity *et al.* 2005).

Üç SRB cinsi: *Desulfotomaculum, Desulfosporosinus ve Thermoacetogenium,* gram pozitif bakterilerin düşük GC içerikli *Clostridium*/*Bacillus* alt şubesinde yer alan mezofil ve termofil endospor oluşturan bakterileri cinsleridir. Arkelerde, *Archaeoglobus* cinsine ait çeşitli hipertermofilik SRB'ler anaerobik hidrotermal sistemlerden ve asidik sıcak su

kaynaklarında izole edilmiştir. Bunlar 80 ºC'nin üzerindeki sıcaklıklarda gelişebilirler. Bakteri grubundaki termofilik SRB'lerin *Thermodesulfobacterium* ve *Thermodesulfovibrio* cinsleri termal ortamlardan (sıcak su kaynakları, petrol, deniz altı hidrotermal kaynakları) izole edilen bakteri gruplarını içerirler (Madigan *et al.* 1997).

SRB'ler için kok, oval, uzun düz çubuklar, kıvrık çubuklar, spiraller, hücre kümeleri, gaz vesikülleri olan hücreler, kayan çok hücreli filamentler gibi çeşitli hücre tipleri tanımlanmıştır. Bazı cinsleri hareketlidir. Bir cinsi (*Desulfonema*) filamentlidir. Çoğu gram negatif olmasına rağmen *Desulfonema* cinsi gram pozitiftir (Madigan *et al.* 1997).

Yapılan araştırmalar SRB'lerde büyük besinsel ve morfolojik çeşitlilik olduğunu göstermiştir. Sülfat indirgeyen bakterilerin kullanabileceği başlıca elektron vericiler H_2, laktat ve pürüvattır. Sülfat indirgenmesi için kullanılan diğer elektron vericiler alkoller, yağ asitleri, diğer monokarboksilik asitler, dikarboksilik asitler, bazı amino asitler, bazı şekerler, bazı aromatik bileşiklerdir. Hatta uzun zincirli alkanlar bazı özel SRBler tarafından anaerobik olarak okside edilebilirler (Aeckersberg *et al.* 1998). Bazı SRB türleri ham petroldeki alkilbenzenleri de parçalayabilirler (Wilkes *et al.* 2000). Polisakkarit ve polipeptitlerin ekstrem termofil sülfat indirgeyen arkebakterilerden *Archaeoglobus* tarafından kullanıldığı ancak mezofil SRB ler tarafından kullanılmadığı bildirilmiştir (Stetter 1988).

Metabolik özelliklerine göre sülfat indirgeyen bakteriler iki grupta incelenir. Grup I'de asetat dışındaki maddeleri okside eden, grup II'de asetat okside eden SRB'ler bulunur (Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2).

Grup I'de yer alan sülfat indirgeyen bakteriler laktat, pürüvat, etanol veya bazı yağ asitlerini enerji ve karbon kaynağı olarak kullanırken sülfatı elektron alıcı olarak kullanır ve hidrojen sülfür üretirler. Bunlardan hipertermofilik arke olan *Archaeoglobus* hidrojen format, glukoz, laktat, pürüvatı elektron verici olarak, sülfat, tiyosülfat ve sülfiti elektron alıcı olarak kullanabilir. *Desulfobacula* aromatik hidrokarbon tolueni CO_2' ye okside eder. *Desulfomonile* 3-klorobenzoatı benzoata indirger.

Çizelge 2.1 Grup I Sülfat indirgeyenler: asetat dışındaki maddeleri okside edenlerin özellikleri (Madigan *et al.* 1997, Castro *et al.* 2000, Horikoshi and Grant 1998)

Cins	Hareketlilik	Morfoloji	Gram reaksiyon	Bilinen tür sayısı	Spor
Desulfovibrio	+	Kıvrılmış çubuk	-	32 tür	-
Desulfomicrobium	+	Çubuk	-	4 tür	-
Desulfobotulus	+	Vibroid	-	1 tür	-
Desulfotomaculum	+	Düz veya kıvrılmış çubuk	-	11 tür	+
Desulfomonile	-	Çubuk	-	2 tür	-
Desulfobacula	+/-	Oval veya kok	-	2 tür	-
Archaeoglobus	+/-	Kok veya üçgen		2 tür	-
Desulfobulbus	+	Oval veya limon şekilli	-	3 tür	-
Thermodesulfobacterium	-	Çubuk	-	2 tür	-

Grup II'de yer alan *Desulfobacter, Desulfococcus, Desulfosarcina* gibi türler özellikle yağ asitlerini ve asetatı okside eder, sülfatı sülfüre indirgerler.

Çizelge 2.2 Grup II Sülfat indirgeyenler: asetat okside edenler (Madigan *et al.* 1997, Castro *et al.* 2000)

Cins	Hareketlilik	Morfoloji	Gram reaksiyon	Bilinen tür sayısı	Spor
Desulfobacter	+	Çubuk	-	6 tür	-
Desulfobacterium	+/-	Çubuk	-	3 tür	-
Desulfococcus	-	Yuvarlak	-	4 tür	-
Desulfonema	+	Büyük ve filamentli	+	3 tür	-
Desulfosarcina	+/-	Sarcina	-	3 tür	-
Desulfarculus	+	Vibroid	-	1 tür	-
Desulfacinum	-	Kok veya oval	-	2 tür	-
Desulforhabdus	-	Çubuk	-	1 tür	-
Thermodesulforhabdus	+	Çubuk	-	1 tür	

2.5.1 Habitatları

SRB'lerin tipik habitatları sedimetler, taban suları gibi sulu çevrelerin yüzey altındaki anoksik kısımlarıdır. Türlerin en çok çeşitliliği sülfatın yüksek konsantrasyonda (28mM) bulunduğu ve bu nedenle nadiren büyümeyi sınırlayan bir faktör olduğu deniz sedimentlerinde gözlenmiştir. SRB'ler pirinç tarlalarında ve kanalizasyon arıtım tesislerinde anaerobik kısımlarında da bulunurlar. Bu bakteriler anoksik sedimentlerden ve çamurlardan petrol üretim tesislerine ve kağıt üretim fabrikaları gibi endüstriyel su sistemlerine bulaşırlar. SRB'ler metabolik olarak inaktif bir durumda kısa bir süre yaşayabildiği oksijenli sularla, aerobik sulu sedimentlerden yayılabilir. Tatlı suların ve deniz sedimanlarının üst oksijenli bölgelerinde SRB'lerin yoğun olarak aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu bölgelerde anoksik mikronişlerin bulunması SRB'lerin gelişimini olanaklı kılar. Bazı izolatlar belirli tuz kosantrasyonlarına adapte olmuşlardır. Tuzlu su suşları gelişimleri için genellikle NaCl ve Mg^{+2} iyonları isterler. Bunlar dışında koyun rumeninde ve insan bağırsaklarında bulunurlar (Widdel and Bak 2001).

2.5.2 Geliştirme teknikleri

SRB'ler anoksik indirgeyici koşullarda gelişirler. İnokülasyondan once oksijenin azot geçirilmesi ile uzaklaştırılması oksijen ile hücreye zarar gelmesini engeller ve gelişimin başlamasını kolaylaştırır. Ancak oksijenin fiziksel olarak uzaklaştırılması bazı zor ve yavaş üreyen türler için veya dilüsyon serilerindeki gibi küçük inokülümlar için yeterli olmaz. Bu yüzden indirgenlerin eklenmesi gereklidir. SRB geliştirilmesi için kullanılan indirgenler askorbat, tiyoglikolat, sülfit ve ditiyonattır. İndirgeyici koşulların göstergesi olarak resazurin eklenebilir (Widdel and Bak 2001).

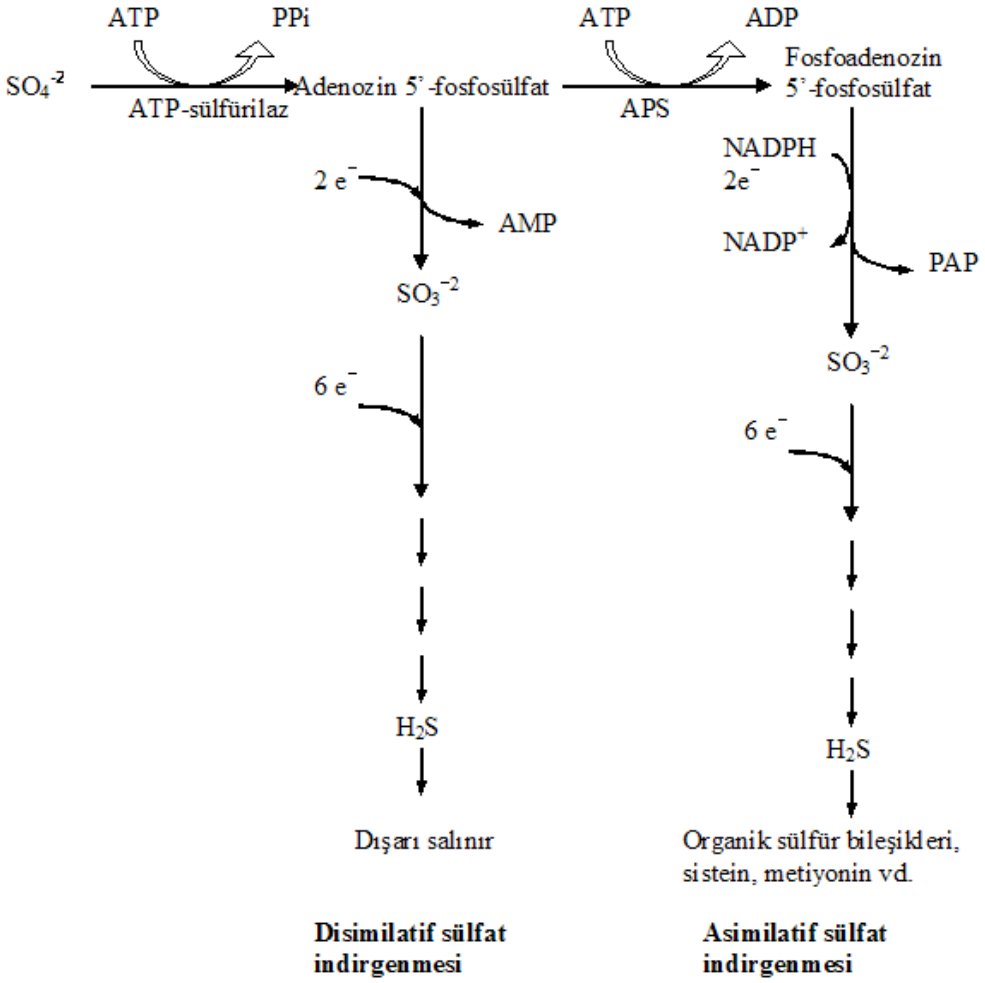
Şu ana kadar bilinen tüm gram negatif sülfat indirgeyenler tanımlanmış besiyerinde maya ekstraktı veya pepton gibi kompleks besinler olmaksızın gelişirler. Kompleks besinler ve gelişim faktörleri bazı türler için uyarıcı olabilir (Widdel and Bak 2001).

2.5.3 Sülfat indirgenmesinin biyokimyası

Sülfat indirgeyici bakterilerce gerçekleştirilen sülfat redüksiyon reaksiyonu aşağıda verilmiştir.

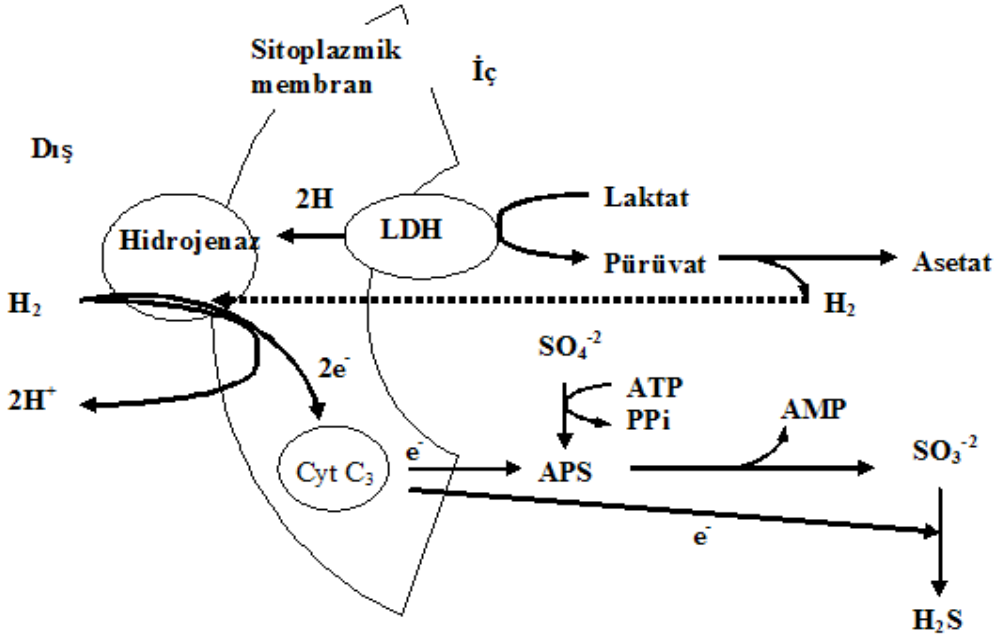
$$SO_4^{-2} + 8e^- + 8H^+ \rightleftarrows H_2S + 2\,H_2O + 2\,OH^-$$

Sülfatın hidrojen sülfüre indirgenmesi, 8 elektron indirgenmesi ile pek çok ara basamaktan geçerek gerçekleşir (Şekil 2.14). Sülfat iyonu stabildir ve aktive edilmeden kullanılamaz. Sülfat ATP ile aktive edilir. ATP sülfürilaz enzimi; sülfat iyonunun, ATP molekülündeki fosfata bağlanmasını katalizler ve adenozin fosfo sülfat (APS) oluşur. Disimilatif sülfat indirgenmesinde, APS'nin sülfat grubu direk sülfite indirgenir ve AMP açığa çıkar. Asimilatif reaksiyonda, başka bir fosfat APS'ye eklenir ve fosfo adenozin fosfo sülfat (PAPS) oluşur. Bundan sonra sülfat grubu indirgenir.Her iki durumda da sülfatın indirgenmesinin ilk ürünü sülfittir. Sülfit oluştuktan sonra takip eden reaksiyonlar hemen ilerler. Disimilatif sülfat indirgenmesini gerçekleştiremeyen pek çok organizma, disimilatif sülfit indirgenmesini gerçekleştirebilmektedir. Bunun sebebi, bu organizmaların sülfiti (SO_3^{-2}) hidrojen sülfüre (H_2S) çevirebilmelerine rağmen, APS sistemine sahip olmamaları sebebiyle sülfatı sülfite indirgeyememeleridir. Asimilatif sülfat indirgenmesinde oluşan H_2S, hidrojen sülfür, aminoasitlerin yapımıyla organik sülfür şekline dönüşürken dissimilatif sülfat indirgenmesinde ortama verilir (Madigan *et al.* 1997).



Şekil 2.14 Asimilatif ve dissimilatif sülfat redüksiyon mekanizmaları (Madigan *et al.* 1997)

Organik elektron vericiler veya organik maddelerin fermentasyonu ile oluşan moleküler H_2'ye duyulan ihtiyaç sebebiyle, sülfat redüksiyonu daha çok bol miktarda organik madde bulunduğunda gerçekleşir. Sülfat indirgeyici bakterilerde elektron taşınmasında çevreden veya laktat gibi organik elektron vericilerinden gelen hidrojen, elektronlarını periplazmada sitokrom C_3'e yakın bulunan hidrojenaz enzimine aktarır (Şekil 2.15). Elektron taşıma kısımlarının membranda düzenlenişi sebebiyle, H_2'nin H atomları okside olunca, protonlar (H^+) membran dışında kalır, elektronlar membran boyunca taşınır. Bu şekilde ATP sentezi için kullanılabilecek proton ittirici güç oluşur. Elektronlar sitoplazmada adenozin fosfosülfat (APS) ve sülfit (SO_3) indirgenmesinde kullanılır (Madigan *et al.* 1997).



Şekil 2.15 Sülfat indirgeyen bakterilerde elektron taşıma sistemi ve proton ittirici güç oluşumu (Madigan *et al.* 1997)

2.6 Mikrobiyel Korozyonun Engellenmesi ve Kontrolü

Endüstride mikrobiyolojik korozyonun engellenmesinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. İlk yöntem, sistemde oluşan kimyasal ve biyolojik çökeltilerin, birikintilerin fiziksel ve kimyasal olarak temizlenmesidir. Basınçlı su ile temizleme en basit yöntemdir ve biyofilmin ayrılmasını sağlar. Bazen aşındırma özelliği olan sünger toplar da kullanılabilir. Ancak bunlar koruyucu biyofilm tabakasını da parçalayabilirler. Bunun dışında hidroklorik asit, sülfürik asit, formik asit gibi asitler ve poliakrilat, tanin gibi dispersan maddeler kimyasal temizleme için kullanılabilir. Fakat asitlerin yol açabileceği metal korozyonunun engellenmesi için korozyon inhibitörleri ile beraber uygulanmalıdırlar (Videla 2002, Videla and Herrera 2005)

Silikon, epoksi resin, PVC gibi kaplamaların ve boyaların kullanımı da mikrobiyel korozyona karşı koruma sağlamaktadır. Kaplama maddesinin seçiminde dikkat edilecek bir nokta, kaplama maddesinin parçalanması durumunda ortama korozif bileşikler salınmamasıdır.

Diğer bir yöntem olan katodik korumada korunacak metal katot haline getirilir. Bu işlem metalik yapıya (akım yönü korozyon akımına ters) bir dış akım uygulanarak veya galvanik anot bağlanarak yapılır. Yeraltı yakıt ve petrol depolama tankları, yakıt ve petrol dağıtım sistemleri, toprak seviyesi veya üstündeki sıvı depolama tanklarının iç kısımları, kanalizasyon sistemleri, iskele çelik kazıkları katodik koruma ile korunabilir (Davis 1967, Doruk 1982).

Endüstriyel su sistemlerinde kullanılan en yaygın kimyasal yöntem biyositlerin kullanımıdır. Mikroorganizmaları öldüren ya da gelişmelerini engelleyen biyositler, tek bir kimyasaldan ya da farklı kimyasallardan oluşabilir. Endüstriyel bir biyosit, geniş mikrobiyel spektrumda etkili olmalı, inhibe edici etkisini diğer bileşiklerin bulunduğu ortamlarda ve işletme koşullarında uzun süre koruyabilmelidir. Kendisi fazla toksik ve korozif olmamalı ve ayrıca üretimi ucuz olmalıdır (Videla 2002). Endüstride kullanılan organik ve inorganik biyositlerin özellikleri ve uygulanan konsantrasyonları Çizelge 2.3'de verilmiştir.

Çizelge 2.3 Endüstride yaygın kullanılan biyositler (Videla 2002, Videla and Herrera 2005)

Biyosit	**Özelliği**	**Konsantrasyonu (mg/L)**
Klorür	Bakteri ve alglere karşı etkili, oksitleyici, pH'a bağımlı	0.1-0.2
Klorür dioksit	Bakterilere karşı etkili, mantar ve alglere az etkili, oksitleyici, pH'a bağımlı değil	0.1-1.0
Bromür	Bakteri ve alglere karşı etkili, oksitleyici, geniş pH aralığında etkili	0.05-0.1
Ozon	Bakteri ve biyofilmlere karşı etkili, oksitleyici, pH'a bağımlı değil	0.2-0.5
İzotiyazolonlar	Bakteri, alg ve biyofilmlere karşı etkili, oksitleyici olmayan, pH'a bağımlı değil	0.9-10
Kuaterner amonyum bileşikleri (QACs)	Bakteri ve alglere karşı etkili, oksitleyici olmayan, yüzey aktivitesi var	8-35
Gluteraldehit	Bakteri, alg, mantar ve biyofilmlere karşı etkili, oksitleyici olmayan, geniş pH aralığında aktif	10-70

Biyositler oksitleyici veya oksitleyici olmayan toksik maddeler olabilir. Etkin inhibisyon için, bu iki grup biyositin veya aynı grupta bir kaç biyositin kombinasyonları da kullanılmaktadır. Oksitleyici (klorür, hipoklorür, peroksit vd.) ve oksitleyici olmayan (gluteraldehit, formaldehit, kuaterner amonyum bileşikleri) biyositler bir arada kullanılarak korozyon kontrolü arttırılıp maliyet düşürülebilir.

Klorür, ozon, bromür, hidrojen peroksit tipik oksitleyici ajanlardır. Özellikle klorür yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak biyofilmlere diffüzlenmekte yetersiz kaldığı için karışık kültürlerden oluşan biyofilmlerde etkinliğini azaltmaktadır. Ayrıca SRB'ler klorüre direnç geliştirdiği için daha yüksek konsantrasyonlara çıkılması veya biyosit değişikliği gerekli olmaktadır (Choudhary 1998)

Daha kalıcı ve etkinliği pH'dan bağımsız olan, oksitleyici olmayan biyositler, algler, mantarlar ve bakterilerin kontrolünde daha etkindirler. Örnek olarak gluteraldehit, formaldehit, izotiyazolonlar ve kuaterner amonyum bileşikleri (QACs) verilebilir. Gluteraldehit SRB içeren biyofilmlerin kontrolü için kullanılmaktadır. Gluteraldehit petrol endüstrisi de dahil olmak üzere pek çok endüstri dalında antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadır (Videla and Herrera 2005). Özellikle bu biyositin paslanmaz çelik, metaller, plastikler ve cam malzemelerde korozyona neden olmaması yaygın bir şekilde kullanımını sağlamaktadır. Gluteraldehitin fonksiyonel grupları hücre zarı, sitoplazması ya da hücre duvarında bulunan proteinlerin –OH, $-NH_2$, -COOH, -SH gibi gruplarıyla reaksiyona girmektedir. Suda çözünebilmekte, yağda çözünmemektedir. Amonyak ve aminlerle reaksiyonu polimerleşmesine neden olmaktadır. Gluteraldehitin biyofilmlere karşı etkinliğini arttırmak amacıyla alkollerle birlikte, biyosidal etkisini arttırmak amacıyla QACs ile birlikte uygulandığı bildirilmiştir (Videla 2002). QACs lardan en yaygın kullanılanı alkildimetil benzil amonyum klorürlerdir. Katyonik bileşikler olan QACs, hücre zarına zarar vererek yarı geçirgen özelliklerini bozar ve hücre içeriğinin dışarı akmasına neden olur. Petrol endüstrisinde üretim sahalarının geçirgenliğini etkilediği için tercih edilmemektedir.

Formaldehit geniş spektrumlu biyosit etkisi olan bir aldehittir. Formaldehit DNA, RNA ve proteinlerle reaksiyona girmekte, DNA-protein çapraz bağ oluşumunu arttırmaktadır

(Kailasam and Rogers 2007). Çoğu gram negatif ve pozitif bakterilerin inhibisyonu için 30-50 mg/L'lik konsantrasyonu yeterliyken fungusların inhibisyonu için 1000 mg/L'lik konsantrasyon gerekmektedir. Ancak potansiyel bir karsinojen olması sebebiyle endüstride kullanımı kontrol altında tutulmaktadır.

Çevrenin korunmasıyla ilgili artan yasal zorunluluklar biyositlerin kullanımını sınırlandırmakta, yeni bileşiklerin geliştirilmesini veya var olanların dikkatli seçilmesini gerektirmektedir. THPS (tetrakis hidroksimetil fosfoniyum sülfat) özellikle bakteri, mantar ve alglere karşı etkili oksitleyici olmayan yeni bir biyosittir. Demir sülfürü çözme özelliği bulunmasından ve fazla çevre kirliliği yaratmamasından dolayı petrol endüstrisinde kullanılmaktadır (Videla and Herrera 2005).

Bazı organik biyositler, örneğin QACs ve poliaminler, hem biyosit hem de korozyon inhibitörü olarak görev yaparlar. Bunlar metal yüzeyine yapışarak koruyucu bir film oluştururlar ve pek çok mikroorganizma için toksiktirler. Diğer biyositler korozyonu sadece bakteri gelişimini engelleyerek durdururlar (Davis 1967).

Biyositlerin mikrobiyel korozyon üzerindeki etkileri pek çok çalışmada araştırılmıştır. *Desulfovibrio vulgaris, D. desulfuricans* ve anaerobik *Vibrio anguillarum* bakterilerine üç biyositin etkisi Gaylarde ve Johnston (1983) tarafından incelenmiştir. İnokülüm bileşenlerindeki farklılıkların, mikroorganizmanın geliştirilme şartlarının, ortamda oksijen ve metal kupon bulunmasının ve farklı ortam pH'ının bakterilerde biyosit duyarlılığına etkisi incelenmiştir. Myacide AS (25-100 mg/L), Vantocil IB (50-200 mg/L), gluteraldehit (50-200 mg/L) biyosit olarak kullanılmıştır. Aynı biyosit konsantrasyonunda saf kültür yerine karışık SRB kültürü kullanıldığında SRB'leri öldürmek için gerekli temas süresinin arttığı görülmektedir. Biyosit olarak gluteraldehit kullanıldığında fazla fark görülmemektedir. *V. anguillarum* içeren kültürde SRB türünü öldürmek için gerekli temas süresinin arttığı gözlenmiştir. Bu bakterinin biyositi adsoblayarak ya da modifiye ederek etkisiz hale getirdiği düşünülmektedir. Bakterilerin biyosit testinden önce demir plakalı ortamda geliştirilmiş olması gluteraldehite karşı direnci arttırmıştır. Demir membran yapısını sağlamlaştırarak, geçirgenliğini etkileyerek

ya da oluşan demir sülfürlerin biyositlerin bağlanma bölgelerini kapatmasıyla biyositlere karşı direnç sağlamaktadır. Ortamda oksijen bulunduğunda bakterilerin biyositlere karşı daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Ortam pH'ı 7.2 olduğunda bakteriler genellikle biyositlere karşı daha dirençlidir. Ortamda demir kupon bulunmadığında besiyerinde yüzen planktonik ve sesil bakterilerin biyositlere daha duyarlı olduğu, demir kupon bulunduğunda genellikle daha yüksek konsantrasyonlarda biyosit kullanılması gerektiği bildirilmiştir. Salgılanan polimerler ve bakteri tabakasıyla metal üzerinde oluşan biyofilm bakterileri biyositlere karşı korumaktadır. Ancak bu çalışmada 50 mg/L gluteraldehit uygulandığında hem sesil hem de planktonik bakterilerin 25 saat içinde öldüğü görülmüştür (Gaylarde and Johnston 1983).

Hardy (1983) SRB inhibitörlerinin etkisini radyorespirometri yöntemiyle incelemiştir. Biyosit etkinliği, kontroldeki, yani biyositsiz ortamdaki *Desulfovibrio vulgaris*'in ürettiği sülfürün biyosit etkisinde % düşüşü ile ifade etmiştir. Buna göre deney koşullarında kuaterner amonyum bileşikleri 50 mg/L altındaki konsantrasyonlarda etkisiz kalmaktadır. Gluteraldehit kullanıldığında ise 50 mg/L konsantrasyonda aktivitenin kontrole göre % 80 den fazla azaldığı görülmüştür. Ortamda bulunan ditiyonat ve sülfür gibi indirgeyici ajanların biyositlerin aktivitesini durdurduğu gözlenmiştir. Besi ortamı olarak laktat eklenmiş ve tuz oranı % 42 olan formasyon suyu ile % 19 olan kuzey deniz suyu kullanıldığında gluteraldehitin daha tuzlu ortamda daha etkin olarak sülfür üretimini engellediği görülmüştür. *Desulfovibrio vulgaris* kültür ortamına gluteraldehit artan konsantrasyonlarda (80, 120 ve 160 mg/L) eklendiğinde sülfür üretimini tamamen durdurmak için geçen zamanın azaldığı bildirilmiştir.

