



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**SOĞUTMA SİSTEMİNDEKİ BAKIR YÜZEYLERDE  
BİYOFİLM OLUŞUMU VE MİKROBİYOLOJİK  
KOROZYONUN İNCELENMESİ**

**Nihal DOĞRUÖZ  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Genel Biyoloji Programı**

**Danışman  
Prof.Dr. Aysin ÇOTUK**

**Aralık, 2008**

**İSTANBUL**



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**SOĞUTMA SİSTEMİNDEKİ BAKIR YÜZEYLERDE  
BİYOFİLM OLUŞUMU VE MİKROBİYOLOJİK  
KOROZYONUN İNCELENMESİ**

**Nihal DOĞRUÖZ  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Genel Biyoloji Programı**

**Danışman  
Prof.Dr. Aysin ÇOTUK**

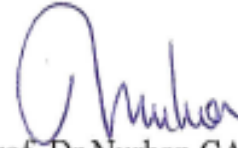
**Aralık, 2008**

Bu çalışma 04/12/2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Genel Biyoloji programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



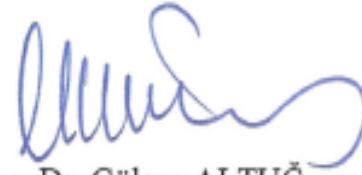
Prof. Dr. Aysın ÇOTUK (Danışman)  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



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



Prof. Dr. Melek TÜRKER SAÇAN  
Boğaziçi Üniversitesi  
Çevre Bilimleri Enstitüsü



Doç. Dr. Gülşen ALTUĞ  
İstanbul Üniversitesi  
Su Ürünleri Fakültesi



Doç. Dr. Ayten ERDEM  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin T-897/02062008 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

“Soğutma Sistemindeki Bakır Yüzeylerde Biyofilm Oluşumu ve Mikrobiyolojik Korozyonun İncelenmesi” başlıklı doktora tezimin gerçekleştirilmesinde değerli fikirleri ile yol gösteren ve bilime olan aşkımin her geçen gün biraz daha artmasına katkıda bulunan sevgili Danışmanım Prof. Dr. Ayşın ÇOTUK’a,

Doktora tez izleme komitemde yer alan ve tez çalışmalarım boyunca beni yönlendiren, kişisel bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Nurhan CANSEVER ve DOÇ. Dr. Gülşen ALTUĞ’a,

Tez çalışmam sırasında yardımlarını ve desteğini gördüğüm sevgili çalışma arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Esra İLHAN-SUNGUR’a

Tez süresi boyunca bütün zorlukları beraber aştığım sevgili Uzman Biyolog Bihter MİNNOŞ’a

Tezim esnasında yardımlarıyla ve en önemlisi manevi destekleriyle yanımda olan Araş.Gör. Duygu GÖKSAY, Yrd. Doç. Dr. Zuhale ZEYBEK’e

İstatistiksel analizlerde emeği geçen sevgili dostum Araş. Gör. Hatice GÜMÜŞHAN ve Yrd. Doç. Dr. Ali TEKGÜLER’e

Çalışmamın çeşitli aşamalarında yardımlarını gördüğüm, Yrd. Doç. Dr. İrfan TÜRETGEN, Araş.Gör. Elif Özlem ARSLAN- AYDOĞDU, Ali Rıza BİNAY, Süleyman HOCA, Miray ÜSTÜNTÜRK’e

Tez çalışmam için gerekli mekanı sağlayan Polat Rönesans Oteli çalışanlarına,

Hayatımın her anında destekleriyle bana güç veren ve hep yanımda olan sevgili babama, anneme ve kardeşim Çağdaş’a

teşekkürü borç bilirim.

**Aralık, 2008**

**Nihal DOĞRUÖZ**

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
SEMBOL LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	vii
SUMMARY .....	viii
1 GİRİŞ .....	1
2 GENEL KISIMLAR .....	3
2.1 BİYOFİLM.....	3
2.2 SU SOĞUTMA SİSTEMLERİ VE ISI DEĞİŞTİRİCİLER.....	8
2.3 KOROZYON .....	10
2.4 MİKROBİYOLOJİK KOROZYON .....	12
2.5 MİKROBİYOLOJİK KOROZYONUN OLUŞUM NEDENLERİ .....	14
2.5.1 Asit Üretimi.....	14
2.5.2 Hidrojen Sülfür Üretimi .....	15
2.5.3 Amonyak Üretimi.....	16
2.5.4 Metal İndirgenmesi .....	16
2.5.5 Metan Üretimi .....	16
2.5.6 Konsantrasyon Hücrelerinin Oluşumu.....	16
2.5.7 Hücre dışı Polimerik Maddelerle Metalin Bağlanması.....	17
2.5.8 Metal Birikimi .....	17
2.5.9 Enzim .....	18
2.6 BAKIR VE BAKIR ALAŞIMLARINDA MIC.....	19
2.7 SU SOĞUTMA SİSTEMLERİNDE BİYOFİLM VE MIC'İN ÖNLENMESİ.....	22
3 MALZEME VE YÖNTEM.....	23
3.1 BAKIR KUPONLARIN HAZIRLANMASI.....	23
3.2 DENEY DÜZENEGİ.....	23
3.2.1 Su Soğutma Sistemi İşletim Koşulları .....	24
3.3 FİZİKSEL VE KİMYASAL ANALİZ .....	25
3.3.1 Sıcaklık.....	25
3.3.2 pH Değeri .....	25
3.3.3 Çözünmüş Oksijen .....	25
3.3.4 İletkenlik ve Toplam Çözünmüş Madde Miktarı .....	25
3.3.5 Fenolftalein ve Toplam Alkalinite Analizi .....	26
3.3.6 Klorür Analizi .....	26
3.3.7 Hidrojen Sülfür Analizi.....	27
3.3.8 Sülfat Analizi .....	27
3.3.9 Çözünmüş Ortofosfat Analizi .....	28
3.4 MİKROBİYOLOJİK ANALİZ.....	29

3.4.1	Su Örneklerinin Hazırlanması.....	29
3.4.1.1	<i>Aerobik Heterotrofik Bakterilerin İzolasyonu ve Sayımı</i> .....	30
3.4.1.2	<i>SOB, SRB Bakterilerinin İzolasyonu ve Sayısının Belirlenmesi</i> .....	30
3.4.1.3	<i>Anaerobik Heterotrofik Bakterilerin İzolasyonu ve Sayımı</i> .....	30
3.4.1.4	<i>Legionella Cinsi Bakterilerin İzolasyonu</i> .....	30
3.4.2	Biyofilm Örneklerinin Hazırlanması.....	31
3.4.2.1	<i>Aerobik Heterotrofik Bakterilerin İzolasyonu ve Sayımı</i> .....	31
3.4.2.2	<i>SOB, SRB bakterilerinin izolasyonu ve Sayısının Belirlenmesi</i> .....	31
3.4.2.3	<i>Anaerobik Heterotrofik Bakterilerin İzolasyonu ve Sayımı</i> .....	32
3.4.2.4	<i>Legionella Cinsi Bakterilerin İzolasyonu</i> .....	32
<b>3.5</b>	<b>EPS ELDESİ</b> .....	<b>32</b>
3.5.1	EPS'deki Toplam Karbonhidrat Miktarının Belirlenmesi .....	33
<b>3.6</b>	<b>SEM VE EDS ANALİZİ</b> .....	<b>34</b>
<b>3.7</b>	<b>AĞIR METAL (Cu) ANALİZİ</b> .....	<b>35</b>
<b>3.8</b>	<b>KOROZYON ANALİZİ</b> .....	<b>35</b>
<b>3.9</b>	<b>KONTROL DÜZENEGİ</b> .....	<b>36</b>
3.9.1	Kontrol düzeneği işletim koşulları .....	36
<b>3.10</b>	<b>İSTATİSTİKSEL ANALİZ</b> .....	<b>37</b>
<b>3.11</b>	<b>KULLANILAN BESİYERLERİ VE KİMYASAL MADDELER</b> .....	<b>38</b>
3.11.1	SOB Besiyeri İçeriği .....	38
3.11.2	Postgate B Besiyeri .....	38
3.11.3	R2A Besiyeri .....	39
3.11.4	Tiyoglikolat Besiyeri.....	39
3.11.5	Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) Besiyeri.....	40
3.11.6	Legionella Cinsi Bakterilerin İzolasyonunda Kullanılan Asitin Hazırlanışı .....	40
3.11.7	TSA (Tryptone Soya Agar) Besiyeri Bileşimi .....	41
3.11.8	3N Ayarlı Nitrik Asit Çözeltisi .....	41
3.11.9	Fenolftalein İndikatör Çözeltisi .....	41
3.11.10	Metil Oranj İndikatör Çözeltisi .....	41
3.11.11	0.1 N Ayarlı Hidroklorik Asit Çözeltisi .....	41
3.11.12	Potasyum Dikromat Çözeltisi .....	42
3.11.13	Gümüş Nitrat Çözeltisi (N/50).....	42
3.11.14	6N Ayarlı Hidroklorik Asit Çözeltisi.....	42
3.11.15	0.025 N Standart İyodin Çözeltisi.....	42
3.11.16	0.025 N Sodyum Tiyosülfat .....	42
3.11.17	Amonyum Molibdat Çözeltisi.....	42
3.11.18	Kalay Klorür Çözeltisi .....	43
3.11.19	Ayarlama Çözeltisi .....	43
3.11.20	0.01M Potasyum Klorür.....	43
<b>4</b>	<b>BULGULAR</b> .....	<b>44</b>
<b>4.1</b>	<b>DENEY DÜZENEGİ</b> .....	<b>44</b>
<b>4.2</b>	<b>KONTROL DÜZENEGİ</b> .....	<b>56</b>
<b>4.3</b>	<b>KOROZYON</b> .....	<b>57</b>
<b>5</b>	<b>TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	<b>63</b>
	<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>75</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>89</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Biyofilm oluşumu.....	4
Şekil 2.2: Biyofilmin kompleks yapısı .....	6
Şekil 2.3: SOB ve SRB ilişkisi .....	8
Şekil 2.4: Açık Tip Soğutma Kulesine sahip su soğutma sistemi .....	9
Şekil 2.5: Metal yüzeylerde biyofilm, katodik ve anodik reaksiyon .....	12
Şekil 2.6: Metal yüzeyde biyofilm ve korozyon oluşumu.....	14
Şekil 2.7: Metal biriktiren bakterilerin oluşturduğu MIC.....	18
Şekil 2.8: Mikrobiyolojik korozyona uğramış, bakırdan imal edilmiş ısı değiştirici .....	20
Şekil 2.9: pH 8 (a) ve pH 6.8 (b) doğal bakır oksit film, (c) MIC oluşumu .....	21
Şekil 3.1: Deneyde kullanılmak üzere hazırlanmış olan bakır kupon .....	23
Şekil 3.2: Soğutma sisteminin ısı değiştiricisine paralel olarak bağlanan bakır kuponların yerleştirildiği deney düzeneği .....	24
Şekil 3.3: Sülfat miktarının tayini için standart sülfat konsantrasyonlarından hazırlanmış olan standart eğri .....	28
Şekil 3.4: Çözünmüş ortofosfat miktarının tayini için standart fosfat konsantrasyonlarından hazırlanmış olan standart eğri .....	29
Şekil 3.5: Toplam karbonhidrat miktarının tayininde kullanılmak üzere standart glukoz konsantrasyonlarından hazırlan standart eğri.....	34
Şekil 3.6: Steril kontrol düzeneği .....	36
Şekil 4.1: (A) Temiz bakır yüzey; (B) 10. ay sonucunda bakır yüzeyde gözlenen biyofilm tabakası .....	46
Şekil 4.2: Bakır kuponların yüzeyinde oluşan biyofilmin SEM fotoğrafları.....	47
Şekil 4.3: Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki aerobik heterotrofik bakteri sayısı.....	49
Şekil 4.4: Çıkış suyundaki aerobik heterotrofik bakteri sayısı ve çıkış suyundaki çözünmüş ortofosfat değerleri arasındaki ilişki .....	49
Şekil 4.5: Biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakteri sayısı ve çıkış suyundaki çözünmüş ortofosfat değerleri arasındaki ilişki .....	50
Şekil 4.6: Biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakteri sayısı ve çıkış suyundaki klor iyonu değerleri arasındaki ilişki .....	50
Şekil 4.7: Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki SOB sayısı. ....	52
Şekil 4.8: Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki SRB sayıları.....	53
Şekil 4.9: Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki anaerobik heterotrofik bakteri sayıları.....	55
Şekil 4.10: Soğutma sistemine yerleştirilen bakır kuponlarda oluşan biyofilmdeki karbonhidrat miktarları.....	55
Şekil 4.11: Deney süresince sistemdeki ve kontrol düzeneğindeki bakır kuponların korozyon hızları.....	58
Şekil 4.12: Bakır yüzeylerde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi .....	59
Şekil 4.13: Aylara göre soğutma sistemi çıkış suyu, biyofilm ve EPS'deki Cu konsantrasyonu.....	61
Şekil 4.14: Aylara göre steril kontrol düzenek su ve filmdeki Cu konsantrasyonu. ....	61
Şekil 4.15: Bakır yüzeylerde oluşan korozyon hasarlarının SEM mikroğrafları.....	62

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 2.1:</b> Soğutma su sistemi suyu için önerilen bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik değerler.....	10
<b>Tablo 4.1:</b> Aylara göre sisteme eklenen su, kule suyu ve çıkış suyunun pH, ÇO, iletkenlik ve TÇM değerleri.....	44
<b>Tablo 4.2:</b> Aylara göre sisteme eklenen su, kule suyu ve çıkış suyunun toplam alkalinite, Cl <sup>-</sup> , H <sub>2</sub> S, SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> , çözülmüş PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> değerleri.....	45
<b>Tablo 4.3:</b> Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki aerobik heterotrofik bakteri sayıları.....	48
<b>Tablo 4.4:</b> Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki SOB sayıları.....	51
<b>Tablo 4.5:</b> Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki SRB sayıları.....	53
<b>Tablo 4.6:</b> Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki anaerobik heterotrofik bakteri sayıları.....	54
<b>Tablo 4.7:</b> Aylara göre kontrol düzeneği suyunun, pH, ÇO, iletkenlik, TÇM, toplam alkalinite, Cl <sup>-</sup> , H <sub>2</sub> S, SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> ve çözülmüş PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> değerleri.....	57
<b>Tablo 4.8:</b> Deney ve kontrol düzeneğindeki bakır kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarının oranı.....	58
<b>Tablo 4.9:</b> Aylara göre soğutma sistemi çıkış suyu, biyofilm ve EPS'deki Cu konsantrasyonu.....	60

## SEMBOL LİSTESİ

<b>SOB</b>	: Kükürt okside eden bakteriler
<b>SRB</b>	: Sülfat indirgeyen bakteriler
<b>MIC</b>	: Mikrobiyolojik korozyon
<b>EPS</b>	: Hücre dışı polimerik maddeler
<b>ÇO</b>	: Çözünmüş oksijen
<b>TÇM</b>	: Çözünmüş madde miktarı
<b>SEM</b>	: Taramalı elektron mikroskobu
<b>EDS</b>	: Enerji dağılım spektrofotometre
<b>MPN</b>	: En muhtemel sayı
<b>GVPN</b>	: Glisin, vankomisin, polimiksin, natamisin
<b>BCYE</b>	: Buffered charcoal yeast extract
<b>mg</b>	: miligram
<b>l</b>	: litre
<b>kob/ml</b>	: mililitrede koloni oluşturan birim
<b>µS</b>	: mikrosiemens
<b>cm</b>	: santimetre
<b>µm</b>	: mikrometre
<b>°C</b>	: santigrat
<b>mm</b>	: milimetre
<b>g</b>	: gram
<b>m<sup>2</sup></b>	: metrekare
<b>dk</b>	: dakika
<b>ml</b>	: mililitre
<b>µl</b>	: mikrolitre
<b>µg</b>	: mikrogram
<b>cm<sup>2</sup></b>	: santimetrekare
<b>mdd</b>	: mg/dm <sup>2</sup> .gün

## ÖZET

### SOĞUTMA SİSTEMİNDEKİ BAKIR YÜZEYLERDE BİYOFİLM OLUŞUMU VE MİKROBİYOLOJİK KOROZYONUN İNCELENMESİ

Mikrobiyolojik korozyon (MIC), su sistemlerinde yaygın ve giderek daha çok önem kazanan ekonomik ve çevresel bir problem olarak düşünülmektedir. Bakır ve alaşımları korozyon ve mikrofaulinge karşı yüksek direncinden, iyi derecedeki elektrik ve ısı iletkenliğinden dolayı uzun yıllardır ısı değiştiricilerde, deniz suyundaki boru sistemlerinde ve içme suyu sistemlerinde kullanılmaktadır.

Bu tez projesindeki hedefimiz, su soğutma sisteminde, mikroorganizmaların bakır yüzeylerde oluşturduğu korozyonun miktarını saptamaktır. Bu amaçla, değiştirilmiş Pedersen cihazı, kuponlarla beraber bir su soğutma sistemindeki ısı değiştiriciye paralel olarak yerleştirilmiştir. Aynı zamanda bakır kuponları içeren kontrol sistemi de deney sistemi ile eş zamanlı çalıştırılmıştır. Deney kuponları 10 ay süresince her ay SOB, SRB, aerobik ve anaerobik heterotrofik bakteri sayısının saptanması, korozyon hızının ölçümü, hücre dışı polimerik maddelerin eldesi (EPS), karbonhidrat analizi ve Cu konsantrasyonunun ölçümü için sistemden çıkarılmış, taramalı elektron mikroskopunda (SEM) incelenmiştir. Ayrıca enerji dağılım spektrofotometre (EDS) analizi yapılmıştır.

SEM analizleri, bakırın mikroorganizmalara karşı toksik etkisi olmasına rağmen mikroorganizmaların bakır yüzeylere tutunup biyofilm oluşturduğunu göstermiştir. Ayrıca biyofilmdeki SRB sayısı arttıkça biyofilmdeki bakır konsantrasyonu da artmıştır ( $p<0.01$ ). Biyofilm ve EPS'deki Cu konsantrasyonu ile deney kupon ağırlık kayıpları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ). Deney kuponlarının ağırlık kaybı zamana bağlı olarak artmıştır ( $p<0.01$ ). Sonuçlarımız mikroorganizmaların bakırın korozyonundan sorumlu olduğunu göstermiştir.

## **SUMMARY**

### **INVESTIGATION OF MICROBIOLOGICAL CORROSION AND BIOFILM FORMATION ON COPPER SURFACES**

Microbiologically influenced corrosion (MIC) is a common problem in water systems and increasingly being considered as an important economic and environmental problem. Copper and its alloys have been commonly used in heat exchangers, seawater piping systems and drinking water systems for many years because of its good resistance to corrosion and microfouling, excellent electrical and thermal conductivity etc.

The aim of this study is to determine the amount of corrosion on copper surfaces caused by microorganisms in a cooling water system. For this purpose a modified Pedersen device was put in parallel to heat exchanger system with copper coupons in a cooling water system. Also a control system with copper coupons was run simultaneously with test system. Test coupons were removed monthly from systems during 10 months for enumeration of SOB, SRB, aerobic and anaerobic heterotrophic bacteria, corrosion rate measurement, extracellular polysaccharide substances (EPS) extraction, carbohydrate analysis and Cu concentration measurement, scanning electron microscope (SEM) observation. Also energy dispersive spectrofotometry (EDS) analysis was performed.

SEM analysis showed that microorganisms attached and formed a biofilm layer on the copper surfaces, even the toxicity of copper to a variety of microorganisms. Also Cu concentration of biofilm was correlated with the number of sessile SRB cells ( $p < 0.01$ ) Cu concentrations of biofilm and EPS were correlated with the weight loss of test coupons ( $p < 0.01$ ). The weight loss of test coupons increased with time ( $p < 0.01$ ). Our results showed that microorganisms are responsible for the corrosion of copper.

## 1 GİRİŞ

Suyun mikrobiyolojik olarak kirlenmesi, sadece hastalıkların yayılmasına neden olduğu için değil mikroorganizmaların biyofilm oluşturmaları ve mikrobiyolojik korozyona neden olup endüstride çok ciddi problemlere ve maddi kayıplara yol açtıkları için de önemlidir.