Franklin *et al.* (1991) hasar görmüş çelik borulardan elde edilen *Pseudomonas, Bacillus, Erwinia, Acinetobacter* ve SRB türlerinden oluşan bakteri kültürü ile korozyon çalışmaları yapmışlardır. Taramalı elektron mikroskobu incelemelerine göre kontrol kuponlarında 4 gün inkübasyon süresi sonunda bakteriyel ekstraselüler polimer, korozyon ürünleri ve çeşitli bakterileri içeren biyofilm tabakasının oluştuğu, bu tabakanın altında ise yüzeyde lokal korozyon gerçekleştiği belirlenmiştir. Biyosit olarak klor ve klor-bromun etkisi bakteriyel aktivitenin belirlenmesi ile ölçülmüştür. Biyofilmlere 16 mg/L'lik biyosit uygulanması bakteri sayılarını ve aktivitelerini

azaltmıştır, bu dozdan sonra ortama verilen 2 mg/L'lik biyosit ile biyositin etkisi sürdürülmüştür. Ancak elektrokimyasal empedans spektroskopi sonuçlarına göre yüksek konsantrasyonda biyosit uygulaması (biyositin korozif etkisinden dolayı) hem steril hem de inoküle edilmiş sistemlerde korozyon hızını arttırmıştır.

Gundersen *et al.* (1991) sürekli ve kesikli olarak klorlanan deniz suyu ortamında paslanmaz çeliğin korozyonunu ve bakteri aktivitesini incelemişlerdir. Zamana bağlı olarak açık devre potansiyeli ve katodik polarizasyon eğrisi belirlenmiştir. Sürekli olarak klor uygulandığında 0.1 mg/L'lik konsantrasyon bakterileri öldürmek için yeterli olmaktadır. Kesikli uygulamada günlük olarak 30 dakika süreyle uygulanan 1 mg/L klor yeterli bulunmuştur. Üç tip paslanmaz çeliğin klorsuz deniz suyu ortamında gümüş/ gümüş klorür referans elektroda karşı okunan açık devre potansiyelleri birbirinden farklı olmakla beraber, bakteri aktivitesinin etkisinde potansiyellerin zamana bağlı olarak arttığı bildirilmiştir. Sürekli biyosit uygulamasında farklı çeliklerin biyosite farklı tepki verdikleri ve düşük biyosit konsantrasyonlarında potansiyelin 40 gün süreyle yavaşça artmakta olduğu gözlenmiştir. Bu durumun klorun okside edici özelliğinden kaynaklandığı ve çukurcuk korozyonu tehlikesini devam ettiği bildirilmiştir. Kesikli klorlanan ortamda bakteri aktivitesi az da olsa devam etmekle birlikte, çeliklerin açık devre potansiyeli klorsuz deniz suyundakinden daha düşük bulunmuştur. Metal üzerinde 0.2 mg/L den daha düşük klor uygulanması korozyona neden olmamaktadır. Çalışma bulgularına göre deniz suyunda metal yüzeyinde oluşan oksit filmin yük transfer özelliklerindeki değişmeler, ortamda bakteri ve biyosit bulunması açık devre potansiyelinde ve katodik polarizasyon eğrilerinde değişikliklere neden olmaktadır.

Wiatr ve Fedyniak (1991) tarafından yapılan çalışmada metronidazol ve biyodispersan karışımının laboratuvar ve fabrika şartlarında özellikle *Desulfovibrio desulfuricans, Desulfotomaculum nigrificans* ve *Clostridium sporogenes* türlerine etkisi incelenmiştir. Deneylerde kullanılan bakteri karışımı bu türlerin saf kültürleri ile endüstriyel biyofilmlerden elde edilen aerobik bakteri ve mantarlardan oluşmaktadır. Laboratuvar koşullarında kesikli sistemde 14.4-72 mg/L arasındaki konsantrasyonda metronidazol obligat anaerob bakterileri 72 saat içinde öldürmek için yeterli bulunmuştur. Biyosit 50 mg/L'lik miktarda uygulandığında yaklaşık 4 günde SRB'ler ölmektedir. Ancak

anaerobik reaktörde bu konsantrasyon uygulandığında, biyositin kalın biyofilm tabakasına nüfuz edememesi sebebiyle biyosit etkisiz kalmıştır. Daha yüksek konsantrasyonlara çıkılması ticari olarak uygun bulunmamıştır. Bu bakımdan biyosit biyodispersan ile beraber uygulanmıştır. Sürekli besleme ile 117 mg/L metronidazol ve biyodispersan karışımının reaktöre verilmesiyle 32 saat sonunda SRB'ler % 99 oranında azalmıştır. Fabrika ortamında soğutma suyu sisteminde uygulanan 100-120 mg/L'lik biyosit biyodispersan karışımı 3 hafta içinde SRB sayısını 3×10^6 cfu/g'dan 300 cfu/g'a düşürmüştür (Wiatr and Fedyniak 1991).

Cheung *et al.* (1994) tarafından yapılan çalışmada petrol rezervuarından izole edilen bir SRB türüne sıcaklık (20, 37 ve 50 ºC) ve basıncın (1, 100 ve 200 atmosfer) etkisi incelenmiştir. İzotiyazolon ve formaldehitin 100, 200 ve 500 mg/L'lik konsantrasyonları test edilmiştir. En yüksek gelişim hızı 37 ºC'de ve 100 atmosfer basınçta elde edilmiştir. Biyositlerin etkisi benzer olmakla beraber 200 atmosfer basınç ve 37 ºC'de formaldehit daha etkilidir. Bakteri sayısının artmasıyla biyosit etkisi azalmaktadır.

Guiamet ve Gaylarde (1996) paslanmaz çelik yüzeyine *Hormoconis resinae* mantarı ve SRB'den oluşan biyofilmlerde bir izotiyazolon biyosit olan Kathon FP'nin etkisini incelemişlerdir. Biyositin 50 ve 100 mg/L'lik konsantrasyonları *Hormoconis resinae'*dan oluşan biyofilm üzerinde etkiliyken, iki mikroorganizmadan oluşan karışık biyofilmde daha yüksek konsantrasyonda biyosit kullanıldığında *H.resinae* etkilenmektedir. Bu konsantrasyonda sesil SRBler de % 99 oranında azaltmıştır (Guiamet and Gaylarde 1996).

Sarıoğlu *et al.* (1997), N-80 sondaj borusunun *Desulfovibrio* sp. etkisiyle korozyonunu incelemiş, kütle kaybı ölçümlerine göre SRB'li ortamda korozyon hızının 6 kat daha fazla olduğunu gözlemlemiştir. Açık devre korozyon potansiyeli değişimi incelendiğinde SRB'li ortamda korozyon potansiyelinin zaman içinde daha pozitif değere kaydığı görülmüştür. Bu durum yüzeyde biyofilm ve sülfür filmi oluşumuyla ilişkilendirilmiştir. Ticari bir biyosit olan IDCIDE-L'nin 500 mg/L'nin üstündeki

konsantrasyonlarında besiyerindeki siyahlaşmanın gerçekleşmediği ve SRB gelişiminin engellendiği bildirilmiştir.

Rège ve Sand (1998), SRB ve kemoorganotrofik bakterilerden oluşan biyofilm üzerine çeşitli biyositler uygulamış, mikrobiyel aktivite ölçümü ve hücre sayımıyla biyofilm etkisini değerlendirmiştir. Denenen tüm biyositlerin mikrobiyel aktiviteyi azalttığı mikrokalorimetrik yöntemle gösterilmiştir. Buna karşılık hücre sayıları aynı oranda azalmamaktadır. Formaldehit en etkili biyosit olarak tespit edilirken, 1,8-dihidroksiantrakinon ve gluteraldehit içeren Dilurit 946 biyositi orta derecede etkili ve tetrametilamonyumhidroksit en az etkili bulunmuştur. Biyositin ortamdan uzaklaşmasıyla biyofilm hücrelerinin tekrar gelişmeye başladıkları görülmüştür (Rège and Sand 1998).

Keresztes *et al.* (1998) paslanmaz çelik ve pirincin korozyon hızına *Desulfovibrio desulfuricans* ve abiyotik sülfürün etkisini araştırmışlardır. Potansiyostatik polarizasyon ölçümleriyle korozyon mekanizması araştırılmış, oluşan sülfür tabakaları da atomik kuvvet mikroskobu ile incelenmiştir. Biyosit olarak N-hidroksi-metil-amino asitleri kullanılmış, N-hidroksi-metil-glisin'in (GLY) 100 mg/L'lik N-hidroksi-metil-fenil-alanin (PHE) 500 mg/L'lik konsantrasyonu kullanıldığında besiyerinin ancak 20 gün sonra siyahlaştığı bildirilmiştir. Polarizasyon direnci ölçümlerine göre SRB'li ortamda çeliğin korozyon hızının kontrole göre oldukça arttığı gözlenmiş, 250 mg/L PHE kullanıldığında SRB gelişiminin 3-4 gün sonra başladığı ve bundan sonra korozyon hızını arttırdığı tespit edilmiştir. Aynı konsantrasyonda uygulanan GLY' nin gelişimi tamamen durdurduğu ve korozyon hızının boş besiortamıyla aynı olduğu bildirilmiştir. Metal olarak pirinç kullanıldığında korozyon hızının daha düşük olduğu gözlenmiştir. Açık devre potansiyelleri incelendiğinde abiyotik sülfür içeren ortamda çeliğin potansiyelinin daha negatife kaydığı ve koruyucu sülfür tabakası oluştuğu görülmektedir. Bakterili ortamda potansiyelin abiyotik sülfürlü ortama oranla daha pozitife kaymış olduğu ve oluşan yüzey filminin daha gevşek olduğu bildirilmiştir. Pirinç kullanıldığında pirincin bakır içermesinden dolayı biyofilm oluşumu için uygun bir ortam olmadığı, abiyotik ve biyotik sülfür etkisi arasında fark görülmediği tespit edilmiştir. Çelik kuponda bakterili ortamda oluşan biyofilm tabakasındaki

ekzopolimerlerin demir sülfürü bağladığı, böylece geniş bir katodik yüzey oluştuğu ve katodik depolarizasyonun gerçekleştiği bildirilmiştir. SRB'nin sürekli sülfür sağlayarak, anodik bölgelerin yeniden oluşmasını sağladığı görülmüştür.

Fang *et al.* (2002), çeşitli kimyasalların (gluteraldehit, fenol) ve toksik metallerin (Cr, Cd, Zn, Al, Pb) SRB aktivitesine, biyofilm oluşumuna ve biyokorozyona etkisi incelenmiş, bunların SRB üzerinde toksik etki gösterdiğini, ancak biyofilm oluşumunu engellemediğini bildirmişlerdir. Gelişme ortamında 10 mg/L konsantrasyonda gluteraldehit bulunduğunda, sülfat indirgeyen bakterilerin gerçekleştirdiği sülfat indirgenmesinin % 85'den % 25'e düştüğü gözlenmiştir. Biyofilmlerin toksik kimyasalların etkisiyle kümeleştiği ve EPS üretiminin arttığı gözlenmiştir. Kümeleşme ile kimyasalla temas eden biyofilm yüzey alanı azaltılarak bakterinin kimyasala karşı daha az hassas olması sağlanmıştır. Artan EPS tabakası da kimyasallara karşı doğal bir difüzyon bariyeri oluşturmuş ve kümeleşme oluşumuna katkıda bulunmuştur. EPS tabakasının asidik yapıda olması ve demiri bağlama özelliği nedeniyle korozyonun hızlandığı görülmüştür. Kümeleşme olan alanların katot olarak davrandığı, diğer yüzeylerin deniz suyundaki klor ve sülfatın etkisine açık olduğu için anot olarak davrandığı bildirilmiştir.

Gardner ve Stewart (2002) petrol sahası üretim sularından elde edilen karışık SRB kültürünü sürekli sistemde geliştirmişler ve biyofilm aktivitesini sülfür üretiminin ölçümüyle belirlemişlerdir. Yaygın kullanılan bir biyosit olan gluteraldehit ve SRB metabolizmasını inhibe eden sodyum nitritin biyofilm aktivitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Planktonik SRB ile yapılan kontrol deneylerinde 10 mg S l^{-1} sülfür konsantrasyonuna ulaşmak için yaklaşık 47 saat gerekliyken, ortama 50 mg l^{-1} gluteraldehit eklendiğinde 143 saat gerekmektedir. Ortama 100 mg l^{-1} gluteraldehit eklendiğinde sülfür üretimi durmaktadır. Biyofilm deneylerinde kontrolde yaklaşık 1.7 saatte 10 mg S l^{-1} sülfür konsantrasyonuna ulaşılırken, 500 mg l^{-1} gluteraldehit eklendiğinde bu süre yaklaşık 62 saate uzamaktadır. Nitrit eklendiğinde ise sülfür üretimi gluteraldehite oranla daha hızlı gerçekleşmektedir. Planktonik hücrelerin sülfür üretimini durdurmak için gereken dozlar biyofilmler için yeterli olmamaktadır. Gluteraldehitin biyofilmin kalınlığını değiştirmediği ve biyofilme nüfuz etmesine

rağmen bakterilerin biyofilm etkisiyle biyosite karşı daha dirençli olduğu bildirilmiştir (Gardner and Stewart 2002).

Gayasso *et al.* (2005), tarafından yapılan çalışmada gaz boru hatlarından alınan örnekten izole edilen ve *Desulfovibrio vietnamensis*'i de içeren bakteriyel kültür kullanılmıştır. Polarizasyon direnci, elektrokimyasal empedans spektroskopisi teknikleriyle bu kültürün korozyon hızı, mekanizması ve biyositin etkisi incelenmiştir. Biyosit olarak uygulanan 200 mg/L gluteraldehitin hem planktonik hem de sesil bakterilerin gelişimini engellediği en muhtemel sayı yöntemiyle belirlenmiştir. Öldürücü dozda biyosit eklendiğinde korozyon hızının yavaşladığı, ancak biyofilm etkisinin sürdüğü ve ara fazda biriken korozif metabolitler ve demir sülfür gibi galvanik etkisi olan ve çeliğe katodik etkisi olan korozyon ürünlerinin bir miktar korozyona yol açtığı görülmüştür.

Biyosit uygulaması dışında petrol üretiminde ortama nitratlı bileşikler ekleyerek sülfat indirgemesi metabolizmasını engellemeye yönelik çalışmalar da vardır (Beech and Sunner 2004) Nitrat eklenmesi ortamdaki parçalanabilir petrol bileşenleri için SRB ile rekabet eden nitrat indirgeyen ve sülfür okside eden bakterilerin gelişimini uyarmaktadır. Ayrıca nitrat indirgeyen bakterilerin bulunduğu sistemlerde nitrat indirgenmesinin ara ürünleri sülfür üretimini engellemektedir (Davidova *et al.* 2001).

Literatür bilgisinden de anlaşıldığı gibi metallerin korozyon davranışının ve korozyon hasarının belirlenmesi ile engellenmesi için yukarıda belirtilen bazı tekniklerin birlikte kullanılmasıyla ve sonuçların birleştirilmesiyle yeterli bilgi edinilmektedir. Kullanılan biyositlerin etkinliği ortam şartları, mikroorganizma tipi, biyofilm oluşumu gibi faktörlerden etkilenmektedir. Bu tez çalışmasında bu nedenle mikrobiyel korozyonun ve biyositlerin korozyonu engellemekteki etkinliğinin belirlenmesi için hassas ve güvenilir bir yöntem olan potansiyostatik polarizasyon yöntemi ve petrol sahalarında kolay uygulanabilirliği nedeniyle kütle kaybı yöntemleri tercih edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Örnek Alımı

Sülfat indirgeyen bakterilerin izolasyonu amacıyla Türkiye'de petrolün ilk bulunduğu ve üretimine başlandığı bölge olan Batman ve Türkiye'nin en çok petrol üretimi yapılan bölgesi olan Adıyaman TPAO Petrol Üretim Sahalarındaki petrol kuyuları ve depolardan su ve petrol örnekleri alınmıştır (Şekil 3.1.a, b).



(a)



(b)

Şekil 3.1.a. Adıyaman Bölgesi Akgün 4 kuyusu, b. Beşikli T1 üretim tankı

Örnek alınan depo ve kuyuların isimleri ve özellikleri Çizelge 3.1 ve 3.2'de sıra ile verilmiştir. Örnek alınan kuyu ve depolardaki petrolün pH değerleri TPAO yetkilileri tarafından temin edilmiştir. Bölgelerden farklı zamanlarda tekrar tekrar örnek alınmıştır. Ham petrol örnekleri belirtilen kuyulardan alındıktan sonra 30 saniye bekletilmiştir. Böylece örnek içinde bulunan su, ham petrolden ayrılmış, üstte ham petrol, altta su olacak şekilde iki faz oluşmuştur.

Sülfat indirgeyen bakterilerin zorunlu anaerob bakteriler olması sebebiyle alınan örnekler hava ile temas ettirilmeden steril şırıngalar yardımıyla alınmıştır. Alınan

örnekler içinden azot gazı geçirilmiş gaz sızdırmayan alüminyum kapaklı ve tıpalı steril boş penisilin şişelerine konulmuştur.

Çizelge 3.1 Batman'dan örnek alınan bölgeler

Kuyu No	**Adı**	**pH**
B1	Raman 1. istasyon 1. serbest su ayırıcı, kuyulardan gelen petrolün birleştiği yer	7.87
B2	Raman Kuyu no 15	8.31
B3	Raman 3. istasyon, yatay serbest su ayrıştırıcı, petrol girişi	8.67
B4	Batı raman, kuyu	7.16
B5	Beşiri ilçesi, Silvanka petrol sahası, seperatör çıkışı (petroldeki gazın ayrıldığı birimin çıkışı)	6.74
B6	Beşiri ilçesi, Silvanka, Kuyu	7.21
B7	Siirt Garzan, 3 ay dinlendirilmiş petrol, kendiliğinden suyu ayrışmış, kimyasal kullanılmamış, Test 3 600 BBC tank atık suyu	8.58
B8	Garzan, 20 nolu kuyu	8.16
B9	Diyarbakır, Sarıcak Sahası, Güney Şahaban, 2 nolu kuyu	8.46
B10	Diyarbakır, Sarıcak Sahası, Güney Sarıcak 4 nolu kuyu	8.21
B11	Diyarbakır Sarıcak sahası, Yeniköy, 7 nolu kuyu	7.69
B12	211 nolu Kuyu	6.66

Çizelge 3.2 Adıyamandan örnek alınan bölgeler

Kuyu No	**Adı**	**pH**
2A1	T1B (Beşikli T1 üretim tankı)	7.37
2A2	Akgün 4 kuyusu	6.52
2A3	B1 kuyusu	7.49
2A4	Karakuş taşırma tankı T8	7.55
2A5	Beşikli 10 kuyusu	7.3
2A6	B15 kuyusu	6.95
2A7	Beşikli 19	7.3
2A8	Tokaris 9	7.2

3.2 Besiyeri Hazırlanması

Deneylerde kullanılan besiyerleri; SRB laktatlı besiyeri (karbon kaynağı olarak laktat ve maya ekstraktı eklenmiştir) ve SRB asetatlı pürüvatlı besiyeri (karbon kaynağı olarak asetat, pürüvat ve maya ekstraktı eklenmiştir)'dir. Besiyerleri 1 mg/L oranında oksijen indikatörü resazurin içermektedir. Besiyerleri hazırlanırken besiyeri bileşenleri saf suda çözündükten sonra azot gazı altında 50 mL lik penisilin şişelerine 20 şer mL olacak şekilde bölünmüştür. Kapatma aletiyle alüminyum kapakları kapatılan şişeler otoklavda steril edilmiştir. Laboratuvara getirilen örneklerden steril şırıngalar yardımıyla penisilin şişelerine besiyerinin % 10'u oranında olacak şekilde ekim yapılmıştır. Ekim yapılan besiyerleri 30 °C'de 1 hafta inkübe edilmiştir.

Besiyerlerinin içerikleri ve hazırlanışı aşağıda verilmiştir.

SRB laktatlı besiyeri (63) (http://www.dsmz.de/microorganisms/html/media/medium000063.html, 2007)

Çözelti A:

Sodyum laktat (%70 çözelti) 3.5 g, $MgSO_4.7H_2O$ 2.0 g, NH_4Cl 1.0 g, Na_2SO_4 1.0 g, Maya ekstraktı 1.0 g, K_2HPO_4 0.5g, Resazurin 1.0 mg

Besiyerinin hazırlanması: Bileşenler 980 mL distile suya ilave edilip, karıştırılmıştır. 2-3 dakika kaynatılarak oksijeni uzaklaştırılmıştır. Besiyerinden azot gazı geçirilerek soğutulmuştur.

Çözelti B:

$FeSO_4.7H_2O$ 0.5 g

Hazırlanması: Bileşenler 10 mL distile suya ilave edilip, karıştırılmıştır.

Çözelti C:

Askorbik asit 0.1 g, sodyum tiyoglikolat 0.1 g

Hazırlanması: Bileşenler 10 mL distile suya ilave edilip, karıştırılmıştır.

Besiyerinin hazırlanması: 980 mL soğutulmuş Çözelti A, 10 mL Çözelti B, 10 mL Çözelti C karıştırılmıştır. Çözelti pH'ı NaOH ile 7.8' e ayarlanmıştır. Azot gazı altında penisilin şişelerine bölünmüştür. Kapatma aletiyle aliminyum kapakları kapatılan şişeler otoklavda steril edilmiştir.

SRB asetatlı pürüvatlı besiyeri (63AP) (http://www.dsmz.de/microorganisms/html/media/medium00063a.html, 2007)

pH 7.2 ± 0.2 25ºC

Besiyerinin hazırlanması: Sülfat indirgeyen bakterilerin laktatlı besiyeri gibi hazırlanır. Yalnız Çözelti 1'e sodyum laktat yerine, sodyum asetat 2 g ve sodyum pürüvat 5 g eklenir.

Ekim yapılan besiyerlerinde sülfat indirgeyen bakterilerin gelişimi olup olmadığı besiyerinde SRB tarafından sülfat indirgenmesi sonucu H_2S üretilmesi kontrol edilerek veya besiyerindeki demir ve SRB'nin ürettiği H_2S'in birleşmesi sonucu oluşan siyah demir sülfür (FeS) çökeltisi oluşumu kontrol ederek yapılmıştır (Davis 1967, Mercer *et al.* 1983). H_2S üretimi bir kimyasal testle gösterilmiştir (Widdel and Bak 2001). Kültürden 0.2 mL alınarak, 1 mL lik 5mM $CuSO_4$ ve 50 mM HCl içeren çözeltiye eklenmiştir. Besiyerinde H_2S bulunduğunda reaksiyon sonucu meydana gelen CuS sebebiyle kahverengi renk oluşumu gözlenmektedir. Testler sonucunda geliştiği belirlenen kültürler belli aralıklarla aktifleştirilmiştir.

3.3 İzolasyon

İzolasyon için sıvı besiyerinde seri dilüsyon ve katı besiyerinde çizim metotları kullanılmıştır. Gelişen kültürlerden 2 mL alınarak 18 mL steril besiyeri içeren penisilin şişesine ekilmiştir, karıştırıldıktan sonra tekrar 2 mL alınarak tekrar steril besiyerine ekilmiştir. Benzer şekilde seyreltmelere devam edilmiştir. Gelişimin görüldüğü en son seyreltmeden 0,1 mL alınarak %2 agar ilavesiyle katılaştırılmış petrideki besiyerine çizim yapılmıştır. Katı besiyerine yapılan ekimler anaerobik kabinde (Labconco Protector Glove Box) azot gazı altında gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2.a). Ekim yapılan petriler anaerobik jara (Oxoid HP 0011A) alınmıştır (Şekil 3.2.b).



(a)



(b)

Şekil 3.2.a. Anaerobik kabin, b. anaerobik jar

Anaerobik jarın içine, ortamdaki O_2 yi gideren ticari kitlerden 1 adet (Oxoid gas generating kit) konulmuştur. Jar kapatılarak 30 °C'ye ayarlanmış inkübatöre konulmuştur. Tek koloni düşen petrilerden şırınga ile koloniler alınarak sıvı besiyerlerine ekilmiştir. Sıvı besiyerinde gelişim olduktan sonra anaerobik kabinde tekrar tek koloni düşürmek için katı besiyerine çizim yapılmıştır. İşlem birkaç defa daha tekrar edilerek kültürlerin saflığı sağlanmaya çalışılmıştır. Ayrıca ilk alınan su örnekleri de katı besiyerlerine çizilmiştir. Kültürlerde istenmeyen aerobik organizmaların gelişiminin olup olmadığının belirlenmesi amacıyla kültürler aerobik olarak katı besiyerlerine tekrar çizilmiştir (Widdel and Bak 2001).

İzolasyon çalışmaları sonucunda elde edilen kültürlerin koloni morfolojileri incelenmiş, hidrojen sülfür üretimi belirlenmiştir. Gram boyama ve spor boyama yapıldıktan sonra ışık mikroskobu ile incelenmiş ve boyutları ölçülmüştür.

3.4 İzolatların Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İle İncelenmesi

SEM incelemeleri için H_2S üretimi yüksek olan izolatlar seçilmiştir. Steril şırınga ile anaerobik olarak 24 saatlik SRB kültüründen 0.5 mL alınmıştır. Üzerine 0.5 mL %5 lik gluteraldehit eklenmiştir. 2 saat + 4 °C'de beklemeye bırakılmıştır. Bekleme süresi sonunda 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatan atılarak 1 mL distile su ile çökelti yıkanmıştır. Tekrar santrifüjlenmiştir. Yıkama işlemi 1 kere daha tekrar edilmiştir. Dehidrasyon işlemine geçilmiştir. Hücreler sırayla % 70, 80, 90, 100 ve 100'lük alkolde tutulmuştur (Yöntem Gayosso *et al.* 2004'den değiştirilmiştir). Hücreler, daha sonra %100 lük amil asetata geçirilmiştir. Örnekler, kritik noktada kurutma aletiyle (Polaron, CPD 7501) CO_2 gazı geçirilerek kurutulmuştur. Daha sonra örnekler altın ile (Polaron SC 502 sputter coater) kaplanmıştır. Örnekler Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde Jeol JSM 6060 Taramalı Elektron Mikroskobu ile 15 kV'da incelenmiş ve resimleri çekilmiştir.

3.5 İzolatların Karakterizasyonu

Elde edilen H_2S üretimi yüksek olan izolatların karakterizasyonu için ortalama hücre boyutları, morfoloji, Gram reaksiyon, sporulasyon, karbon kaynakları kullanımı özellikleri kullanılmıştır. İzolatların kullandığı substratların belirlenmesi amacıyla karbon kaynağı içermeyen besi ortamı hazırlanmıştır. Asetat, benzoat, bütirat, format, fumarat, fruktoz, glukoz, etanol, laktat, malat, propiyonat, pürüvat ve süksinatın steril stok solüsyonlarından besi ortamına son konsantrasyon 10 mM olacak şekilde eklenmiştir. Besi ortamının 3 artarda ekim sonrasında siyahlaşması durumunda gelişme pozitif olarak değerlendirilmiştir (Campbell and Postgate 1965, Postgate, 1984, Atlas,

1993, Feio *et al.* 1998, Kuever *et al.* 1999, Castro *et al.* 2000, Widdel and Bak 2001, Hurst, 2002, Tello *et al.* 2003, Belyakova and Rozanova 2004).

3.6 İzolatların Neden Olduğu Korozyonun Kütle Kaybı Yöntemiyle Belirlenmesi

TPAO'dan temin edilen çelik korozyon kuponları boyutları 0.5×0.5×0.2 cm olacak şekilde kestirilmiştir. Yüzeylerindeki pas ve kirler fırça ve zımpara kağıdı (1200 grit) ile temizlenmiştir. Kuponlar asetondan ve saf sudan geçirilmiş, 80 °C'de 1 gece tutularak kurutulmuştur. Desikatörde 3 saat bekletilerek oda sıcaklığına getirilen kuponlar, hassas terazide tartılmıştır. İçinden azot geçirilmiş Hungate tüplerine (Bellco Glass) konan kuponlar, otoklavlanarak steril edilmiştir. Tüplere 10 mL steril besi ortamı (63 veya 63AP) eklenmiş ve 1 mL 24 saatlik mikroorganizma kültürü ekilmiştir. Ayrıca kültür ortamının kuponların korozyonunda etkisi olup olmadığının belirlenmesi amacıyla kupon ve steril besi ortamı içeren, ancak bakteri kültürü içermeyen kontrol tüpleri de hazırlanmıştır. Tüpler, 30 °C'de 1 ay boyunca bekletilmiştir. Açılan tüplerdeki kuponlar alınarak daha önceki gibi tartım için hazırlanmıştır. Hassas terazide tartılan kuponlardaki kütle kaybı ve aşağıdaki denklemden korozyon hızları hesaplanmıştır (Tang *et al.* 2003). Deneyler üç tekrarlı yapılmış ve ortalaması alınmıştır.

$$i_{kor} = \frac{\Delta m}{A \times t}$$ Δm: kütle kaybı (mg), A: yüzey alanı (cm^2), t: süre (saat)

3.7 Çelik Kuponlardaki Korozyonun Stereo Mikroskop ve SEM ile Görüntülenmesi

Kütle kaybı tayini için kullanılan kuponlardan bazıları tartım sonrasında Stereo mikroskop ve SEM ile incelenmiştir. Temizlenen kuponlar ön işlem uygulanmadan direk olarak SEM ile incelenmiştir. Kuponlardan 1 tanesi temizlenmemiş, üzerindeki korozyon ürünlerinin ve mikroorganizmaların SEM ile incelemesi için ayrılmıştır. Temizlenmemiş kupon % 2,5 lik gluteraldehit içinde 1 gece bekletilmiştir. Kupon distile su ile yıkanmış ve dehidrasyon işlemine geçilmiştir. Kupon sırayla % 70, 80, 90, 100 ve

100'lük alkolde ve %100 lük amil asetatta tutulmuştur (Yöntem Gayosso *et al.* 2004'den değiştirilmiştir). Kritik nokta kurutma aletiyle kurutulan kupon altın ile kaplanmış, Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde Taramalı Elektron Mikroskobunda incelenmiş ve resimleri çekilmiştir. Enerji dağıtıcı X ışını analizleri (EDAX) Kırıkkale Üniversitesinde IXRF-EDS 2000 Microanalysis system Jeol JSM 5600 SEM ile yaptırılmıştır.

3.8 İzolatların Neden Olduğu Korozyona Biyositlerin Etkisinin Kütle Kaybı Yöntemiyle Belirlenmesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan biyositlerin saf kültürlerin gelişimi ve korozyon hızına etkisi belirlenmiştir. Biyosit olarak formaldehit (%37 Sigma) ve gluteraldehit (%25 Sigma) kullanılmıştır. Biyositler steril saf su ile istenilen konsantrasyona seyreltilmişlerdir.

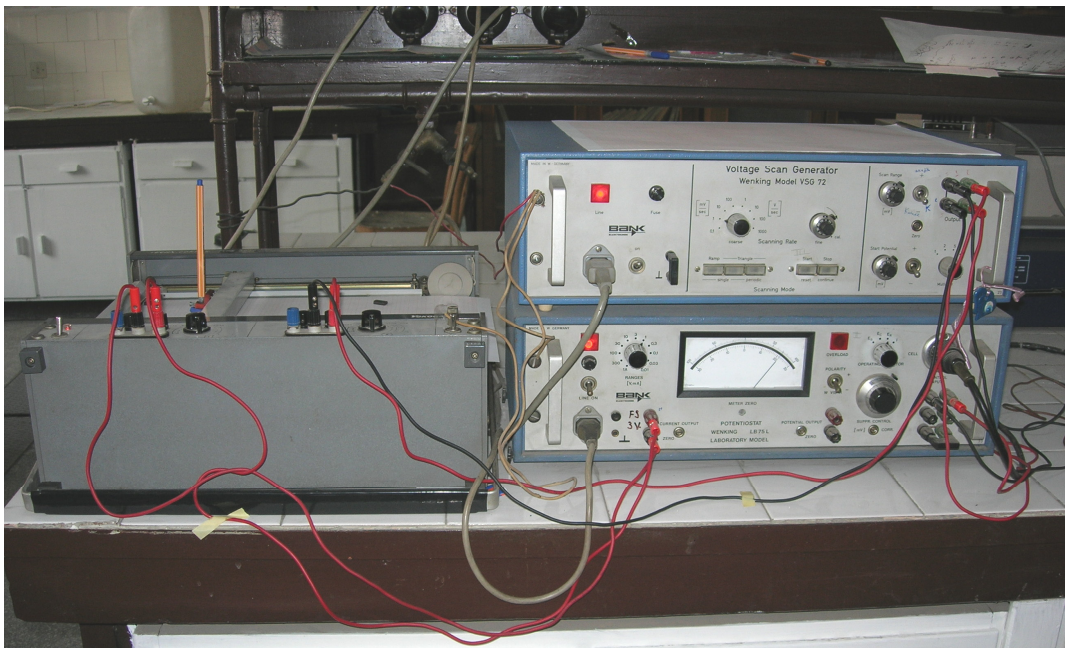
Çelik kupon bulunmayan besiyerinde mikroorganizma gelişimini durdurabilecek minimum biyosit konsantrasyonunun belirlenmesi için 2.5, 5, 10, 20, 40, 50, 75, 100 mg/L konsantrasyonlarında biyosit içeren besi ortamı hazırlanmıştır. Besi ortamı daha sonra 24 saatlik bakteri kültürü ile 10^7 hücre/mL olacak şekilde inoküle edilmiştir. Bir haftalık inkübasyon süresinden sonra inhibitör biyosit konsantrasyonu, kültür tüplerindeki gelişme ve siyahlaşmadan belirlenmiştir (Gaylarde and Johnston 1983).

Biyositlerin korozyon hızı ve bakteri gelişimi üzerine etkisinin belirlenmesi için besi ortamı çelik kupon ilavesiyle hazırlanmıştır. Besi ortamına başlangıç konsantrasyonu 100, 200, 400 mg/L olacak şekilde formaldehit ve 200, 400, 600 mg/L olacak şekilde gluteraldehit eklenmiştir. Besi ortamı daha sonra 24 saatlik bakteri kültürü ile 10^7 hücre/mL olacak şekilde inoküle edilmiştir. Ayrıca kültür ortamı veya biyositlerin tek başlarına kuponların korozyonunda etkisi olup olmadığının belirlenmesi amacıyla kupon ve steril besi ortamı içeren ve kupon besi ortamı ve farklı konsatrasyonlarda biyosit içeren, ancak bakteri kültürü içermeyen kontrol tüpleri de hazırlanmıştır. Bir aylık inkübasyon süresinden sonra açılan tüplerdeki kuponların korozyon hızı Bölüm

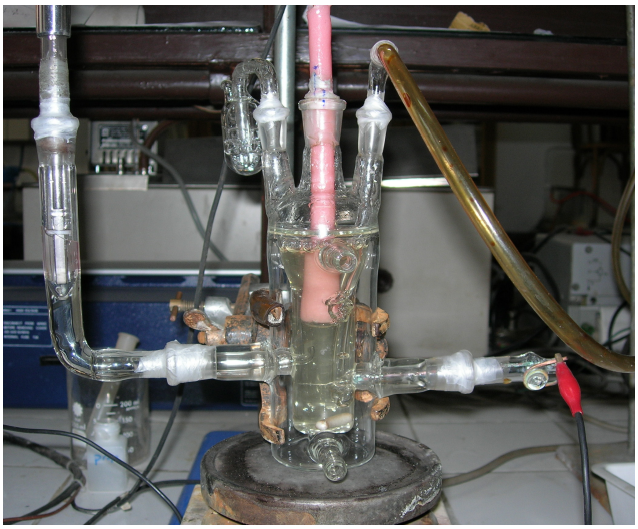
3.6'da belirtildiği gibi kütle kaybı yöntemiyle belirlenmiştir. Bakteri sayısının belirlenmesi için kuponların üzerindeki hücreler kazınarak besi ortamına karıştırılmıştır. Buradan steril enjektörlerle kültür örnekleri alınarak Petroff- housser lamıyla bakteriyel sayım yapılmıştır. Deneyler üç tekrarlı yapılmış ve ortalaması alınmıştır.

3.9 Elektrokimyasal Korozyon Ölçümleri

Elektrokimyasal ölçümler Wenking LB 75 L potansiyostat, Wenking VS G 72 voltaj tarama jeneratörü ve Yokogawa type 3077 kaydediciden oluşan bir sistemle gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3). Polarizasyon deneyleri 3 elektrotlu cam hücrede yapılmıştır (Şekil 3.4). Çalışma elektrodu olarak çelik elektrot, referans elektrot olarak doygun kalomel elektrot (SCE) ve yardımcı elektrot olarak Pt levha kullanılmıştır. Elektrot hazırlanması için, çelik örneği 4 mm çapında silindir şeklinde hazırlanmış ve metil metakrilata gömülmüştür. Her deneyden önce çelik yüzeyi 1200 gritlik zımpara kağıdı ile zımparalanmış ve bidistile su ile yıkanmıştır.



Şekil 3.3 Deneylerde kullanılan potansiyostat düzeneği



Şekil 3.4 Deneylerde kullanılan üç elektrotlu cam hücre.

Kullanılan elektrot çeliği Batman üretim sahasından temin edilmiştir. Elektrodun kimyasal bileşimi Glow Discharge Optical Emission Spectroscopy ile belirlenmiştir. Elektrot 1000 serisi düşük alaşım çeliği olarak tanımlanmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 Kullanılan çeliğin bileşimi

Element	Fe	C	Mn	Ni	P	S	Si	Cr	Cu
Bileşim (%)	99.105	0.113	0.332	0.106	0.01	0.024	0.21	0.05	0.05

Deneylerden önce çözeltilerden 30 dakika azot gazı geçirilerek oksijen uzaklaştırılmıştır. Azot gazı pirogallol, vanadyum klorür ve HCl'den geçirilerek oksjeni uzaklaştırılmıştır. Deneyler sırasında çözeltiler manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Potansiyel tarama hızı 5 mVs^{-1} olarak seçilmiştir. Potansiyeller SCE'ye karşı ölçülmüştür. Su ceketi ve termostat yardımı ile ortam sıcaklığı 30 $^{\circ}C$'de tutulmuştur. Deneylerde denge potansiyelinden başlanarak önce katodik, daha sonra anodik yönde tarama yapılmıştır (Üneri 2000). Deneyler en az 3 kez tekrarlanmış ve bulunan değerlerin ortalaması alınmıştır.

3.10 Çelik Örneğinin Korozyonuna Demir Konsantrasyonunun Etkisinin Elektrokimyasal Yöntemle Belirlenmesi

Korozyon hızına demir konsantrasyonunun etkisinin belirlenmesi amacıyla polarizasyon deneyleri 5, 10 ve 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren 63A besi ortamında gerçekleştirilmiştir. Hücre bileşenleri %70'lik etanol ile steril edilmiş, laminar flow kabinde UV ışığına maruz bırakılmıştır. Daha sonra steril besi ortamı ile doldurulmuş ve bakteri kontaminasyonunu engellemek için kapatılmıştır. Çelik örneğinin korozyon davranışı steril besi ortamında ve bakteri inokülasyonundan sonra belirlenmiştir. Bakteri kültürünü çeşitli Fe^{+2} konsantrasyonlarına alıştırmak için 5, 10 ve 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren ortamlara ekim yapılmıştır. Kültürler burada aktifleştirildikten sonra 10^7 hücre/ mL konsantrasyonunda olacak şekilde inoküle edilmiştir. Bakteri kültürü olarak, kütle kaybı yöntemine göre en yüksek korozyon hızına sahip olduğu belirlenen suş kullanılmıştır. Ölçümler 7 gün boyunca alınmıştır. Deney başında ve sonunda alınan örneklerde bakteriyel sayım yapılmıştır. Bakteri içermeyen ve içeren ortamlarda korozyon potansiyeli (E_{kor}) ve korozyon akım yoğunluğu (I_{kor}) değerleri Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenmiştir. Korozyon akım yoğunluğu (I_{kor}) değerleri Tafel eğrisinin doğrusal kısımlarının korozyon potansiyeline ekstrapolasyonu ile bulunmuştur (Üneri 2000).

3.11 Çelik Örneğinin Korozyonuna Biyosit Etkisinin Elektrokimyasal Yöntemle Belirlenmesi

Biyosit etkisinin incelenmesi 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamında gerçekleştirilmiştir. Deneyler iki şekilde gerçekleştirilmiştir.

Birinci grup deneylerde, 50 mg/L biyositli hazırlanan besi ortamına 24 saatlik mikroorganizma kültürü 10^7 hücre/mL konsantrasyonunda olacak şekilde inoküle edilmiştir. Her gün polarizasyon ölçümleri alınmıştır. İkinci grup deneylerde, besi ortamı önce, mikroorganizma kültürü ile 10^7 hücre/mL konsantrasyonunda olacak şekilde inoküle edilmiştir. 1 günlük inkübasyon süresinden sonra, korozyon

parametrelerine biyosit etkisi 50, 100, 200, 400, 500, 750, 1000, 1500 mg/L konsantrasyonlarında biyosit eklenerek incelenmiştir (Yöntem Keresztes *et al.* 1998'den değiştirilmiştir).

Korozyona uğrayan çelik için anodik ve katodik Tafel eğrilerinin deneysel olarak belirlenmesinden sonra çizgisel kısımlarının denge potansiyeline ekstrapolasyonları yapılarak korozyon hızı i_{kor} ve korozyon potansiyeli E_{kor} belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 SRB İzolasyonu

Batman ve Adıyaman petrol sahalarından alınan su ve petrol örnekleri sülfat indirgeyen bakterilerin zenginleştirilmesi amacıyla hazırlanan sıvı besiyerlerine ekilmiştir. İzolasyon çalışmaları sonucunda SRB laktatlı besiyeri (63) ve SRB asetatlı pürüvatlı besiyerinde (63 AP) gelişebilen izolatlar elde edilmiştir. İzolatların özellikleri Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2'de verilmiştir.

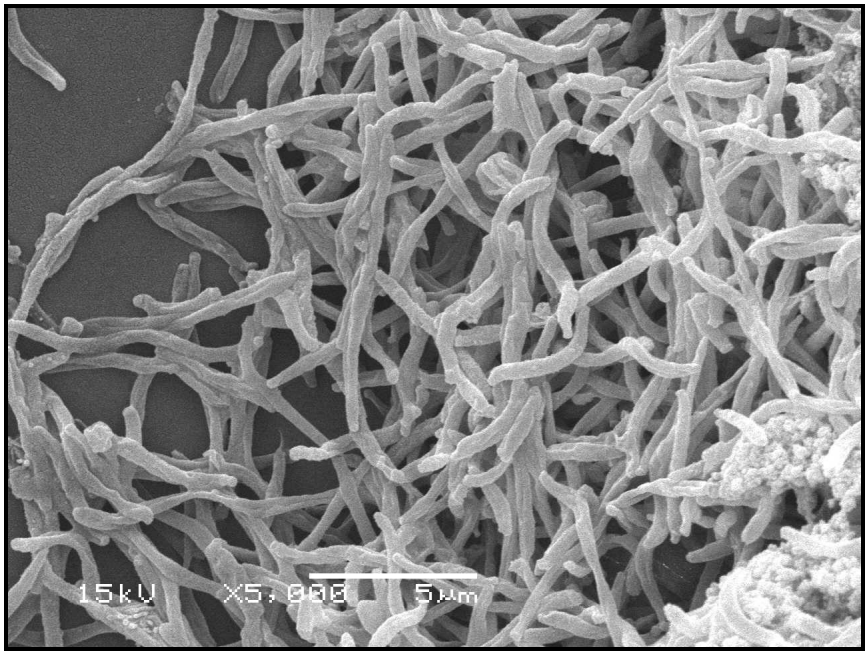
Çizelge 4.1 SRB laktatlı besiyerinde (63) gelişen izolatlar

No	Işık mikroskobu görüntüsü		Spor	Koloni morfolojisi			Gram reaksiyon	H_2S üretimi
	Morfoloji	Boyutlar (µm)		Kenar	Yükseklik	Renk		
1 A1–4	Kıvrık çubuk	0.8 × 1.7	+	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	+
1 A1–5	Kıvrık çubuk	0.5 × 2	+	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	+
1 A1–6	Kıvrık çubuk	0.6 × 3	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	+
B 1	Çubuk	0.5-0.6 ×7-14	–	düzensiz	düz	beyaz	–	–
B 2	Kıvrık çubuk	0.5 × 2.6	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	–
B 4	Oval	0.6 × 1.7	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	–
B 5	Oval	0.7 × 2.3	–	yuvarlak	konveks	Krem sarı	–	–
B 9	Çubuk	0.6 × 3.5	+	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	–
B 10-1	Çubuk	0.6 ×1.1-2.3	–	düzensiz	düz	beyaz	–	+
B 10-2	Kıvrık çubuk	0.6 × 3.6	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	–
B 11	Oval	0.6 × 2.3	–	yuvarlak	konveks	sarı	–	–

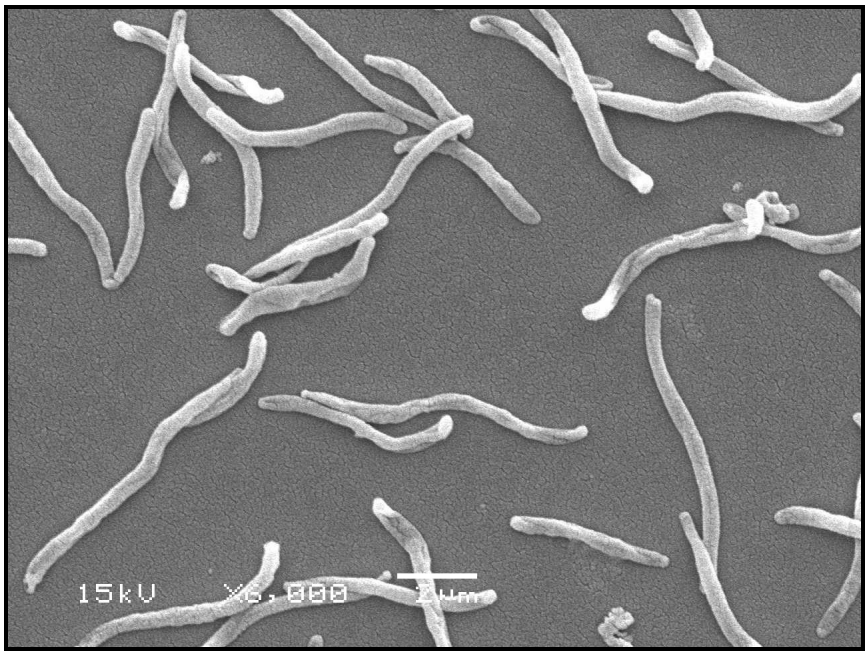
Çizelge 4.2 SRB asetatlı pürüvatlı besiyerinde (63 AP) gelişen izolatlar

No	Işık mikroskobu görüntüsü		Spor	Koloni morfolojisi			Gram reaksiyon	H_2S üretimi
	Morfoloji	Boyutlar (µm)		Kenar	Yükseklik	Renk		
1A1–1	Çubuk	0.3-0.8× 2.2-13.6	+	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	+
1A1–2	Çubuk	0.3-0.6 ×3-10	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	+
1A1–3	Çubuk	0.4-0.9× 3-22	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	+
2A1–1	Çubuk	0.6 × 2	–	düzensiz	düz	beyaz	–	+
2A1–2	Çubuk	0.5 × 1.8	–	düzensiz	düz	beyaz	–	+
B2–1	Kıvrık çubuk	0.5-0.7× 1.3-11.3	+	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	+
B2–2	Kıvrık Çubuk	0.6 × 2.5	+	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	+
B2–3	Çubuk	0.5 × 2-3	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	+	–
B3	Kıvrık çubuk	0.6 × 2.5	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	–
B4–1	Çubuk	1.1×7-10	+	yuvarlak	konveks	krem	–	–
B4–2	Çubuk	1.1×7-10	+	yuvarlak	konveks	beyaz	–	–
B5	Kıvrık çubuk	1 × 2.3	–	yuvarlak	yüksek, içe dönük	Kahve rengi	–	+
B6	Çubuk	1.1 × 2.3	+	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	–
B8–1	Çubuk	1.1× 34-46	–	düzensiz	düz	beyaz	–	–
B8–2	Çubuk	0.5 × 2.3	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	–
B9–1	Çubuk	1.1 × 2.5	–	yuvarlak	konveks	beyaz	–	–
B9–2	Oval	1.7 × 3.5	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	–
B9–3	Çubuk	1.1 × 3.5	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	–
B10–1	Çubuk	1.1 × 2.3	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	–
B10–2	Çubuk	0.6 × 1.5	–	yuvarlak	konveks	beyaz	+	–
B10–3	Oval	1,1 × 2.3	–	düzensiz	düz	sarı	–	–
B10–4	Oval	1.1 × 1.7	–	yuvarlak	konveks	Parlak beyaz	–	–

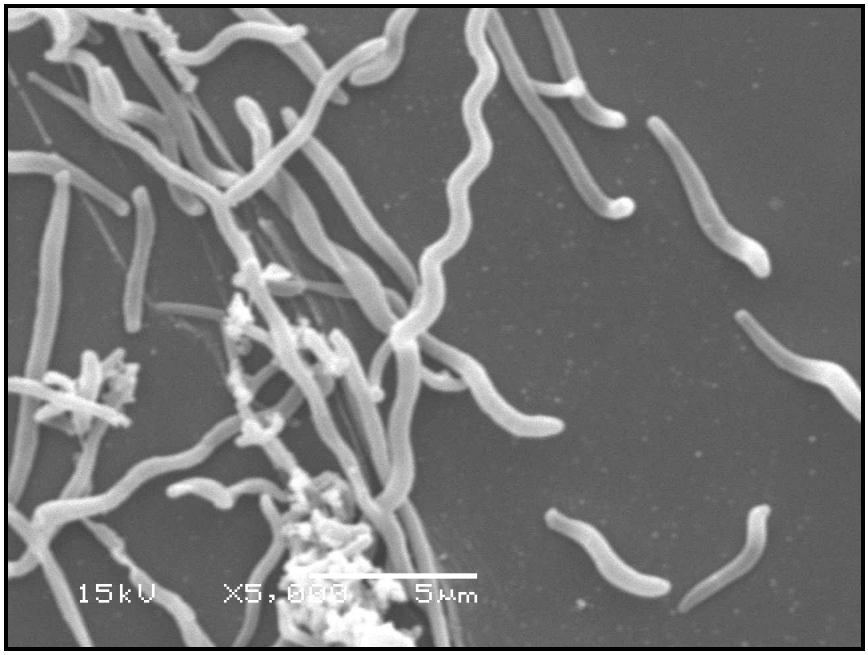
Hidrojen sülfür üretimi yüksek olan izolatlar Taramalı Elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiş ve boyutları belirlenmiştir (Şekil 4.1-4.12).



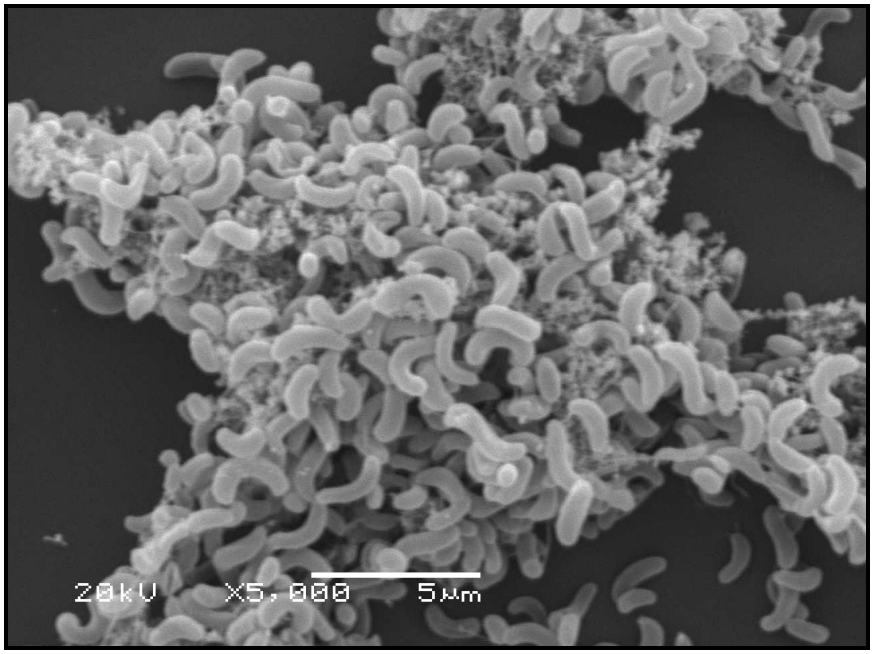
Şekil 4.1 1 A 1 – 1 izolatının elektron mikrografı



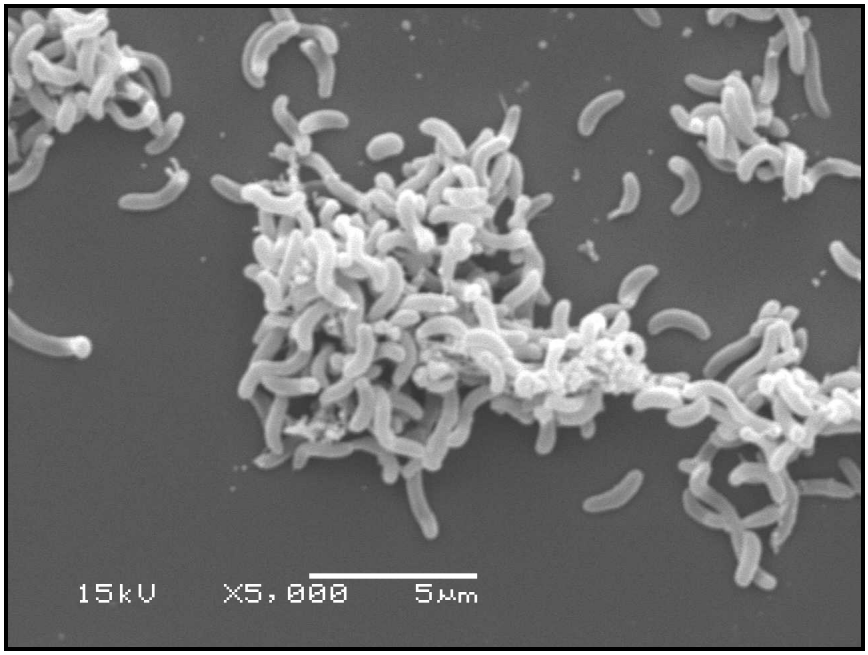
Şekil 4.2 1 A 1 – 2 izolatının elektron mikrografı



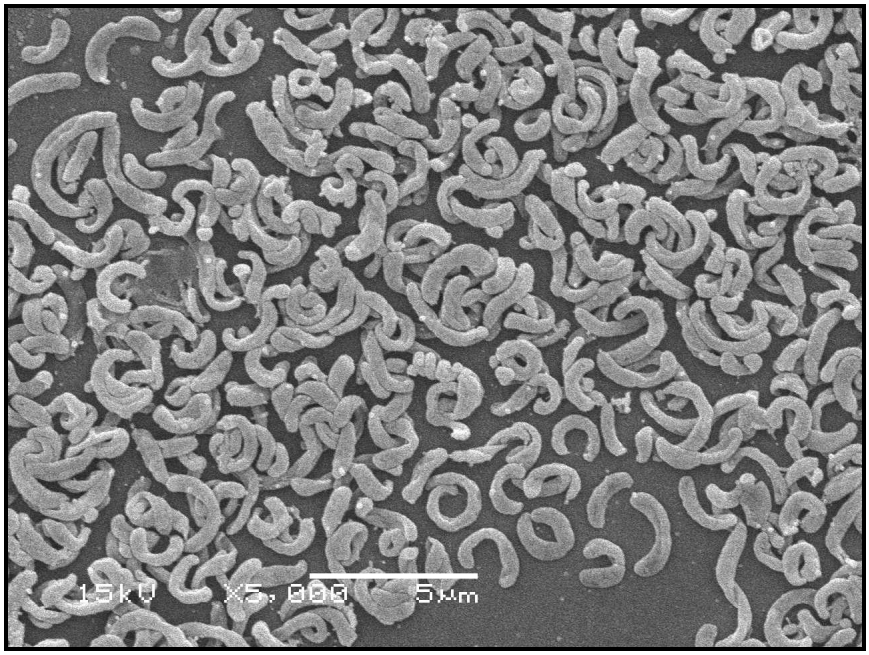
Şekil 4.3 1 A 1 – 3 izolatının elektron mikrografı