Soğutma kulelerinde soğutularak sisteme geri verilen suyun içinde çoğalan bakteri, mantar ve algal metal yüzeylerde tutunarak biyofilm tabakasının oluşumuna neden olurlar (Choudary, 1998). Biyofilm, lejyoner hastalığına yol açan *Legionella pneumophila* gibi hastalık etkeni bakteriler ile metal yüzeylerde korozyona yol açan kükürt okside eden bakteriler (SOB) ve sülfat indirgeyen bakterilere (SRB) de ev sahipliği yapmaktadır. Su soğutma sistemlerinde oluşan biyofilm ve buna bağlı olarak oluşan mikrobiyolojik korozyon (MIC), ısı transfer veriminin azalmasına, üretimde kayıplara ve sistem bakım harcamalarının artmasına neden olmaktadır (Paszko-Kolva ve diğ., 1991a; Roberts ve diğ., 2002; İlhan-Sungur, 2007) .

Bakır, ısı ve elektriği yüksek oranda ileten, biofauilinge ve korozyona karşı dirençli soy bir metaldir. Bu özellikleri nedeniyle soğutma kulelerinde de kullanılan ısı değiştiriciler ve içme suyu sistemleri borularında yaygın olarak kullanılmaktadır (Arens ve diğ., 1995; Critchley ve diğ., 2003; Kjellerup ve diğ., 2006). Bakır ve alaşımlarının mikrobiyolojik korozyonu ile ilgili fazla çalışma yoktur. Bunun nedeni bakırın mikroorganizmalara karşı toksik olduğunun yaygın bir görüş olmasıdır. Ancak yapılan çalışmalarda bakır (II) iyonlarına karşı tolerans gösterebilen bakterilerin olduğu ve bakırın bu bakteriler tarafından korozyona uğratılabildiği rapor edilmiştir (Dutkiewicz ve Fallowfield, 1998; Critchley ve diğ., 2004).

Biyofilmde bulunabilen aerobik SOB ve anaerobik SRB, metabolik etkinlikleri sonucu asidik ürünler (sırasıyla H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve H<sub>2</sub>S) oluştururlar. Bu asidik ürünler, metallerle kimyasal olarak reaksiyona girerek MIC'e neden olurlar (Hamilton, 1985; Mori ve diğ.,

1992; Roberts ve diğ., 2002). MIC'e ayrıca bakterilerin ürettiği bir diğer metabolizma ürünü olan hücre dışı polimerik maddeler (Extracellular polymeric substances - EPS) de neden olmaktadır (Beech ve diğ., 2005).

Bu tez projesindeki amacımız, bir otelin soğutma sistemindeki ısı değiştiriciye paralel olarak bağlanan, değişiklik yapılmış Pedersen cihazına yerleştirilen bakır kuponlar üzerinde biyofilm oluşunun ve mikrobiyolojik korozyonun incelenmesidir. Bu amaçla korozyon tahribatına yol açan bakterilerin sayıları, bakterilerin hücre dışına salgıladıkları polimerik maddelerin ve ortam koşullarındaki kimyasal ve fiziksel parametrelerin değişiminin mikrobiyolojik korozyon üzerine etkisi ve bakır yapılarıdaki korozyon hasarları incelenmiştir.

## 2 GENEL KISIMLAR

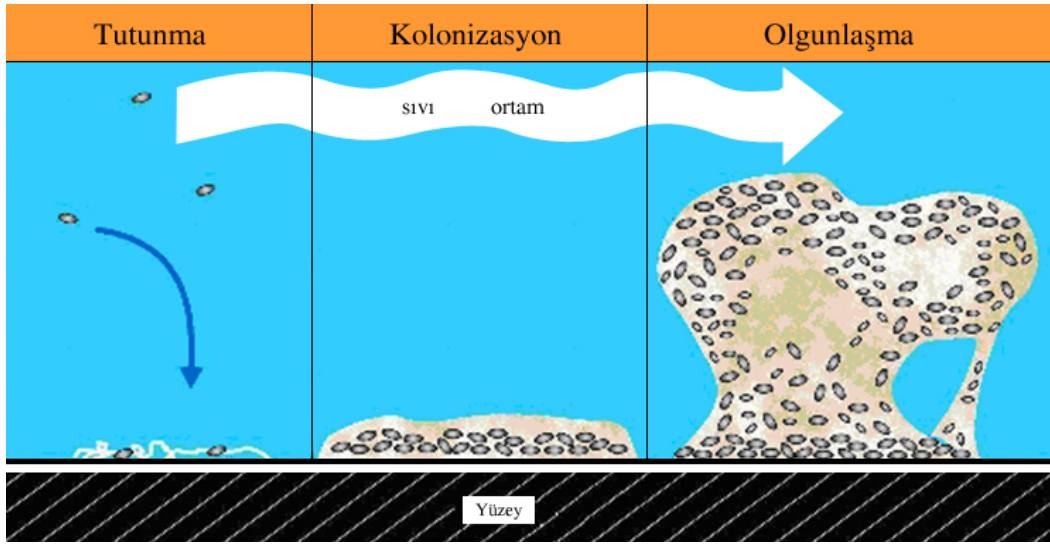
### 2.1 BİYOFİLM

Biyofilm, organik bir polimerik matriks içine gömülü, hareketsiz olarak birbirine ve bir yüzeye tutunmuş halde yaşayan mikroorganizma topluluğudur (Costerton ve diğ., 1995; Marshall, 1997).

Yirminci yüzyılın ikinci yarısından sonra, elektron mikroskopunun kullanımının yaygınlaşmasıyla mikrobiyolojide büyük gelişmeler kaydedilmiştir (Costerton ve diğ., 1995). Bu aydınlanma dönemine kadar, bakterilerin sıvı içerisinde, serbest bir biçimde tek olarak bulunduğu yani planktonik yapıda olduğu düşünülmüştür. Ancak yapılan çalışmalarla bunun tam aksi ortaya konmuştur. Heukelekian ve Heler (1940) besin konsantrasyonu düşük su ortamına yerleştirdikleri cam yüzeye mikroorganizmaların tutunduğunu ve aktivitelerini hızlandırarak varlıklarını sürdürdüklerini gösterirken, deniz suyundaki mikroorganizmaları inceleyen ZoBell (1943) ise yüzeye tutunmuş bakteri sayısının serbest halde yaşayan mikroorganizmaların sayısından çok daha fazla olduğunu ortaya koymuştur.

Biyofilmin gelişimi, planktonik bakterilerin yüzeye tutunmuş organik maddeler ya da yüzeye tutunmuş mikroorganizmalar ile geçici bir ilişki kurmasıyla başlar. Bakterilerin bir kısmı, yüzeye kirpikleri ile geri dönüşümlü (reversible) olarak tutunurken diğer bir kısmı da besinleri kullanarak çoğalıp, EPS salgılayarak geri dönüşümsüz olarak (irreversible) tutunurlar (Costerton, 1999; Pasmore ve diğ., 2002; Donlan, 2002). Bu oluşuma yeni mikroorganizmalar ve besin maddelerinin eklenmesiyle mikrokoloniler oluşur. Mikrokoloniler büyüyerek mantar şeklindeki yapıları oluştururlar. Bu yapıların arasında oksijen, besin maddeleri ve atık maddelerin taşınmasını sağlayan su kanalları bulunur. Bu kanallar vasıtasıyla su, besinler, enzimler, metabolitler ve oksijen biyofilmin içindeki tüm katmanlara yayılır. Biyofilmin oluşumu esnasında mikroorganizmalar metabolik ihtiyaçlarına, enzim içeriklerine ve benzeri özelliklerine

göre belli bir düzene girerler (Dunne, 2002; Hall-Stoodley ve Stoodley, 2002). Örneğin O<sub>2</sub> yoğunluğu sıvı-biyofilm ara yüzeyinde çok yoğun iken, merkezde azalır, tabanda sıfıra düşer. O<sub>2</sub> yoğunluğunun tamamen azaldığı kısımlar anaerobik bakteriler için uygun ortamlardır (Hibiya ve diğ., 2004). Biyofilm oluşum ve olgunlaşma sürecinin sonucunda, biyofilm tabakasından yeni biyofilm oluşumu için bakterilerin ya da biyofilm parçalarının kopup ayrılması ile biyofilm gelişim döngüsü tamamlanır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Biyofilm oluşumu

EPS, bakterilerin doğal sekresyonları, hücre lizisleri ve hidroliz ürünlerinden meydana gelip biyofilm matriksini oluşturmaktadır ve biyofilmin temel elemanıdır. Zhang ve diğ.(1998), biyofilm matriksinin %97'sini suyun oluşturduğunu bildirmişlerdir. EPS'nin yapısında çoğu karbonhidrat olmak üzere, protein, lipid ve nükleik asitler bulunur. EPS biyofilme dayanıklılık, esneklik verirken aynı zamanda biyofilme, başka mikroorganizmaların, organik ve inorganik maddelerin tutunmasını da sağlar. Ayrıca biyofilmin bütünlüğünü sağlamanın yanı sıra biyofilmi oluşturan bakterileri, biyolojik ve fiziko-kimyasal ajanlara karşı da (antimikrobiyal ajanlar, kuruluk, protozoonlar, pH, oksijen vb.) korur. EPS, çevredeki besin maddelerini yoğunlaştırarak bakterilerin kullanımına sunarken karbonun sınırlı olduğu dönemler için biyofilmdeki besinlerin depolanmasını kolaylaştırır ve iyon değiştirici ortam olarak da iş görür ayrıca kıtlık dönemlerinde mikroorganizmalar tarafından besin kaynağı olarak kullanılır (Sutherland, 2001; Fang ve diğ., 2002; Allison, 2003; Zhang ve Bishop, 2003; Jefferson, 2004). EPS

yalnızca biyofilmin yapısal bir elemanı olduğu için değil metal yzeylerden metalin zozünmesinde direkt etkili olduğu için de önemlidir. Bu EPS'nin metal bağlama ve asidik zozelliğinden kaynaklanmaktadır (Fang ve diğ., 2002).

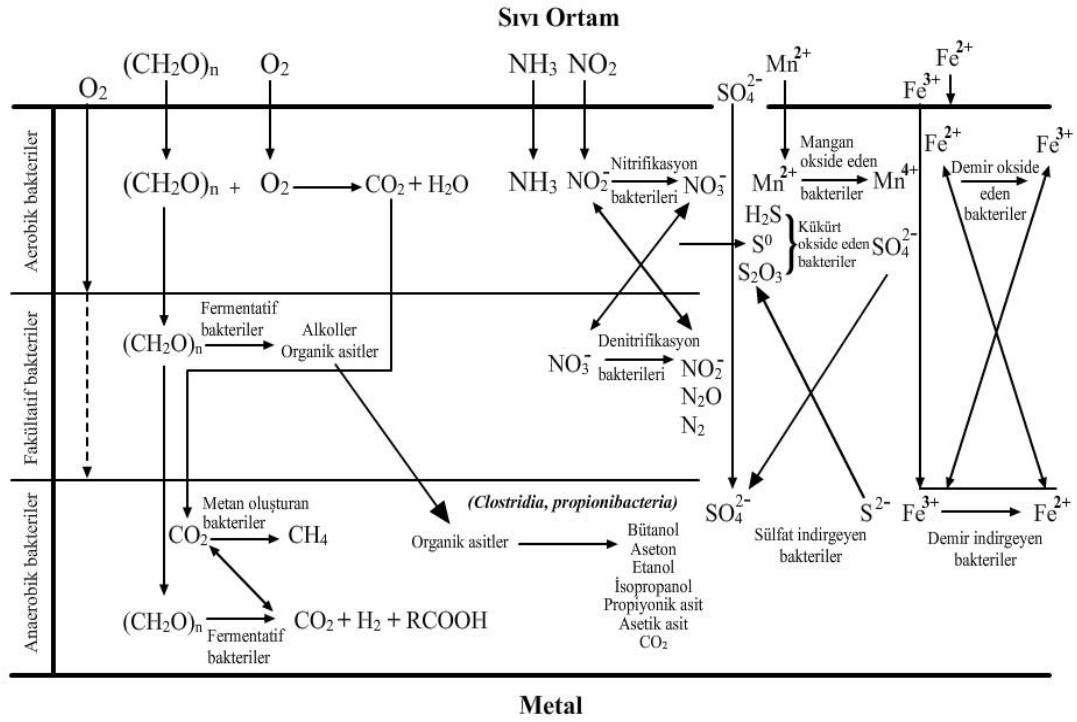
Su ile ilişkili olan tım yzeylerde farklı bileşimlerde ve kalınlıklarda gelişen biyofilmler oluşur. Biyofilm oluşumunu etkileyen zezitli fiziksel ve kimyasal faktzrler vardır. Yzzey zozellikleri ve pürzrlülüğu, biyofilm oluşumunun ilk evreleri esnasında, hücre dzenlenmelerinde ve zezitliliğinde en büyük rolü oynar (Little ve diğ., 1992; George ve diğ., 2003) Biyofilm oluşumunda önemli olan diğer faktzrler ise suyun sıcaklığı, pH'sı, oksijen miktarı, akış hızı ve dezenfektan miktarıdır (Percival ve diğ., 1999; Pompermayer ve Gaylarde, 2000; Liu ve Tay., 2001; Donlan, 2002).

Biyofilm oluşumunda fiziksel ve kimyasal faktzrler dışında besin maddesi sentezi, gen transferi ve hücre-hücre sinyali (quorum sensing) önemli bir rol oynamaktadır (Kjelleberg ve Molin, 2002; Donlan ve Costerton, 2002; Shirtliff ve diğ., 2002; Rasmussen ve Givslø, 2006).

Araştırmacılar aynı tür sesil ve planktonik bakterilerin hücre duvarlarındaki proteinlerin en az % 30'unun farklı olduğunu rapor etmişlerdir (Costerton ve diğ., 1995). Biyofilmi oluşturan farklı türdeki bakterilerin aralarında meydana gelen gen transferlerinden dolayı antibiyotiklere ve dezenfektanlara karşı koyabilme yeteneğinde oldukları bilinmektedir. Biyofilmdeki bakteriler biyosit ve antibiyotik uygulamalarından kendisini korumak için zok miktarda ekzopolimerler üretmektedirler. Araştırmacılar biyofilmle ilişkili olan bakterilerin planktonik bakterilere göre, serbest kloro karşı 150-3000 kat, monokloramine karşı ise 2-100 kat daha fazla direnç gösterdiklerini göstermişlerdir (LeChevallier ve diğ., 1988; Borenstein, 1994).

Hücre-hücre sinyalleri, biyofilmdeki gen ekspresyonları ve hücre yoğunluk dzenlemeleri için Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler tarafından kullanılan bir mekanizmadır ve henüz bütünüyle açıklanamamıştır (Bassler, 1999; Kjelleberg ve Molin, 2002).

Biyofilm kompleks bir yapıya sahip ve farklı türlerden birbirleriyle etkileşimde olan çok sayıda mikroorganizma içerebilir (Şekil 2.2). Uygun koşullarda bazı bakterilerin biyofilm oluşturma eğilimleri diğerlerine göre daha fazladır. Biyofilmlerde en sık olarak *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Aquabacterium* ve *Klebsiella* cinsi bakterilere rastlanmaktadır. Bakteri türleri arasındaki etkileşimler, metabolizmaları sonucu açığa çıkan metabolitler, mikroorganizmaların genotipik özellikleri ve fizikokimyasal çevreleri farklı olacağından üretilen EPS içeriği de ona göre farklı olacaktır (Christensen ve diğ., 1985; Baker ve Dudley, 1998; Norton ve LeChevallier, 2000; Szewzyk ve diğ., 2000).



Şekil 2.2: Biyofilmin kompleks yapısı

Biyofilm, zor üreyen bakterilerin üreyebilmelerini de mümkün kılan bir ortamdır. Bu bakterilerden biri de lejyoner hastalık etkeni olarak bilinen, *Legionella pneumophila*'dır. *L. pneumophila* doğada nehir, göl, akarsu gibi çevrelerde yaşayan Gram negatif çomak şeklinde bir bakteridir. Yaşadıkları doğal sulardan, rahatlıkla insan yapımı su sistemlerine (soğutma kuleleri, jakuziler, merkezi klima ve havalandırma sistemleri, duş başlıkları) geçerek buralarda çoğalabilirler (Tison ve diğ., 1980; Paszko-Kolva ve diğ., 1991a; Türetgen ve diğ., 2005). Bu ortamlardan yayılan kontamine olmuş su

damlacıklarının solunmasıyla insanda enfeksiyona neden olabilirler (Wadowsky ve Yee 1983). *L. pneumophila*'nın üremesini destekleyen en önemli mikroorganizmalar özgür yaşayan amiplerdir (Paszko-Kolva ve diğ., 1991b; Rogers ve Keevil, 1992). Doğal biyofilmler özgür yaşayan amiplerin gelişimine besleyici katman olarak hizmet ederler (Barbeau ve Buhler, 2001). Amipler, *Legionella* bakterisinin hücre içinde çoğalabilmesi ve yaşamını sürdürebilmesi için gerekli olan besini sağlar. *Legionella*, amipler içinde hem çoğalarak yaşamını sürdürür hem de yüksek sıcaklık, dezenfektan uygulamaları ve kurumalara karşı korunur (Murga ve diğ., 2001).

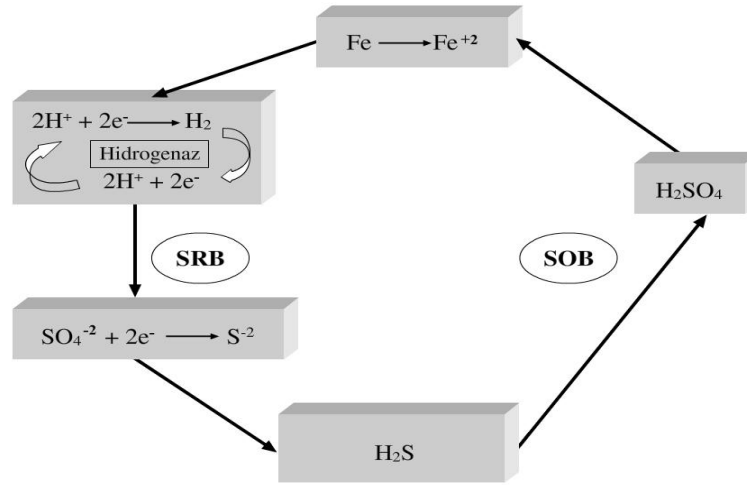
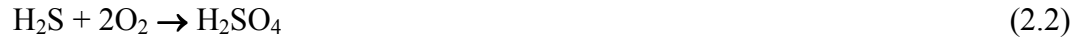
Biyofilmde *L. pneumophila* gibi insan sağlığı açısından önemli mikroorganizmalar bulunduğu gibi korozyona neden olan kükürt okside eden bakteriler (SOB) ve sülfat indirgeyen bakteriler (SRB) de bulunabilmektedir (Paszko-Kolva ve diğ., 1991a; Roberts ve diğ., 2002; Ilhan-Sungur, 2007).

SOB, indirgenmiş ya da yükseltgenmiş inorganik kükürt bileşiklerini okside etme yeteneğine sahiptirler. Genel olarak 0.5 - 3 µm boyutunda, kısa ince çomak yapısında, Gram negatif, aerop ve kemolitotroftirler. SOB, tek polar flagellaya sahip hareketli bakterilerdir. Hareket özelliklerini eski kültürlerde kaybederler. Spor oluşturmazlar. Uygun üreme sıcaklıkları 25-30 °C'dir. SOB, elementel kükürt, tiyosülfat, metal sülfidler, H<sub>2</sub>S ve tetrasyonatları okside ederek sülfürik asit oluştururlar. *Thiobacillus*, *Thiodendron*, *Beggiatoa* ve *Sulfolobus* en iyi bilinen aerobik kükürt okside eden bakterilerdir. Ayrıca *Thiobacillus ferrooxidans* türü demiri de oksitleyerek korozyonu daha da hızlandırabilmektedir. *Thiobacillus* cinsi bakterilerin bazı türleri yeterli besin, nem ve oksijen varlığında pH 9 civarında yüzeye tutunup çoğalırlar (Holt ve diğ., 1994). *Thiobacillus* cinsi bakterilerin 5 türünün korozyonda önemli bir rol oynadıkları bulunmuştur. Bu türler *T. thioparus*, *T. novelis*, *T. neapolitanus*, *T. intermedius* (nötrofilik kükürt okside eden) ve *T. thiooxidans* (asidofilik kükürt okside eden) bakterilerdir (Mori ve diğ., 1992).

SRB, anaerobik bakterilerin büyük bir grubudur. Çoğunlukla Gram negatif ve yaklaşık olarak 0.5 - 5 µm boyutlarındadır. Spor oluşturan formları Gram pozitif boyanma özelliğindedir. SRB son elektron alıcısı olarak sülfatı kullanarak enerji sağlar. Enerji kaynağı olarak H<sub>2</sub>, laktat, pirüvat ve malatı kullanırlar. Zorunlu anaerob bakterilerdir.

Flagellaya sahip olanlar hareketlidir. SRB için uygun çoğalma sıcaklığı 25 - 44°C olmakla beraber doğada termofilik SRB de bulunmaktadır. Optimum 5.5 - 9 pH değeri arasında yaşarlar (Widdel ve Pfennig, 1984; John ve diğ., 1994). Aerobik bir sistemde SRB'nin aktivitesini gösterebilmesi için gerekli olan anaerobik alan 10-25 µm'lik biyofilm kalınlığıdır (Hamilton, 1985).

Kükürt okside eden bakteriler hemen hemen her zaman SRB ile bir arada bulunurlar. SRB tarafından üretilen H<sub>2</sub>S, SOB tarafından H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'e dönüştürülür (Denklem 2.1, 2.2) (Şekil 2.3) (Roberts ve diğ., 2002).

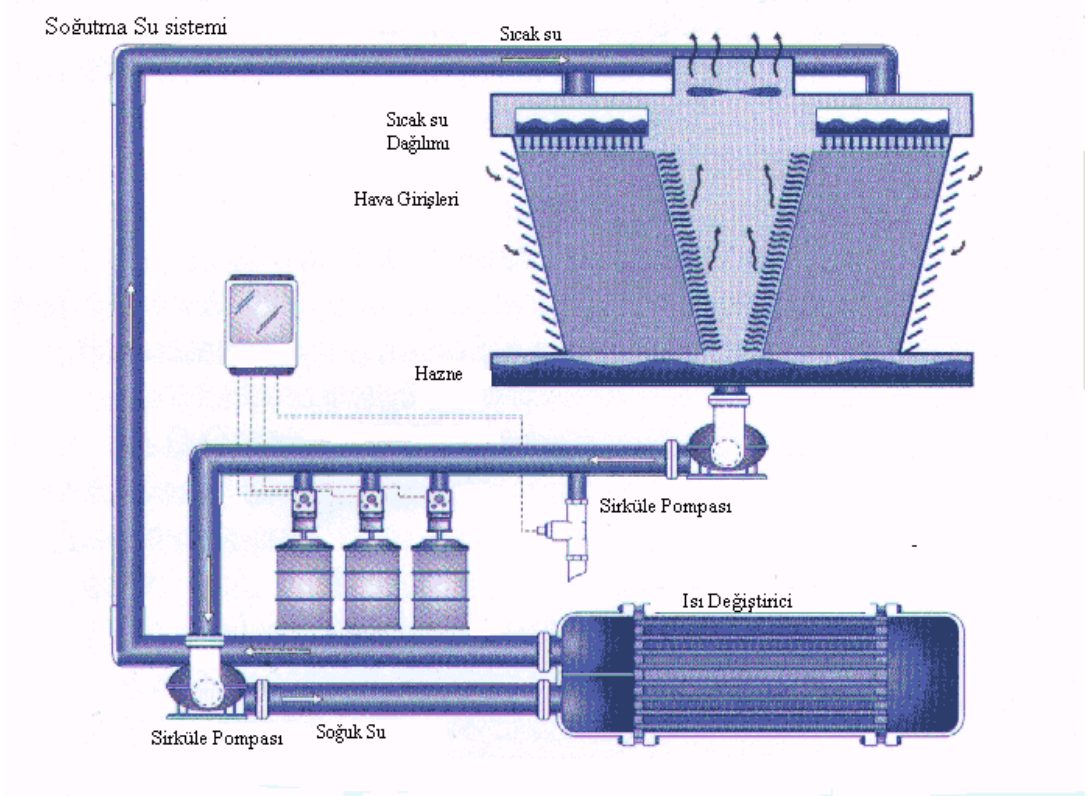


Şekil 2.3: SOB ve SRB ilişkisi

## 2.2 SU SOĞUTMA SİSTEMLERİ VE ISI DEĞİŞTİRİCİLER

Su soğutma sistemleri, binalarda ya da endüstriyel tesislerde kullanılan, sistemlerin çalışması esnasında açığa çıkan ısının, sistemde sürekli olarak devir daim olan suya transfer edilerek sistemin soğumasını sağlamak amacıyla tasarlanmış yapılardır. Sistemde açığa çıkan atık ısının transferi, soğutma sisteminde bulunan ısı değiştiriciler

tarafından gerçekleştirilir. Isı değiştiriciler, sistemlerde ısınan sıvı ya da gazın ısısını, sistemde devir daim olan suya transfer ederler. Isınan su soğutulmak üzere soğutma kulesine gider. Soğutma kulesinde soğuyan su, sistemin çalışması sırasında yeniden ısınan sıvı ya da gazın soğumasını sağlamak üzere sisteme geri pompalanır (Stoitchkov ve Dimitrov, 1998; Flemming, 2002).



**Şekil 2.4:** Açık Tip Soğutma Kulesine sahip su soğutma sistemi

Soğutma kuleleri, su ile havanın dolaylı veya dolaysız temas etmesine göre kapalı tip ve açık tip soğutma kuleleri olmak üzere ikiye ayrılır. Kapalı tip soğutma kulelerinde, soğutulmak istenen sıvı ya da gaz hava ile doğrudan temasta olmayıp boruların içinde hareket etmektedir. Boru dışında boruları ıslatan ve hava ile temasta olan sistem suyu vardır ve bu sayede boru içindeki sıvı ya da gazın sıcaklığı dışürölmektedir. Açık tip soğutma kulesinde ise, soğutulacak sistem suyu, bir dolgu malzemesinin üzerine dağıtılırken hava dolgu içerisinden geçer. Bu esnada çok az miktarda su, buharlaşarak sistem suyunun soğumasını sağlar. Soğumuş su, kulenin dibindeki havuza dışer ve sudan çekilen ısı, kuleyi terk eden hava akımıyla birlikte sistemden atılır (Şekil 2.4) (Kazanç, 1992; Choudhary, 1998).

Açık tip soğutma kulelerinde sürekli devir eden su, besin kaynağı, farklı pH ve sıcaklık zonlarını içermesinden dolayı mikroorganizmaların yaşamlarını sürdürmeleri, sayılarını arttırmaları ve biyofilm oluşturmaları için mükemmel bir ortamdır. Soğutma sistemlerinde oluşan biyofilm ve buna bağlı olarak oluşan mikrobiyolojik korozyon (MIC), ısı transfer veriminin azalmasına, üretimde kayıplara ve sistem bakım harcamalarının artmasına neden olur (Kazanç, 1992; Choudhary, 1998).

Soğutma su sistemi için önerilen bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik değerler Tablo 2.1’de verilmiştir (Socoro de Almeida ve diğ.,1997; Lane ve Peck, 2003; Electric power research institute, 2003; Hilbert, 2006).

**Tablo 2.1:** Soğutma su sistemi suyu için önerilen bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik değerler.

Parametre	Birim	Değer
Toplam alkalinite	mg/l	200 - 400
Sülfat	mg/l	< 707
Klor	mg/l	< 900
Demir	mg/l	< 0.3
pH		7 - 9
İletkenlik	µS/cm	<1200
TÇM	mg/l	< 500
Bakteri sayısı:		
Heterotrof bakteriler	Kob/ml	< 1000
SRB	hücre/ml	sıfır

Kob: Koloni oluşturan birim

### 2.3 KOROZYON

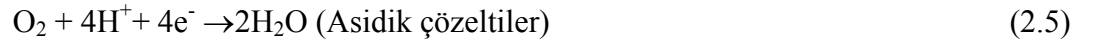
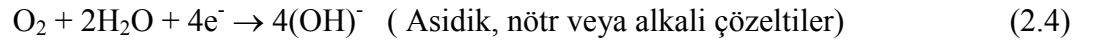
Korozyon terimi, metal ve alaşımların, çevreleri ile kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyonları sonucu bozunmalarını tanımlamak için kullanılır. Kimyasal ve elektrokimyasal korozyon olmak üzere iki tür korozyon olayından söz edilir. Kimyasal korozyon, metal ve alaşımların gaz ortamlar içindeki oksitlenmesidir (kuru korozyon). Metal ve alaşımların sulu ortamlar içinde bozunmaları ise elektrokimyasal korozyon olarak adlandırılır (ıslak korozyon). Elektrokimyasal etkili korozyon çok detaylı ve geniş bir konu olup MIC oluşumu ile çok yakından ilişkilidir. Elektrokimyasal etkili

korozyonun temel bazı reaksiyonları aşağıda verilmiştir (Videla, 1996; Thierry ve Sand, 2002).

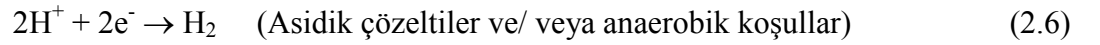
Elektrokimyasal korozyon, sıfır değerlikli metalden dış elektron alıcısına elektron transferini, metalin bozunması ve metali çevreleyen çözeltiliye metal iyonlarının verilmesini sağlayan bir kimyasal reaksiyondur (Denklem 2.3).



Anodik reaksiyonu, farklı pH'larda takip edebilecek katodik reaksiyonlar ise şöyledir (Denklem 2.4, 2.5):



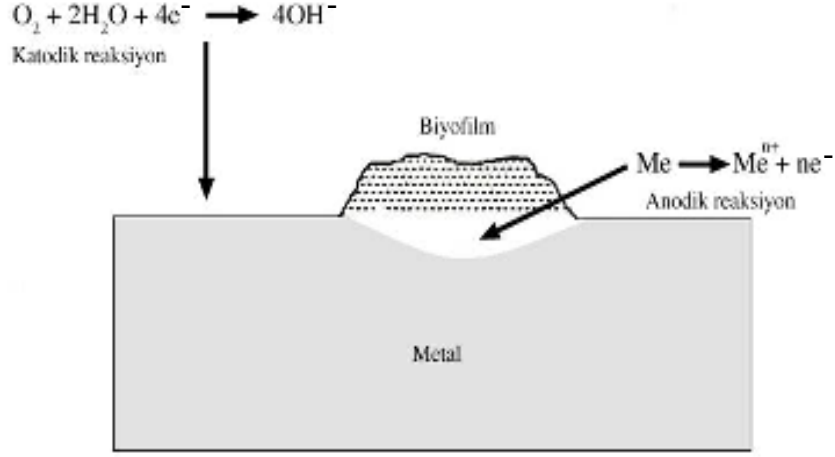
Oksijenli çözeltilerde katodik reaksiyon oksijenin indirgenmesi (elektron alma) iken oksijensiz çözeltilerde genellikle hidrojenin redüksiyonu şeklindedir (Denklem 2.6).



Anodik reaksiyon (metal bozunması) hızı zamana bağlı olarak yavaş yavaş azalır. Çünkü oksidasyon ürünleri (korozyon ürünleri) koruyucu tabaka formunda yüzeye tutunup reaktanların difüzyonunun engellenmesini sağlayabilir. Bu koruyucu tabakaların sürekliliği onların kimyasal, morfolojik ve metalin korozyona karşı hassasiyetine bağlıdır. Anodik ve katodik reaksiyonlar elektronötralizasyonu korumak için bir dengede olmak zorundadırlar.

Metal korozyonu incelenirken, metalin içinde bulunduğu sıvının fiziksel ve kimyasal özellikleri de incelenmelidir. Çözünmüş gazlar (oksijen, H<sub>2</sub>S vb.), alkalinite, pH, Cl<sup>-</sup>, sülfat ve organik madde miktarı korozyon ile yakından ilişkilidir. Suda bulunan çözünmüş oksijen korozyon reaksiyonlarını hızlandırır. Hidrojen sülfür, hem kimyasal reaksiyon sonucu hem bakteriyel aktivite sonucu ortaya çıkabilir. Her ikisi de metalin korozyonunu hızlandırır. Klor ve sülfat miktarının suda artması iletkenliği arttıracığından korozyonu da hızlandıracaktır (Edwards ve diğ., 1994).

Metal malzeme yüzeylerinde oluşan biyofilmdeki mikrobiyal aktivite, anodik ve /veya katodik reaksiyonlardan etkilenir ve koruyucu tabakalardan herhangi birinin kimyasını önemli ölçüde değiştirerek korozyonun hızlanmasına ya da yavaşlamasına yol açar (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Metal yüzeylerde biyofilm, katodik ve anodik reaksiyon

## 2.4 MİKROBİYOLOJİK KOROZYON

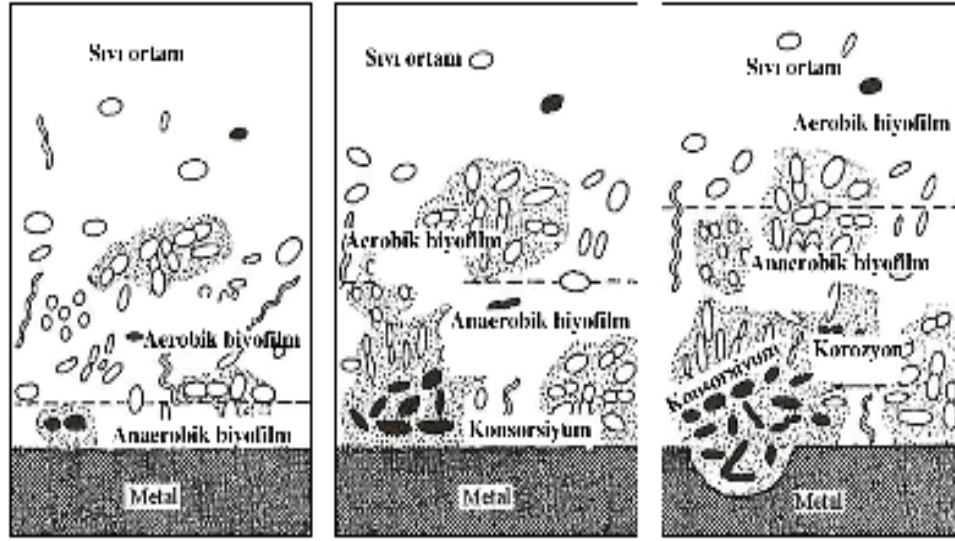
Mikrobiyal aktiviteden dolayı metalin bozunmasına mikrobiyolojik korozyon (MIC) ya da biyokorozyon denir. MIC'in ekonomik ve çevresel açıdan çok önemli olması, biyokorozyon mekanizmalarını açıklayan kapsamlı çalışmalar yapılmasına neden olmuştur (Beech, 2004). MIC, petrol ve gaz endüstrisinde kullanılan boru hatlarında, gemi karinalarında, uçakların mazot tanklarında, soğutma kulelerindeki ısı değiştiricilerde, yağım ana borularında ve enerji endüstrisindeki soğutma sistemlerinde çok büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri mikrobiyolojik korozyon hasarına yıllık olarak yaklaşık 2 milyar Dolar harcamaktadır (Thierry ve Sand, 2002). İngiltere'de ise bu miktar yıllık 300-500 milyon Sterlin'i bulmaktadır (Hamilton, 1985).

Metal yüzeylerde MIC oluşumu ilk kez 1891 yılında Garrett tarafından bildirilmiştir. 1910 yılında da Gaines, toprakta meydana gelen demir korozyonuna, sülfat indirgeyen, kükürt okside eden ve demir bakterilerinin etkili olduğunu göstermiştir. 1934 yılında ise

Von Wolzogen Kühr ve Van der Vlugt, mikroorganizmaların anaerobik koşullar altında metallerin korozyonunda direkt rol oynadığını kanıtlamışlardır.

Bakterilerin, doğal ve insan yapımı su sistemlerindeki cansız yüzeylerin ilk yerleşenleri oldukları düşünülmektedir. Bu yüzden MIC araştırmalarının çoğu, saf ve karışık bakteri kültüründen oluşan biyofilmlerin, demir, bakır, alüminyum ve onların alaşımlarına olan etkileri üzerinedir. Kara ve su habitatları içinde metalle ilişkili olan bakterilerin en önemlileri kükürt okside eden bakteriler (SOB), sülfat indirgeyen bakteriler (SRB), demir okside eden bakteriler, demir indirgeyen bakteriler, mangan okside eden bakterilerdir (Beech ve Sunner, 2004). Bu bakteriler doğal olarak oluşan biyofilmlerde bir arada bulunur ve metal yüzeyleri korozyona uğratırlar.

Mikrobiyolojik korozyon, metal yüzey, abiyotik korozyon ürünleri, bakteri hücreleri ve onların metabolitleri (organik, inorganik asitler ve amonyak, hidrojen sülfür gibi uçucu bileşikler) arasındaki birbirini destekleyen etkileşimin sonucu ortaya çıkar. Mikroorganizmaların fiziksel varlığı ve metabolik aktiviteleri, yüzeylerin elektrokimyasal özelliklerini değişikliğe uğratırlar. Metal yüzeylere tutunan bu mikroorganizmalar çoğalır ve koloni oluştururlar. Bunun sonucunda da yüzeylerde lokal anotlar, katotlar ve farklı konsantrasyon hücrelerini meydana getirerek MIC oluşumuna neden olurlar. Konsantrasyon hücresi, metal yüzeyde oluşan biyofilm tabakasının bir alanının yüksek oksijen içerip başka bir alanının düşük oksijen içermesi sonucu oluşur (Şekil 2.6) (Kjellerup ve diğ., 2005a). Jayaraman ve diğ. (1998) paslanmaz çelik yüzeylerde *Pseudomonas fragi* ve *Escherichia coli*'den oluşan biofilmin korozyonu engellediğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada da *Bacillus subtilis* ile oluşturulmuş biyofilmin korozyonu engellediği rapor edilmiştir (Zuo ve diğ., 2005).



Şekil 2.6: Metal yüzeyde biyofilm ve korozyon oluşumu

## 2.5 MİKROBİYOLOJİK KOROZYONUN OLUŞUM NEDENLERİ

### 2.5.1 Asit Üretimi

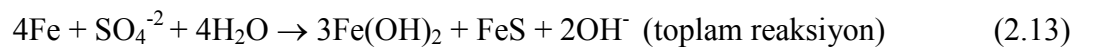
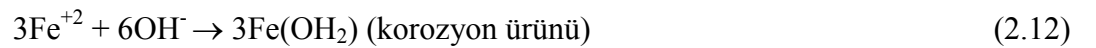
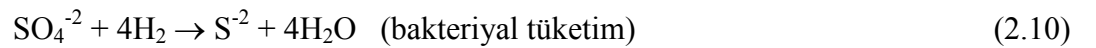
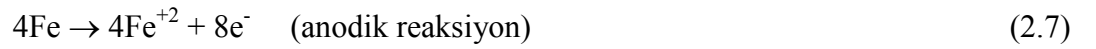
Bakteriler metabolik aktiviteleri sonucunda bol miktarda hem inorganik hem de organik asit üretirler (Little ve diğ., 1992).

Kükürt okside eden bakteriler (SOB), farklı ortamlarda olduğu gibi metal yüzeylerde de elemental kükürt, tiyosülfat, metal sülfidler,  $H_2S$  ve tetrasyonatları okside ederek sülfürik asit oluştururlar. Yüzeyde korozyon ürünü olarak sarı renkte birikimlerin oluşması yüzeyin SOB tarafından korozyona uğratıldığını düşündürür. Organik maddelerin fermentasyonu esnasında organik asitleri oluşturan heterotrofik bakteriler de asit üreten bakteriler (APB) olarak tanımlanırlar. APB tarafından yaygın olarak üretilen metabolitler asetik, formik ve laktik asitlerdir. Asit türü ve üretim miktarı, mevcut substrat ve mikroorganizma türüne bağlıdır. Organik asitler korozyonun oluşmasında etkilidir. Asidik metabolitlerin etkileri, biyofilm-metal ara yüzeyinde tutulduğunda yoğunlaşır. *Clostridium aceticum*'un ürettiği asetik asit ve *Thiobacillus thiooxidans* gibi SOB tarafından üretilen sülfürik asitin korozyona katkısı çok nettir (Sand, 1997; Little ve diğ., 1992; Roberts ve diğ., 2002)

Ökaryotik olan mantarlar da metabolizmaları sonucunda organik asitleri üretir ve bundan dolayı da mikrobiyolojik korozyonun oluşumunda rol oynarlar. Mantarlar tarafından üretilen organik asitlerin boyalı karbon çelikte oyuklanma korozyonuna neden olduğu gösterilmiştir (Little ve diğ., 1995).