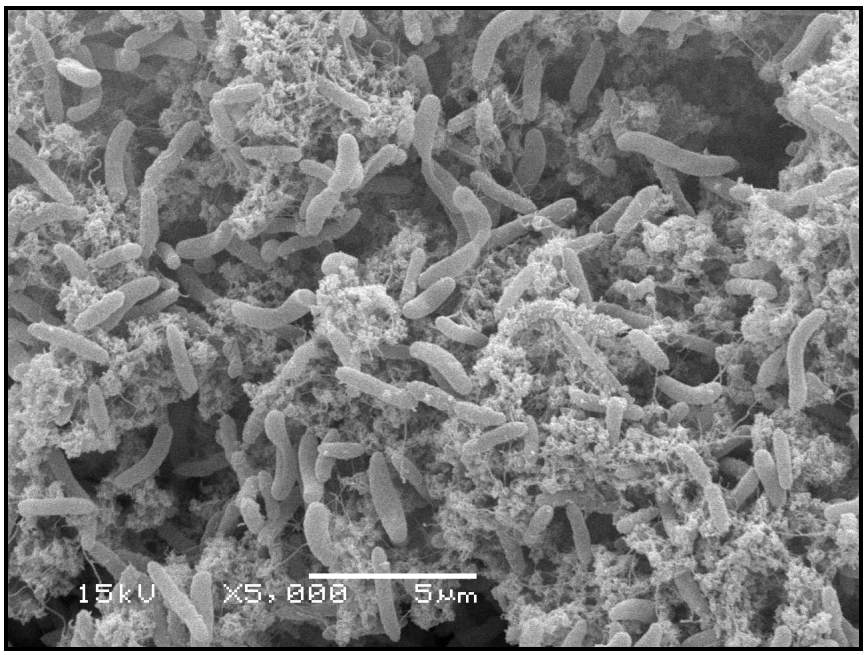
Şekil 4.4 1 A 1 – 4 izolatının elektron mikrografı



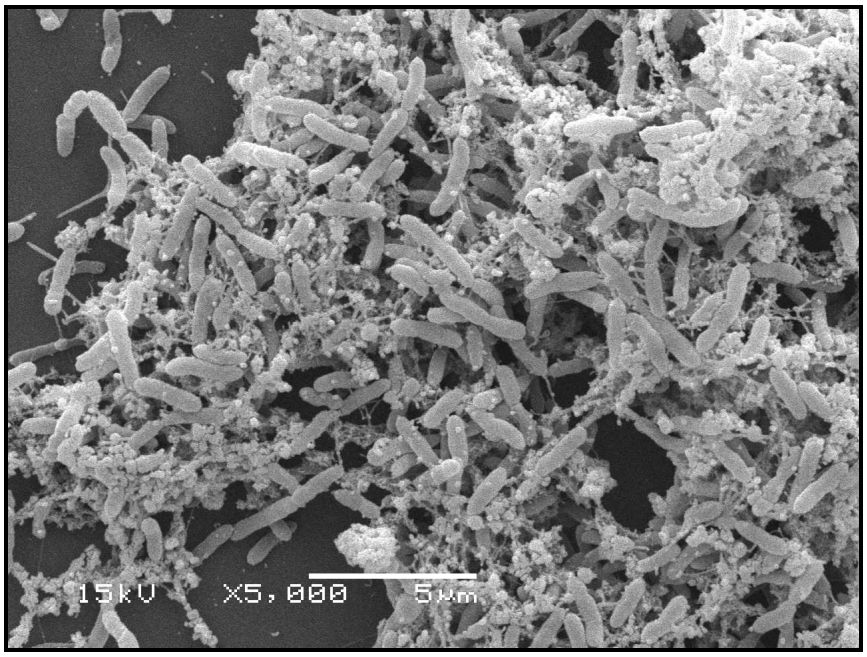
Şekil 4.5 1 A 1 – 5 izolatının elektron mikrografı



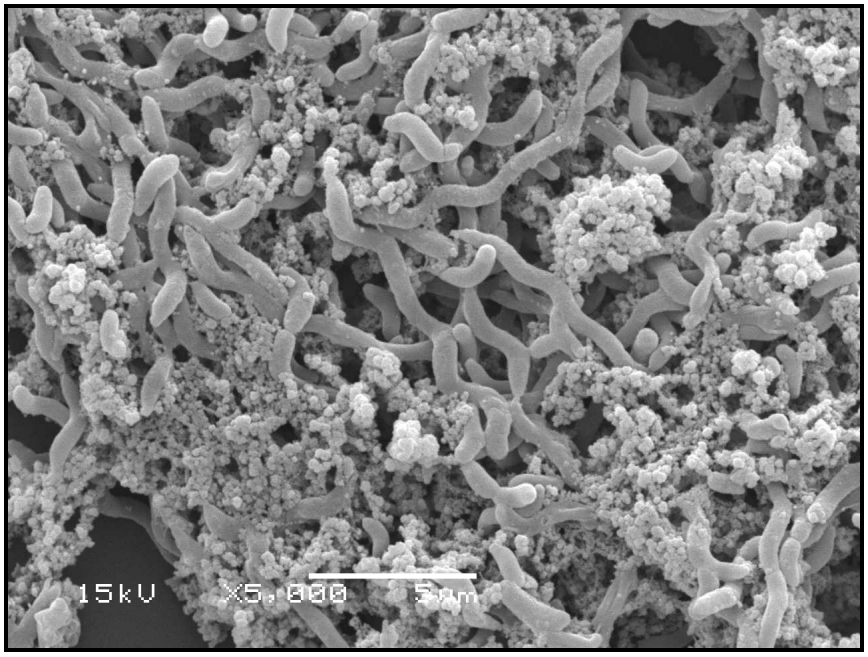
Şekil 4.6 1 A 1 – 6 izolatının elektron mikrografı



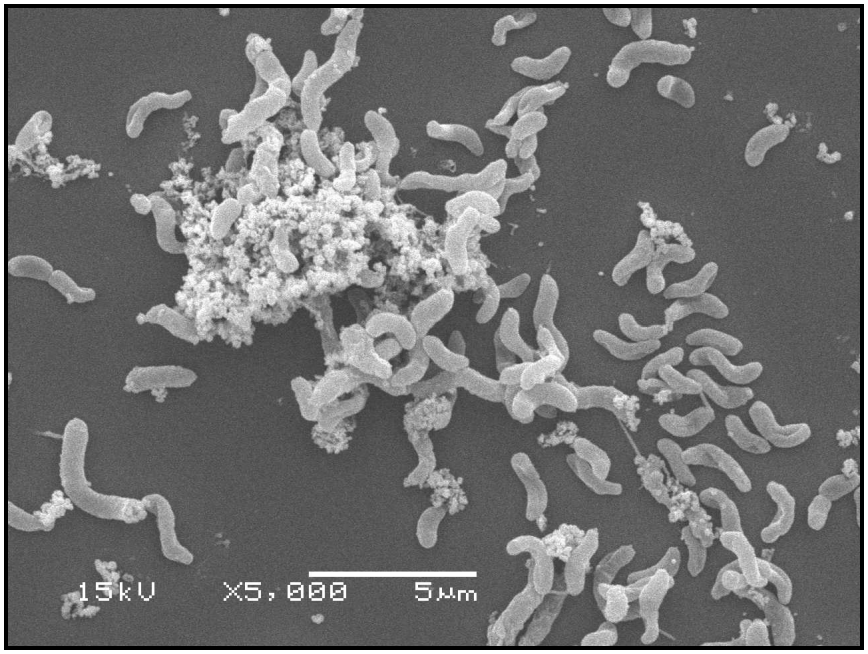
Şekil 4.7 2 A 1 – 1 izolatının elektron mikrografı



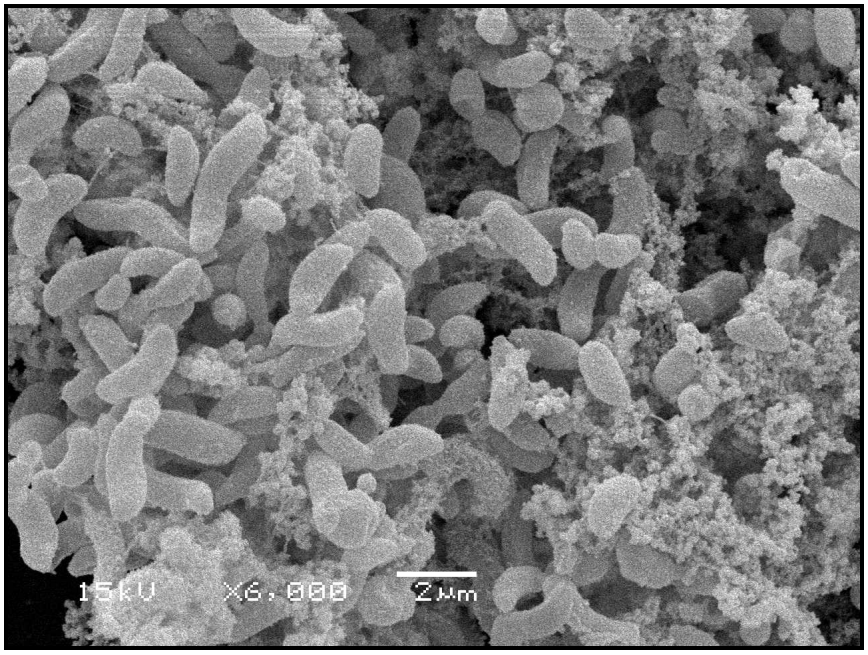
Şekil 4.8 2 A 1 – 2 izolatının elektron mikrografı



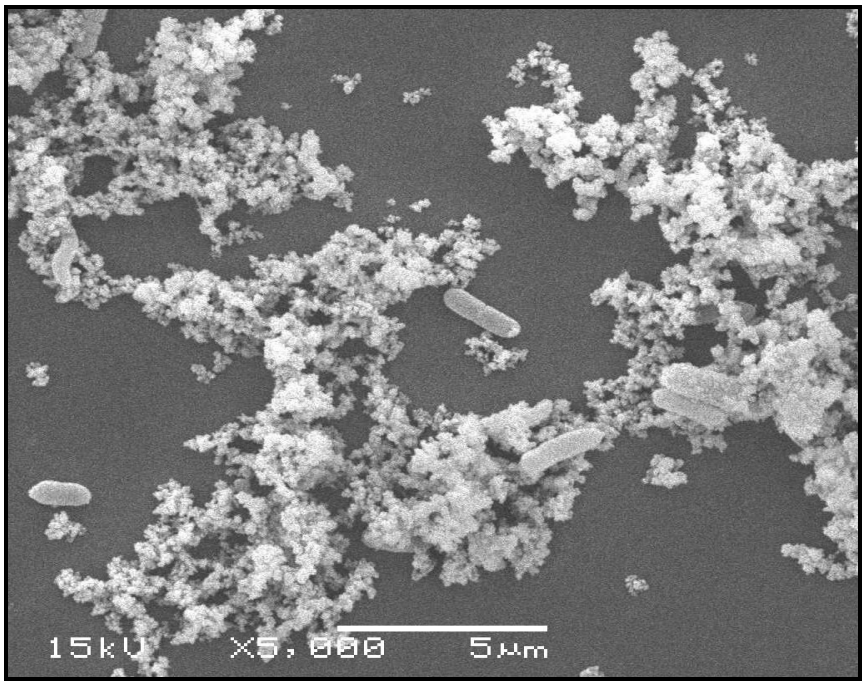
Şekil 4.9 B 2 – 1 izolatının elektron mikrografı



Şekil 4.10 B 2 – 2 izolatının elektron mikrografı



Şekil 4.11 B 5 izolatının elektron mikrografı



Şekil 4.12 B 10 - 1 izolatının elektron mikrografı

4.2 İzolatların Karakterizasyonu

SEM'de incelemeleri yapılan ve yüksek oranda hidrojen sülfür üreten 12 izolatın karakterizasyonu ve cins düzeyinde tanımlanması için hücre morfolojisi, ortalama hücre boyutları, Gram reaksiyon, sporulasyon, karbon kaynakları kullanımı özellikleri kullanılmıştır (Campbell and Postgate 1965, Postgate, 1984, Atlas, 1993, Feio *et al.* 1998, Kuever *et al.* 1999, Castro *et al.* 2000, Widdel and Bak 2001, Hurst, 2002, Tello *et al.* 2003, Belyakova and Rozanova 2004). Elde edilen sonuçlar ve bu sonuçların literatürdeki diğer araştırmaların sonuçlarıyla karşılaştırılmasıyla belirlenen cins adları Çizelge 4.3'de gösterilmiştir

Çizelge 4.3 İzolatların özellikleri ve belirlenen cins adları

İzolat adı	**Morfoloji**	**Ortalama Boyut (µm)**	**Spor**	**Gram**	**Kullanılan karbon kaynakları**	**Belirlenen cins adı**
1 A 1 – 1	Çubuk	0.53 ± 0.13 × 6.04 ± 2.78	+	–	Format Laktat Malat Propiyonat Pürüvat	*Desulfotomaculum* sp. No: 1
1 A 1 – 2	Kıvrık çubuk	0.47 ± 0.06 × 5.05 ± 1.48	+	–	Bütirat Glukoz Laktat Propiyonat Pürüvat	*Desulfotomaculum* sp. No: 2
1 A 1 – 3	Kıvrık çubuk	0.66 ± 0.11 × 6.58 ± 2.19	–	–	Format Laktat Pürüvat	*Desulfovibrio* sp. No: 1
1 A 1 – 4	Kıvrık çubuk	0.77 ± 0.01 × 1.72 ± 0.23	+	–	Asetat Fumarat Laktat Pürüvat	*Desulfotomaculum* sp. No: 3
1 A 1 – 5	Kıvrık çubuk	0.52 ± 0.06 × 2.14 ± 0.55	+	–	Format Fumarat Laktat	*Desulfotomaculum* sp. No: 4
1 A 1 – 6	Kıvrık Çubuk	0.53 ± 0.1 × 2.98 ± 0.41	–	–	Bütirat Format Fumarat	*Desulfarculus* sp. No: 1

Çizelge 4.3 İzolatların özellikleri ve belirlenen cins adları (devam)

İzolat adı	Morfoloji	Ortalama Boyut (µm)	Spor	Gram	Kullanılan karbon kaynakları	Belirlenen cins Adı
2 A 1 – 1	Kıvrık çubuk	0.63 ± 0.07 × 2.31 ± 0.53	-	-	Bütirat Etanol Glukoz Format Fumarat Laktat Malat Pürüvat	*Desulfovibrio* sp. No: 2
2 A 1 – 2	Çubuk	0.53 ± 0.07 × 1.95 ± 0.37	–	–	Asetat Pürüvat	*Desulfobacter* sp. No: 1
B 2 – 1	Kıvrık çubuk	0.62 ± 0.07 × 2.41 ± 0.66	+	–	Format Glukoz Laktat Malat Pürüvat Süksinat	*Desulfotomaculum* sp. No: 5
B 2 – 2	Kıvrık çubuk	0.67 ± 0.09 × 2.06 ± 0.47	+	–	Asetat Benzoat Bütirat Etanol Fruktoz Format Fumarat Glukoz Laktat Malat Süksinat	*Desulfotomaculum* sp. No: 6
B 5	Kıvrık çubuk	0.91 ± 0.11 × 2.22 ± 0.67	+	–	Bütirat Fruktoz Format Fumarat Laktat Malat Propiyonat Pürüvat Süksinat	*Desulfotomaculum* sp. No: 7
B 10-1	Çubuk	0.64 ± 0.1 × 1.7 ± 0.37	–	–	Asetat Benzoat Bütirat Format Fumarat Laktat Malat Pürüvat	*Desulfotignum* sp. No: 1

1 A 1 – 1 izolatı spor oluşturduğu için *Desulfotomaculum* sp. olarak adlandırılmıştır. Hücre şekli ve boyutları bakımından *D. orientis* ve *D. ruminis'* e yakındır İzolat *D. orientis* ve *D. ruminis* gibi format ve laktatı kullanmakta, asetat, fumarat ve benzoatı kullanmamaktadır. Ancak bu türlerden farklı olarak malat ile de gelişme görülmüştür.

1 A 1 – 2 izolatı spor oluşturduğu için *Desulfotomaculum* sp. olarak adlandırılmıştır. Ancak bu izolat *Desulfococcus multivorans, Desulfosarcina variabilis, Desulfobacterium ve Desulfobulbus* türleri gibi propiyonatı da kullanabilmektedir. Bu izolat hücre şekli ve boyutları bakımından *Desulfotomaculum* orientis ve *Desulfotomaculum* ruminis'e benzemektedir.

1 A 1 – 3 izolatı hücre boyutları bakımından ve format, laktat ve pürüvatı kullanabilmesi bakımından *Desulfovibrio gigas'* a benzemektedir.

1 A 1 – 4 izolatı spor oluşturduğu için *Desulfotomaculum* sp. olarak adlandırılmıştır. Bu izolat *D. guttoideum* gibi laktat kullanmakta, format, malat, etanol kullanmamaktadır. Ancak bu türden farklı olarak asetat ile de gelişme görülmüştür.

1 A 1 – 5 izolatı spor oluşturduğu için *Desulfotomaculum* sp. olarak adlandırılmıştır. Hücre şekli ve boyutları bakımından *D. orientis'* e yakındır. İzolat *D. orientis'* ve *D. ruminis* gibi format ve laktatı kullanmakta, asetat, fumarat ve benzoatı kullanmamaktadır. Ancak bu türlerden farklı olarak fumarat ile de gelişme görülmüştür.

1 A 1 – 6 izolatı hücre şekli ve boyutları bütirat, format, fumarat kullanabilmesi bakımından *Desulfarculus baarsii*'ye benzemektedir.

2 A 1 – 1 izolatı asetatı kullanmama ve etanol, format, fumarat, laktat, malat, pürüvatı kullanma özelliğinden dolayı ve ayrıca şekil ve boyutları bakımından *Desulfovibrio burkinensis* türüne benzemektedir

2 A 1 – 2 izolatı sadece asetatı ve pürüvatı kullanabilme özelliğinden ve şekil bakımından *Desulfobacter hydrogeniphilus*'a benzemektedir. Ancak izolatın eni *D. hydrogeniphilus'*dan daha küçüktür.

B 2 – 1 izolatı spor oluşturduğu için *Desulfotomaculum* sp. olarak adlandırılmıştır. Hücre şekli ve boyutları bakımından *D. orientis'* e yakındır. İzolat *D. orientis'* ve *D. ruminis* gibi format ve laktatı kullanmakta, asetat, fumarat ve benzoatı kullanmamaktadır. Ancak bu türlerden farklı olarak malat ve süksinat ile de gelişme görülmüştür.

B 2 – 2 izolatı spor oluşturduğu için *Desulfotomaculum* sp. olarak adlandırılmıştır. İzolat *D. sapomedens* gibi format, asetat, etanol, fumarat, malat ve benzoatı kullanmaktadır. Ancak bu türden farklı olarak laktat ile de gelişme görülmüştür.

B 5 izolatı spor oluşturduğu için *Desulfotomaculum* sp. olarak adlandırılmıştır. Bu izolat şekli ve boyutları bakımından *D. guttoideum*'a benzemektedir. Ancak bu türden farklı olarak formatı ve malatı kullanabilmektedir.

Benzoatı kullanabilen türler; *Desulfobacula, Desulfosarcina, Desulfococcus* ve *Desulfotignum* cinsine ait türlerdir. B 10-1 izolatı benzoatı kullanma özelliğinden dolayı *Desulfotignum* sp. olarak adlandırılmıştır. Hücre şekli ve boyutları, asetat, format, fumarat, pürüvat, laktat, malatı karbon kaynağı olarak kullanması bu cinsin özelliklerine uymaktadır.

4.3 İzolatların Neden Olduğu Korozyonun Kütle Kaybı Yöntemiyle Belirlenmesi

Elde edilen izolatlardan en yüksek korozyon hızına sahip izolatın belirlenmesi amacıyla kütle kaybı yöntemi kullanılmıştır. Çelik kuponların bakterili ve bakterisiz ortamlarda her iki besiyerinde 1 ay inkübasyonu sonucunda elde edilen korozyon hızları Çizelge 4.4'de görülmektedir.

En yüksek korozyon hızı *Desulfotomaculum* sp. No: 5 ile 31.6 mg. $cm^{-2}.saat^{-1}$ $\times 10^{-3}$ olarak elde edilmiştir. Yüksek korozyon hızına sahip diğer izolatlar sırası ile *Desulfotomaculum* sp. No: 7, No: 2, No: 6 ve *Desulfovibrio* sp. No: 2'dir.

Çizelge 4.4 İzolatların kütle kaybı yöntemiyle belirlenen korozyon hızları

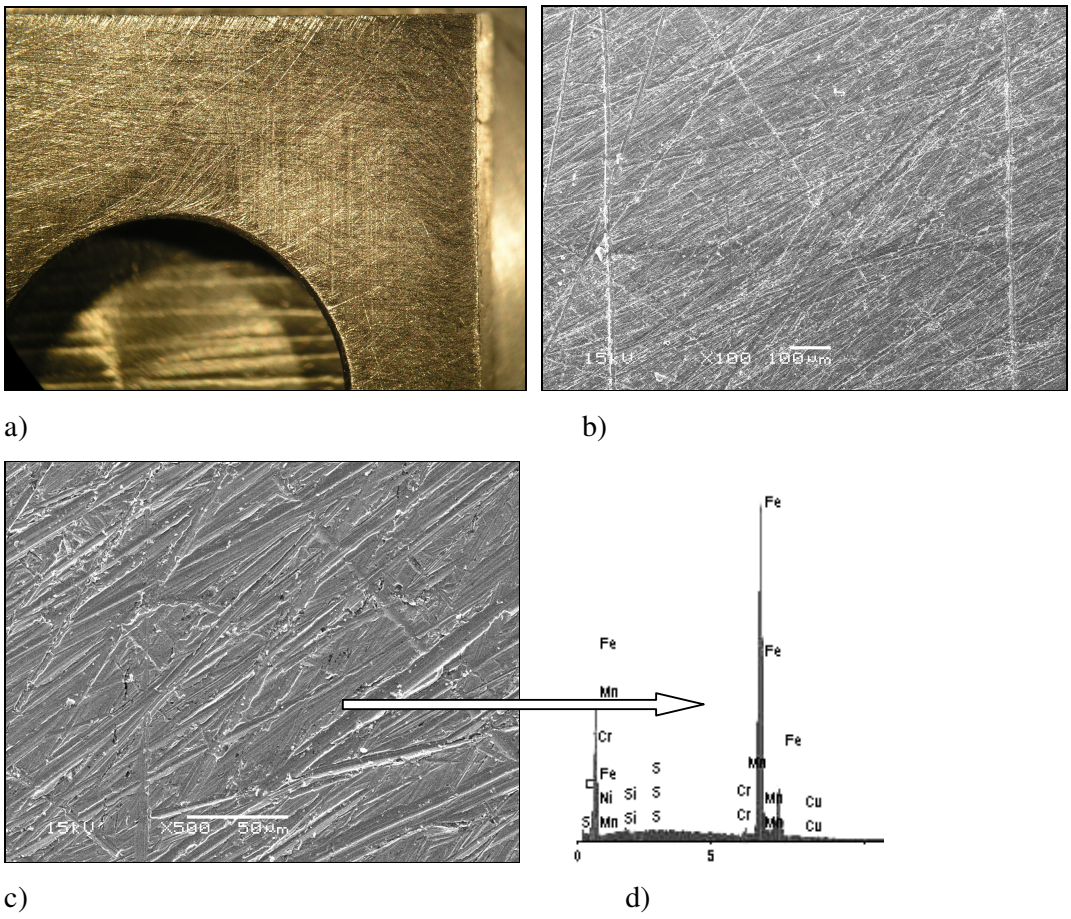
İzolat adı	**Korozyon hızı (mg. $cm^{-2}.saat^{-1}$) $\times 10^{-3}$**				
	1.Ölçüm	**2.Ölçüm**	**3.Ölçüm**	**Ortalama**	**Standart sapma**
Desulfotomaculum sp. No: 1	11.6	12.9	14.6	13.0	1.5
Desulfotomaculum sp. No: 2	15.5	21.1	17.6	**18.1**	2.8
Desulfotomaculum sp. No: 3	5.3	5.4	5.6	5.4	0.2
Desulfotomaculum sp. No: 4	15.0	15.1	13.8	14.6	0.7
Desulfotomaculum sp. No: 5	29.7	34.5	30.6	**31.6**	2.6
Desulfotomaculum sp. No: 6	16.4	14.8	17.4	**16.2**	1.3
Desulfotomaculum sp. No: 7	19.4	17.5	17.9	**18.3**	1.0
Desulfovibrio sp. No:1	4.2	5.4	3.8	4.5	0.8
Desulfovibrio sp. No: 2	15.1	15.2	16.2	**15.5**	0.6
Desulfoarculus sp. No:1	6.6	5.2	6.5	5.8	0.8
Desulfobacter sp. No: 1	10.9	12.2	8.7	10.6	1.8
Desulfotignum sp. No: 1	6.5	4.4	6.1	5.7	1.1
Kontrol (bakterisiz, besiyeri 63)	3,8	3,2	3,7	3,6	0,3
Kontrol (bakterisiz, besiyeri 63 AP)	3.5	5.3	4.0	4.3	0.9

4.4 Çelik Kuponlardaki Korozyonun Stereo Mikroskop ve SEM ile Görüntülenmesi

Kütle kaybı yöntemi için kullanılan bazı çelik kuponlardaki korozyon ve biyofilm oluşumu Stereo mikroskop ve SEM ile görüntülenmiştir. Şekil 4.13.a,b,c'de steril besi ortamında 1 ay beklemiş çelik kuponların yüzeyi görülmektedir. Yüzeydeki çizikler zımpara kağıdının oluşturduğu izlerdir. Yüzeyin EDAX analizi Şekil 4.13.d'de gösterilmiştir.

SRB izolatları (*Desulfotomaculum* sp. No: 2, *Desulfovibrio* sp. No: 2, *Desulfotomaculum* sp. No: 5, *Desulfotomaculum* sp. No: 6, *Desulfotomaculum* sp. No:

7, *Desulfotignum* sp. No: 1) içeren besi ortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponların SEM mikrografları ve EDAX spektrumları Şekil 4.14-4.19'da verilmiştir. Kuponlar üzerinde hücreler, ekzopolisakkarit iplikler ve korozyon ürünlerinden oluşan biyofilm yapısı görülmektedir. EDAX analizleri korozyon ürünlerinin yüksek oranda Fe yanında, S ve P de içerdiğini göstermiştir.