### 2.5.2 Hidrojen Sülfür Üretimi

Sülfat indirgeyen bakteriler, mikrobiyolojik korozyonla çok yakından ilişkili olduğu tanımlanan mikroorganizmalardır. Bu bakteriler sülfat iyonlarını son elektron alıcısı olarak kullanarak H<sub>2</sub>S üreten çok yaygın olan anaerobik bir gruptur. SRB çok çeşitli çevrelerden izole edilmişlerdir. Farklı SRB'ler, nitrat, sülfid, tiosülfat, H<sub>2</sub> ya da fumarat gibi organik bileşikleri indirgerler (Posgate, 1984). Oksijene doygun olan bir ortamda anaerobik mikroorganizmalar, ortam şartları çoğalmaları için uygun hale gelene kadar anaerobik mikronişler içinde yaşamlarını sürdürebilirler. Eğer biyofilm içindeki aerobik solunum hızı oksijen difüzyon hızından fazlaysa, metal-biyofilm arayüzeyi anaerobik ve SRB'in sülfid üretimi için uygun bir ortama dönüşür. SRB, doğal ve insan yapımı sistemlere özellikle de petrol, gaz, gemi endüstrilerine ciddi zararlar vererek büyük ekonomik kayıplara neden olurlar. Yüzeide, siyah kokulu FeS'ün birikimi korozyonun SRB tarafından oluşturulduğuna işaret eder. SRB'in neden olduğu korozyon ile ilgili çok sayıda mekanizma açıklanmıştır. Hidrojenaz enzimi ile katodik depolarizasyon, anodik depolarizasyon, korozif demir sülfidlerin üretimi, metal iyonlarını bağlama kapasitesi olan ekzopolimerlerin salınımı bu mekanizmalardan bazılarıdır (Denklem 2.7, 2.8, 2.9, 2.10, 2.11, 2.12, 2.13) (Videla, 1996) .



Katodik depolarizasyon olarak tanımlanan tüm bu basamaklar, hidrogenaz enzimine sahip olan SRB'in katottaki hidrojen birikimini uzaklaştırması teorisini temel alır. (2.9). reaksiyondaki katodik hidrojenin uzaklaştırılması, (2.7). reaksiyonda anottaki demirin çözünmesini etkiler. Toplam reaksiyon (2.13). reaksiyonda doğrulanarak tanımlanmıştır.

### **2.5.3 Amonyak Üretimi**

Nitrat indirgeyen bakteriler,  $\text{NH}_4^+$  formunu, nitratı, nitriti indirgeyerek, aminoasit ya da üreyi parçalayarak amonyak oluştururlar. Pope ve diğ. (1984) amonyak üreten bakterilerin aktivitelerinden dolayı bakır alaşımlarındaki korozyonu, özellikle de gerilmeli korozyon çatlamasını ele almışlardır. Nitrat temelli korozyon inhibitörleri mikrobiyal amonyak üretimi için azot kaynağı olabilirler.

### **2.5.4 Metal İndirgenmesi**

Mikroorganizmaların, metal yüzeyleri üzerindeki korozyona dirençli oksit filmlerin çözünmesine yol açarak demir ve demir alaşımlarında korozyonun oluşmasına neden oldukları bilinmektedir. Oksit filmlerin çözünmesi ile koruyucu pasif tabaka yer yer hasara uğrar ya da daha az kararlı bir tabaka ile yer değiştirdiğinde metal ortamla temas eder ve korozyon oluşumu başlar. *Pseudomonas* ve *Shewanella* cinsi bakterilerin mangan ve/veya demir oksiti indirgediği ve korozyon reaksiyonlarını hızlandırdıkları gösterilmiştir. Demir indirgeyen bakterilerin korozyon ürünleri koyu yeşilimsi renktedir (Obuekwe ve diğ., 1981; Myers ve Nealson, 1988).

### **2.5.5 Metan Üretimi**

Metanojenler zorunlu anaeroblardır. Metanojenlerin çok sayıdaki türü sadece elektron kaynağı olarak demir ve diğer metalleri içeren besiyerlerinde çoğalırlar. Bu sonuç, metan üretimini ve metalik demirden,  $\text{Fe}^{+2}$  formunun oluşturulduğunu gösterir. Yapılan bir çalışmada metanojenlerin, demir ve çeliği korozyona uğrattıkları gösterilmiştir (Boopathy ve Daniels, 1991).

### **2.5.6 Konsantrasyon Hücrelerinin Oluşumu**

Metal yüzeylerde bir bölgenin yüksek oksijen diğer bir bölgenin düşük oksijen konsantrasyonuna sahip olması farklı konsantrasyon hücrelerini oluşturur. Alg ve

fotosentetik bakteriler ışığı kullanarak biyofilm içinde biriken oksijeni üretirler. Oksijen konsantrasyonunun artması, katodik reaksiyonları hızlandırarak korozyonun artmasına yol açar. Karanlık periyotta ise, alg ve diğer bakterilerin solunumuyla O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>'e dönüşüp farklı O<sub>2</sub> konsantrasyonlarına sahip hücreler oluşur. Ayrıca mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri, yüzeyin elektrokimyasal özelliklerini değiştirir. Yüze tutunan hücrelerin çoğalıp koloni oluşturmaları, bölgesel anot, katot ve farklı havalandırma hücrelerinin oluşumu ile sonuçlanır. Aerobik koşullar altında solunum yapan yüzeydeki bakteri topluluğunun altındaki alan anodik, çevresindeki alan katodiktir. Olgun biyofilm, katodik alana oksijen difüzyonunu, anodik alana klor gibi agresif anyonların difüzyonunu, metabolit ve korozyon ürünlerinin dışa difüzyonunu engeller. Eğer biyofilm içinde anaerobik alan oluşmuşsa katodik mekanizma değişimi meydana gelmiştir ki bu biyofilm içindeki aerobik solunum oranının, oksijen difüzyon oranından daha fazla olduğunu gösterir (Hadley, 1948; Ford ve Mitchell 1990; Little ve diğ., 1992; Thierry ve Sand, 2002).

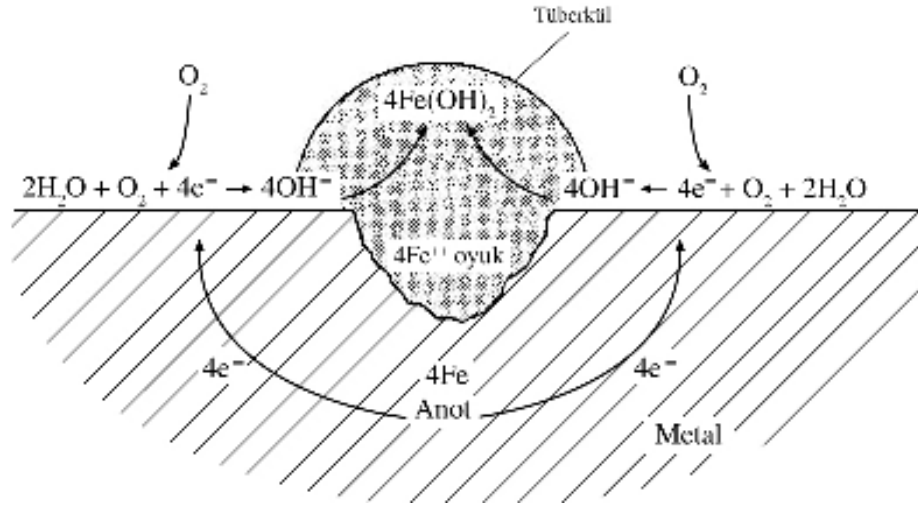
### 2.5.7 Hücre dışı Polimerik Maddelerle Metalin Bağlanması

EPS, biyofilm yapısında çok önemli bir yere sahiptir. Bunun dışında metal yüzeylerden metalin çözünmesinde de direkt etkilidir (Fang ve diğ., 2002). EPS, polisakkaritler, üronik asit, şekerler, proteinler, karboksilik asit ve metal bağlama yeteneğinde olan asidik aminoasitler gibi fonksiyonel grupları içerir ve metal yüzeyinin elektrokimyasal özelliklerini etkileyerek metal korozyonunda önemli bir rol oynar. EPS'nin metal bağlama kapasitesi MIC için önemlidir ve bu kapasite metal iyon tipine ve bakteri türüne bağlıdır (Beech ve diğ., 2005).

### 2.5.8 Metal Birikimi

*Gallionella*, *Leptothrix*, *Crenothrix*, *Sphaerotilus* cinsi bakteriler demir ve mangan gibi metallerin oksidasyonunda rol alırlar. Demir oksitleyici bakteriler (*Gallionella*, *Leptothrix*) bulunduğu sıvıdaki ya da yüzeye tutunmuş halde bulunan Fe<sup>+2</sup> yi çözünmeyen Fe<sup>+3</sup>'e oksitlerler. Demir okside eden bakteriler yüzeylerde kırmızı-kahverengi renkte korozyon ürünü oluştururlar. Bu bakteri cinsleri aynı zamanda mangan iyonlarını okside ederek mangandioksitin birikimine neden olur (Ghiorse, 1984). Ortamdaki klor iyonu konsantrasyonunu arttırdıkları ve demir klorür oluşturdukları bilinmektedir. Demir klorür oldukça şiddetli oyuk oluşturucudur ve

korozyona sebep olur. Paslanmaz çelik gibi alaşımların korozyon direnci, yüzeylerinde oluşan ince pasif oksit bir filmde kaynaklanır. Okside olmuş yüzeyde metal biriktiren bakteriler tarafından organik ve inorganik birikimlerin oluşumu bu filmin stabilitesini tehlikeye atar. Metal yüzeylerde metal biriktiren bakterilerin yoğun olması katodik olarak reaktif demirin birikimi ile korozyonun ilerlemesine, o bölgedeki bakteriyel solunumdan dolayı oksijenin lokal olarak tüketimine ve korozif olan mangan oksitlerin oluşumuna neden olabilir (Şekil 2.7) (Ghiorse, 1984; Little ve diğ., 1992).



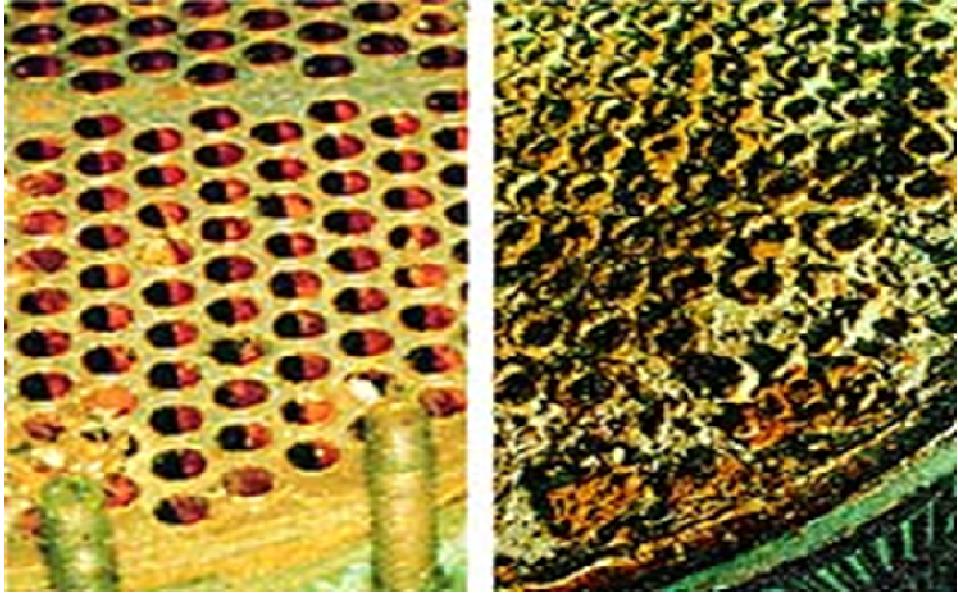
Şekil 2.7: Metal biriktiren bakterilerin oluşturduğu MIC

### 2.5.9 Enzim

Enzimatik aktiviteler biyofilm içinde kolaylıkla belirlenmektedir. Katalaz, peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi mikrobiyal solunum zinciri enzimlerini etkisiz hale getiren sodyum azid uygulanan biyofilmde metalin soyluğunun azaldığı gösterilmiştir (Scotto ve diğ., 1985; Scotto ve Lai, 1998; Beech ve Sunner 2004). Bu enzimler yüzey kimyasına göre O<sub>2</sub>'nin indirgenme reaksiyonlarını gerçekleştirerek tüm katodik reaksiyonların hızlanmasına neden olup korozyon oluşumuna yardımcı olabilirler. Bakteri enzimleri metal yüzey üzerindeki koruyucu oksit/hidroksit filmlerin çözünmesinde dolayısı ile de korozyonda önemli rol oynar (Beech ve diğ., 2005; Landoulsi ve diğ., 2005; Landoulsi ve diğ., 2008).

## 2.6 BAKIR VE BAKIR ALAŞIMLARINDA MIC

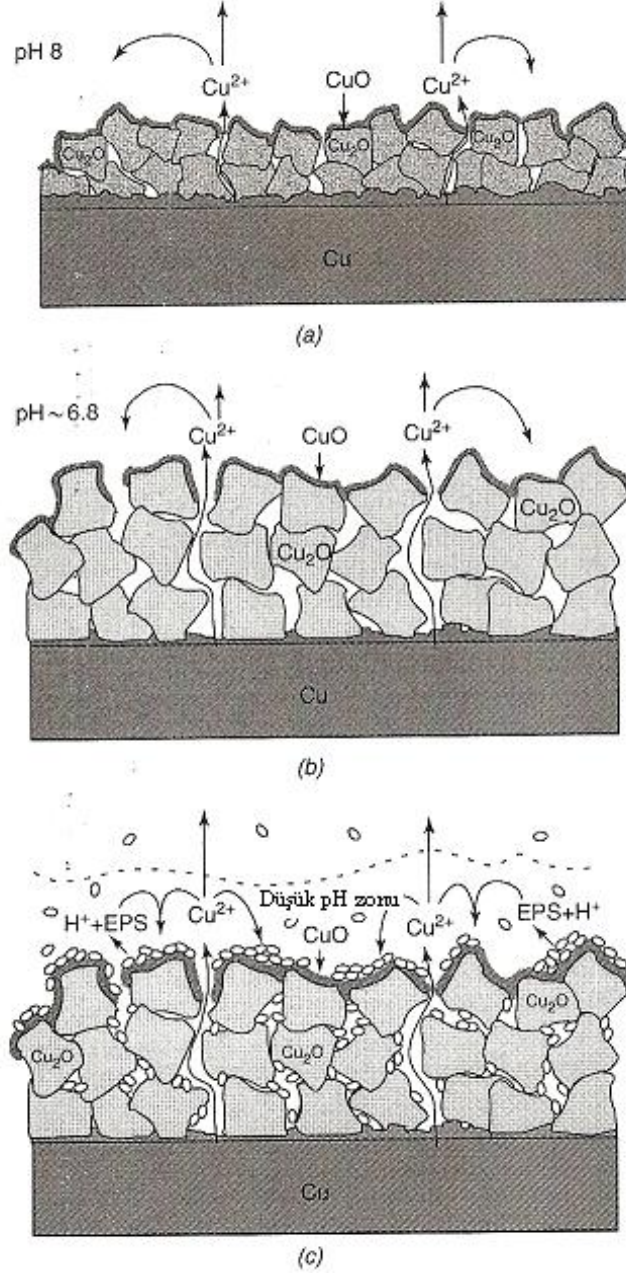
Isı değiştirici malzemesi olarak çoğunlukla bakır kullanılmaktadır. Bakır, ısı ve elektriği yüksek oranda iletebilen ve çok iyi korozyon direncine sahip soy bir metal olarak bilinir (Wagner ve Little, 1993). Bunların yanında bakır (II) iyonları birçok mikroorganizma için yüksek oranda toksiktir (Borkow ve Gabbay, 2005). Ancak bakır korozyonuna neden olan mikroorganizmaların varlığı, onların bakırın toksik etkisine dirençli olduklarını gösterir (Critchley ve diğ., 2003). Parvizi ve diğ. (1988) *Thiobacillus thiooxidans* bakterisinin 20.000 ppm bakır konsantrasyonundan daha yüksek konsantrasyonlarda yaşadığını bildirmiştir. Bu bakteri dışında spor oluşturan *Bacillus* cinsi, spor formu olmayan *Propionibacterium*, *Sphingomonas* ve *Acidovorax* cinsi bakterilerin de bakıra dirençli oldukları rapor edilmiştir. Bakırın toksik etkisine dirençli olan bu mikroorganizmaların, biyofilm içindeki düşük direnç gösteren mikroorganizmaları korudukları düşünölmektedir (Palanichamy ve diğ., 2002; Critchley ve diğ., 2003). EPS, bakır bağlayan proteinler ya da asidik polisakkaritler, bakırın mikrobiyolojik korozyonunda en önemli rolü oynarlar. Bakırın varlığı birçok bakterinin polisakkarit sekresyonunu arttırır (Wagner ve Chamberlain, 1997). EPS ya içeriğinde bulunan proteinlerle ya da asidik karbohidratları ile bakır bağlayarak mikrobiyolojik etkili korozyona neden olurlar. Bakır varlığında artan EPS yüksek oranda üronik asit içerir. Bakır çok sayıdaki bakterinin polisakkarit sekresyonunu da arttırır. *Pseudomonas vesicularis*, *Pseudomonas stutzeri*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Comamonas testosteroni*, *Flavobacterium breve*, *Moraxella lacunata* ve *Moraxella* spp. gibi mikroorganizmalar korozyona uğramış bakır borulardan izole edildiği için bunların bakır korozyonuna neden olduğu düşünölmektedir (Wagner ve Chamberlain, 1997).



**Şekil 2.8:** Mikrobiyolojik korozyona uğramış, bakırdan imal edilmiş ısı değıştirici

Bakır ve alaşımlarının mikrobiyolojik korozyonu ile ilgili az sayıda çalışma vardır (Siedlerek ve diğ., 1994; Arens ve diğ., 1995; Chamberlain, 1997; Critchley ve diğ., 2004; Wagner ve Valcarce ve diğ., 2006). Bunun nedeni genel bir inanış olan bakırın mikroorganizmalara toksik etkili olması olabilir. Ancak bu inanış tüm mikroorganizmalar için geçerli değildir. Örneğin *Thiobacillus* cinsi bakteriler % 6 bakır konsantrasyonuna tolerans gösterebilir (Thierry ve Sand, 2002). Daha önceki çalışmalarda bakır ve alaşımlarının mikrobiyolojik korozyona maruz kaldığı boru sistemlerinde ve ısı değıştiricilerde gösterilmiştir (Şekil 2.8). Sülfat indirgeyen bakterilerin oluşturduğu hidrojen sülfürün bakır ve alaşımlarının korozyonuna neden olduğu belirtilmektedir (Jayaraman, 1999; Iverson, 2001). Oyuklanma korozyonu, bozulmamış bakır sülfid filmi üzerinde katodik reaksiyonun meydana gelmesi ile bakır sülfid tabakasının uzaklaştığı yerlerde meydana gelebilir. Bakırın oyuklanma korozyonu ile mikrobiyal aktivite arasındaki bağlantı kanıtlanmış olmasına rağmen bakır üzerindeki oyuklanma korozyonunun mikroorganizmalar tarafından artırılma mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak biyofilmin bakır(I) oksiti bakır(II) oksite yükseltgeyebileceği belirtilmektedir (Little ve Lee, 2007). Bakır korozyonunun ilk ürünü olan kuprit ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ), bakırın su molekülleri ya da  $\text{O}_2$ 'le çözünmesi ile oluşan direkt reaksiyon ürünüdür (Little ve Lee, 2007).

Metal yüzeylerde oluşan film, farklı pH değerlerinde değişik etkilenmektedir. Bakır yüzeylerde oluşan bakır oksit filmin farklı pH değerlerinde nasıl etkilendiği Şekil 2.9’da gösterilmiştir. pH 8’de bakır yüzeydeki oksit film ince ve sıkı iken pH 6.8’de kalın ve porlu yapı göstererek MIC oluşumunu hızlandırmaktadır.



Şekil 2.9: pH 8 (a) ve pH 6.8 (b) doğal bakır oksit film, (c) MIC oluşumu

## 2.7 SU SOĞUTMA SİSTEMLERİNDE BİYOFİLM VE MIC'İN ÖNLENMESİ

Su soğutma sistemlerinde görülen problemler şunlardır (Videla, 1996; Flemming, 2002; Starosvetsky ve diğ., 2007):

1. Metallerin korozyonu: Su, metalleri oksitleme eğilimindedir.
2. Biyofilm oluşumu: Su soğutma sistemleri, mikroorganizmaların üremesi ve biyofilm oluşumu için çok uygun ortamlardır. Mikroorganizmaların metabolizmaları sonucu oluşturdukları ürünler, metalin korozyonuna neden olur.
3. Tortu oluşumu: Korozyon ürünlerinin ya da kalsiyum, magnezyum gibi minerallerin su içindeki konsantrasyonlarına, suyun fiziksel ve kimyasal parametrelerine bağlı olarak çökelip tabaka oluşturmasıdır.

Endüstriyel sistemlerde biyofilm ve mikrobiyolojik korozyonun önlenmesi ve kontrolü için altın kural, sistemin temiz tutulmasıdır. Mekanik temizlik, biyofilm ve mikrobiyolojik korozyonun önlenmesinde çok etkilidir (Borenstein, 1994). Mekanik temizliğin hemen ardından uygun kimyasal temizlik yapılmalıdır. Kimyasal temizlikte, mineral ve organik asitler korozyon inhibitörleri ile beraber kullanılır ve metalden çözülmüş iyonların yüzeyden uzaklaştırılmasını sağlar (Borenstein, 1994). Bunların dışında mikrobiyolojik korozyonun önlenmesinde mikroorganizmaları öldüren ya da üremelerini durduran kimyasal bileşikler yani biyositler kullanılır. Biyositlerin etkin olduğu pH değerlerinin bilinmesi uygulamanın başarılı olması için gereklidir. Bununla beraber biyositin korozif etkisini azaltmak için biyosite uygun, yüzeylerde koruyucu tabaka oluşturan korozyon inhibitörleri kullanılmalıdır (Videla, 2002; Guiamet ve Gomez De Saravia, 2005).

Korozyondan korunmanın en önemli yollarından biri de korozyona dayanıklı malzemenin seçimidir. Kullanılacak malzemenin yüzeyi epoksi boya, metal kaplama ya da plastik gibi koruyucu kaplamalar uygulanarak da korozyondan korunma sağlanabilir (Borenstein, 1994; Videla, 1996).

### 3 MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1 BAKIR KUPONLARIN HAZIRLANMASI

Bu çalışmada ısı değiştirici malzemesi olarak kullanılan % 99.99 saflıktaki bakır 50x25x1 mm boyutlarında kesilerek kullanılmıştır. Bakır kuponların her iki yüzü ve kenarları enine ve boyuna olmak üzere sırasıyla 400, 600, 800 ve 1200 numaralı zımpara kağıtları ile zımparalanmış distile su ile yıkanmış ve kurutulmuştur (şekil 3.1). Kuponların kenar uzunlukları ölçölmüş ve toplam yüzey alanları hesaplanmıştır. Daha sonra aseton ile temizlenip, ağırlıkları alınmış ve hava almayacak şekilde desikatörde saklanmıştır. Kuponlar deneyde kullanılmadan önce deterjanlı su ile yıkanıp durulanmış, üzerindeki suyu uzaklaştırmak için aseton bulunan behere daldırılıp çıkarıldıktan sonra, her iki yüzeyinin sterilizasyonu ultraviyole lambası altında 12'şer saat tutularak sağlanmıştır.



şekil 3.1: Deneyde kullanılmak üzere hazırlanmış olan bakır kupon

#### 3.2 DENEY DÜZENEğİ

Deney kuponlarının ısı değiştirici sistemine paralel olarak yerleştirilmesi için Pedersen cihazı'nın değiştirilmesi ile bir düzenek tasarlanıp yaptırılmıştır (Pedersen, 1990). Düzenek, sisteme yerleştirilmeden önce kupon taşıyıcıları ile beraber %10'luk sodyum hipoklorit çözeltisinde 12 saat bekletilip steril distile su ile durulanmış, steril kabinde UV lambası altında kurutulup steril alüminyum folyo ile sarılmıştır.

Düzenek, bir otelin ısı değiştirici sistemine paralel olarak yerleştirilmiştir (şekil 3.2). Deney kuponlarının konduğu kupon taşıyıcılarının düzeneğe yerleştirilmesi ile deney süreci başlatılmıştır.



**şekil 3.2:** Soğutma sisteminin ısı değiştiricisine paralel olarak bağlanan bakır kuponların yerleştirildiği deney düzeneği

### 3.2.1 Su Soğutma Sistemi İşletim Koşulları

Deneilerin geręekleřtirildięi otelin su soğutma sistemi içerisinde 15 ton su sirküle olmaktadır. Sistem suyunun iletkenliğini önerilen değerlerde tutmak için düzenli olarak sistemden su boşaltılıp yerine sertliği giderilmiş şebeke suyu eklenmiştir. Kule suyuna 30 mg/l biyosit ve 60 mg/l korozyon frenleyici eklenmiş ve sabit tutulmuştur. Kullanılan biyosit aktif grubu sülfid olan isothiazolon bileşiğidir. Korozyon frenleyicisi ise fosfat içermektedir.

Deney 10 ay sürmüştür. Deney boyunca her ay, soğutma su sistemine eklenen su, kule suyu ve ęıkıř suyunun sıcaklık, pH, ęözünmüř oksijen (ÇO), iletkenlik, toplam ęözünmüř madde miktarı (TÇM), toplam alkalinite, klorür (Cl<sup>-</sup>), H<sub>2</sub>S, sülfat (SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>) ve ęözünmüř ortofosfat (PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) değerleri ölçülmüştür. Sisteme yerleştirilen düzenekten her

ay periyodik olarak 12 bakır kupon çıkartılmıştır. Kupon üzerindeki biyofilm tabakasından, soğutma sisteminin kule ve çıkış sularından kükürt okside eden bakteriler, sülfat indirgeyen bakteriler, aerobik ve anaerobik heterotrofik bakterilerin sayıları ile *Legionella pneumophila* varlığı araştırılmıştır. Biyofilmden elde edilen EPS ve su örneklerinin her ay Cu değerleri ölçülmüş ayrıca EPS'deki karbonhidrat miktarı da belirlenmiştir. Kuponların deney öncesi ve sonrasındaki ağırlıklarının ölçülmesi ile ağırlık kayıpları hesaplanmıştır. 1. ve 10. aylarda kuponlar taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenerek kuponlar üzerinde oluşan biyofilm tabakasının fotoğrafları çekilmiş ve korozyon ürünlerinin enerji dağılım spektrofotometre (Energy Dispersive Spectrofotometry-EDS) analizi yapılmıştır.

### **3.3 FİZİKSEL VE KİMYASAL ANALİZ**

Soğutma sisteminin hem kule hem de çıkış suyu, şu fiziksel ve kimyasal parametreler bakımından incelenmiştir:

#### **3.3.1 Sıcaklık**

Su örneklerinin sıcaklığı termometre ile ölçülmüştür.

#### **3.3.2 pH Değeri**

Su örneklerinin pH değeri, pH metre cihazı (WTW, inoLab Level 1) ile ölçülmüştür.

#### **3.3.3 Çözünmüş Oksijen**

Su örneklerindeki çözünmüş oksijen miktarı WTW Oxi-330 cihazı ile ölçülmüştür. Cihaz kullanılmadan önce kalibre edilmiştir.

#### **3.3.4 İletkenlik ve Toplam Çözünmüş Madde Miktarı**

Su örneklerinin iletkenliği ve sudaki toplam çözünmüş madde miktarı WTW LF-95 kondüktivitemetre cihazı ile ölçülmüştür. Cihaz kullanılmadan önce 25°C sıcaklığa sahip 0.01M potasyum klorür (KCl) çözeltisi ile kalibre edilmiştir. Su örneklerinin sıcaklıkları da 25°C'ye ayarlanarak yapılmıştır.

### 3.3.5 Fenolftalein ve Toplam Alkalinite Analizi

Su örneklerinin toplam alkalinite değerleri asit titrasyon metodu ile ölçülmüştür (Boyd ve Tucker, 1992). Bu amaçla önce, su örneklerindeki asılı maddeler, 142 mm çaplı 0.2 µm por çaplı naylon filtre kağıdından (Sartorius-Sartolon) süzülerek arındırılmıştır. Süzülen 100 ml su örneği üzerine 2 damla fenolftalein indikatör çözeltisinden damlatılmıştır. Pembe renk oluşumu gözlemlendiğinde, pembe renk gidene kadar 0.1 N hidroklorik asit (HCl) ile titre edilmiştir. Pembe renk kaybolana kadar kullanılan HCl miktarı kaydedilmiştir. Fenolftalein toplam alkalinitesi belirlendikten sonra aynı örneğe 4-8 damla metil oranj indikatörü damlatılmış ve oluşan sarı renk turuncu renge dönene kadar 0.1 N HCl ile titre edilmiş ve harcanan HCl miktarı kaydedilmiştir. Fenolftalein indikatör çözeltisini ekledikten sonra pembe renk oluşmadığı durumda ise, 4-8 damla metil oranj indikatörü damlatılarak toplam alkalinite deneyine devam edilmiştir.

Ölçümler iki tekrarlı yapılmıştır. Toplam alkalinite aşağıdaki formülden hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam alkalinite (mg/l)} = \frac{(S) \times (N) \times (50) \times (1000)}{\text{Örnek hacmi (ml)}}$$

S: Örneğin titrasyonu esnasında harcanan toplam HCl miktarı (ml)

N: Kullanılan HCl'in normalitesi

### 3.3.6 Klorür Analizi

Su örneklerindeki klor iyonu miktarı Mohr metodu ile ölçülmüştür (Bianucci ve Bianucci, 1987). 100 ml su örneğine 1 ml potasyum kromat ( $K_2CrO_4$ ), indikatör çözeltisi olarak konmuştur. Su örneği berrak yeşil-sarı renge dönüşmüştür. Bu renk bulanık sarı-kiremit rengine dönüşüncüye kadar 0.5 N gümüş nitrat ( $AgNO_3$ ) çözeltisi ile titre edilmiştir. Bulanık sarı-kiremit renk oluşana kadar harcanan  $AgNO_3$  miktarı kaydedilmiştir. Ölçümler iki tekrarlı yapılmıştır. Örnekteki  $Cl^-$  miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$1 \text{ ml } 0,5N \text{ } AgNO_3 = 0.7092 \text{ mg } Cl^-$$

### 3.3.7 Hidrojen Sülfür Analizi

Su örneklerindeki çözünmüş H<sub>2</sub>S miktarı iyodometrik yöntem ile ölçülmüştür (Apha-Awwa-Wpcf, 1981). Ölçümden önce su örnekleri, asılı maddelerden arındırılmak için 142 mm çaplı 0.2 µm por çaplı naylon filtre kağıdı (Sartorius-Sartolon) kullanılarak süzölmüştür. Erlenmayere 10 ml iyot çözeltisi ve 2 ml 6 N HCl konduktan sonra 200 ml örnek eklenmiş ve 0.025 N sodyum tiyosülfat (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) ile titre edilmiştir. Şeffaf renge dönene kadar harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> miktarı kaydedilmiştir. Deney iki kez tekrarlanmıştır.

Çözünmüş H<sub>2</sub>S miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Çözünmüş H}_2\text{S miktarı (mg/l)} = \frac{[(A \times B) - (C \times D)] \times 16.000}{\text{Örnek hacmi (ml)}}$$

A: Harcanan iyot çözeltisi miktarı (ml)

B: İyot çözeltisinin normalitesi

C: Harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> miktarı (ml)

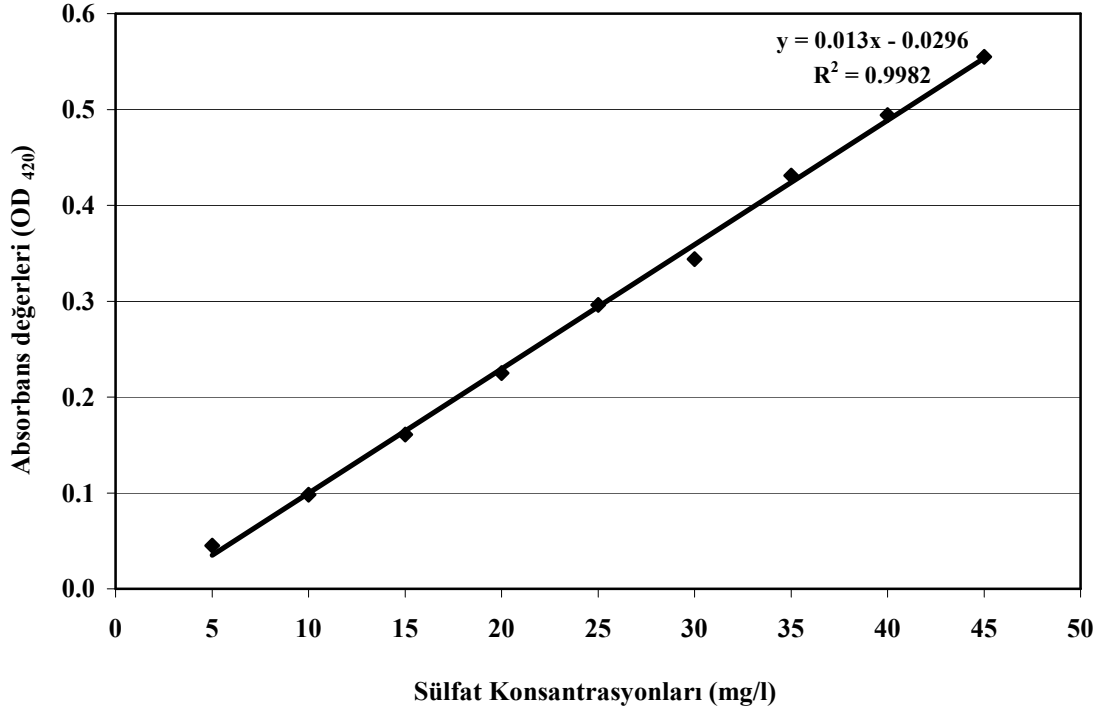
D: Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> çözeltisinin normalitesi

### 3.3.8 Sülfat Analizi

Su örneklerindeki SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> miktarı turbidimetrik yöntem ile ölçülmüştür (Apha-Awwa-Wpcf, 1981). Ölçümden önce su örnekleri, asılı maddelerden arındırılmak için 142 mm çaplı 0.2 µm por çaplı naylon filtre kağıdı (Sartorius-Sartolon) kullanılarak süzölmüştür. Süzölen 100 ml su örneği manyetik karıştırıcı üzerine konmuş ve deney sonuna kadar sabit hızla karıştırma işlemi devam etmiştir. Örneğe 5 ml ayarlama çözeltisi eklenmiştir. Ardından 0.5 g BaCl<sub>2</sub> kristali eklenmiş ve süre başlatılarak 1 dk bekletilmiştir. Süre sonunda oluşan BaSO<sub>4</sub> bulanıklığının absorbans değeri, spektrofotometrede (Shimadzu UV 150-02) 420 nm dalga boyunda 4 dk süresince her 30 sn'de bir ölçülerek kaydedilmiştir. Deney iki kez tekrarlanmıştır.

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

kullanılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri ile standart grafik çizilmiş ve eğri denklemi elde edilmiştir (Şekil 3.3). Kontrol amacıyla 5, 25 ve 45 mg/l konsantrasyonlardaki standart sülfat çözeltileri deneylerle eş zamanlı olarak ölçülmüştür.

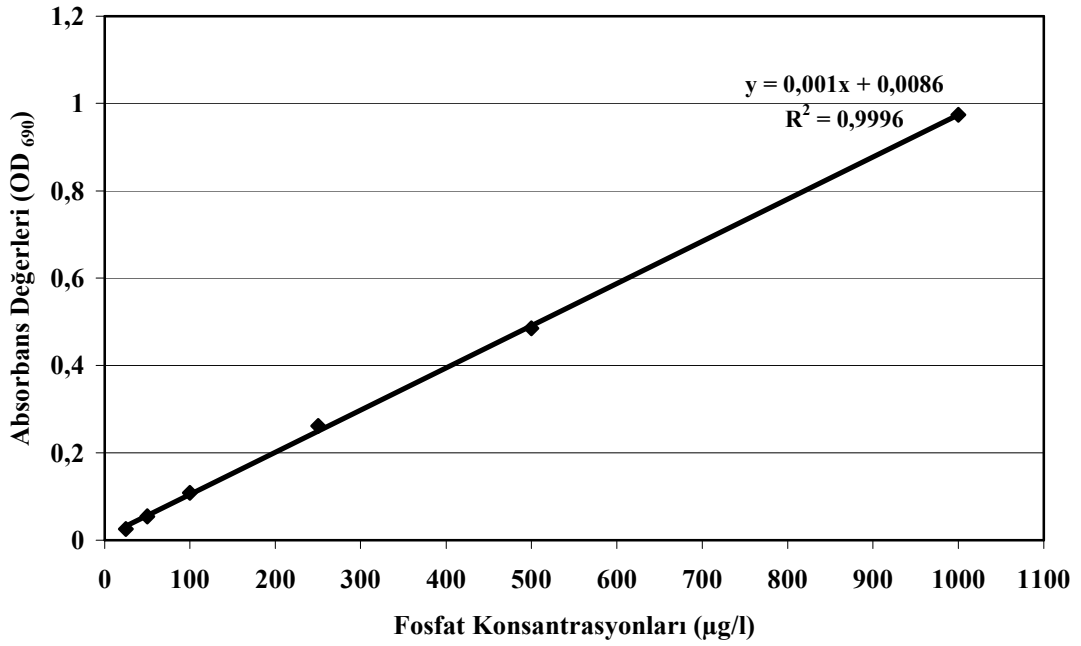


Şekil 3.3: Sülfat miktarının tayini için standart sülfat konsantrasyonlarından hazırlanmış olan standart eğri

### 3.3.9 Çözünmüş Ortofosfat Analizi

Su örneklerindeki çözünmüş  $PO_4^{-3}$  miktarı kalay klorür metodu kullanılarak belirlenmiştir (Apha-Awwa-Wpcf, 1981). Ölçümden önce su örnekleri, asılı maddelerden arındırılmak için 142 mm çaplı 0.2  $\mu$ m por çaplı naylon filtre kağıdı (Sartorius-Sartolon) kullanılarak süzümüştür. Süzülen 100 ml su örneğinin üzerine 4 ml amonyum molibdat  $[(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O]$  çözeltisi ardından 10 damla kalay klorür ( $SnCl_2.2H_2O$ ) çözeltisi eklenmiş ve 10 dk bekletilmiştir. Örnekler süre sonunda, 2 dk içinde, spektrofotometrede (Shimadzu UV 150-02) 690 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Deney iki kez tekrarlanmıştır.

Standart eğriyi oluşturmak için öncelikle 25 µg/l, 50 µg/l, 100 µg/l, 250 µg/l, 500 µg/l, 1000 µg/l konsantrasyonlarda standart KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> çözeltileri hazırlanmış ve sonra kalay klorür metodu uygulanmıştır. Referans olarak distile su kullanılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri ile standart grafik çizilmiş ve eğri denklemi elde edilmiştir (Şekil 3.4). Kontrol amacıyla 25 µg/l, 250 µg/l ve 1000 µg/l konsantrasyonlardaki standart fosfat çözeltileri deneylerle eş zamanlı olarak ölçülmüştür.



Şekil 3.4: Çözünmüş Ortofosfat miktarının tayini için standart fosfat konsantrasyonlarından hazırlanmış olan standart eğri

### 3.4 MİKROBİYOLOJİK ANALİZ

#### 3.4.1 Su Örneklerinin Hazırlanması

Soğutma sisteminin hem kule hem de çıkış suyu mikrobiyolojik yönden incelenmiştir. Örnekler, iki tekrarlı çalışılmak üzere steril şişelere aseptik koşullar altında 1'er litre alınmış, laboratuvara ulaştırılmış ve 142 mm çaplı 0.2 µm por çaplı naylon filtre kağıdı (Sartorius-Sartolon) kullanılarak süzülmüştür. Daha sonra naylon filtre, yüzeyine tutunmuş bakterilerin sıvıya geçmesini sağlamak amacıyla içerisinde 50 ml steril çeşme suyu bulunan steril poşet içinde stomacher (IUL Instruments) cihazında 1 dk

tutulmuştur (Sungur ve diğ., 2008). Konsantre edilen örnekler  $10^{-1}$ 'den başlamak üzere  $10^{-7}$ 'e kadar sulandırılmış (Power ve diğ., 2001), aşağıda belirtilen bakterilerin izolasyon işlemlerine geçilmiştir.

#### 3.4.1.1 *Aerobik Heterotrofik Bakterilerin İzolasyonu ve Sayımı*

Hazırlanan su örneği sulandırılmılarından ( $10^{-1}$ - $10^{-7}$ ) selektif olmayan R2A agar besiyerine üç tekrarlı ekim yapılmış ve Petri kutuları  $27^{\circ}\text{C}$ 'de 7 gün inkübe edilmiştir. Süre sonunda oluşan koloniler sayılmıştır (Reasoner ve Geldrich, 1985).