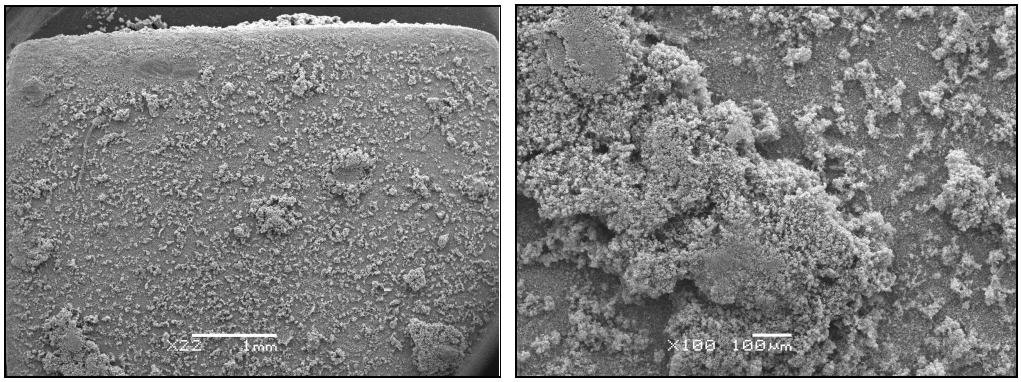


a) b)

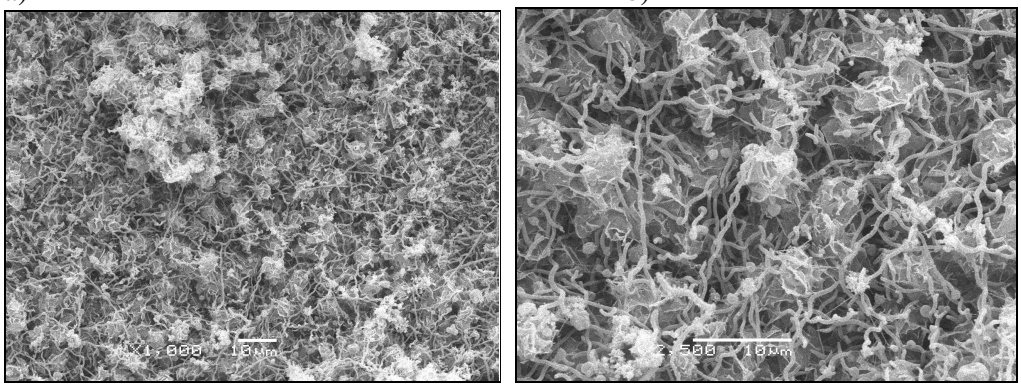
c) d)

Şekil 4.13 Steril besiortamında 1 ay bekletilmiş çelik kuponların: a. Stereo mikroskop resmi, b.c. SEM mikrografı, d. EDAX spektrumu

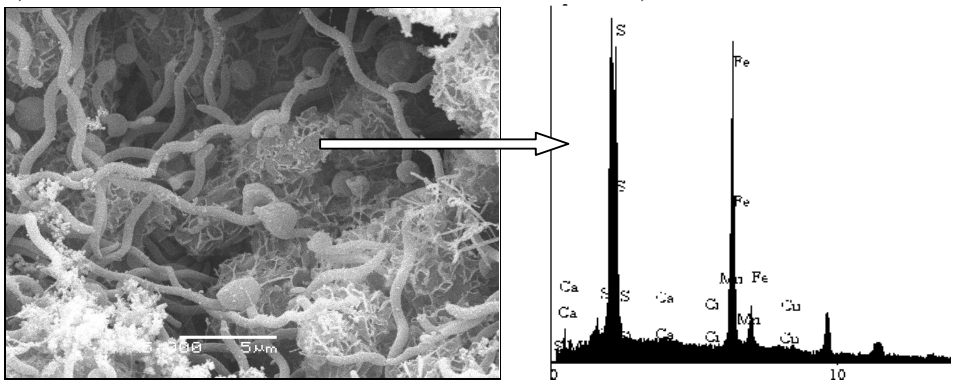
Çelik kuponların bazılarının (*Desulfotomaculum* sp. No: 5, *Desulfotomaculum* sp. No: 2, *Desulfovibrio* sp. No: 2 içeren besi ortamında 1 ay bekletilmiş) üzerindeki hücreler ve korozyon ürünleri temizlenmiş ve korozyon hasarı sonucu oluşan çukurcuklar ortaya çıkmıştır. (Şekil 4.20 – 4.22)



a) b)



c) d)

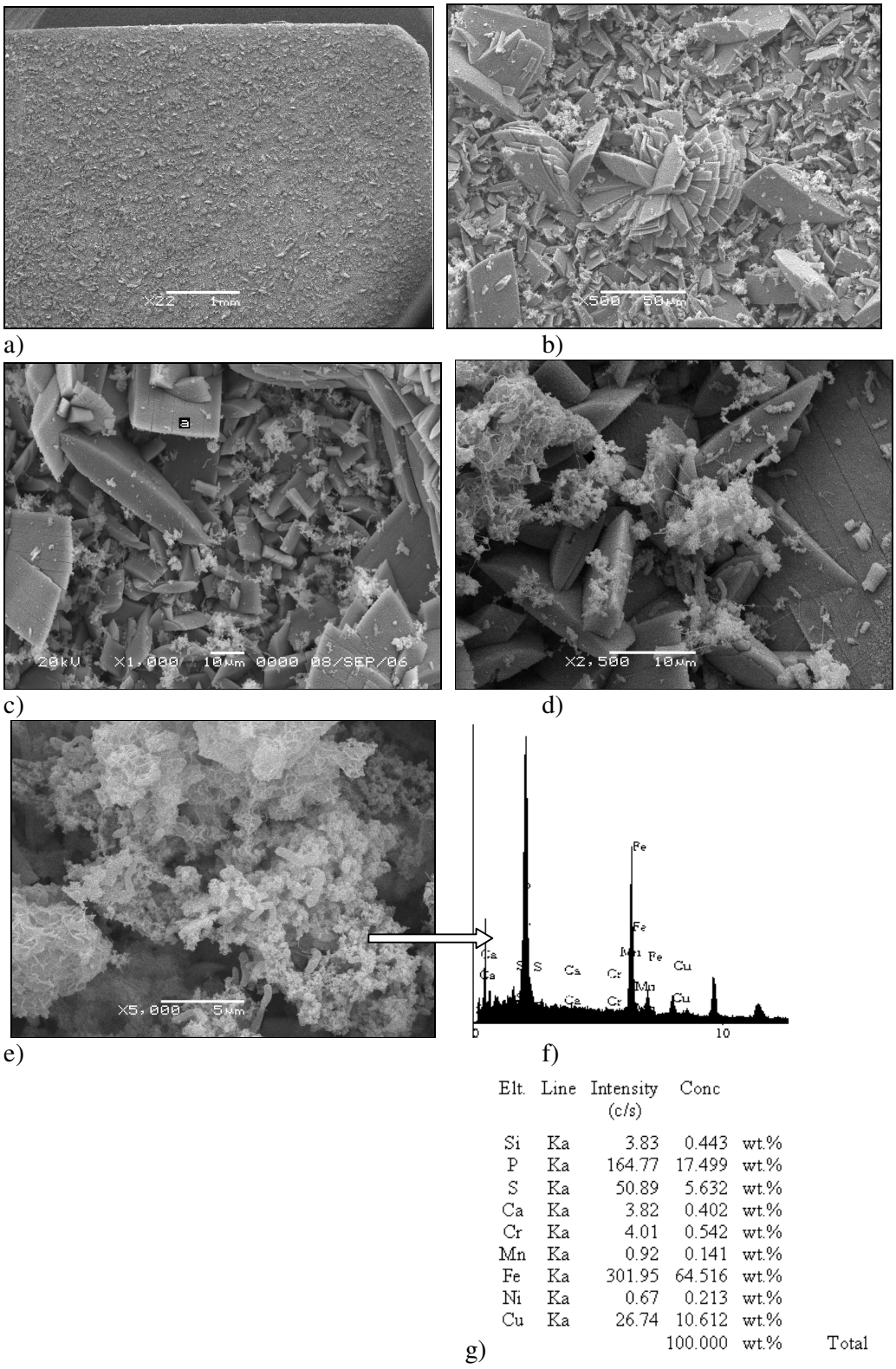


e) f)

g)

Elt.	Line	Intensity (c/s)	Conc		
Si	Ka	3.98	0.233	wt.%	
P	Ka	119.37	6.406	wt.%	
S	Ka	453.02	23.807	wt.%	
Ca	Ka	4.94	0.285	wt.%	
Cr	Ka	2.39	0.177	wt.%	
Mn	Ka	1.06	0.089	wt.%	
Fe	Ka	577.91	67.534	wt.%	
Ni	Ka	1.37	0.238	wt.%	
Cu	Ka	5.75	1.234	wt.%	
			100.000	wt.%	Total

Şekil 4.14 *Desulfotomaculum* sp. No: 2 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun: a.b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu

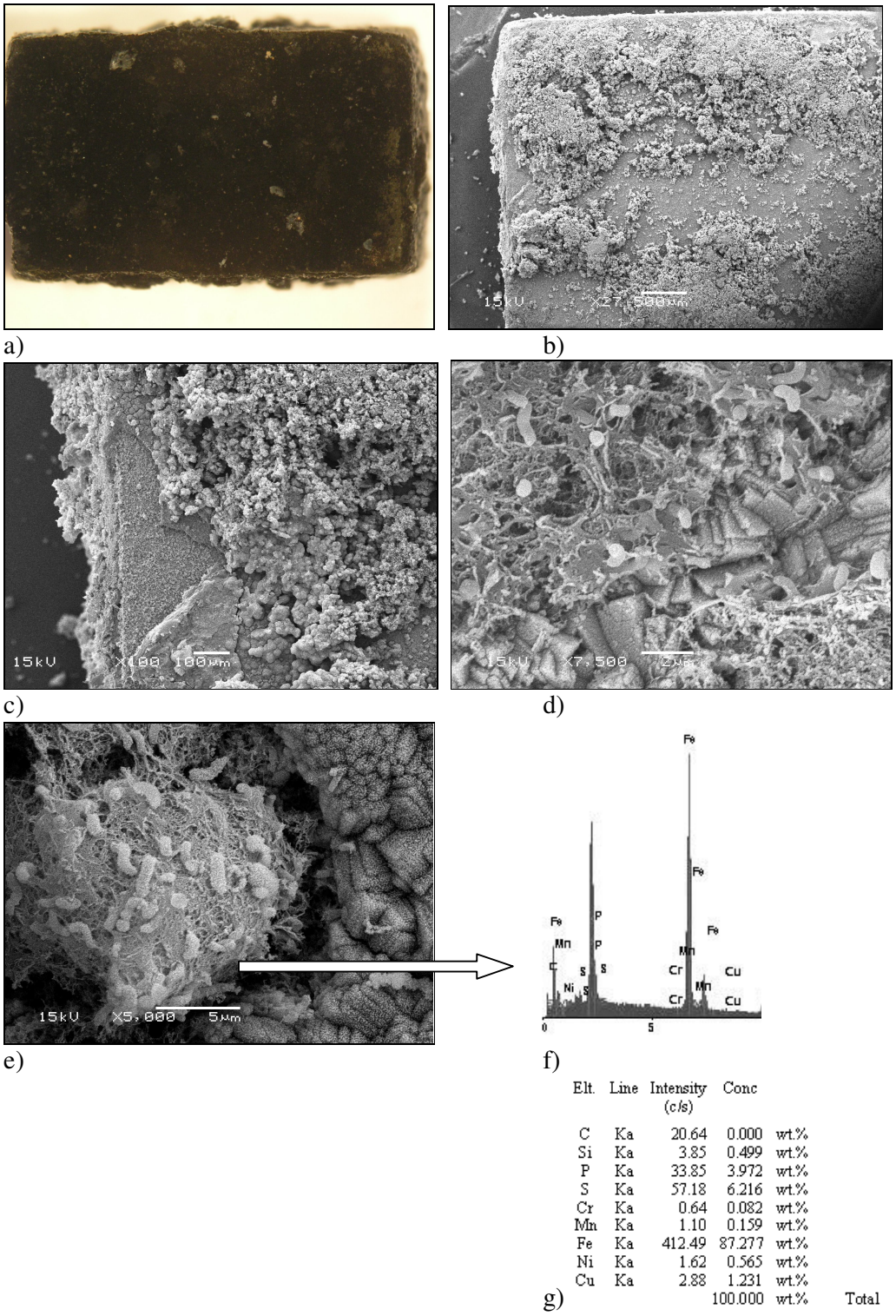


a) b) c) d) e) f)

g)

Elt.	Line	Intensity (c/s)	Conc		
Si	Ka	3.83	0.443	wt.%	
P	Ka	164.77	17.499	wt.%	
S	Ka	50.89	5.632	wt.%	
Ca	Ka	3.82	0.402	wt.%	
Cr	Ka	4.01	0.542	wt.%	
Mn	Ka	0.92	0.141	wt.%	
Fe	Ka	301.95	64.516	wt.%	
Ni	Ka	0.67	0.213	wt.%	
Cu	Ka	26.74	10.612	wt.%	
			100.000	wt.%	Total

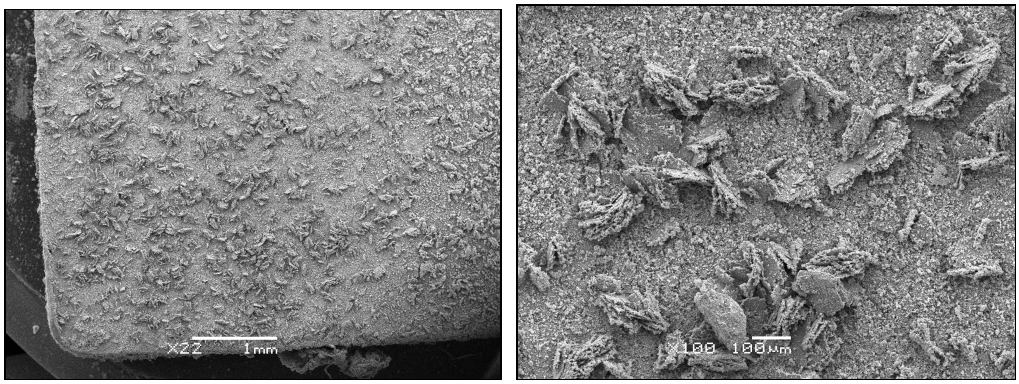
Şekil 4.15 *Desulfovibrio* sp. No: 2 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun: a.b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu



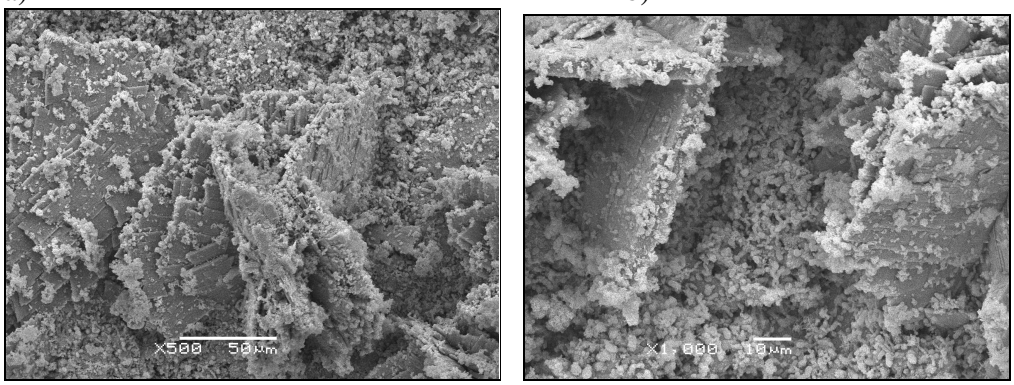
g)

Elt.	Line	Intensity (c/s)	Conc		
C	Ka	20.64	0.000	wt.%	
Si	Ka	3.85	0.499	wt.%	
P	Ka	33.85	3.972	wt.%	
S	Ka	57.18	6.216	wt.%	
Cr	Ka	0.64	0.082	wt.%	
Mn	Ka	1.10	0.159	wt.%	
Fe	Ka	412.49	87.277	wt.%	
Ni	Ka	1.62	0.565	wt.%	
Cu	Ka	2.88	1.231	wt.%	
			100.000	wt.%	Total

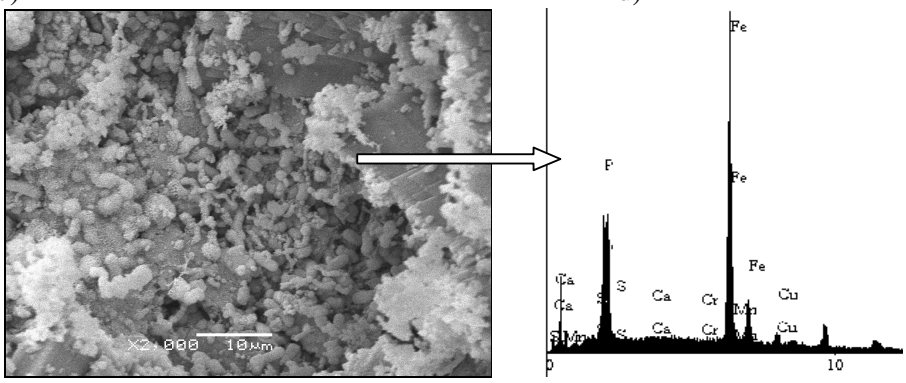
Şekil 4.16 *Desulfotomaculum* sp. No: 5 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun: a. Stereo mikroskop resmi, b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu



a) b)



c) d)

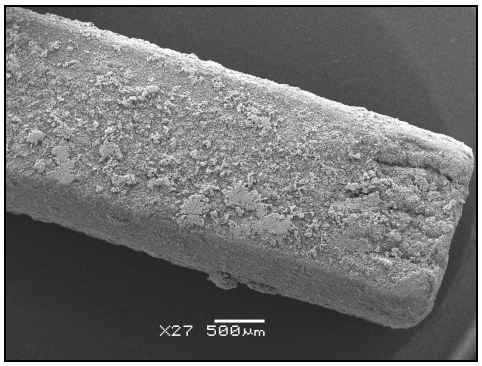


e) f)

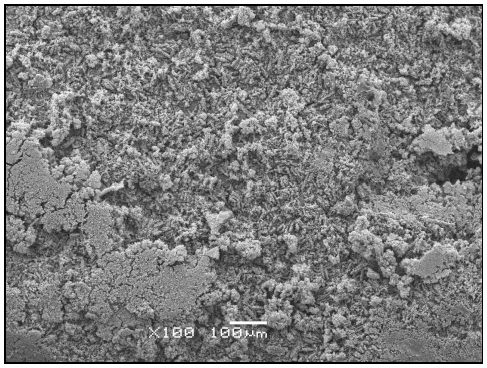
g)

Elt.	Line	Intensity (c/s)	Conc		
Si	Ka	2.38	0.159	wt.%	
P	Ka	258.38	15.708	wt.%	
S	Ka	17.76	1.101	wt.%	
Ca	Ka	3.24	0.187	wt.%	
Cr	Ka	2.36	0.169	wt.%	
Mn	Ka	1.57	0.127	wt.%	
Fe	Ka	637.81	76.756	wt.%	
Ni	Ka	4.16	0.756	wt.%	
Cu	Ka	22.36	5.037	wt.%	
			100.000	wt.%	Total

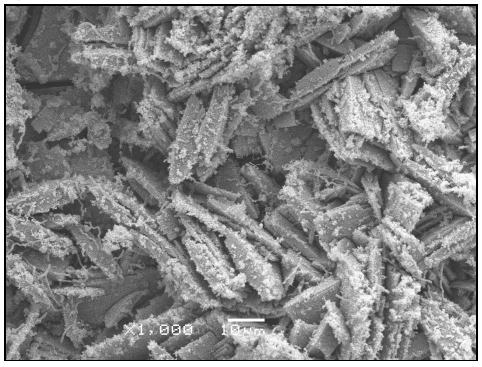
Şekil 4.17 *Desulfotomaculum* sp. No: 6 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun: a.b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu



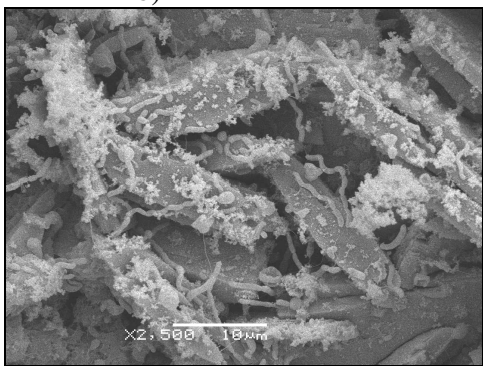
a)



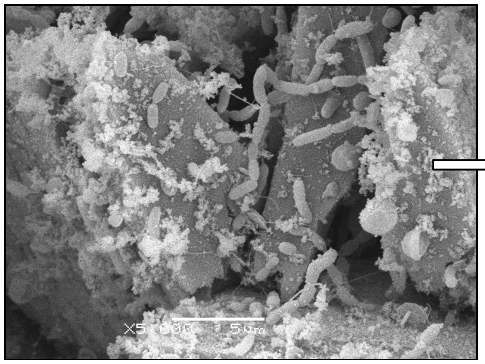
b)



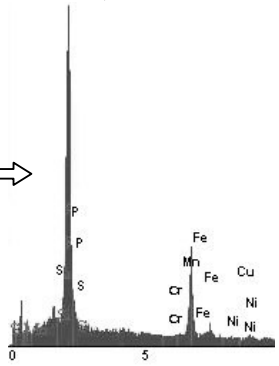
c)



d)



e)

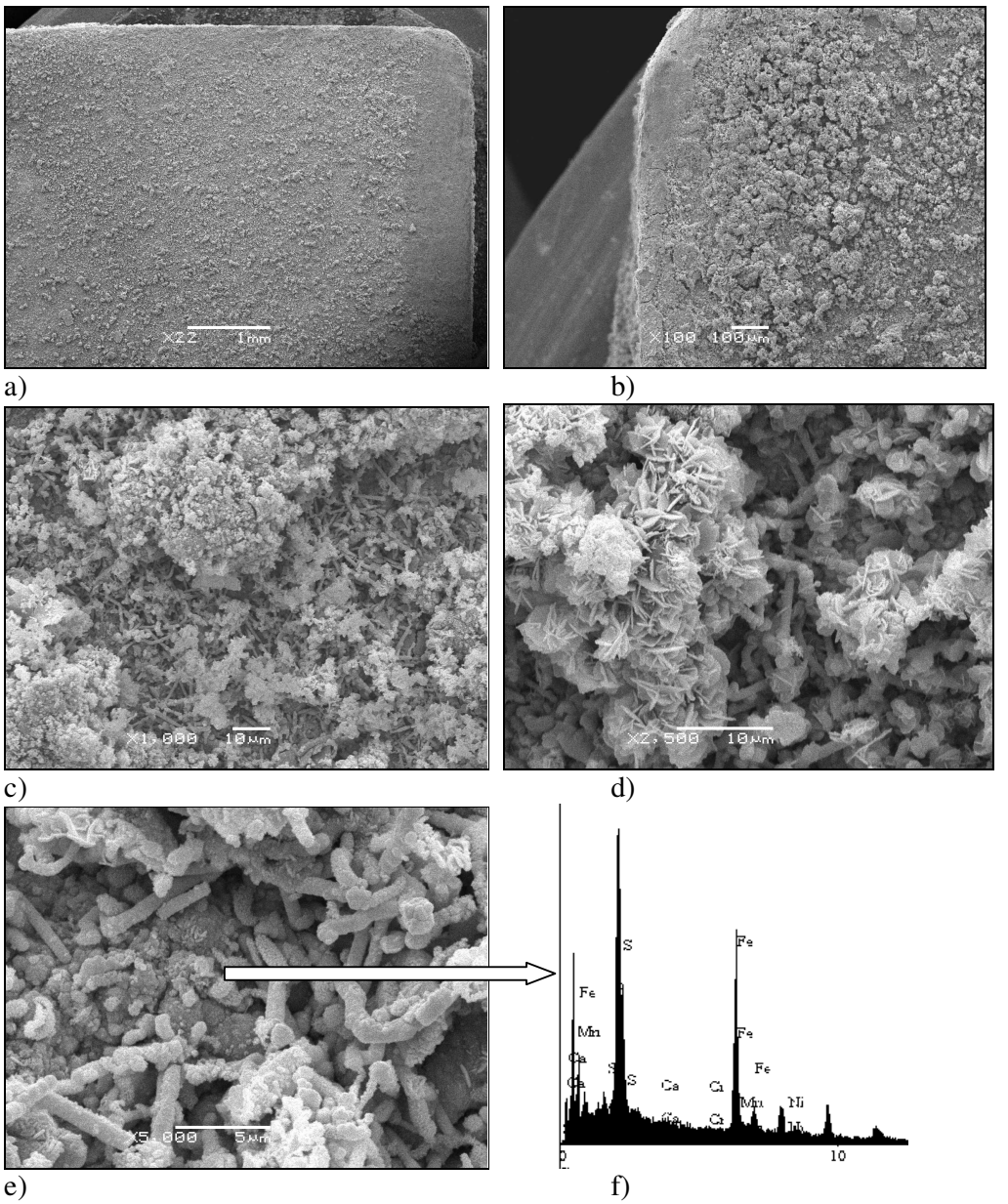


f)

g)

Elt.	Line	Intensity (c/s)	Conc		
Si	Ka	3.73	0.748	wt.%	
P	Ka	132.37	25.055	wt.%	
S	Ka	57.71	12.456	wt.%	
Ca	Ka	3.65	0.772	wt.%	
Cr	Ka	1.73	0.482	wt.%	
Mn	Ka	0.98	0.310	wt.%	
Fe	Ka	132.99	56.114	wt.%	
Ni	Ka	2.93	1.814	wt.%	
Cu	Ka	2.93	2.248	wt.%	
			100.000	wt.%	Total

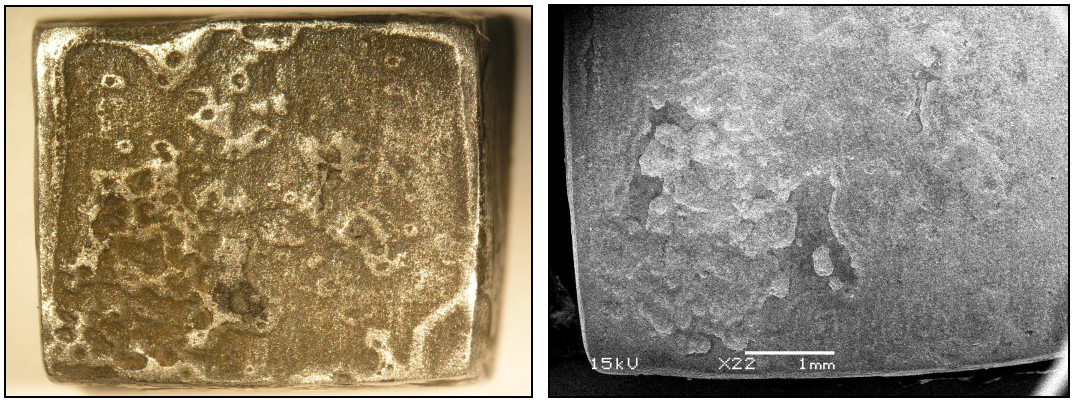
Şekil 4.18 *Desulfotomaculum* sp. No: 7 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun: a.b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu



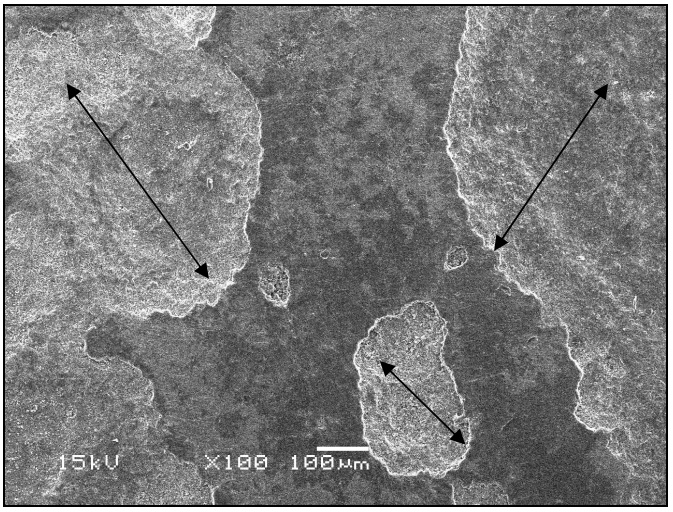
g)

Elt.	Line	Intensity (c/s)	Conc		
Si	Ka	3.44	0.380	wt.%	
P	Ka	118.69	12.113	wt.%	
S	Ka	157.41	16.374	wt.%	
Ca	Ka	2.45	0.263	wt.%	
Cr	Ka	4.14	0.569	wt.%	
Mn	Ka	0.00	0.000	wt.%	
Fe	Ka	316.02	69.476	wt.%	
Ni	Ka	2.52	0.825	wt.%	
			100.000	wt.%	Total

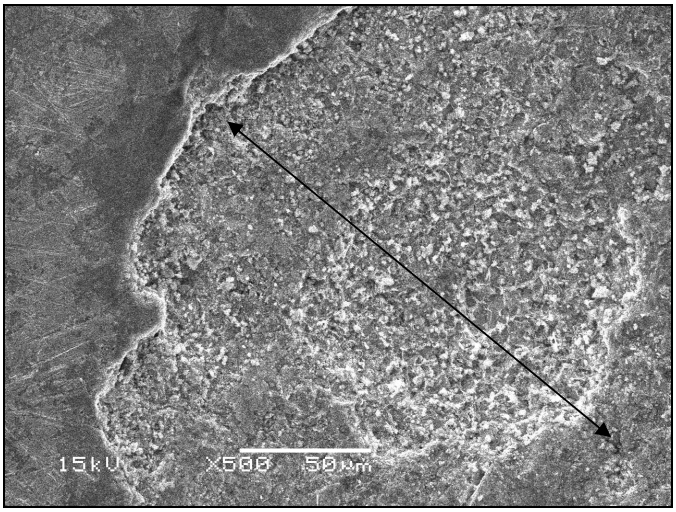
Şekil 4.19 *Desulfotignum* sp. No: 1 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmemiş çelik kuponun a.b.c.d.e. SEM mikrografı, f.g. EDAX spektrumu



a) b)

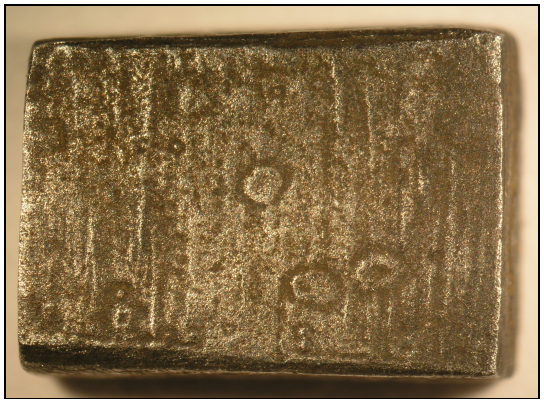


c)

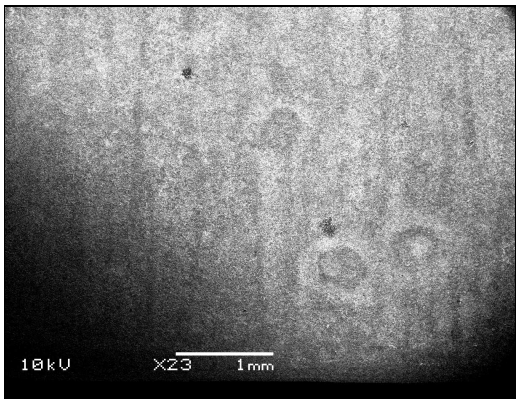


d)

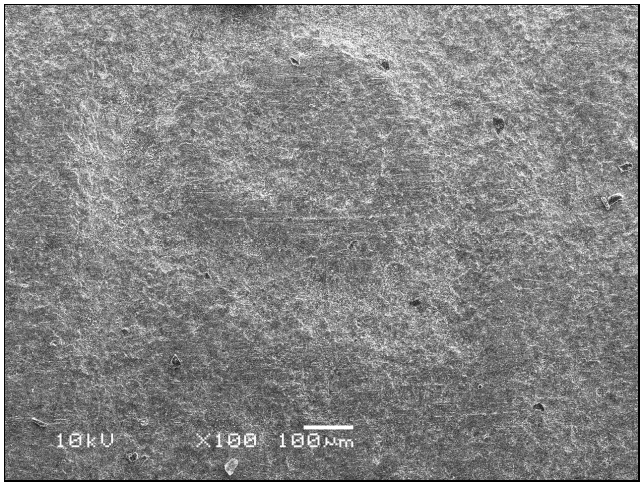
Şekil 4.20 *Desulfotomaculum* sp. No: 5 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmiş çelik kuponların: a. Stereo mikroskop resmi b.c.d. SEM mikrografı. Çift yönlü oklar korozyona uğramış bölgeleri göstermektedir



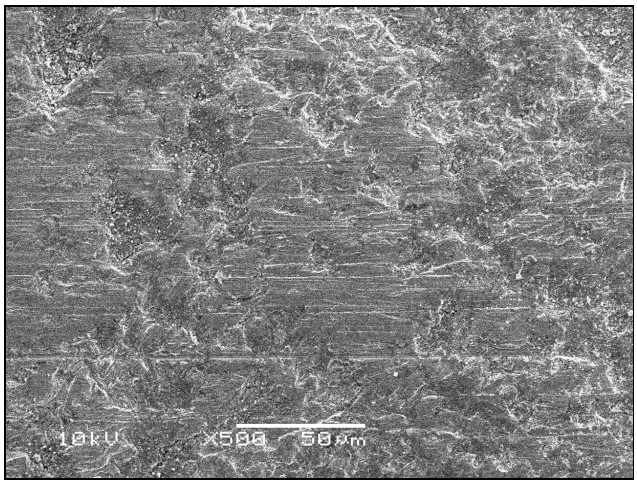
a)



b)

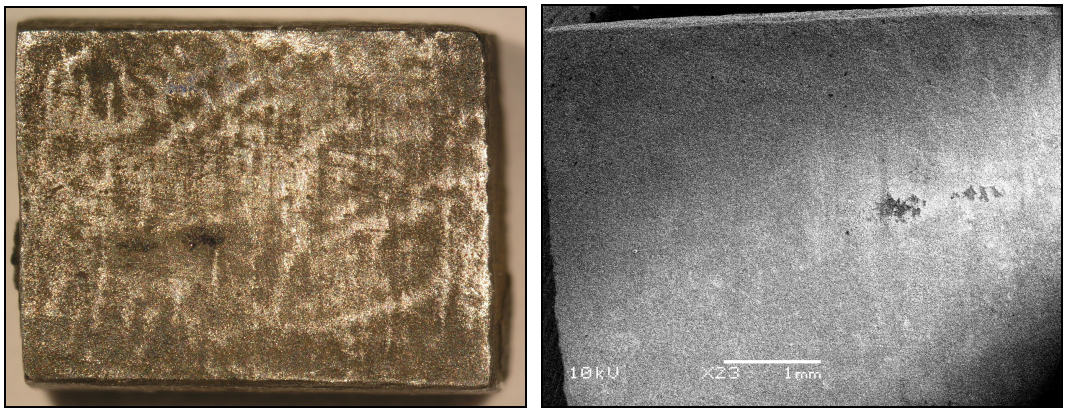


c)

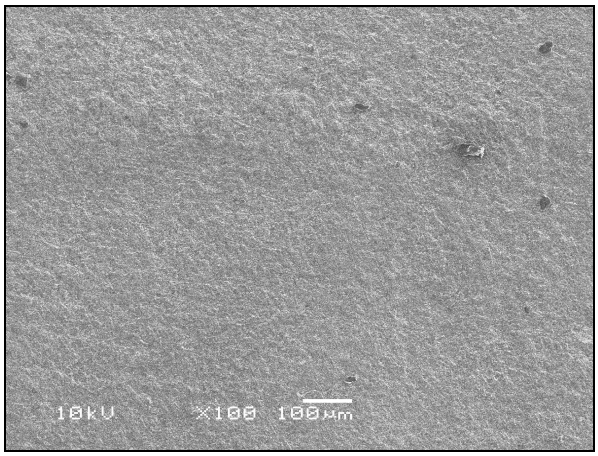


d)

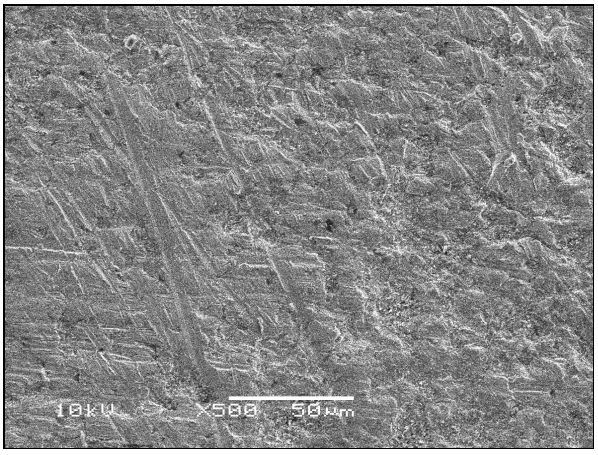
Şekil 4.21 *Desulfotomaculum* sp. No: 2 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmiş çelik kuponların: a. Stereo mikroskop resmi, b.c.d. SEM mikrografı



a) b)



c)



d)

Şekil 4.22 *Desulfovibrio* sp. No: 2 içeren besiortamında 1 ay bekletilmiş üzeri temizlenmiş çelik kuponların: a. Stereo mikroskop resmi, b.c.d. SEM mikrografı

4.5 İzolatların Neden Olduğu Korozyona Biyositlerin Etkisinin Kütle Kaybı Yöntemiyle Belirlenmesi

Kütle kaybı yöntemiyle belirlenen yüksek korozyon hızına sahip 5 izolat (*Desulfotomaculum* sp. No: 5, *Desulfotomaculum* sp. No: 7 *Desulfotomaculum* No: 2, *Desulfotomaculum* sp. No: 6, *Desulfovibrio* sp. No: 2) biyosit deneyleri için kullanılmıştır. Biyosit deneyleri tek tip besiyerinde gerçekleştirilmiş olup, tüm izolatların iyi geliştiği asetatlı pürüvatlı besiyeri kullanılmıştır.

Biyosit olarak formaldehit ve gluteraldehit etkisi ayrı ayrı denenmiştir. Çelik kupon bulunmayan besiyerinde mikroorganizma gelişimini durdurabilecek minimum biyosit konsantrasyonunun belirlenmesi için yüksek korozyon hızına sahip izolatlardan biri olan *Desulfotomaculum* sp. No: 7 ile ön denemeler yapılmıştır. Çizelge 3 de farklı konsantrasyonlarda biyosit içeren besi ortamında bakteri gelişiminin (tüplerde siyahlaşmanın) gözlenmesi için geçmesi gereken süre gösterilmiştir.

Çizelge 4.5 *Desulfotomaculum* sp. No: 7 gelişimine formaldehit (FA) ve gluteraldehitin (GA) etkisi

Biyosit	**Konsantrasyon (mg/L)**	**Bakteri gelişmesi için geçen süre (gün)**	**Biyosit**	**Konsantrasyon (mg/L)**	**Bakteri gelişmesi için geçen süre (gün)**
FA	2.5	1	GA	2.5	1
	5	1		5	1
	10	1		10	1
	20	1		20	1
	40	5		40	1
	50	>8		50	1
	75	>8		75	6
	100	>8		100	>8

Biyositler düşük konsantrasyonlarda (FA için 2.5 - 40 mg/L, GA için 2.5 – 50 mg/L) bakteri gelişimini engelleyememişlerdir. Bu türün planktonik populasyonunun gelişimini engellemek için gerekli minimum formaldehit ve gluteraldehit

konsantrasyonu 50 ve 100 mg/L olarak bulunmuştur. Korozyon testleri için daha yüksek biyosit konsantrasyonları denenmiştir. Düşük konsantrasyonlarda biyosit, çelik kupon içeren ortamda bakteri gelişimini engelleyememektedir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 Çelik kupon içeren ortamda *Desulfotomaculum* sp. No: 7 gelişimine formaldehit (FA) ve gluteraldehitin (GA) etkisi

Biyosit	**Konsantrasyon (mg/L)**	**Bakteri gelişmesi için geçen süre (gün)**	**Biyosit**	**Konsantrasyon (mg/L)**	**Bakteri gelişmesi için geçen süre (gün)**
FA	50	1	GA	50	1
	75	2		75	1
	100	>8		100	1
	150	>8		150	5
	200	>8		200	>8

Biyosit uygulanmadığında ortamda çelik kupon bulunması, hücre sayısının % artışını yaklaşık iki katına çıkarmıştır (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7 Biyositsiz ortamda *Desulfotomaculum* sp. No: 7 gelişimine çelik kuponun etkisi

Çelik kupon	**Başlangıç hücre sayısı × 10^7/mL**	**Son hücre sayısı × 10^7**	**Hücre sayısındaki % artış**
–	10,5	105	900
+	10,5	191,1	1720

Çizelge 4.6'dan görüldüğü gibi formaldehit için 100 mg/L, gluteraldehit için 200 mg/L'den düşük konsantrasyonlar bakteri gelişimini engellemekte yetersiz kalmaktadır. Bu bakımdan belirtilen konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonlarda biyositler kullanılarak korozyon testleri yapılmıştır.

Seçilen 5 izolatla yapılan korozyon deneylerinde 0, 100, 200, 400 mg/L formaldehit, 0, 200, 400, 600 mg/L gluteraldehit kullanılmıştır. Çizelge 4.8 ve 4.9'da SRB ile inokule edilmiş, çelik kupon ve biyositleri içeren besi ortamlarında 1 ay inkübasyon süresinden sonra belirlenen hücre sayıları ve % artışı verilmiştir.

Çizelge 4.8 Formaldehit (FA) ve çelik kupon içeren ortamda mikroorganizma gelişimi

İzolat	**Başlangıç hücre sayısı ×10^7/mL**	**Son hücre sayısı × 10^7**				**Hücre sayısındaki % artış**			
		0 mg/L FA	**100 mg/L FA**	**200 mg/L FA**	**400 mg/L FA**	**0 mg/L FA**	**100 mg/L FA**	**200 mg/L FA**	**400 mg/L FA**
Desulfotomaculum sp. No: 5	19	231.1	95.2	25.6	25	1116.3	401	34.7	31.5
Desulfotomaculum sp. No: 7	10.5	191.1	16.6	7.2	2.8	1720	58.1	0	0
Desulfotomaculum sp. No: 2	2	17.5	10.1	6.8	6	775	405	240	200
Desulfotomaculum sp. No: 6	9.7	186.6	26.2	12.8	10.2	1823	170.1	32	5.1
Desulfovibrio sp. No: 2	10.7	125	12.3	8	4.6	1143	15	0	0

Çizelge 4.9 Gluteraldehit (GA) ve çelik kupon içeren ortamda mikroorganizma gelişimi

İzolat	**Başlangıç hücre sayısı ×10^7/mL**	**Son hücre sayısı × 10^7**			**Hücre sayısındaki % artış**		
		0 mg/L GA	**200 mg/L GA**	**400 mg/L GA**	**0 mg/L GA**	**200 mg/L GA**	**400 mg/L GA**
Desulfotomaculum sp. No: 5	16.5	216.1	123.8	57.5	1210	650.3	248.5
Desulfotomaculum sp. No: 7	12.6	242	104.1	74	1820	726.1	487.3
Desulfotomaculum sp. No: 2	8	72	7.5	8.5	800	0	6.25
Desulfotomaculum sp. No: 6	14.5	290	100.8	82.6	1750	595.1	469.6
Desulfovibrio sp. No: 2	13.6	156.8	147.5	113.6	1053	984.5	735.3

Çizelgelerin incelenmesinden farklı SRB türlerinin ve aynı türün farklı izolatlarının gelişiminin biyositlerden farklı derecelerde etkilendiği görülmektedir (Çizelge 4.8). Artan biyosit konsantrasyonlarında hücre sayısındaki % artışın azaldığı görülmektedir. *Desulfotomaculum* sp. No: 7 ve *Desulfovibrio* sp. No: 2 gelişimi 200 mg/L formaldehit uygulandığında tamamen durmuştur. Diğer izolatlar için 400 mg/L'dan daha yüksek konsantrasyonların uygulanması gerekmektedir. Çizelge 4.9'den de görüldüğü gibi

mikroorganizma gelişimini engellemekte gluteraldehit, formaldehitten daha az etkilidir. İzolatların çoğunun gelişimi 400 mg/L' gluteraldehitten çok az etkilenmiştir. Denenen daha yüksek biyosit konsantrasyonlarında gelişme görülmediği için tabloda yer verilmemiştir.

Çizelge 4.10'da SRB ile inokule edilmiş, çelik kupon ve farklı konsantrasyonda biyositleri içeren besi ortamlarında 1 ay inkübasyon süresinden sonra belirlenen korozyon hızları verilmiştir. Bakteri içermeyen biyositli ortamda korozyonun olup olmadığını belirlemek amacıyla kontrol tüpleri de hazırlanmış ve aynı şekilde inkübe edilmiştir. *Desulfotomaculum* sp. No: 2 ve *Desulfovibrio* sp. No: 2 içeren ortamdaki korozyon hızı 100 mg/L formaldehit uygulandığında tamamen durmuştur. *Desulfotomaculum* sp. No: 6 ve No: 7 için 200 mg/L formaldehit uygulanması korozyon hızını 0'a düşürmüştür. Bu konsantrasyonda *Desulfotomaculum* sp. No: 5 in korozyon hızı da 0'a yaklaşmıştır. Gluteraldehitin 200 mg/L'lık konsantrasyonu izolatların çoğunda korozyon hızını çok az düşürmüştür. *Desulfotomaculum* sp. No: 5 ve *Desulfotomaculum* sp. No: 2' nin korozyon hızı 400 mg/L gluteraldehit uygulanması sonrası oldukça azalmıştır. İzolatlardaki korozyon hızını 0'a düşürmek için 600 mg/L gluteraldehit uygulanması gerekmektedir. SRB'siz ortamda biyosit etkisiyle gerçekleşen korozyon ihmal edilebilecek düzeydedir.

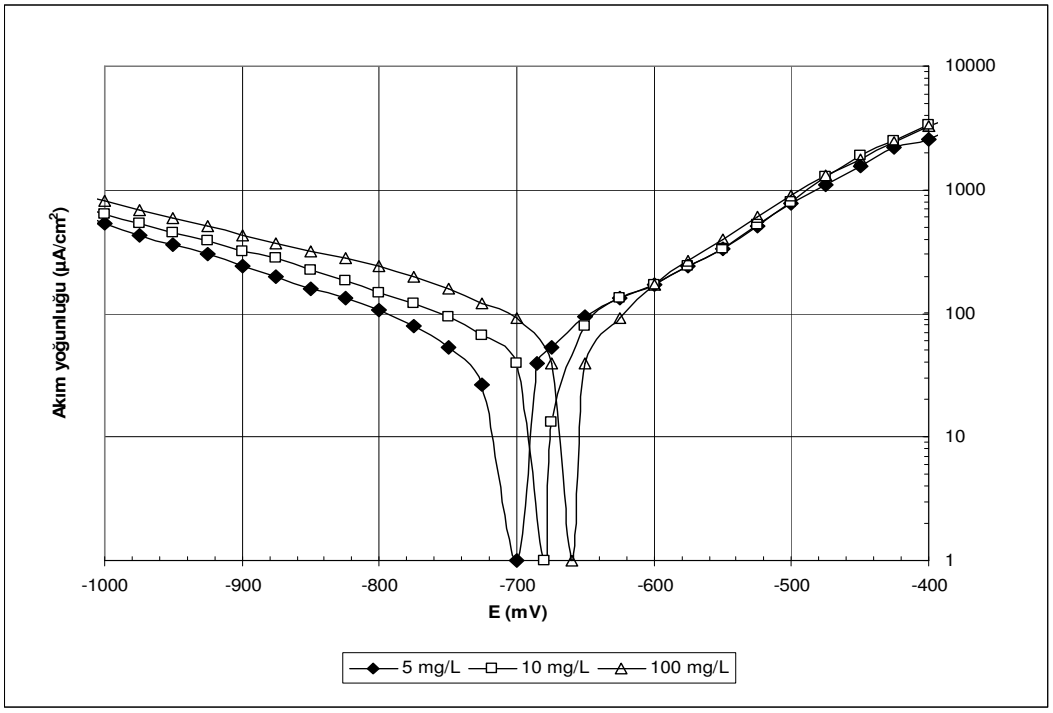
Çizelge 4.10 Formaldehitli (FA) ve Gluteraldehitli (GA) çelik kuponlu ortamda korozyon hızları

İzolat	**Korozyon hızı (mg $cm^{-2}.saat^{-1}$) $\times 10^{-3}$**						
	Biyositsiz	**100 mg/L FA**	**200 mg/L FA**	**400 mg/L FA**	**200 mg/L GA**	**400 mg/L GA**	**600 mg/L GA**
Desulfotomaculum sp. No: 5	31.6	5.9	0.8	0	17.6	1.6	0
Desulfotomaculum sp. No: 7	18.3	3.6	0	0	17.8	14	0
Desulfotomaculum sp. No: 2	18.1	0	0	0	4.3	5.3	0
Desulfotomaculum sp. No: 6	16.2	4.3	0	0	16.5	13.5	0
Desulfovibrio sp. No: 2	15.5	0	0	0	13	12.3	0
SRB'siz	4.3	0	0	0	2.3	1.9	0.9

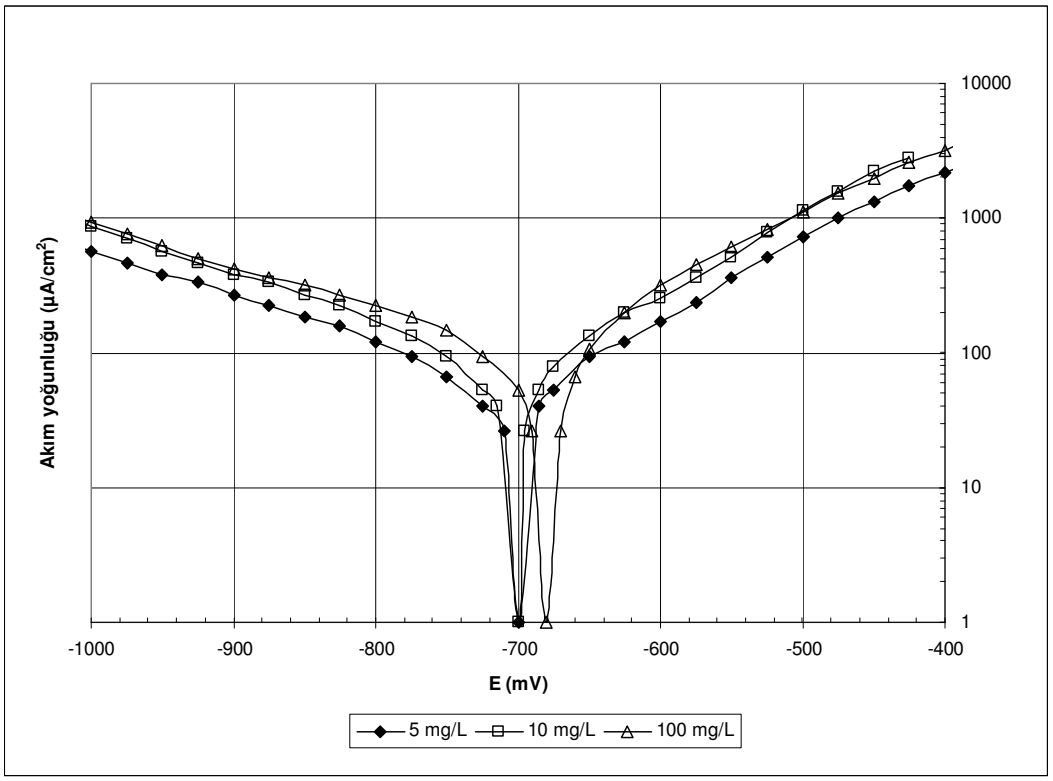
4.6 Elektrokimyasal Korozyon Ölçümleri

4.6.1 Çelik örneğinin korozyonuna demir konsantrasyonunun etkisinin elektrokimyasal yöntemle belirlenmesi

Çelik örneğinin korozyonuna demir konsantrasyonunun etkisinin belirlenmesi amacıyla elektrokimyasal deneyler 5, 10 ve 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamında gerçekleştirilmiştir. *Desulfotomaculum* sp. No: 5 içermeyen ve içeren ortamlarda korozyon potansiyeli (E_{kor}) ve korozyon akım yoğunluğu (I_{kor}) değerleri Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenmiştir. Korozyon akım yoğunluğu (I_{kor}) değerleri Tafel eğrisinin doğrusal kısımlarının korozyon potansiyeline ekstrapolasyonu ile bulunmuştur. Farklı $FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonlarında bakteri bulunmayan ve *Desulfotomaculum* sp. bulunan ortamlarda elde edilen Tafel eğrileri Şekil 4.23 ve 4.24'de verilmiştir.



Şekil 4.23 Düşük alaşım çeliğinin bakterisiz ortamda, farklı $FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonlarında polarizasyon eğrileri



Şekil 4.24 Düşük alaşım çeliğinin *Desulfotomaculum* sp. No: 5 bulunan ortamda 1 gün inkübasyon süresi sonunda, farklı $FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonlarında polarizasyon eğrileri

Farklı inkübasyon süreleri sonunda 5, 10 ve 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ ortamında hesaplanan E_{kor} ve I_{kor} değerleri Çizelge 4.11'de görülmektedir.

Çizelge 4.11 Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri

$FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonu (mg/L)	**Süre (gün)**	**E_{kor} (mV)**	**I_{kor} ($\mu A/cm^2$)**
5	Steril besi ortamı	-700	44.7
	0 (*Desulfotomaculum* sp. inoküle edildi)	-685	44.7
	1	-685	44.7
	3	-695	44.7
	5	-680	44.7
	7	-695	44.7

Çizelge 4.11 Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri (devam)

$FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonu (mg/L)	**Süre (gün)**	**E_{kor} (mV)**	**I_{kor} ($\mu A/cm^2$)**
10	Steril besi ortamı	-670	75.9
	0 (*Desulfotomaculum* sp. inoküle edildi)	-690	60.3
	1	-690	67.6
	3	-680	81.3
	5	-700	89.1
	7	-680	70.8
100	Steril besi ortamı	-645	85.1
	0 (*Desulfotomaculum* sp. inoküle edildi)	-690	70.8
	1	-695	112.2
	3	-698	60.3
	5	-700	57.5
	7	-700	56.2

Steril ortamda E_{kor} ve I_{kor} gibi korozyon parametreleri üzerinde demir konsantrasyonunun etkisi incelendiğinde, artan demir konsantrasyonlarında, E_{kor} değerlerinin daha anodik potansiyellere kaydığı, fakat aynı inkübasyon süreleri için fazla değişmediği görülmektedir. $FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonu 5 mg/L'dan 10 ve 100 mg/L' ye arttıkça I_{kor} değerlerinin steril kültür ortamında oldukça arttığı görülmektedir.

5 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren ortamda E_{kor} değerlerinin *Desulfotomaculum* sp. No: 5 inokülasyonundan sonra ve 7 gün inkübasyonu süresince çok az değiştiği, korozyon akım yoğunluklarının ise inkübasyon süresi boyunca değişmediği görülmüştür.

Desulfotomaculum sp. No: 5' in 10 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren ortama inoküle edilmesinden sonra steril ortamla karşılaştırıldığında E_{kor} değerinin başlangıçta daha katodik değerlere kaydığı görülmektedir. Zamanla E_{kor} değeri çok az değişmektedir, ancak bu değişim düzensizdir. Steril ortamda korozyon akım yoğunluğu 75.9 $\mu A/cm^{2,}$ olup, bu değer inokülasyon anında 60.3 $\mu A/cm^{2'}$ ye düşmüştür. I_{kor} değeri artan inkübasyon süresince artmış ve 5 gün sonunda maksimum değerine (89.1 $\mu A/cm^2$) ulaşmıştır. Korozyon akım yoğunluğunda 7 günlük inkübasyon sonunda önemli bir düşüş olduğu görülmektedir.

100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ ortamında *Desulfotomaculum* sp. No: 5 inokülasyonu ile E_{kor} değeri daha katodik değerlere kaymıştır. E_{kor} zamanla çok az değişmiştir. Steril ortama *Desulfotomaculum* sp. No: 5 inokülasyonu I_{kor} değerlerini düşürmüştür. 1 günlük inkübasyon süresi sonunda bu çalışmadaki en yüksek I_{kor} değerine (112.2 $\mu A/cm^2$) ulaşılmıştır. 3 gün sonunda korozyon akım yoğunluğunun 1. güne oranla oldukça düştüğü belirlenmiştir.