#### 3.4.1.2 *SOB, SRB Bakterilerinin İzolasyonu ve Sayısının Belirlenmesi*

SOB ve SRB sayılarını belirlemek için MPN (En muhtemel sayı) yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan su örneği sulandırılmılarından ( $10^{-1}$ - $10^{-7}$ ), SOB izolasyonu için SOB besiyeri, SRB izolasyonu için Postgate B besiyeri içeren MPN serilerine ekim yapılmış ve her bir sulandırım için bir MPN serisi kullanılmıştır. Ekim yapılan MPN serileri,  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 90 gün bekletilmiştir. SRB'nin üremesi, ürettiği  $\text{H}_2\text{S}$ 'in besiyeri içeriğindeki Fe ile reaksiyona girip siyah renkte FeS çökeltisinin oluşması, SOB'un üremesi ise ürettiği  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sonucu besiyerine mavi rengini veren bromkrezol yeşili boyasının asidik ortamda renginin sarıya dönüşmesi sonucu belirlenmiştir. SOB ve SRB sayıları MPN 3'lü tüp tablosu kullanılarak belirlenmiştir (Cochran, 1950; Postgate, 1984; Roberts ve diğ., 2002).

#### 3.4.1.3 *Anaerobik Heterotrofik Bakterilerin İzolasyonu ve Sayımı*

Hazırlanan su örneği sulandırılmılarından ( $10^{-1}$ - $10^{-7}$ ), %0.7 oranında agar ilave edilen tiyoglikolat besiyerine iki tekrarlı ekimler yapılmış ve Petri kutuları anaerobik kavanozda (anaerojen paket ekli)  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 21 gün bekletilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda oluşan koloniler sayılmıştır (Lee ve Characklis, 1993).

#### 3.4.1.4 *Legionella Cinsi Bakterilerin İzolasyonu*

Konsantre edilmiş örneğin 10 ml' si,  $3500 \times \text{g}$ ' de 15 dakika santrifüj edilerek yoğunlaştırılıp, üstteki 5 ml sıvı atılmış, kalan sıvının üzerine 1:1 oranında pH' sı 2.2 olan asit çözeltisinden (HCl - KCl) ilave edilip karıştırılmıştır. Asitle 5 dakika muamele edildikten sonra alınan 0.1 ml örnek, glisin, vankomisin, polimiksin, natamisin (GVPN) ilave edilmiş Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) Agar seçici besiyerine ekilmiştir. Ayrıca kalan konsantre edilmiş 2 ml örnek ise, steril tüp içine konulup  $50^{\circ}\text{C}$ ' de 30 dakika bekletilmiş ve bu süre sonunda alınan 0.1 ml örnek, aynı seçici besiyerine ekilmiştir. Asit ve sıcaklık uygulamasından sonra, örnekler besiyerlerine iki tekrarlı

olarak ekilmiştir (Kuchta ve diğ., 1983; Dennis, 1988; Armon ve Payment, 1990; Pedersen, 1992; Boulanger ve Edelstein, 1995; Fields, 1997; British standard, 1998; De Luca ve diğ., 1999). Ekim yapılan Petri kutuları 37°C' de 10-14 gün süreyle takip edilmiştir. Ekim yapıldıktan en az 3 gün sonra üreyen gri renkli, camsı, mukoid ve kabarık morfoloji gösteren şüpheli koloniler, Gram metoduyla boyanmıştır. Zayıf Gram negatif, filament oluşturmuş, ince çomak şeklindeki bakteriler Tryptone Soya Agar (TSA) besiyerine ekilmiştir. Bu besiyerinde üreme görülmediği durumda, GVPN katkı maddesi ilave edilmiş BCYE Agar besiyerindeki şüpheli koloniler için Legionella Latex test kiti (OXOID) ile serolojik test uygulanmıştır (British standard, 1998).

### 3.4.2 Biyofilm Örneklerinin Hazırlanması

Biyofilmin mikrobiyolojik analizi için her ay sistemden 2 adet kupon çıkartılmıştır. Kuponlar sistem suyu bulunan steril şaleler içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Kuponların yüzeylerindeki biyofilm tabakasını toplamadan önce, steril çeşme suyuna yavaşça daldırılıp çıkartılarak yüzeye gevşek tutunmuş bakterilerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Daha sonra kuponun her iki yüzeyinde de oluşan biyofilm tabakası 20 ml steril çeşme suyu bulunan santrifüj tüpüne steril eküvyon ile alınmıştır. Bu işleme kupon yüzeyi iyice biyofilm kalıntılarında arındırılıncaya kadar devam edilmiştir. Biyofilmin toplandığı santrifüj tüpleri 60 sn vortekslenmiştir (Gagnon ve Slawson, 1999). Hazırlanan biyofilm süspansiyonları  $10^{-1}$ 'den  $10^{-7}$ 'e kadar sulandırılmıştır, aşağıda belirtilen bakterilerin izolasyon işlemlerine geçilmiştir.

#### 3.4.2.1 Aerobik Heterotrofik Bakterilerin İzolasyonu ve Sayımı

Hazırlanan biyofilm sulandırılmalarından ( $10^{-1}$ - $10^{-7}$ ), selektif olmayan R2A agar besiyerine üç tekrarlı ekim yapılmış ve Petri kutuları 27°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. Süre sonunda Petri kutularında oluşan koloniler sayılmıştır (Reasoner ve Geldrich, 1985).

#### 3.4.2.2 SOB, SRB bakterilerinin izolasyonu ve Sayısının Belirlenmesi

SOB ve SRB sayılarını belirlemek için MPN (En muhtemel sayı) yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan biyofilm sulandırılmalarından ( $10^{-1}$ - $10^{-7}$ ), SOB izolasyonu için SOB besiyeri, SRB izolasyonu için Postgate B besiyeri içeren MPN serilerine ekim yapılmış ve her bir sulandırım için bir MPN serisi kullanılmıştır. Ekim yapılan MPN serileri, 30°C'de 90 gün bekletilmiştir. SRB'nin üremesi, ürettiği H<sub>2</sub>S'in besiyeri

içeriğindeki Fe ile reaksiyona girip siyah renkte FeS çökeltisinin oluşması, SOB'un üremesi ise ürettiği H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sonucu besiyerine mavi rengini veren bromkrezol yeşili boyasının asidik ortamda renginin sarıya dönüşmesi sonucu belirlenmiştir. SOB ve SRB sayıları MPN 3'lü tüp tablosu kullanılarak belirlenmiştir (Cochran, 1950; Postgate, 1984; Roberts ve diğ., 2002).

#### 3.4.2.3 Anaerobik Heterotrofik Bakterilerin İzolasyonu ve Sayımı

Hazırlanan biyofilm sulandırımından (10<sup>-1</sup>-10<sup>-7</sup>), % 0.7 oranında agar ilave edilen tiyoglikolat besiyerine iki tekrarlı ekim yapılmış ve anaerobik kavanozda (anaerojen paket ekli) 30°C'de 21 gün inkübasyon süresi sonunda oluşan koloniler sayılmıştır (Lee ve Characklis, 1993).

#### 3.4.2.4 Legionella Cinsi Bakterilerin İzolasyonu

Biyofilm örneğinin bir kısmı (5 ml), 3500 x g' de 15 dakika santrifüj edilerek yoğunlaştırılıp, üstteki 2,5 ml sıvı atılmış, kalan sıvının üzerine 1:1 oranında pH' sı 2.2 olan asit çözeltisinden (HCl - KCl) ilave edilip karıştırılmıştır. Asitle 5 dakika muamele edildikten sonra alınan 0.1 ml örnek, glisin, vankomisin, polimiksin, natamisin (GVPN) ilave edilmiş Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) Agar seçici besiyerine ekilmiştir. Biyofilm örneğinin diğer kısmı (2 ml) steril tüp içine konulup 50°C' de 30 dakika bekletilmiş ve bu süre sonunda alınan 0.1 ml örnek, aynı seçici besiyerine ekilmiştir. Asit ve sıcaklık uygulamasından sonra, örnekler besiyerlerine iki tekrarlı olarak ekilmiştir (Kuchta ve diğ., 1983, Dennis, 1988; Armon ve Payment, 1990; Pedersen, 1992; Boulanger ve Edelstein, 1995; Fields, 1997; British standard, 1998; De Luca ve diğ., 1999). Ekim yapılan Petri kutuları 37°C' de 10-14 gün süreyle takip edilmiştir (British standard, 1998). Şüpheli kolonilere 3.4.1.4'de anlatılan basamaklar uygulanmıştır.

### 3.5 EPS ELDESİ

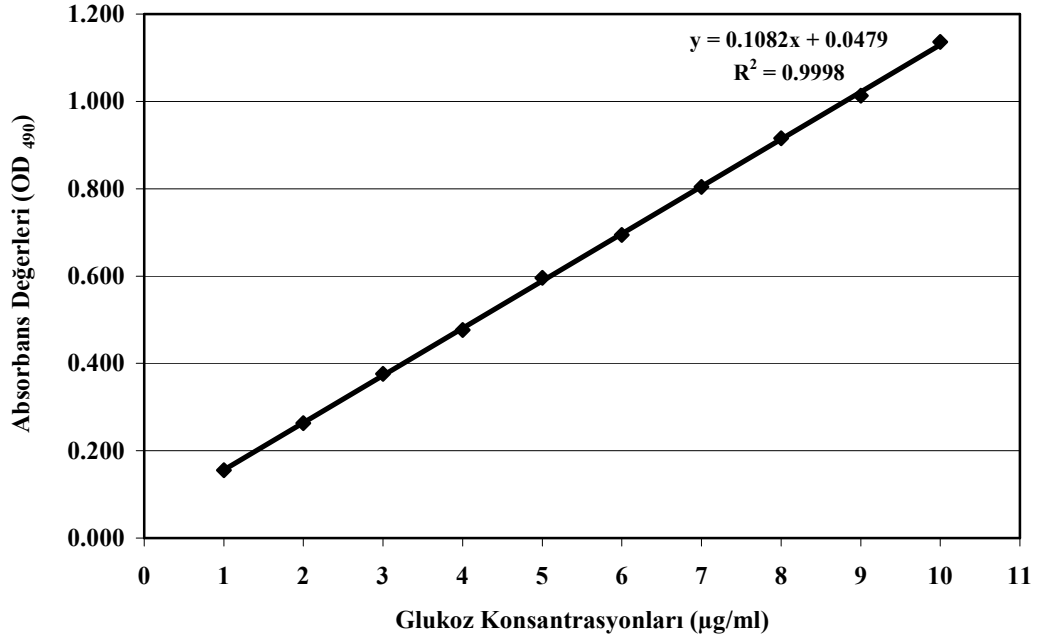
Biyofilmden EPS elde etmek amacı ile öncelikle her ay sistemden 3 adet kupon çıkartılmıştır. Kuponlar, sistem suyu bulunan steril şaleler içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Kuponların yüzeylerindeki biyofilm tabakasını toplamadan önce, steril bidistile suya yavaşça daldırılıp çıkartılarak yüzeye gevşek tutunmuş bakterilerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Daha sonra 25 ml steril bidistile su bulunan santrifüj tüpüne, kuponun her iki yüzeyinde de oluşan biyofilm tabakası steril eküvyon ile

alınarak biyofilm süspansiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyon 6000 g'de 10 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant başka bir steril santrifüj tüpüne alınıp bekletilmiştir. Santrifüj tüpünde kalan biyofilm peleti üzerine 25 ml % 8.5 NaCl ve % 0.22 formaldehid içeren çözeltilerden konmuş ve 1 dk vortekslenmiştir. Daha sonra iki tüpteki örnekler birleştirilmiştir. Birleştirilmiş örnek 11.227 g'de 30 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra üstteki süpernatant 0.22 µm por çaplı steril membran filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Bunun sonucunda EPS eldesi gerçekleştirilmiştir (Zhang ve diğ., 1999).

### **3.5.1 EPS'deki Toplam Karbonhidrat Miktarının Belirlenmesi**

Biyofilmden elde edilen EPS'deki toplam karbonhidrat miktarının tayini fenol sülfürik asit yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Dubois ve diğ.,1956). Asitte bekletilip bidistile sudan geçirilen deney tüplerine sırasıyla 1 ml EPS ve 1 ml % 5'lik fenol solüsyonu konmuştur. Ardından tüplere 5 ml konsantre H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenip 10 dk bekletilmiştir. Süre bitiminde tüpler vortekslenmiş ve yaklaşık 25°C'lik su içinde 10–20 dk bekletilerek soğutulmuştur. Deney tüplerinde karbonhidrat miktarına göre farklı koyulukta sarı-portakal renk oluşumu görülmüş ve örnekler spektrofotometre cihazında (Shimadzu UV 150–02) 490 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Karbonhidrat miktarı, spektrofotometredeki ölçüm sonucu elde edilen absorpsiyon değerinin standart eğriye ait denklemde yerine konmasıyla hesaplanmıştır. Ölçümler dört tekrarlı yapılmıştır.

Standart eğriyi oluşturmak için öncelikle 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 µg/ml konsantrasyonlarda standart glukoz çözeltileri hazırlanmış ve sonra fenol sülfürik asit yöntemi uygulanmıştır. Referans olarak distile su kullanılmıştır. Elde edilen absorpsiyon değerleri ile standart grafik çizilmiş ve eğri denklemi elde edilmiştir (Şekil 3.5). Kontrol amacıyla 10, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlardaki standart glukoz çözeltileri deneylerle eş zamanlı olarak ölçülmüştür.



Şekil 3.5: Toplam karbonhidrat miktarının tayininde kullanılmak üzere standart glukoz konsantrasyonlarından hazırlan standart eğri.

### 3.6 SEM VE EDS ANALİZİ

Deney kuponlarının yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasını ve korozyon ürünlerini belirlemek için deney kuponları SEM’de incelenmişlerdir. Bu amaçla analiz öncesi kuponlar % 2.5 glutaraldehit çözeltisi içinde +4°C’de 1 saat bekletilerek fikse edilmiş ve birkaç kez steril bidistile suya batırıldıktan sonra suyun alınması için % 30, % 50, % 80, % 95 etanol serileri içinde 10’ar dk bekletilmişlerdir. Bekleme süresi sonunda kuponlar havada kurumaya bırakılmıştır (Campanac ve diğ., 2002). İnceleme öncesi kuponların yüzeyi 15 nm kalınlıkta palladyum ile kaplanmış ve örnekler TÜBİTAK’ta Jeol (JSM–6335 F) marka SEM cihazında incelenmiştir.

Kuponların yüzeyinde oluşan korozyon ürünlerinin bileşimlerinin tespiti için enerji dağılım spektrofotometre (EDS) analizi yaptırılmıştır.

### 3.7 AĞIR METAL (Cu) ANALİZİ

Deney süresince sistemin çıkış suyundan, biyofilmden ve EPS'den ağır metal (Cu) miktarı belirlenmiştir. Sistemin çıkış suyundaki Cu miktarını ölçmek amacıyla kapaklı şişelere su örneğinden 100 ml konmuş ve %65'lik nitrik asit (HNO<sub>3</sub>) ile pH'sı 3'e ayarlanarak 4 dk vortekslenmiştir. Su örnekleri vortekslenildikten sonra 0.45 µm por çaplı membran filtreden geçirilerek solüsyondaki büyük partiküller ortamdan uzaklaştırılmış ve süzüntüden gerekli sulandırımalar hazırlanarak atomik absorpsiyon spektrofotometresinde (Analytik Jena Nova 300) Cu ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Biyofilmdeki Cu miktarı, soğutma sisteminin çıkış suyunu içeren steril şale içinde laboratuvara getirilmiş 2 adet kupondan çalışılmıştır. Kuponların her iki yüzeyinde de oluşan biyofilm tabakası steril eküvyon ile 3.4.2'de anlatıldığı gibi alınmış, kullanılan eküvyon 100 ml steril bidistile su bulunan kapaklı şişe içine konmuştur. Ölçüm işlemleri su örneklerindeki gibi yapılmıştır (Percival, 1998).

### 3.8 KOROZYON ANALİZİ

Korozyon hızının ölçümü için her ay sistemden çıkarılan 12 kupon kullanılmıştır. Kupon yüzeylerindeki biyofilmler eküvyon ile temizlendikten sonra % 33'lük HCl asit çözeltisinde 2 dk bekletilmiştir. Kuponlar süre bitiminde distile su içine daldırılıp çıkartılmıştır. Ardından aseton içinde 10 sn bekletilmiştir. Deney öncesi ağırlıkları tartılan kuponların deney sonunda ağırlıkları yeniden tartılmıştır. Aralarındaki fark hesaplanarak ağırlık kayıpları bulunmuştur.

Korozyon hızı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (ASTM standart, 1975).

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

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

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

$$W = \text{ağırlık kaybı (g)}$$

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

$$t = \text{deney süresi (saat)}$$

$$d = 8.92 \text{ g/cm}^3$$

### 3.9 KONTROL DÜZENEĞİ

Suyun bakır üzerindeki korozif etkisini belirlemek için steril kontrol düzeneği kurulmuştur (Şekil 3.6). Kontrol düzeneğine %10'luk sodyum hipoklorid çözeltisi konmuş ve sistem 24 saat çalıştırılmıştır. Düzenek, steril distile su ile yıkanarak steril edilmiş 8 litre soğutma sistemine eklenen su ile düzenek doldurulmuş ve kupon taşıyıcılarının bulunduğu haznenin dışı su seviyesine göre işaretlenmiştir. Steril edilmiş bakır kuponlar aseptik koşullar altında steril kupon taşıyıcılarına dizilip kontrol düzeneğine yerleştirilmiştir.



Şekil 3.6: Steril kontrol düzeneği

#### 3.9.1 Kontrol düzeneği işletim koşulları

Steril kontrol düzeneği; ağzı kapalı plastik bir hazne ve saatte 7.3 litre su sirkülasyonu yapan devridaim pompasından (EHEIM, 2213) oluşmaktadır. Düzeneğe oksijen girişi bir hava pompası (Champion, aquarium air pump) ile sağlanmıştır. Pompadan gelen hava, 0.22  $\mu\text{m}$  por çapına sahip bir membran filtreden (Sartorius, midisart 2000) geçirilmek suretiyle steril edilmiş ve bu şekilde sisteme sürekli steril hava akımı sağlanmıştır.

Düzenekten ayda 2 kez düzenli olarak su deşarj edilmiş ve sistem soğutma sistemine eklenen su ile 8 litreye tamamlanmıştır. Düzenek suyundan R2A besiyerine ekilerek sterilit kontrolü yapılmıştır. Aynı zamanda soğutma kulesi su sisteminde kullanılan biyosit ve korozyon frenleyici kontrol düzeneğine soğutma kulesi su sisteminde kullanılan miktar hesaplanarak eklenmiştir. Sistemden her ay düzenli olarak örnek alınıp sıcaklık, pH, çözünmüş oksijen (ÇO), iletkenlik, TÇM, toplam alkalinite, klorür (Cl<sup>-</sup>), H<sub>2</sub>S, sülfat (SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>) ve çözünmüş ortofosfat (PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) değerleri 3.3’de anlatıldığı şekilde ölçülmüştür. Kontrol düzeneğinden 10 ay boyunca, her ay periyodik olarak 5 adet bakır kupon çıkartılmıştır. Kupon üzerinde oluşan film tabakasından ve düzenek suyundan her ay Cu değerleri 3.7’de anlatıldığı gibi ölçülmüştür. Kontrol düzeneğinden çıkarılan 5 kuponun deney öncesi ve sonrasındaki ağırlıkları ölçülerek 3.8’de anlatıldığı gibi ağırlık kayıpları ve korozyon hızları hesaplanmıştır.

### **3.10 İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Bakteri sayıları, sisteme eklenen su, kule suyu ve çıkış suyunun kimyasal parametreleri, bu kimyasal parametrelerin bakteri sayıları ile ilişkileri, ağırlık kaybı, Cu konsantrasyonları arasındaki ilişki korelasyon katsayıları testi ile gösterilmiştir. Sisteme eklenen su, kule suyu ve çıkış suyunun kimyasal parametrelerin ortalamalar açısından farkının değerlendirilmesi Mann-Witney U testi kullanılarak yapılmıştır. Kule suyu, çıkış suyu ve biyofilmdeki bakterilerin sayısal durumunun karşılaştırılması Mann-Witney U testi ile yapılmıştır.