Bu çalışmada ayrıca her deneyin başında ve sonunda, Fe^{+2} konsantrasyonlarına bağlı olarak bakteri sayılarındaki değişmeler belirlenmiştir. Bu amaçla mikroskobik sayımlar yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.12 Farklı $FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonlarında *Desulfotomaculum* sp. No: 5 hücre sayısındaki değişim

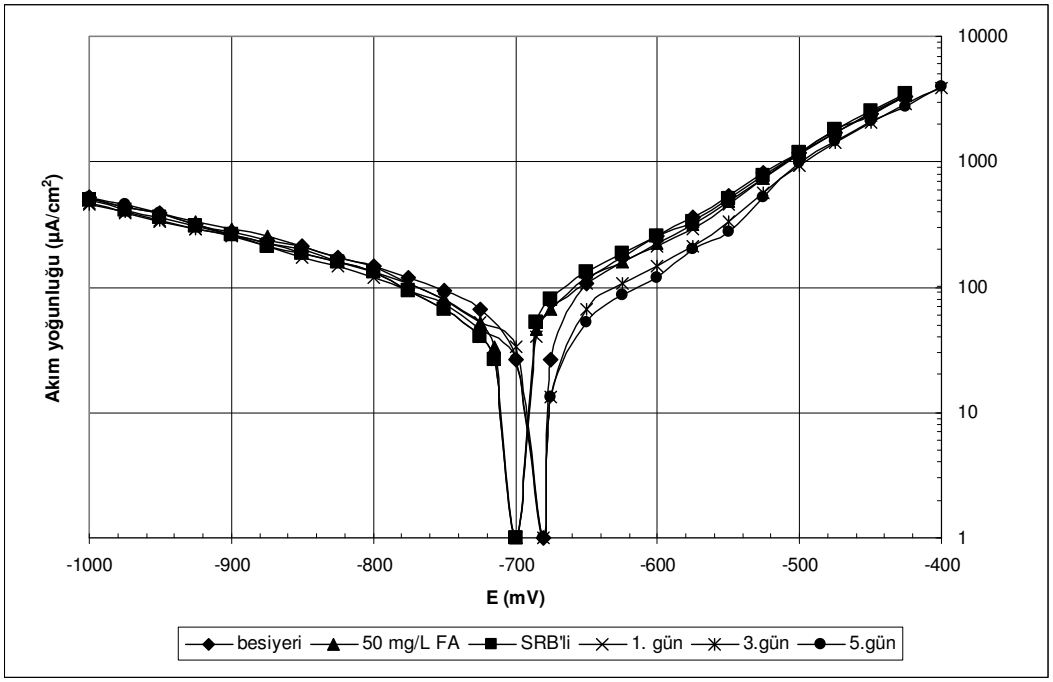
$FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonu (mg/L)	**Başlangıç hücre sayısı × 10^7/mL**	**Son hücre sayısı × 10^7**	**Hücre sayısındaki % artış**
5	1.8	3	66.7
10	1.4	12	757.1
100	1.1	32	2809.0

Fe^{+2} konsantrasyonu arttıkça hücre sayılarındaki yüzde artışlar artmaktadır. Elde edilen sonuçlara göre hücre sayısı en yüksek değerine 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonunda ulaşmıştır.

4.6.2 Çelik örneğinin korozyonuna biyosit etkisinin elektrokimyasal yöntemle belirlenmesi

Desulfotomaculum sp. No: 5' in 1 günlük inkübasyonundan sonra en yüksek korozyon akım yoğunluğu 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren ortamda elde edilmiştir. Bu bakımdan biyosit deneyleri bu ortamda yapılmıştır. Birinci grup deneylerde, 50 mg/L formaldehitli

hazırlanan ve 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamı 24 saatlik mikroorganizma kültürü 10^7 hücre/mL konsantrasyonunda olacak şekilde inoküle edilmiştir. İnkübasyon süresince polarizasyon ölçümleri alınmıştır. Elde edilen Tafel eğrileri Şekil 4.25'de verilmiştir.



Şekil 4.25 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamına 50 mg/L formaldehit (FA) ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinden sonra elde edilen polarizasyon eğrileri

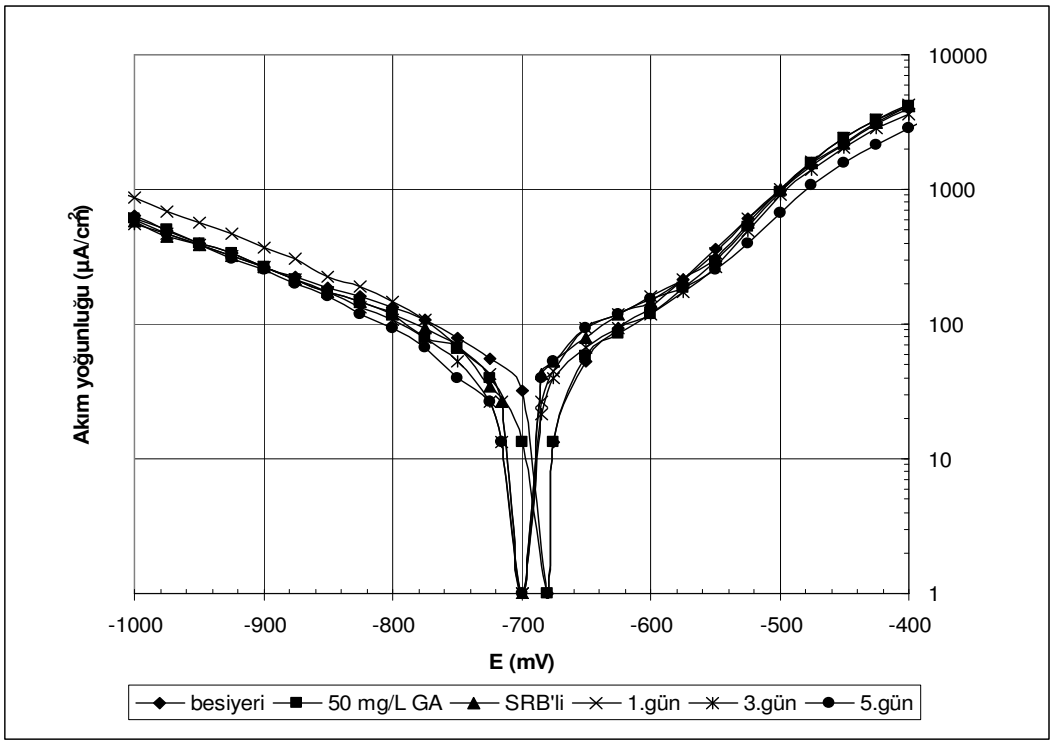
Besi ortamına formaldehit ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklendikten sonra farklı inkübasyon süreleri sonunda hesaplanan E_{kor} ve I_{kor} değerleri Çizelge 4.13'de görülmektedir.

Çizelge 4.13 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamında formaldehit (FA) ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinin, E_{kor} ve I_{kor} üzerine etkisi

İçerik	**E_{kor} (mV)**	**I_{kor} (µA/cm²)**
besiyeri	-685	70.79
besiyeri + 50 mg/L FA	-680	63.09
Desulfotomaculum sp. No: 4 eklendiği anda	-695	63.09
Desulfotomaculum sp. No: 4 1.gün	-680	56.23
Desulfotomaculum sp. No: 4 3.gün	-660	50.11
Desulfotomaculum sp. No: 4 5.gün	-660	50.11

100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ ortamında 50 mg/L Formaldehit eklenmesiyle korozyon hızı biraz azalmakta, korozyon potansiyelleri E_{kor} ise biraz daha anodiğe kaymaktadır. *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinden itibaren bekleme süresinin artmasıyla korozyon hızları bir miktar azalırken korozyon potansiyelleri daha anodiğe kaymaktadır.

Aynı ortamda 50 mg/L gluteraldehit ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinden sonra yapılan polarizasyon ölçümlerinden elde edilen Tafel eğrileri Şekil 4.26'de verilmiştir.



Şekil 4.26 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamına 50 mg/L gluteraldehit (GA) ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinden sonra elde edilen polarizasyon eğrileri

Besi ortamına gluteraldehit ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklendikten sonra farklı inkübasyon süreleri sonunda hesaplanan E_{kor} ve I_{kor} değerleri Çizelge 4.14'de görülmektedir.

Çizelge 4.14 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamında gluteraldehit (GA) ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinin E_{kor} ve I_{kor} üzerine etkisi

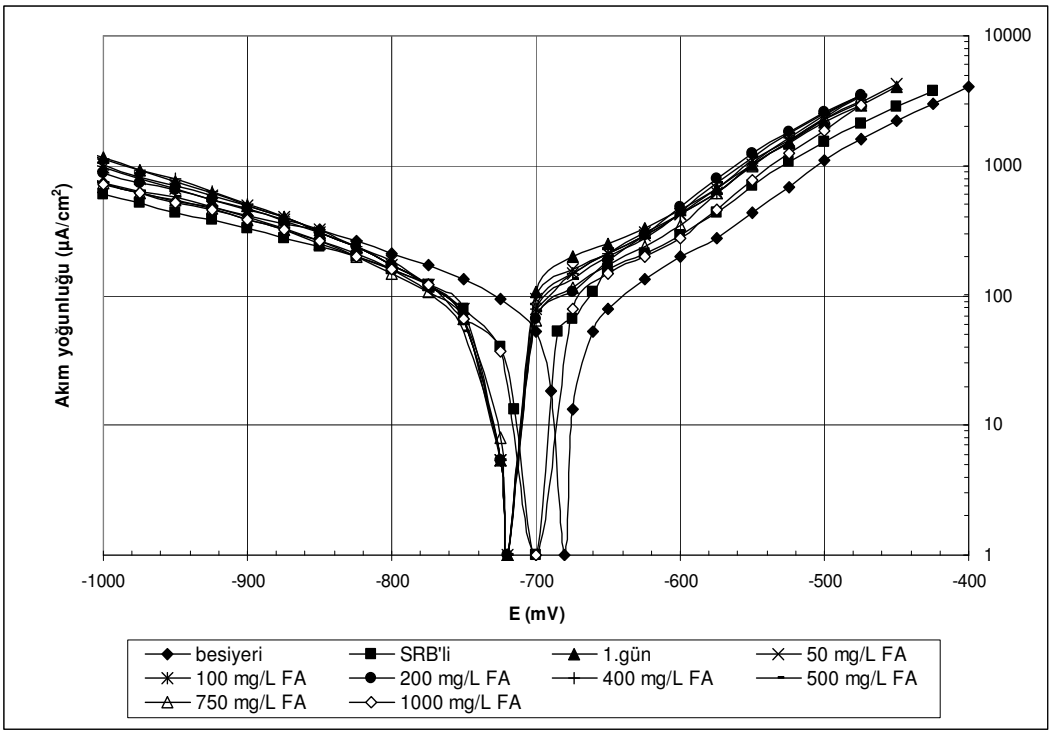
İçerik	**E_{kor} (mV)**	**I_{kor} (µA/cm^2)**
besiyeri	-680	50.11
besiyeri + 50 mg/L GA	-660	35.48
Desulfotomaculum sp. No: 4 eklendiği anda	-690	44.66
Desulfotomaculum sp. No: 4 1.gün	-670	44.66
Desulfotomaculum sp. No: 4 3.gün	-670	39.81
Desulfotomaculum sp. No: 4 5.gün	-700	39.81

100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamında 50 mg/L Gluteraldehit eklenmesiyle korozyon hızı azalmakta, korozyon potansiyelleri E_{kor} ise biraz daha anodiğe kaymaktadır. *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinden itibaren, korozyon hızı biraz artmıştır. Fakat bekleme süresinin artmasıyla korozyon hızları tekrar azalmıştır ve korozyon potansiyelleri -670 ve -700 arasında değişmektedir.

Biyosit içermeyen 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamında korozyon hızının 1 gün içinde en yüksek değerine ulaştığı önceki deneylerde belirlenmişti. Ortama biyosit eklendiğinde ve *Desulfotomaculum* sp. No: 5 bulunduğunda 5 gün ölçüm alınmasına rağmen korozyon hızının başlangıç hızına göre artmadığı görülmüştür.

İkinci grup deneylerde ise, besi ortamı önce, mikroorganizma kültürü ile 10^7 hücre/mL konsantrasyonunda olacak şekilde inoküle edilmiştir. 1 günlük inkübasyon süresinden sonra, korozyon parametrelerine biyosit etkisi 50, 100, 200, 400, 500, 750, 1000, 1500 mg/L konsantrasyonlarında biyosit eklenerek incelenmiştir.

Bu ortamda *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinden ve 1 gün sonra çeşitli konsantrasyonlarda formaldehit eklenmesinden sonra yapılan polarizasyon ölçümlerinden elde edilen Tafel eğrileri Şekil 4.27'de verilmiştir.



Şekil 4.27 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamına *Desulfotomaculum* sp. No: 5 ve 1 gün sonra formaldehit (FA) eklenmesinden sonra elde edilen polarizasyon eğrileri

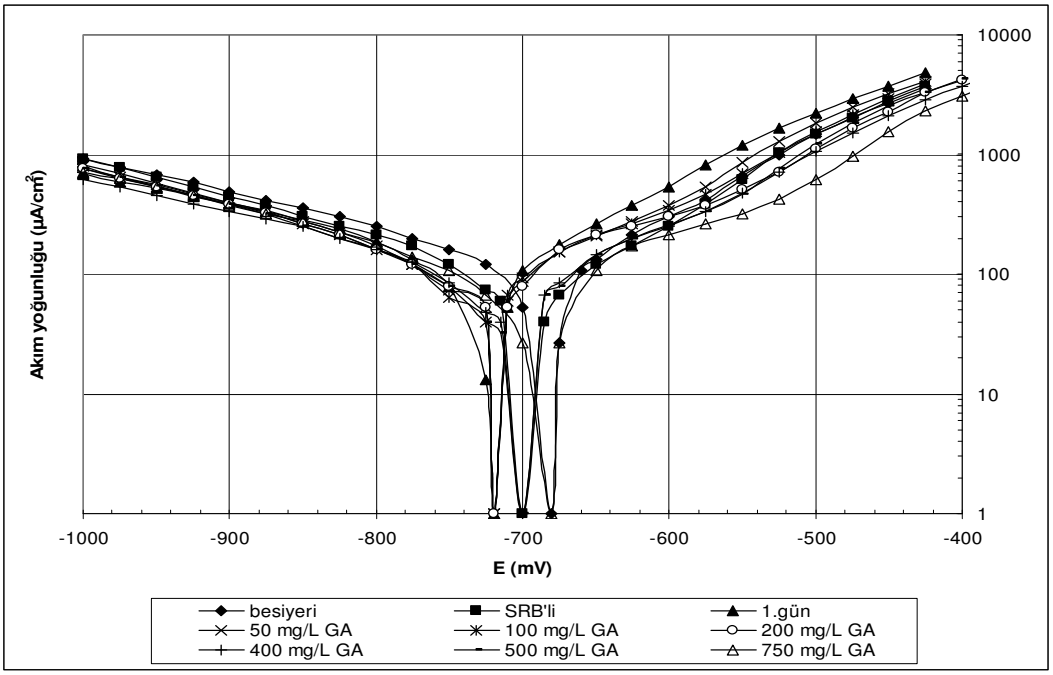
Bu ortamda belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri Çizelge 4.15' de verilmiştir.

Çizelge 4.15 Besi ortamına *Desulfotomaculum* sp. No: 5 ve formaldehit (FA) eklenmesiyle belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri

Ortam	**E_{kor} (mV)**	**I_{kor} (µA/cm²)**
Steril besi ortamı	-650	79.4
0 (*Desulfotomaculum* sp. inoküle edildi)	-680	79.4
1.gün	-710	100.0
50 mg/L FA	-700	95.5
100 mg/L FA	-700	89.1
200 mg/L FA	-690	85.1
400 mg/L FA	-700	81.3
500 mg/L FA	-700	79.4
750 mg/L FA	-700	72.4
1000 mg/L FA	-685	70.8

Çizelge 4.15'den de görüldüğü gibi 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ ortamında *Desulfotomaculum* sp. No: 5 inokülasyonu ile E_{kor} değeri daha katodik değere kaymıştır. E_{kor} *Desulfotomaculum* sp. No: 5'in 1 günlük inkübasyonu sonunda -710 mV değerine ulaşmıştır. Ortama formaldehit ilavesi E_{kor} değerini anodik yönde çok az değiştirmiştir. Formaldehitin artan konsantrasyonlarda ilavesi E_{kor} değerini fazla değiştirmemiştir. Steril ortama *Desulfotomaculum* sp. No: 5 inokülasyonunun I_{kor} değerine etkisi görülmemiştir. Bir günlük inkübasyon süresi sonunda en yüksek I_{kor} değeri 100 µA cm^{-2} olarak bulunmuştur. Ortama formaldehit ilavesi ile korozyon akım yoğunluğu 1. güne oranla düşmüştür. Eklenen formaldehit konsantrasyonunun artmasıyla I_{kor} değerlerinin daha da düştüğü görülmektedir. En düşük I_{kor} değeri 1000 mg/L formaldehit içeren ortamda 70.8 µA cm^{-2} olarak bulunmuştur. Ortama daha yüksek konsantrasyonlarda eklenen formaldehit I_{kor} değerlerini düşürmemektedir.

100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamına *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklenmesinden ve 1 gün sonra çeşitli konsantrasyonlarda gluteraldehit eklenmesinden sonra yapılan polarizasyon ölçümlerinden elde edilen Tafel eğrileri Şekil 4.28'de verilmiştir.



Şekil 4.28 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamına *Desulfotomaculum* sp. No: 5 ve 1 gün sonra gluteraldehit (GA) eklenmesinden sonra elde edilen polarizasyon eğrileri

Bu ortamda belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri Çizelge 4.16' da görülmektedir.

Çizelge 4.16 Besi ortamına *Desulfotomaculum* sp. No: 5 ve gluteraldehit (GA) eklenmesiyle belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri

Ortam	E_{kor} (mV)	I_{kor} (µA/cm^2)
Steril besi ortamı	-655	89.1
0 (*Desulfotomaculum* sp. inoküle edildi)	-680	79.4
1.gün	-705	112.2
50 mg/L GA	-705	100.0
100 mg/L GA	-700	89.1
200 mg/L GA	-700	85.1
400 mg/L GA	-700	75.9
500 mg/L GA	-680	74.1
750 mg/L GA	-675	70.8

Çizelge 4.16' dan de görüldüğü gibi 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ ortamında *Desulfotomaculum* sp. No: 5 inokülasyonu ile E_{kor} değeri daha katodik değerlere kaymış, 1 günlük inkübasyon sonunda -705 mV değerine ulaşmıştır. Ortama gluteraldehit ilavesi E_{kor} değerlerini çok az değiştirmiştir. 500 mg/L'den daha yüksek konsantrasyonlarda ise E_{kor} değerlerinin daha anodiğe kaydığı görülmektedir. Steril ortama *Desulfotomaculum* sp. No: 5 inokülasyonu I_{kor} değerlerini düşürmüştür. 1 günlük inkübasyon süresi sonunda en yüksek I_{kor} değeri bulunmuştur. Ortama gluteraldehit ilavesi ile korozyon akım yoğunluğu 1. güne oranla düşmüştür. Eklenen gluteraldehit konsantrasyonunun artmasıyla I_{kor} değerlerinin daha da düştüğü görülmektedir. En düşük I_{kor} değeri 750 mg/L gluteraldehit içeren ortamda 70.8 µA cm^{-2} olarak bulunmuştur. Ortama daha yüksek konsantrasyonlarda gluteraldehit ilavesi I_{kor} değerlerini düşürmemektedir.

Deneylerimizde kullanılan iki biyositle elde edilen sonuçların karşılaştırılmasıyla gluteraldehitin formaldehite göre daha düşük konsantrasyonlarda korozyon akım yoğunluğunu azaltmada daha etkili olduğu görülmektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tez çalışmasında ham petrol su karışımdan alınan örneklerin inokulum olarak ve sülfatın elektron alıcı olarak kullanılmasıyla anaerobik sülfat indirgeyen bakteriler çeşitli besi ortamlarında zenginleştirilmiştir. Zenginleştirilen kültürden agarlı petrilere çizim yapılmasıyla pek çok SRB izolatı elde edilmiştir. İzolatlardan yüksek H_2S üretimi görülenlerin diğerlerine göre daha yüksek korozyon hızına neden olacağı düşünülerek (Davis 1967, Hamilton 2003, Videla and Herrera 2005) bu izolatlar seçilmiştir. Bu izolatların besi ortamında gelişimi sonucu üretilen demir sülfürün karakteristik siyah rengi gözlenmiştir. Cins seviyesinde tanımlanan izolatlarda 5 farklı türe rastlanmış olup, izolatların büyük bir çoğunluğu *Desulfotomaculum* sp.'ye ait suşlardır. Kütle kaybı deneylerinde seçilen tüm izolatların korozyona neden olduğu, en yüksek korozyon hızına sahip olan izolatın *Desulfotomaculum* sp. No:5 olduğu belirlenmiştir.

Bakterili besi ortamında 1 ay bekletilmiş korozyon kuponlarının yüzeyi incelendiğinde yüzeyin bakteri, korozyon ürünleri, ekzopolisakkarit ve diğer birikintilerden oluşan bir biyofilm tabakasıyla kaplandığı görülmüştür. Bu tabaka temizlendikten sonra SEM ile incelenmiş ve çelik yüzeyinde SRB'nin neden olduğu korozyon hasarı ortaya çıkmıştır. Yüzeyin genel olarak bozunduğu ve çok sayıda çukurcuğun oluştuğu görülmüştür.

SRB izolatlarının biyokorozyon üzerindeki etki mekanizması hakkında fikir vermesi açısından korozyon ürünlerinin EDAX ile analizi yapılmıştır. Analiz sonucu Fe, S ve P piklerinin oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum birikintilerde mikrobiyel korozyon ürünlerinden FeS ve demir fosfürlerin olduğunu göstermektedir. FeS hidrojen aşırı gerilimini azaltmakta ve katodik depolarizasyona yol açmaktadır (Newman *et al.* 1991, Lee and Characklis 1993). Demir fosfürler, demirin aktif uçucu fosfor bileşikleriyle reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Iverson ve Olson'a göre uçucu fosfor bileşiği SRB aktivitesi sonucu veya hidrojen sülfürün çevredeki inorganik fosfor bileşikleriyle reaksiyonu sonucu oluşmaktadır (Iverson and Olson 1983).

Koruyucu FeS tabakası oluşmadığında veya parçalandığında, uçucu fosfor bileşikleri çelik yüzeyi ile temas ederek korozyona sebep olmaktadır (Iverson and Olson 1983). Çeliğin korozyonu sonucu demir fosfürler meydana gelmektedir. Çalışmamızda EDAX analizinde görülen büyük P pikleri, sülfürler yanında uçucu fosfor bileşiklerinin de korozyon reaksiyonlarında rol aldığını göstermektedir.

Korozyon hızına biyositlerin etkisinin kütle kaybı yöntemiyle belirlenmesinden önce çelik kupon bulunmayan besiyerinde mikroorganizma gelişimini durdurabilecek minimum biyosit konsantrasyonu araştırılmıştır. Bu amaçla yüksek korozyon hızına sahip izolatlardan biri olan *Desulfotomaculum* sp. No: 7 ile ön denemeler yapılmış ve bakteri gelişimini engellemek için gerekli biyosit konsantrasyonları belirlenmiştir. Ancak planktonik (yüzen) SRB populasyonunun gelişimini tamamen durduran biyosit konsantrasyonları, kupon bulunan ortamda sesil (tutunan, yapışan) bakterilerin gelişimini engelleyememişlerdir. Bu durum çelik kupon içeren ortamda bakteri gelişiminin yüksek olması ve biyofilm oluşmasıyla ilgilidir. Çelik kupon içeren ortamda SRB'nin gelişme hızı kuponsuz ortamdakinin yaklaşık iki katı kadardır. Kalın biyofilm tabakası oluşumu biyositlerin daha iç tabakalara difüzyonunu engeller ve biyofilmin iç kısımları biyosit etkisinden korunmuş olur.

Çalışmamızda da görüldüğü gibi bakteri tipi, biyosit çeşidi, ortam şartları, inkübasyon süresi gibi faktörler biyosit muamelesinin sonuçlarını etkilemektedir, ancak biyositler genel olarak planktonik kültürler üzerinde sesil kültürlere göre daha etkilidir (Gaylarde and Johnston 1983, Cheung *et al*. 1994, Cheung and Beech 1996, Rège and Sand 1998). Gardner and Stewart (2002) biyosit muamelesinin etkinliğini sülfür üretimini ölçerek belirlemişlerdir. Gluteraldehitin 50 mg/L lik konsatrasyonunun planktonik hücrelerin sülfür üretimin 143 saat süreyle durdurduğunu, ancak biyofilm reaktöründe daha yüksek dozda uygulanan gluteraldehitin daha az etkili olduğunu göstermişlerdir. Gayosso *et al.* (2005) nispeten daha yüksek dozda (200 mg/L GA) biyosit uygulamış, bu şekilde hem sesil hem planktonik bakterileri etkisiz hale getirmiş ve korozyon hızını düşürmüştür.

Bu çalışmada kütle kaybı yöntemine göre belirlenen biyosit etkinlikleri incelendiğinde formaldehitin denenen türlerin gelişimini ve korozyon hızını kontrol etmekte daha etkin olduğu görülmüştür. Ancak uygulanan formaldehit ve gluteraldehit konsantrasyonları literatürdeki benzer çalışmalardan daha yüksektir. Bu çalışmada kullanılan izolatların oluşturduğu kalın biyofilm tabakasının biyositlere karşı koruyucu olmasının yanında izolat farklılıklarının da biyositlere karşı farklı direnç göstermelerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Çevre koruma ve ekonomik konular gözönünde bulundurulduğunda kullanılan biyosit miktarının sınırlandırılması gereklidir. Çünkü biyositler sonuçta akarsulara veya arıtım sistemi sularına karışmaktadırlar (Videla 2002). Petrol sahalarında ve endüstriyel su sistemlerinde formaldehit ve gluteraldehit için önerilen doz 100 mg/L'den daha düşüktür (Davis 1967, Videla 2002). Kütle kaybı ölçümleri sonuçlarına göre SRB'lere karşı kullanılan formaldehit miktarını 100 mg/L'ye düşürmek mümkün olabilir, çünkü bu konsatrasyonda elde edilen korozyon hızları steril ortamda elde edilen hızlara yakındır.

Elektrokimyasal korozyon ölçümlerinde çelik örneğinin korozyonuna demir konsantrasyonunun etkisi 5, 10 ve 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamında incelenmiştir. Steril ortamda Fe^{+2} konsantrasyonu arttıkça korozyon potansiyelleri daha anodik değerlere kaymakta ve korozyon akım yoğunlukları artmaktadır. *Desulfotomaculum* sp. No: 5 ile inoküle edilmiş, 5 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ ortamında korozyon akım yoğunlukları inkübasyon süresince değişmemektedir. 10 ve 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren ortamlarda korozyon akım yoğunlukları başlangıçta düşmüş, daha sonra zamanla artmıştır.

Bu değişim şu şekilde açıklanabilir: başlangıç I_{kor} değerlerinin ortama *Desulfotomaculum* sp. eklenmesiyle azalması, aktive edilmiş inokülasyon ortamından gelen sülfür bileşiklerinin elektrot yüzeyini pasifleştirmesiyle gerçekleşmiş olabilir. İnkübasyon süresince I_{kor} değerlerinin artması ortamdaki sülfat iyonlarının *Desulfotomaculum* sp nin metabolik aktivitesi sonucu sülfüre indirgenmesi ile açıklanabilir. Bu sırada yüzeye adsorbe hidrojen çelik elektrot yüzeyinden uzaklaştırılır. Bu durumun von Wolzogen Kuhr and van der Vlugt (1934) tarafından önerilen katodik depolarizasyon mekanizması ile meydana geldiği düşünülmektedir. Ancak 7 gün sonra

korozyon akım yoğunluklarının azalması, artan sülfür nedeniyle yüzeyin tekrar pasifleşmesi ve ortamda besin ve sülfat konsantrasyonlarının azalmasıyla birlikte bakteriyel aktivitenin düşmesi ile açıklanabilir. Çalışmamızın sonuçları literatürdeki diğer bulgularla da uygunluktadır (Fonseca *et al.* 1998, Rainha and Fonseca 1997, Jung *et al.* 2003).

10 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ ortamında maksimum korozyon akım yoğunluğuna 5 günlük inkübasyon periyodundan sonra ulaşılmış iken 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ ortamında maksimum değere 1 gün sonra ulaşılmıştır. Lee ve Characklis (1993) ve Lee *et al.* (1993) tarafından yapılan çalışmalarda düşük Fe^{+2} konsantrasyonlarında geçici ve yapışkan demir sülfür filmi nedeniyle korozyon akım yoğunluklarının düşük olduğu gösterilmiştir. Buna karşılık biyofilm altında koruyucu bir tabaka olarak bulunan demir sülfür filmi, demirce zengin ortamlarda oluşmaz ve bunun sonucu korozyon akım yoğunlukları artar. Bizim çalışmamızın bulguları da bu araştırmacıların sonuçlarıyla uygunluktadır (Lee and Characklis 1993).