### 3.11 KULLANILAN BESİYERLERİ VE KİMYASAL MADDELER

#### 3.11.1 SOB Besiyeri İçeriği

Sodyum tiyosülfat $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5 g
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	2 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2 g
Amonyum sülfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.1 g
Magnezyum sülfat $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.1 g
Kalsiyum klorür $\text{CaCl}_2$	0.1 g
Demir (III) klorür $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.002 g
Mangan sülfat $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.002 g
Bromkrezol yeşili (doymuş çözeltisi)	3.0 ml

pH = 6.5 olacak şekilde ayarlanır. 121°C’de 15 dk steril edilir (Roberts ve diğ., 2002).

#### 3.11.2 Postgate B Besiyeri

Model sistem suyunda bulunan SRB’nin varlığının belirlenmesi için kullanılan Postgate B besiyerinin bileşimi;

Potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.5 g
Amonyum klorür ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )	1.0 g
Kalsiyum sülfat ( $\text{CaSO}_4$ )	1.0 g
Magnezyum sülfat heptahidrat ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	2.0 g
DL-Laktik asit ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$ )	3.5 g
Maya özütü	1.0 g
L-Askorbik asit ( $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Na}$ )	0.1 g
Tiyoglikolik asit ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{SNa}$ )	0.1 g
Demir (III) sülfat heptahidrat ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.5 g
Distile su	1000 ml

pH = 7.2 ± 0.2 (% 10 m/V NaOH ile ayarlanır), 121°C’de 15 dk steril edilir (Goodwin ve Forster, 1985; Davey ve O’toole, 2000).

### 3.11.3 R2A Besiyeri

Heterotrofik bakterilerin izolasyonu ve sayımı için kullanılan R2A agar besiyerinin bileşimi;

Maya özütü	0.5 g
Pepton	0.5 g
Kazein hidrolizatı	0.5 g
Glikoz (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )	0.5 g
Nişasta	0.5 g
Pirüvik asit (C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> O <sub>3</sub> Na)	0.3 g
Dipotasyum hidrojen fosfat (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	0.3 g
Magnezyum sülfat heptahidrat (MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O)	0.05 g
Agar	12 g
Distile su	1000 ml

121°C'de 15 dk steril edilmiştir (Reasoner ve Geldrich, 1985).

### 3.11.4 Tiyoglikolat Besiyeri

Anaerobik heterotrofik bakterilerin sayımı için kullanılan tiyoglikolat besiyerinin bileşimi;

Maya özütü	5 g
Pepton	15g
D (+) Glukoz (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )	5.5 g
Tiyoglikolik asit (C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> SNa)	0.5 g
L-sistin ([-SCH <sub>2</sub> CH(NH <sub>2</sub> )CO <sub>2</sub> H] <sub>2</sub> )	0.5 g
Sodyum klorür (NaCl)	2.5 g
Sodyum resazurin (C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> NNaO <sub>4</sub> )	0.001g
Agar	7 g
Distile su	1000 ml

121°C'de 15 dk steril edilmiştir.

### 3.11.5 Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) Besiyeri

*Legionellaceae* familyasına dahil bakterilerin izolasyonunda kullanılan BCYE Agar besiyerinin bileşimi aşağıda gösterilmiştir. (British standard, 1998).

Maya özeti	10 g
Agar	12 g
Aktif kömür	2.0 g
$\alpha$ -ketoglutarat, monopotasyum tuzu	1.0 g
ACES buffer	10 g
(N-2-acetamido-2-aminoethanosulfonic acid )	
Potasyum hidroksit (KOH)	2.8 g
L-sistein hidroklorid monohidrat	0.4 g
Demir (III) pirofosfat $Fe_4(P_2O_7)_3$	0.25 g
Distile su	1000 ml

Seçici katkı maddesi GVPN'in içerdiği maddeler şunlardır (British standard, 1998):

Amonyumsuz glisin	3 g/l
Polimiksin B sülfat	80000 IU
Vankomisin hidroklorit	0.001mg/l
Natamisin	0.05 mg/l

### 3.11.6 Legionella Cinsi Bakterilerin İzolasyonunda Kullanılan Asitin Hazırlanışı

1 l distile su üzerine 105 ml saf hidroklorik asit (HCl) eklenerek 1.2 mol/l HCl, 1 l distile su içinde 14.9 gr potasyum klorür (KCl) eritilerek 0.2 mol/l KCl stok solüsyonları hazırlanmıştır. Stok HCl solüsyonundan 3.9 ml, stok KCl solüsyonundan 25 ml alınarak karıştırılmıştır. Bu asit karışımının pH' sı 1 mol/l potasyum hidroksit (KOH) yardımıyla pH:2.2  $\pm$  0.2' ye ayarlandıktan sonra karanlıkta cam şişede saklanmış ve taze olarak kullanılmıştır (British standard, 1998).

**3.11.7 TSA (Tryptone Soya Agar) Besiyeri Bileşimi**

Tripton	15 g
Soya pepton	5.0 g
Sodyum klorid	5.0 g
Agar	15 g
Distile su	1000ml

pH: 7.3±0.2

121 °C' de 15 dakika steril edilir (Koneman ve diğ., 1983).

**3.11.8 3N Ayarlı Nitrik Asit Çözeltisi**

HNO <sub>3</sub>	207.73 ml
Deiyonize su	1000 ml'ye tamamlanır.

**3.11.9 Fenolftalein İndikatör Çözeltisi**

Fenolftalein	0.5 g
% 95'lik etil alkol	50 ml
Distile su	50 ml

**3.11.10 Metil Oranj İndikatör Çözeltisi**

Metil oranj	0.05 g
Distile su	100 ml

**3.11.11 0.1 N Ayarlı Hidroklorik Asit Çözeltisi**

% 37'lik HCl	8.28 ml
Distile su	1000 ml'ye tamamlanır.

**3.11.12 Potasyum Dikromat Çözeltisi**

$K_2CrO_4$	10 g
Distile su	100 ml

**3.11.13 Gümüş Nitrat Çözeltisi (N/50)**

3.72 g  $AgNO_3$  bir miktar distile suda çözüldükten sonra 1000 ml'lik balon jöjeye aktarılarak hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlanmıştır. Bu çözeltinin 1 ml'si 0.7092 mg klorüre eşittir.

**3.11.14 6N Ayarlı Hidroklorik Asit Çözeltisi**

% 37'lik HCl	1 hacim
Distile su	1 hacim

**3.11.15 0.025 N Standart İyodin Çözeltisi**

20 g potasyum iyodür (KI) bir miktar distile suda çözüldükten sonra 3.2 g iyodin eklenmiştir. İyodin çözüldükten sonra çözelti distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

**3.11.16 0.025 N Sodyum Tiyosülfat**

$Na_2S_2O_3$	6.205 g
Distile su	1000 ml

**3.11.17 Amonyum Molibdat Çözeltisi**

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

**3.11.18 Kalay Klorür Çözeltisi**

SnCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	2.5 g
Gliserol	100 ml

**3.11.19 Ayarlama Çözeltisi**

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

**3.11.20 0.01M Potasyum Klorür**

KCl	0.745 g
Distile su	1000 ml

## 4 BULGULAR

### 4.1 DENEY DÜZENEGİ

Deneylede soğutma sistemine eklenen sudan, kule suyundan ve çıkış suyundan alınan örneklerin her ay pH, ÇO, iletkenlik, TÇM, toplam alkalinite,  $Cl^-$ ,  $H_2S$ ,  $SO_4^{-2}$ , çözülmüş  $PO_4^{-3}$  ve sıcaklık değerleri ölçülmüştür. Sisteme eklenen suyun, kule suyunun ve çıkış suyunun aylık sıcaklık değerlerinin ortalaması sırası ile  $16 \pm 3.3$  °C,  $26 \pm 2.6$  °C ve  $28 \pm 2.8$  °C olarak belirlenmiştir. Aylık olarak ölçülen pH, ÇO, iletkenlik ve TÇM değerleri Tablo 4.1’de, toplam alkalinite,  $Cl^-$ ,  $H_2S$ ,  $SO_4^{-2}$ , çözülmüş  $PO_4^{-3}$  değerleri ise Tablo 4.2’de verilmiştir.

10 ay boyunca soğutma sisteminin kule ve çıkış suyuna ait pH, iletkenlik ve TÇM değerlerinin, sisteme eklenen suyun değerlerinden daha yüksek olduğu (Tablo 4.1) tespit edilmiştir.

**Tablo 4.1:** Aylara göre sisteme eklenen su, kule suyu ve çıkış suyunun pH, ÇO, iletkenlik ve TÇM değerleri.

Aylar	pH			ÇO (mg/l)			İletkenlik ( $\mu S/cm$ )			TÇM (mg/l)		
	SES	KS	ÇS	SES	KS	ÇS	SES	KS	ÇS	SES	KS	ÇS
<b>Haziran</b>	*	8.65	8.77	*	5.5	5.6	*	1258	1245	*	862	856
<b>Temmuz</b>	7.34	8.34	8.51	7.29	6.87	4.71	674	1514	1510	466	1051	1042
<b>Ağustos</b>	7.44	8.02	8.24	8.47	9.41	5.59	1066	1332	1800	738	923	1402
<b>Eylül</b>	7.56	8.08	8.03	7.38	7.03	6.63	891	1375	1332	619	954	926
<b>Ekim</b>	7.75	8.09	8.24	7.41	8.61	7.45	876	1448	1441	609	1038	1033
<b>Kasım</b>	7.64	8.39	7.94	5.9	5.8	5.5	987	1554	1556	687	1525	1507
<b>Aralık</b>	7.74	8.79	8.8	7.5	6.1	6.6	844	3286	2964	584	2276	2062
<b>Ocak</b>	7.58	9.06	9.09	9.9	10.5	10.2	664	10630	11050	461	7360	7600
<b>Şubat</b>	7.92	8.66	8.63	8.3	7	6.9	536	5080	4940	372	3520	3410
<b>Mart</b>	7.59	8.86	8.88	8.2	6.9	6.5	636	2536	2512	446	1776	1760
<b>Nisan</b>	7.54	8.55	8.55	8.6	7.1	6.8	486	763	748	237	373	365

$\mu S$ : MikroSiemens; \*:Çalışılmadı; SES:Sisteme eklenen su; KS: Kule suyu; ÇS: Çıkış suyu

**Tablo 4.2:** Aylara göre sisteme eklenen su, kule suyu ve çıkış suyunun toplam alkalinite, Cl<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>S, SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>, çözülmüş PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> değerleri.

Aylar	Toplam alkalinite (mg/l)			Cl <sup>-</sup> (mg/l)			H <sub>2</sub> S (mg/l)			SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> (mg/l)			PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (mg/l)			
	SES	KS	ÇS	SES	KS	ÇS	SES	KS	ÇS	SES	KS	ÇS	SES	KS	ÇS	
<b>Haziran</b>	*	246.67 ± 2.89	220.00 ± 0.01	*	15.60 ± 0.01	15.82 ± 0.01	*	0.59 ± 0.01	0.4 ± 0.01	*	131.72 ± 1.52	114.34 ± 1.31	*	20.00 ± 0.01	10 ± 0.01	
<b>Temmuz</b>		102.50 ± 3.54	210.00 ± 0.01	207.5 ± 3.54	10.18 ± 0.07	23.83 ± 0.28	23.62 ± 0.14	0.13 ± 0.1	0.04 ± 0.06	0.02 ± 0.03	26.28 ± 0.11	118.95 ± 0.87	118.18 ± 1.96	<3	<3	<3
<b>Ağustos</b>		97.50 ± 3.54	120.00 ± 3.54	170.00 ± 0.01	19.93 ± 1.13	35.63 ± 0.23	45.50 ± 0.92	<0.01	0.04 ± 0.03	<0.01	69.02 ± 0.01	89.11 ± 1.74	139.42 ± 1.52	<3	<3	<3
<b>Eylül</b>		122.50 ± 3.54	155.00 ± 0.01	42.50 ± 3.54	17.34 ± 0.07	28.60 ± 0.11	29.36 ± 0.01	0.03 ± 0.04	0.06 ± 0.08	0.01 ± 0.01	53.63 ± 0.01	89.11 ± 1.74	82.95 ± 1.74	<3	<3	<3
<b>Ekim</b>		97.50 ± 0.01	165.00 ± 14.1	155.00 ± 7.07	16.84 ± 0.21	29.50 ± 0.01	29.50 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.12 ± 0.06	0.02 ± 0.03	58.40 ± 0.87	89.88 ± 1.09	94.34 ± 1.31	<3	55.50 ± 7.78	42.00 ± 0.01
<b>Kasım</b>		87.50 ± 3.54	225.00 ± 7.07	200.00 ± 0.01	19.22 ± 0.14	59.22 ± 1.56	56.67 ± 0.92	0.59 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.48 ± 0.01	64.65 ± 0.22	176.85 ± 0.76	162.77 ± 0.01	3.00 ± 0.01	38.50 ± 0.71	33.50 ± 0.71
<b>Aralık</b>		97.50 ± 3.54	290.00 ± 14.1	275.00 ± 7.07	16.60 ± 0.28	55.46 ± 1.41	54.75 ± 0.01	<0.01	<0.01	<0.01	66.49 ± 0.65	230.46 ± 0.01	218.92 ± 2.18	<3	108.50 ± 13.4	87.50 ± 0.71
<b>Ocak</b>		115.00 ± 0.01	1152.00 ± 3.54	852.00 ± 17.7	9.79 ± 0.85	186.17 ± 3.54	188.65 ± 3.54	0.57 ± 0.16	0.26 ± 0.14	0.46 ± 0.01	63.42 ± 0.65	917.69 ± 10.9	710.00 ± 0.01	<3	285.00 ± 7.07	194.00 ± 0.71
<b>Şubat</b>		107.50 ± 3.54	472.00 ± 3.54	437.00 ± 3.54	10.07 ± 0.85	79.43 ± 2.83	77.30 ± 6.36	<0.01	0.09 ± 0.07	0.21 ± 0.1	84.69 ± 1.63	455.00 ± 10.9	452.12 ± 6.8	<3	104.00 ± 5.66	112.00 ± 5.66
<b>Mart</b>		113.80 ± 5.3	405.00 ± 0.01	390.00 ± 7.07	9.18 ± 0.64	39.01 ± 0.01	38.47 ± 1.77	<0.01	<0.01	<0.01	64.49 ± 0.87	189.65 ± 0.05	224.69 ± 10.3	<3	8.00 ± 0.01	24.00 ± 1.41
<b>Nisan</b>		160.00 ± 0.01	206.25 ± 1.77	221.30 ± 5.3	5.00 ± 0.07	8.65 ± 2.28	8.37 ± 0.01	0.15 ± 0.01	<0.01	<0.01	23.35 ± 0.01	36.94 ± 0.33	38.63 ± 0.33	9.00 ± 0.01	11.50 ± 0.71	14.00 ± 0.01

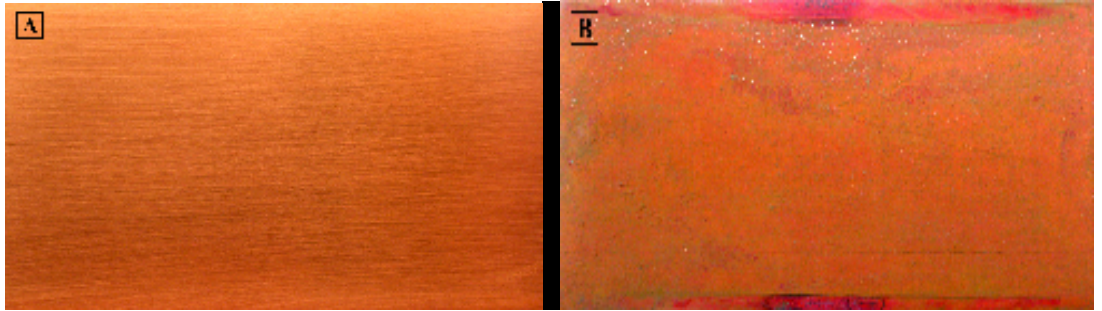
±: Standart sapma; \*: Çalışılmadı; SES:Sisteme eklenen su; KS: Kule suyu; ÇS: Çıkış suyu

Mann-Witney U testine göre hem kule hem çıkış suyunun pH, iletkenlik, toplam alkalinite,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$  ve çözünmüş  $PO_4^{3-}$  değerlerinin sisteme eklenen suyunkinden anlamlı derecede (sırasıyla  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.1, Tablo 4.2).

Kule suyundaki en yüksek pH,  $CO_2$ , iletkenlik, TÇM, toplam alkalinite,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$  ve çözünmüş  $PO_4^{3-}$  değerleri Ocak ayında sırasıyla 9.06, 10.5 mg/l, 10630  $\mu S/cm$ , 7360 mg/l, 1152 mg/l, 186.17 mg/l, 917.69 mg/l, 285 mg/l olarak ölçülmüştür. Çıkış suyundaki en yüksek pH,  $CO_2$ , iletkenlik, TÇM, toplam alkalinite,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$  ve çözünmüş  $PO_4^{3-}$  değerleri yine Ocak ayında sırasıyla 9.09, 10.2 mg/l, 11050  $\mu S/cm$ , 7600 mg/l, 852 mg/l, 188.65 mg/l, 710 mg/l, 194 mg/l olarak tespit edilmiştir.

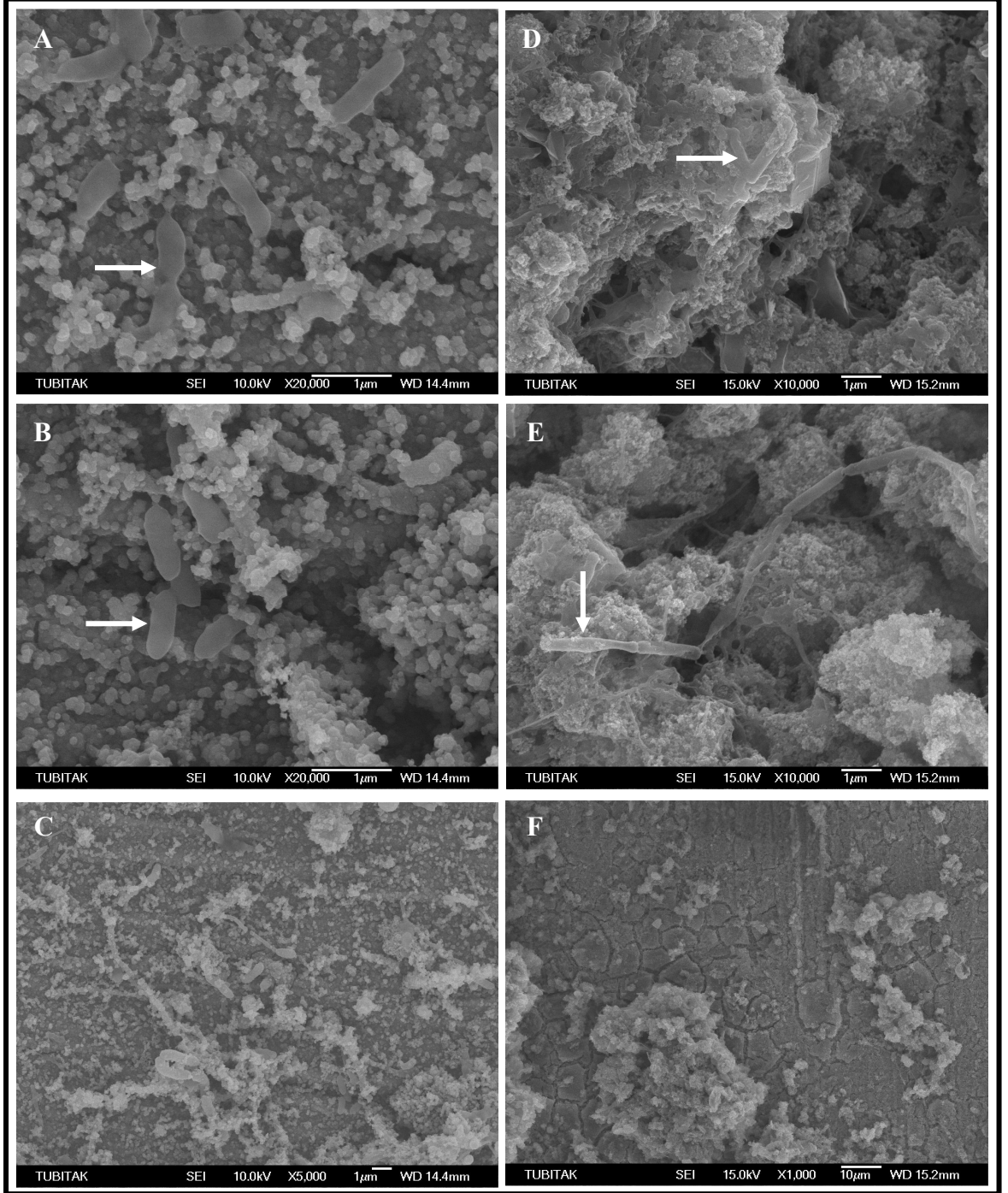
Yapılan istatistiksel analiz sonucunda kule suyu ve çıkış suyu verileri arasında ortalamalar açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Isı değiştiriciye paralel olarak bağlanan düzeneğe yerleştirilen bakır kuponların yüzeylerinde heterojen yapıda ve ince bir biyofilm tabakasının oluştuğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1).