Fe^{+2} konsantrasyonu arttıkça hücre sayılarındaki yüzde artışlar artmaktadır. Marchal *et al.* (2001)'e göre SRB'lerin gelişimlerini sürdürebilmesi için ortamdaki Fe^{+2} konsantrasyonunun yüksek olması gereklidir, Fe^{+2}, siz ortamlarda gelişme performansları azalır. Bizim sonuçlarımıza göre hücre sayısı en yüksek değerine 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ konsantrasyonunda ulaşmıştır. Bu Fe^{+2}'nin, hücrenin demir içeren sitokrom, hidrojenaz, sülfit redüktaz gibi kısımlarının sentezi için gerekli olmasından kaynaklanmaktadır.

Bu çalışmada en yüksek korozyon hızı 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren ortamda (112.2 $\mu A\ cm^{-2}$) 1 günlük inkübasyon süresi sonunda bulunmuştur. Bu maksimum değere iki nedenle ulaşılmıştır. Birincisi Lee ve Characklis (1993) tarafından belirtildiği gibi korozyon akım yoğunlukları SRB bulunan demirce zengin ortamlarda artmaktadır. İkinci olarak besiyerinde daha yüksek konsantrasyonlarda demir bulunduğunda daha yüksek büyüme oranları elde edilmektedir. Dolayısıyla sülfat indirgeme, katodik depolarizasyon hızları ve sülfür bileşiklerinin oluşma hızlarının da daha yüksek olması ve bunun sonucunda korozyon akım yoğunluklarının artması da beklenen bir sonuçtur.

Korozyonda elektrokimyasal yöntem kullanılarak biyosit etkisinin belirlenmesi iki şekilde yapılmıştır. Birinci grup deneylerde, biyositli hazırlanan besi ortamı SRB ile inoküle edilmiş ve inkübasyon süresince ölçümler alınmıştır. Besi ortamına önce biyosit, sonra *Desulfotomaculum* sp. No: 5 eklendiğinde 5 gün ölçüm alınmasına rağmen korozyon akım yoğunluğunun başlangıç akım yoğunluğuna göre artmadığı görülmüştür. İkinci grup deneylerde besi ortamı önce mikroorganizma kültürü ile inoküle edilmiştir. 1 günlük inkübasyon süresinden sonra, ortama farklı konsantrasyonlarda biyosit eklenerek ölçümler alınmıştır.

Ortama biyosit ilavesi ile korozyon akım yoğunluğu 1. güne oranla düşmüştür. Eklenen biyosit konsantrasyonunun artmasıyla I_{kor} değerlerinin daha da düştüğü görülmektedir. Deneylerimizde kullanılan iki biyositle elde edilen sonuçların karşılaştırılmasıyla gluteraldehitin formaldehite göre daha düşük konsantrasyonlarda korozyon akım yoğunluğunu azaltmada daha etkili olduğu görülmektedir. Elektrokimyasal ölçümlerde en düşük korozyon hızı 750 mg/L'lik gluteraldehit konsantrasyonunda gerçekleşmektedir. Etkili olan biyosit konsantrasyonunun çok yüksek olması mikroorganizmanın gelişimi için yeterince uzun süre beklememiz ve bu sürede hücre sayısının çok artmasından kaynaklanmaktadır.

Oysa bu değer uluslar arası çevre koruma örgütlerinin gluteraldehit için kullanılmasına müsaade ettiği 50 mg/L'lik konsantrasyon sınırının çok üstündedir (Videla 2002). Bu konsantrasyonlarda biyositin petrol sahalarında kullanılması uygun değildir. Ancak bulgularımızda 100 mg/L'lik gluteraldehit konsantrasyonunda steril besi ortamındaki korozyon hızı elde edilmiştir. Bu nedenle 100 mg/L gluteraldehitin etkili olduğunu söyleyebiliriz. Biyosit olarak denenen formaldehit için ise 1000 mg/L'lik konsantrasyonlara çıkıldığında I_{kor} değerleri önemli ölçüde düşmekle beraber 500 mg/L'lik formaldehit konsantrasyonunda steril besi ortamındaki korozyon akım yoğunluğu bulunmuştur. Dolayısıyla 500 mg/L'lik formaldehit konsantrasyonunun etkili olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara göre çalıştığımız koşullarda biyosit olarak gluteraldehit kullanılması daha uygundur.

Elektrokimyasal polarizasyon ölçümlerine göre gluteraldehitin korozyon hızını düşürmede daha etkili olduğu bulunmuştur. Ancak kütle kaybı yöntemine göre formaldehit daha etkilidir. Bu fark biyosit deneylerinde kullanılan besi ortamının demir konsantrasyonlarının farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Elektrokimyasal polarizasyon ölçümlerinde düşük demirli ortam tercih edilmiştir, çünkü yapılan ön denemelerde yüksek oranda demir içeren ortamda bakteri gelişimi sonucu çok fazla FeS üretilmiştir. Oluşan demir sülfür çökeltileri elektrot yüzeyini hemen kapatmakta ve akım geçmesini engelleyerek ölçüm alınmasını zorlaştırmaktadır. Bu bakımdan yüksek demirli ortamda biyosit etkinliği elektrokimyasal olarak belirlenememiştir. Elektrokimyasal polarizasyon ölçümleri 100 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamında, kütle kaybı ölçümleri 500 mg/L $FeSO_4.7H_2O$ içeren besi ortamında gerçekleşmiştir. Formaldehit yüksek demirli ortamda daha etkin veya gluteraldehit düşük demirli ortamda daha etkin olabilir. Ayrıca elektrokimyasal deneylerde ölçümlerden önce elektrot yüzeyinin temizlenerek parlatılması gerekmektedir. Aksi halde yüzeyde bulunan safsızlıklar yüzeyi kapatarak akım yoğunluğunu azaltır ve doğru sonuç alınmasını engeller. Dolayısıyla yüzey temizlendiği için bakterili ortamda alınan ölçümlerde elektrot yüzeyinde oluşan tabaka metal kuponlardaki tabakaya oranla daha incedir. Bu bakımdan gluteraldehit kalın biyofilm tabakası oluşmadığı için elektrokimyasal ölçümlerde daha iyi sonuç vermiş olabilir. Ancak bu konuda yapılmış bir araştırmaya literatürde rastlanmamıştır.

Anaerobik bakterilerin yol açtığı mikrobiyel korozyon literatürde pek çok çalışmanın konusu olmakla beraber, farklı tip bakterilerin izolasyonu ve korozyon etkilerinin araştırılması bugün ve gelecekte disiplinlerarası bir inceleme alanı oluşturacaktır. Çalışmaların büyük bir kısmı *Desulfovibrio* türlerinin korozyondaki etkileri üzerinde yoğunlaşmıştır (Crombie *et al*. 1984, Weimer *et al*. 1988, Czechowski *et al.* 1990, Fonseca *et al.* 1998, Feio *et al.* 2000, Rao *et al.* 2005, Padilla-Viveros *et al.* 2006), buna karşılık *Desulfotomaculum* türlerinin ve diğer türlerin korozyondaki etkisi hakkında literatürde pek az çalışma vardır (Ramesh Kumar *et al.* 1999, Ren and Wood 2004). Tez çalışmamız korozyonda etkin SRB türlerinin belirlenmesi ve denenen biyositlerin Türkiye'deki petrol sahalarında da uygulamalarının yapılması için öncü bir çalışma özelliğini taşımaktadır. Yapılan bu çalışmada özellikle *Desulfotomaculum* sp. içeren

ortamlarda çeliğin korozyonu ve bu korozyon hızına iki ayrı biyositin etkisinin incelenmesi, literatür ve bilim dünyasına katkılar sağlıyacaktır, ancak *Desulfotomaculum* türlerinin ve diğer türlerin korozyondaki etkisi ile ilgili çalışmaların azlığı, bu konuda daha pek çok araştırma yapılmasının gerekliliğini de ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

Aeckersberg, F., Rainey, F.A. and Widdel, F. 1998. Growth, natural relationships, cellular fatty acids and metabolic adaptation of sulfate-reducing bacteria that utilize long-chain alkanes under anoxic conditions. Archives of Microbiology, 170(5), 361-369.

Alfaro-Cuevas-Villanueva, R., Cortes-Martinez, R., García-Díaz, J.J., Galvan-Martinez, R. and Torres-Sanchez, R. 2006. Microbiologically influenced corrosion of steels by thermophilic and mesophilic bacteria. Materials and Corrosion, 57 (7), 543-548.

Antony, P.J., Chongdar, S.,, Kumar, P. and Raman, R. 2007. Corrosion of 2205 duplex stainless steel in chloride medium containing sulfate-reducing bacteria. Electrochimica Acta, 52, 3985-3994.

Atlas, R.M. 1993. Handbook of Microbiological Media, Parks L.C. (ed), CRC Press, 1079 p., USA.

Beech, I.B. and Gaylarde, C.C. 1999. Recent advances in the study of biocorrosion - An overview. Revista de Microbiologia, 30, 177-190.

Beech, I.B. and Sunner, J. 2004. Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals. Current Opinion in Biotechnology, 15, 181-186.

Belyakova, E.V. and Rozanova, E.P. 2004. Newly discovered properties of spore-forming sulfate-reducing bacteria, *Desulfotomaculum* Strains 435 and 781. Microbiology, 73 (2), 237-239. Translated from Mikrobiologiya, 73(2), 284-286.

Biezma, M.V. 2001. The role of hydrogen in microbiologically influenced corrosion and stress corrosion cracking. International Journal of Hydrogen Energy, 26, 515-520.

Botaş, 2004 Yılı yatırım programı, http://www.botas.gov.tr/ yatirim/yatirimtablolari.asp Erişim Tarihi: 2007

Brasunas, A.de S. 1984. Corrosion Basics: an introduction. National Assocation of Corrosion Engineers Press. 353p., USA.

Bryant, R.D. and Laishley, E.J. 1990. The role of hydrogenase in anaerobic biocorrosion. Canadian Journal of Microbiology, 36(4), 259-264.

Bryant, R.D., Jansen, W., Boivin, J., Laishley, E.J. and Costerton, J.W. 1991. Effect of hydrogenase and mixed sulfate-reducing bacterial populations on the corrosion of steel. Applied And Environmental Microbiology, 57(10), 2804-2809.

Campbell L.L. and Postgate, J.R. 1965. Classification of the spore-forming sulfate-reducing bacteria. Bacteriological Reviews, 29, 359-363.

Castro, H.F., Williams, N.H. and Ogram, A. 2000. Phylogeny of sulfate reducing bacteria. FEMS Microbiology Ecology, 31, 1-9.

Cheung, C.W.S., Beech, I.B., Campbell, S.A., Satherley, J. and Schiffrin, D.J. 1994. The effect of industrial biocides on sulphate-reducing bacteria under high pressure. International Biodeterioration & Biodegradation, 33(4), 299-310.

Cheung, C.W.S. and Beech, I.B. 1996. The use of biocides to control sulphate-reducing bacteria in biofilms on mild steel surfaces. Biofouling, 9, 231-249.

Choudhary, S.G. 1998. Emerging microbial control issues in cooling water systems. Hydrocarbon Processing, 77(5), 91-102.

Coetser, S.E. and Cloete, T.E. 2005. Biofouling and biocorrosion in industrial water systems. Critical Reviews in Microbiology, 31, 213-232.

Corrosion Doctors. Linear polarization resistance (LPR), ideal linear polarization curve. Web sitesi. http://www.corrosion-doctors.org/Electrochem/linear.htm, Erişim Tarihi: 2007

Crombie, D.J., Moody, G.J. and Thomas, J.D.R. 1984. Corrosion of mild steel under diesel oil by sulphate-reducing bacteria. Materials Chemistry and Physics, 10, 91-105.

Czechowski, M. H., Chatelus, C., Fauque, G., Libert-Coquempot, M. F., Lespinat, P.A., Berlier, Y. and LeGall, J. 1990. Utilization of cathodically-produced hydrogen from mild steel by *Desulfovibrio* species with different types of hydrogenases. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 6, 227 – 233.

Çakır, A.F. 1994. Türkiye'nin metalik korozyon kayıbı. IV. Korozyon Sempozyumu Bildirileri, s. 1-8, İstanbul.

Davidova, I., Hicks, M.S., Fedorak, P.M. and Suflita, J.M. 2001. The influence of nitrate on microbial processes in oil industry production waters. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 27, 80-86.

Davis, J.B. 1967. Petroleum Microbiology. Elsevier Publishing Company, 603p., NewYork.

Doruk, M. 1982. Korozyon ve önlenmesi. ODTÜ yayınları, 248 s., Ankara.

DSMZ, German Collection of Microorganisms and Cell Cultures © by DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany. Web sitesi. http://www.dsmz.de/microorganisms/html/media/medium000063.html ve http://www.dsmz.de/microorganisms/html/media/medium00063a.html, Erişim Tarihi: 2007

Erbil, M. 1987. Alternatif akım (A.C.) impedansı yöntemiyle korozyon hızı belirlenmesi. Doğa Türk Kimya Dergisi, 11(3), 100-111.

Fang, H.H.P., Xu, L.C. and 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. and Lino, A.R. 1998. Isolation and characterisation of a novel sulphate-reducing bacterium of the *Desulfovibrio* genus. Anaerobe, 4, 117-130.

Feio, M.J., Rainha, V., Reis, M.A., Lino A.R. and. Fonseca, I.T.E. 2000. The influence of the *Desulfovibrio desulfuricans* 14 ATCC 27774 on the corrosion of mild steel. Materials and Corrosion, 51, 691-697.

Fonseca, I.T.E., Feio, M.J., Lino, A.R., Reis, M.A. and Rainha, V.L. 1998. The influence of the media on the corrosion of mild steel by *Desulfovibrio desulfuricans* bacteria: an electrochemical study. Electrochimica Acta, 43, 213-222.

Franklin, M.J., Nivens, D.E. , Vass, A.A., Mittelman, M.W., Jack, R.F., Dowling, N.J.E. and White, D.C. 1991. Effect of chlorine and chlorine/bromine biocide treatments on the number and activity of biofilm bacteria and on carbon steel corrosion. Corrosion, 47(2), 128-134.

Gardner, L.R. and Stewart, P.S. 2002. Action of glutaraldehyde and nitrite against sulfate-reducing bacterial biofilms. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 29, 354-360.

Garrity, G., Brenner, D.J., Krieg, N.R. and Staley, J.R. 2005. Bergey's manual of systematic bacteriology Volume 2: The Proteobacteria Part B: The Gammaproteobacteria, 2nd ed., 1108 p. Springer, USA.

Gaylarde, C.C. and Johnston, J.M. 1983. The effect of some environmental factors on biocide sensitivity in *Desulfovibrio*: implications for biocide testing. Proc. Conf. Microbial Corrosion, The National Physical Laboratory and The Metal Society, pp 91-97, NPL Teddington, London.

Gayosso, M.J.H., Olivares, G.Z., Ordaz, N.R., Ramirez, C.J., Esquivel R.G. and Viveros, A.P. 2004. Microbial consortium influence upon steel corrosion rate, using polarisation resistance and electrochemical noise techniques. Electrochimica Acta, 49, 4295-4301.

Gayosso, M.J.H., Olivares, G.Z., Ordaz, N.R. and Esquivel R.G. 2005**.** Evaluation of a biocide effect upon microbiologically influenced corrosion of mild steel. Materials and Corrosion, 56(9), 624-629.

Guiamet, P.S. and Gaylarde, C.C. 1996. Activity of an isothiazolone biocide against *Hormoconis resinae* in pure and mixed biofilms. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 12(4), 395-397.

Gundersen, R., Johansen, B., Gartland, P.O., Fiksdal L., Vintermyr, I., Tunold, R., and Hagen, G. 1991. The effect of sodium hypochlorite on the electrochemical properties of stainless steels in seawater with and without bacterial films. Corrosion, 47(10), 800-807.

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.

Hardy, J.A. 1983. Evaluation of inhibitors of sulphate-reducing bacteria by radiorespirometry. Proc. Conf. Microbial Corrosion, The National Physical Laboratory and The Metal Society, pp 98-101, NPL Teddington, London.

Horikoshi, K. and Grant, W.D. 1998. Extremophiles: Microbial life in extreme environments. Wiley-Liss Press, 322 p., New York.

Hurst, C.J. 2002. Manual of environmental microbiology. ASM press, 1138 p., USA.

Iverson, W.P. 2001. Research on the mechanisms of anaerobic corrosion. International Biodeterioration & Biodegradation, 47, 63-70.

Iverson, W.P. and Olson, G.J. 1983. Anaerobic corrosion by sulfate reducing bacteria due to highly reactive volatile phosphorus compound. Proc. Conf. Microbial Corrosion, The National Physical Laboratory and The Metals Society, pp. 46-53, NPL Teddington, London.

İlhan-Sungur, E., Cansever, N. and Cotuk, A. 2007. Microbial corrosion of galvanized steel by a freshwater strain of sulphate reducing bacteria (*Desulfovibrio* sp.). Corrosion Science, 49, 1097-1109.

Jung, H.G., Yoo, J.Y. and Woo J.S. 2003 The microbiologically influenced corrosion behavior of C-Mn ship structural steel with different manufacturing processes. ISIJ International, 43, 1603-1610.

Kailasam, S. and Rogers, K.R. 2007. A fluorescence-based screening assay for DNA damage induced by genotoxic industrial chemicals. Chemosphere, 66(1), 165-171.

Keresztes, Zs., Telegdi, J., Beczner, J. and Kálmán, E. 1998. The influence of biocides on the microbially influenced corrosion of mild steel and brass. Electrochimica Acta, 43, 77-85.

Kuang, F., Wang, J., Yan, L. and Zhang, D. 2007. Effects of sulfate-reducing bacteria on the corrosion behavior of carbon steel. Electrochimica Acta, 52, 6084-6088.

Kuever, J., Rainey, F.A. and Hippe, H. 1999. Description of *Desulfotomaculum* sp. Groll as *Desulfotomaculum gibsoniae* sp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology, 49, 1801-1808.

Lee, W. and Characklis, W.G. 1993. Corrosion of mild steel under anaerobic biofilm. Corrosion, 49(3), 186-199.

Lee, W., Lewandowski, Z., Morrison, M., Characklis, W.G., Avci, R. and Nielsen, P.H. 1993. Corrosion of mild steel underneath aerobic biofilms containing sulfate-reducing bacteria. II. At high dissolved oxygen concentration. Biofouling, 7, 217-239.

Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J. 1997. Brock biology of microorganisms. Eighth Edition. Prentice Hall Inc., 986 p., USA.

Mansfeld, F. and Little, B.A. 1991. Technical review of electrochemical techniques applied to microbiologically influenced corrosion. Corrosion Science, 32(3), 247-272.

Marchal, R., Chaussepied, B. and Warzywoda, M. 2001. Effect of ferrous ion availability on growth of a corroding sulfate-reducing bacterium. International Biodeterioration & Biodegradation, 47, 125-131.

Mercer, A.D., Tiller, A.K. and Wilson, R.W. 1983. Microbial Corrosion. Proceedings of the conference sponsored and organized jointly by the National Physical Laboratory and The Metals Society, 136p., NPL Teddington, London.

Miranda E., Bethencourt M., Botana, F.J., Cano, M.J., Sánchez-Amaya, J.M., Corzo, A., García de Lomas, J., Fardeau, M.L. and 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(9), 2417-2431.

Moon, K.-M., Cho, H.-R., Lee, M.-H., Shin, S.-K. and Koh, S.-C. 2007. Electrochemical analysis of the microbiologically influenced corrosion of steels by sulfate-reducing bacteria. Metals and Materials International, 13(3), 211-216.

National Physical Laboratory, Lifetime Management of Materials service (LMM), The Electrochemistry of Corrosion. Teddington, UK. Web sitesi. http://www.npl.co.uk/lmm/docs/the_electrochemistry_of_corrosion_with_figures.pdf, Erişim Tarihi: 2007

Newman, R.C., Webster, B.J. and Kelly, R.G. 1991. The Electrochemistry of SRB corrosion and related inorganic phenomena. The Iron and Steel Institute of Japan International, 31(2), 201-209.

Padilla-Viveros, A., Garcia-Ochoa, E. and 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, 3841-3847.

Postgate, J.R. 1984. The Sulphate-Reducing Bacteria, second ed. Cambridge University Press, 208 pp., UK.

Rainha, V.L. and Fonseca I.T.E. 1997. Kinetic studies on the SRB influenced corrosion of steel: A first approach. Corrosion Science, 39(4), 807-813.

Ramesh Kumar, A.V., Singh, R. and Nigam, R.K. 1999. Mössbauer spectroscopy of corrosion products of mild steel due to microbiologically influenced corrosion. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 242, 131-137.

Rao, T.S., Kora, A.J., Anupkumar, B., Narasimhan, S.V. and Feser R. 2005. Pitting corrosion of titanium by a freshwater strain of sulphate reducing bacteria (*Desulfovibrio vulgaris*). Corrosion Science, 47, 1071-1084.

Rège H.von and Sand, W. 1998. Evaluation of biocide efficacy by microcalorimetric determination of microbial activity in biofilms. Journal of Microbiological Methods, 33, 227-235.

Ren, D. and Wood, T. K. 2004. (*5Z*)-4-bromo-5-(bromomethylene)-3-butyl-2(*5H*)-furanone reduces corrosion from *Desulfotomaculum orientis.* Environmental Microbiology, 6, 535-540.

Revie, R.W. 2000. Uhlig's Corrosion Handbook. 2nd. Ed. Wiley-Interscience press. 1302p. USA

Riggs, O.L. and Locke, C.E. 1981. Anodic protection, Theory and practice in the prevention of corrosion. Plenum Press, 284 p. New York.

Sarıoğlu, F., Javaherdashti, R., and Aksöz, N. 1997. Corrosion of drilling pipe steel in an environment containing sulphate reducing bacteria. Int. J. Pres. Ves. and Piping, 73, 127-131.

Schweitzer, P.A. 1996. Corrosion engineering handbook. Marcel Dekker Press. 736p, USA.

Sheng, X., Ting, Y.P. and Pehkonen, S.O., 2007. The influence of sulphate-reducing biofilm on the corrosion of stainless stell AISI 316. Corrosion Science, 49, 2159-2176.

Stern, M. and Geary, A.L. 1957. Electrochemical polarization 1. A theoretical analysis of the shape of polarization curves. Journal of the Electrochemical Society, 104(1), 56-63.

Stetter, K.O. 1988. *Archaeglobus fulgidus* gen. nov., sp. nov.: a new taxon of extremely thermophilic archaebacteria. Systematic and Applied Microbiology,10, 172-173.

Stoecker, J.G. 2001. A practical manual on microbiologically influenced corrosion. Volume 2. NACE Press. 260 p., USA.

Tang, L., Mu, G. And Liu, G. 2003. The effect of neutral red on the corrosion inhibition of cold rolled steel in 1.0 M hydrochloric acid. Corrosion Science, 45, 2251-2262.

Tello, E.M., Fardeau, M.L., Fernandez, L., Ramirez, F., Cayol, J.L., Thomas, P., Garcia, J.L. and Ollivier, B. 2003. *Desulfovibrio capillatus* sp. nov., a novel sulfate-reducing bacterium isolated from an oil field separator located in the Gulf of Mexico. Anaerobe, 9, 97-103.

Tiller, A.K. 1983. Electrochemical aspects of microbial corrosion: an overview. Proc. Conf. Microbial Corrosion, The National Physical Laboratory and The Metal Society, pp.54-65, NPL, Teddington, London.

Üneri, S. 2000. Korozyon ve önlenmesi. Korozyon Derneği Yayınları**,** Poyraz Ofset, 413s., Ankara.

Videla, H.A. 2001. Microbially induced corrosion: an updated overview. International Biodeterioration & Biodegradation, 48, 176-201.

Videla, H.A. 2002. Prevention and control of biocorrosion. International Biodeterioration & Biodegradation, 49, 259-270.

Videla, H.A. and Herrera, L.K. 2005. Microbiologically influenced corrosion: looking to the future. International Microbiology, 8 (3), 169-180.

Von Wolzogen Kuhr, C.A.H. and Vlugt van der, L.S. 1934. The graphitization of cast iron as an electrochemical process in anaerobic soils. Water, 147-165.

Wang, H. and Liang, C. 2007. Effect of sulfate reduced bacterium on corrosion behavior of 10 CrMoAl steel. Journal of Iron and Steel Research, International, 14(1), 74-78.

Weimer, P.J., Van Kavelaar, M.J., Michel, C.B. and Ng, T.K. 1988. Effect of phosphate on the corrosion of carbon steel and on the composition of corrosion products in two-stage continuous cultures of *Desulfovibrio desulfuricans.* Applied and Environmental Microbiology, 54, 386-396.

Werner, S.E., Johnson, C.A., Laycock, N.J., Wilson, P.T. and Webster, B.J. 1998. Pitting of type 304 stainless steel in the presence of a biofilm containing sulphate reducing bacteria. Corrosion Science, 40, 465-480.

Wiatr, C.L. and Fedyniak, O.X. 1991. Development of an obligate anaerobe specific biocide Journal of Industrial Microbiology, 7, 7-14.

Widdel, F. and Bak, F., 2001. Gram-negative mesophilic sulfate-reducing bacteria, In: The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological

Community, M. Dworkin et al. (eds), 3rd edition, release 3.7, November 2, Springer-Verlag, New York,

Wilkes, H., Boreham, C., Harms, G., Zengler, K. and Rabus, R. 2000. Anaerobic degradation and carbon isotopic fractionation of alkylbenzenes in crude oil by sulphate-reducing bacteria. Organic Geochemistry, 31, 101-115.

Yongtao, Z., Xingpeng, G. and Zehua, D. 2004. Rapid evaluation of corrosion inhibitors in acidic solution using the coulostatic method. Corrosion Engineering, Science and Technology, 39(3), 245- 249

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Demet ÇETİN

Doğum Yeri: ANKARA

Doğum Tarihi: 21.09.1976

Medeni Hali: Evli, iki çocuklu

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Ankara, Bahçelievler Deneme Lisesi (1993)

Lisans : ODTÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü (1998)

Yüksek Lisans: ODTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı (2001)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

1999- : Araştırma Görevlisi, Biyoloji Bölümü, Fen Fakültesi, Ankara Üniversitesi

1998 : Proje Asistanı, Bilgisayar Ağına Dayalı Eğitim (BADE) Projesi, Enformatik Enstitüsü, ODTÜ

Yayınları (SCI ve diğer)

A- SCI Kapsamındaki Dergilerde Yayınlanan Araştırma Makaleleri:

1. **Çetin, D.,** Dönmez, G. 2006. Decolorization of reactive dyes by mixed cultures isolated from textile effluent under anaerobic conditions. Enzyme and Microbial Technology 38: 926–930.
2. Cansaran, D., **Çetin, D**., Halici, G.M., Atakol, O. 2006. Determination of usnic acid in some *Rhizoplaca* species from the Middle Anatolia and their antimicrobial activities. Zeitschrift für Naturforschung C. 61(1-2):47-51.
3. **Çetin, D.,** Gündüz, U., Eroğlu, İ.,Yücel M., Türker L. 2006. Poly-β-hydroxybutyrate accumulation and releasing by hydrogen producing bacteria,

Rhodobacter sphaeroides O.U.001. A transmission electron microscopic study. African Journal of Biotechnology 5 (22): 2069-2072.

4. **Çetin, D.,** Bilgiç, S., Dönmez, G. 2007. Biocorrosion of low alloy steel by *Desulfotomaculum* sp. and effect of biocides on corrosion control. ISIJ International. 47 (7): 1023-1028.
5. **Çetin, D.,** Dönmez, S., Dönmez, G. The treatment of textile wastewater including chromium(VI) and reactive dye by sulfate-reducing bacterial enrichment. Journal of Environmental Management. Baskıda.
6. **Çetin, D.,** Bilgiç, S., Dönmez, S., Dönmez G. Determination of biocorrosion of low alloy steel by sulfate-reducing *Desulfotomaculum* sp. isolated from crude oil field. Materials and Corrosion. Baskıda.

B- SCI Kapsamındaki Dergilerde Yayınlanan Poster Özetleri

1. **Çetin, D**., Dönmez, S., Dönmez, G. 2005. Hexavalent Chromium Reduction by Sulfate-Reducing Bacteria. 21-24 Ağustos, 12. Avrupa Biyoteknoloji Kongresi, Kopenhag, Danimarka. Poster özeti JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY 118: S170-S171 Suppl. 1, AUG 2005'de Meeting Abstract olarak basılmıştır.