**Şekil 4.1:** (A) Temiz bakır yüzey; (B) 10. ay sonucunda bakır yüzeyde gözlenen biyofilm tabakası

Bakır kupon yüzeylere bakterilerin tutunup biyofilm oluşturdukları SEM fotoğrafları ile de tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2:** Bakır kuponların yüzeyinde oluşan biyofilmin SEM fotoğrafları; (A, B, C) 1. ayın sonunda oluşan biyofilm; (D, E, F) 10. ayın sonunda oluşan biyofilm

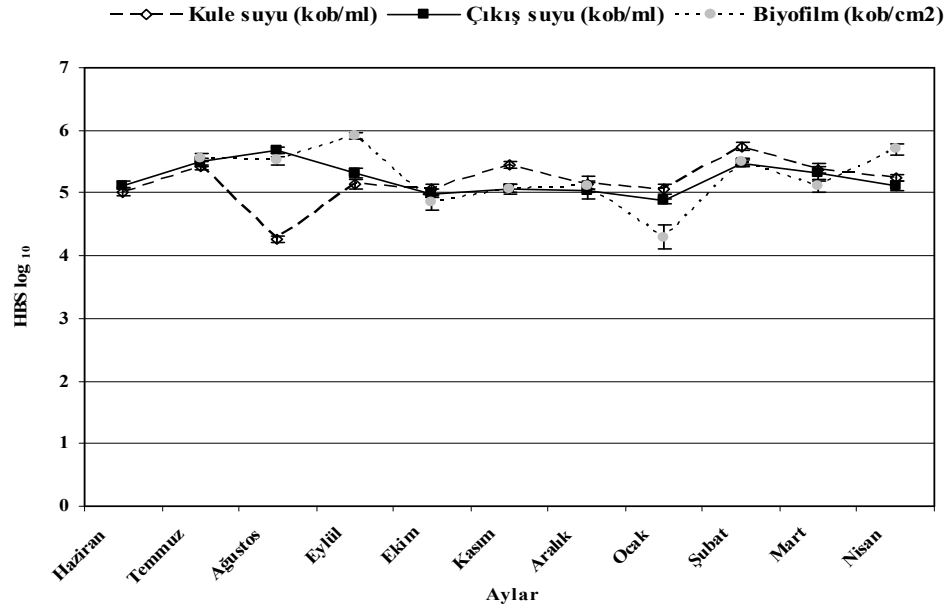
Aylara göre soğutma sistemi kule suyu, çıkış suyu ve bakır kupon yüzeylerde oluşan biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakterilerin sayıları Tablo 4.3 ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir.

Çıkış suyundaki ve biyofilmdeki en düşük aerobik heterotrofik bakteri sayısı ( $\log_{10}$ ) Ocak ayında sırasıyla 4.87 kob/ml ve 4.30 kob/  $\text{cm}^2$  olarak saptanmıştır. Çıkış suyunda bulunan aerobik heterotrofik bakteriler ile biyofilmde bulunan aerobik heterotrofik bakteri sayıları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişkinin ( $p < 0.05$ ) olduğu saptanmıştır. Yapılan Mann-Witney U testine göre kule suyu, çıkış suyu ve biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakterilerin sayıları arasında ortalamalar açısından anlamlı bir farkın olmadığı belirlenmiştir.

**Tablo 4.3:** Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki aerobik heterotrofik bakteri sayıları.

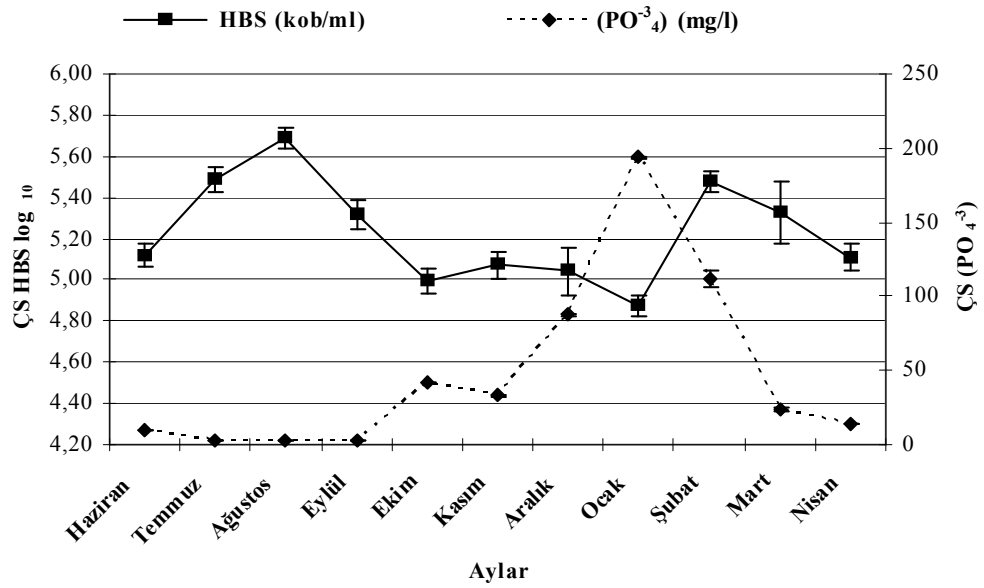
Aylar	Aerobik Heterotrofik Bakteri Sayıları ( $\log_{10}$ )		
	Kule Suyu (kob/ml)	Çıkış Suyu (kob/ml)	Biyofilm (kob/ $\text{cm}^2$ )
<b>Haziran</b>	5.02 ± 0.07	5.12 ± 0.06	
<b>Temmuz</b>	5.43 ± 0.07	5.49 ± 0.05	5.55 ± 0.09
<b>Ağustos</b>	4.26 ± 0.05	5.69 ± 0.06	5.52 ± 0.06
<b>Eylül</b>	5.15 ± 0.08	5.32 ± 0.07	5.91 ± 0.05
<b>Ekim</b>	5.05 ± 0.09	4.99 ± 0.06	4.85 ± 0.13
<b>Kasım</b>	5.44 ± 0.05	5.07 ± 0.07	5.07 ± 0.08
<b>Aralık</b>	5.14 ± 0.13	5.04 ± 0.12	5.12 ± 0.07
<b>Ocak</b>	5.07 ± 0.08	4.87 ± 0.05	4.30 ± 0.19
<b>Şubat</b>	5.74 ± 0.07	5.48 ± 0.05	5.50 ± 0.06
<b>Mart</b>	5.35 ± 0.06	5.33 ± 0.15	5.11 ± 0.11
<b>Nisan</b>	5.24 ± 0.06	5.11 ± 0.07	5.70 ± 0.09

±: Standart sapma



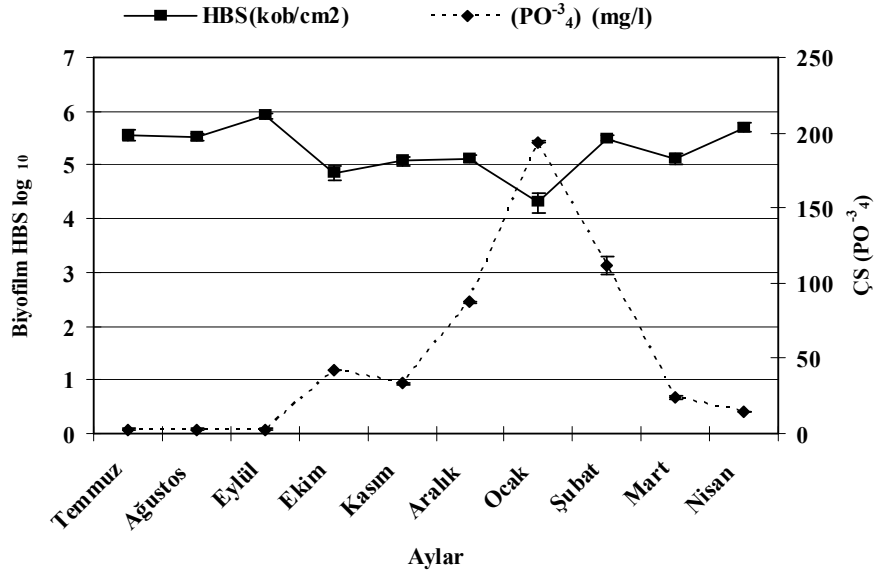
**Şekil 4.3:** Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki aerobik heterotrofik bakteri sayısı. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

İstatistiksel analiz sonucuna göre çıkış suyundaki aerobik heterotrofik bakteriler ile çıkış suyunda bulunan çözülmüş  $PO_4^{3-}$  arasında ters yönde anlamlı bir ilişki ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Şekil 4.4).

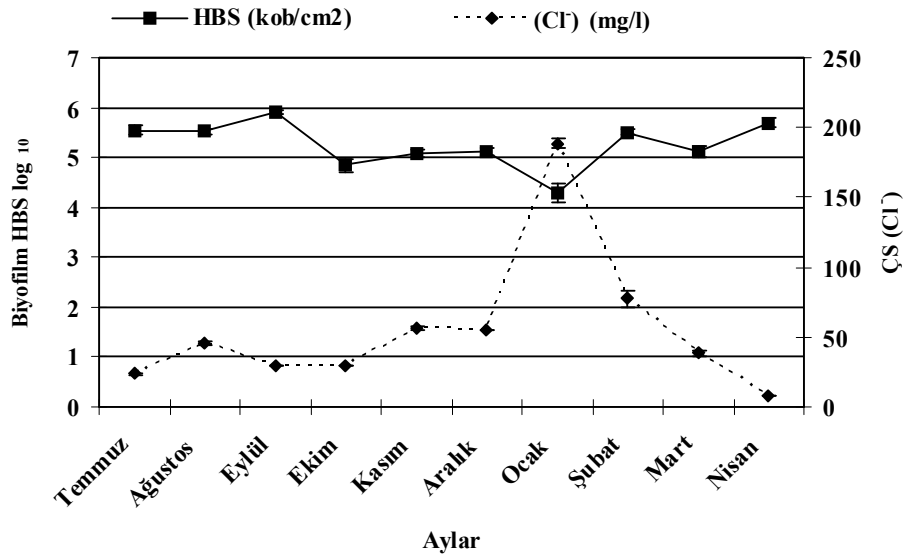


**Şekil 4.4:** Çıkış suyundaki aerobik heterotrofik bakteri sayısı ve çıkış suyundaki çözülmüş ortofosfat değerleri arasındaki ilişki. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Biyofilmde bulunan aerobik heterotrofik bakteriler ile çıkış suyunda bulunan çözünmüş  $PO_4^{-3}$  ve  $Cl^-$  arasında ters yönde anlamlı bir ilişki (sırasıyla  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ) tespit edilmiştir (Şekil 4.5, Şekil 4.6).



Şekil 4.5: Biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakteri sayısı ve çıkış suyundaki çözülmüş ortofosfat değerleri arasındaki ilişki. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.6: Biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakteri sayısı ve çıkış suyundaki klor iyonu değerleri arasındaki ilişki. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Aylara göre soğutma sistemi kule suyu, çıkış suyu ve bakır kupon yüzeylerde oluşan biyofilmdeki SOB sayıları Tablo 4.4 ve Şekil 4.7’de gösterilmiştir.

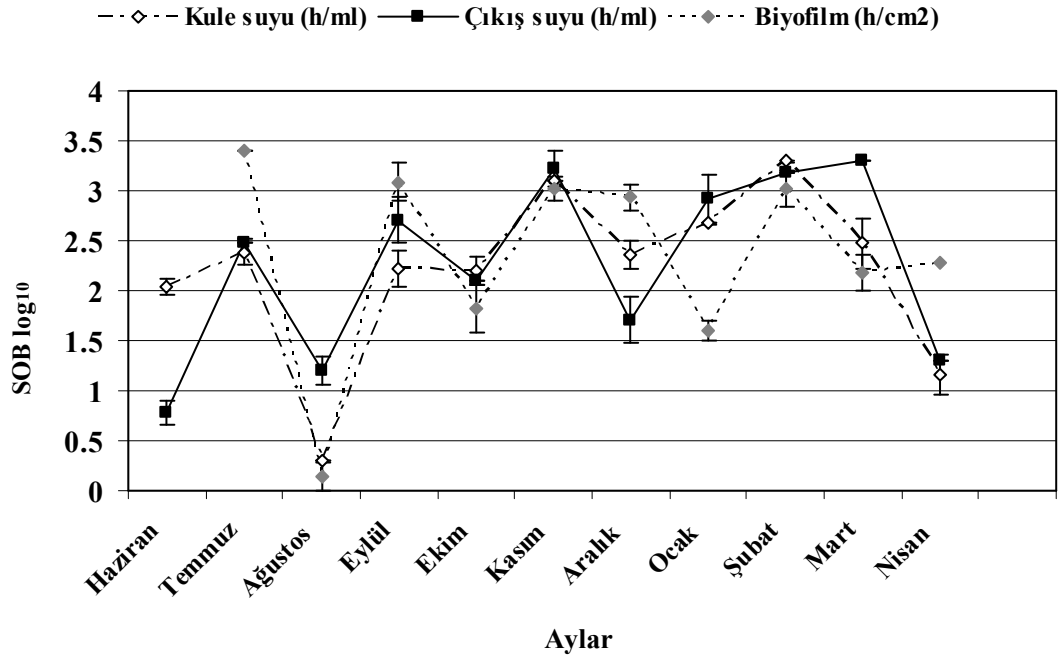
Hem kule suyu hem de biyofilmdeki en düşük SOB sayısı ( $\log_{10}$ ) Ağustos ayında sırası ile 0.30 h/ ml ve 0.15 h/ cm<sup>2</sup> olarak saptanmıştır.

Kule suyu ve çıkış suyunda bulunan SOB sayıları arasında aynı yönde anlamlı ( $p<0.01$ ) bir ilişki bulunmuştur. Benzer olarak kule suyunda bulunan SOB ile aerobik heterotrofik bakteri sayıları arasında da aynı yönde anlamlı bir ilişki ( $p<0.05$ ) tespit edilmiştir. Kule suyu, çıkış suyu ve biyofilmdeki SOB sayıları arasında ortalamalar açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

**Tablo 4.4:** Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki SOB sayıları.

Aylar	SOB Sayıları ( $\log_{10}$ )		
	Kule Suyu (hücre/ml)	Çıkış Suyu (hücre/ml)	Biyofilm (hücre/cm <sup>2</sup> )
<b>Haziran</b>	2.04 ± 0.08	0.79 ± 0.12	
<b>Temmuz</b>	2.39 ± 0.12	2.48 ± 0.01	3.41 ± 0.01
<b>Ağustos</b>	0.30 ± 0.01	1.20 ± 0.14	0.15 ± 0.01
<b>Eylül</b>	2.22 ± 0.18	2.71 ± 0.23	3.09 ± 0.14
<b>Ekim</b>	2.20 ± 0.14	2.10 ± 0.01	1.82 ± 0.19
<b>Kasım</b>	3.10 ± 0.01	3.22 ± 0.18	3.03 ± 0.23
<b>Aralık</b>	2.36 ± 0.14	1.71 ± 0.23	2.94 ± 0.12
<b>Ocak</b>	2.68 ± 0.01	2.92 ± 0.25	1.60 ± 0.13
<b>Şubat</b>	3.30 ± 0.01	3.18 ± 0.01	3.02 ± 0.10
<b>Mart</b>	2.48 ± 0.25	3.30 ± 0.01	2.18 ± 0.18
<b>Nisan</b>	1.16 ± 0.20	1.30 ± 0.01	2.29 ± 0.19

±: Standart sapma



**Şekil 4.7:** Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki SOB sayısı. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Aylara göre soğutma sistemi kule suyu, çıkış suyu ve biyofilmdeki SRB sayıları Tablo 4.5 ve Şekil 4.8’de gösterilmiştir.

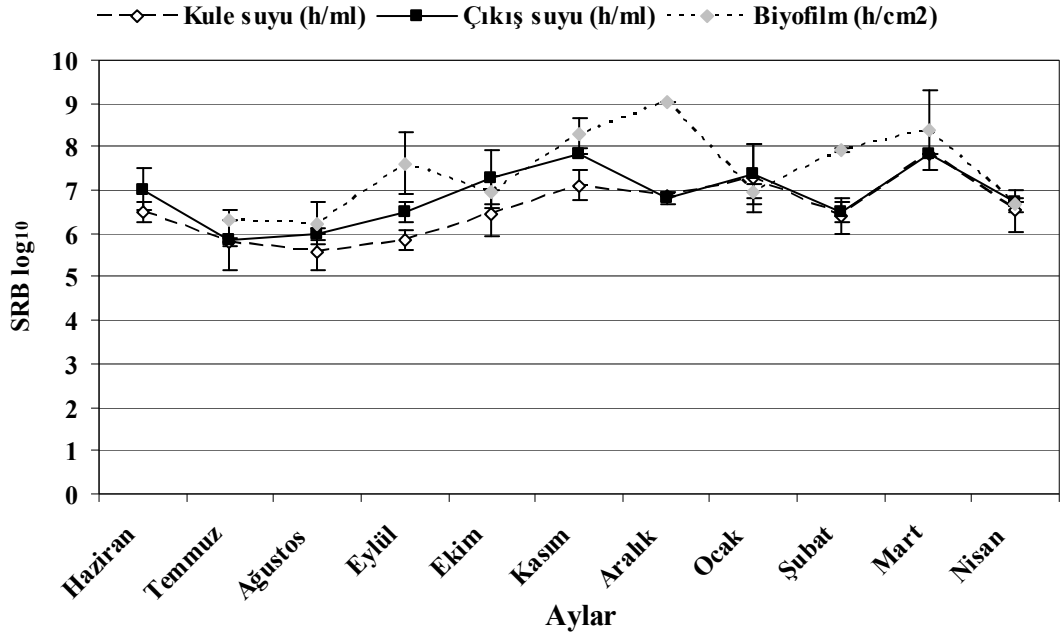
Hem kule suyu hem de biyofilmdeki en düşük SRB sayısı Ağustos ayında ( $\log_{10}$ ) sırası ile 5.59 h/ml ve 6.23 h/cm<sup>2</sup> olarak saptanmıştır. Ocak ayında biyofilmdeki SRB sayısı ( $\log_{10}$  6.98 h/cm<sup>2</sup>) hem kule suyu ( $\log_{10}$  7.29 h/ml) hem de çıkış suyundaki ( $\log_{10}$  7.36 h/ml) SRB sayısından daha düşüktür.

Kule suyundaki SRB sayıları ile çıkış suyundaki SRB sayıları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki ( $p < 0.01$ ) saptanmıştır. Mann-Witney U testine göre biyofilmdeki SRB sayısının kule suyundaki SRB sayısından anlamlı derecede daha fazla olduğu ( $p \leq 0.05$ ) tespit edilmiştir.

**Tablo 4.5:** Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki SRB sayıları.

Aylar	SRB Sayıları ( $\log_{10}$ )		
	Kule Suyu (hücre/ml)	Çıkış Suyu (hücre/ml)	Biyofilm (hücre/cm <sup>2</sup> )
Haziran	6.51 ± 0.23	7.01 ± 0.48	
Temmuz	5.81 ± 0.10	5.85 ± 0.71	6.31 ± 0.01
Ağustos	5.59 ± 0.41	5.99 ± 0.16	6.23 ± 0.48
Eylül	5.84 ± 0.23	6.51 ± 0.23	7.62 ± 0.71
Ekim	6.47 ± 0.53	7.29 ± 0.63	6.95 ± 0.37
Kasım	7.11 ± 0.34	7.85 ± 0.01	8.31 ± 0.36
Aralık	6.85 ± 0.01	6.82 ± 0.12	9.05 ± 0.01
Ocak	7.29 ± 0.78	7.36 ± 0.12	6.98 ± 0.16
Şubat	6.39 ± 0.41	6.51 ± 0.69	7.93 ± 0.06
Mart	7.85 ± 0.01	7.85 ± 0.01	8.39 ± 0.94
Nisan	6.59 ± 0.49	6.74 ± 0.01	6.67 ± 0.16

±: Standart sapma



**Şekil 4.8:** Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki SRB sayıları. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

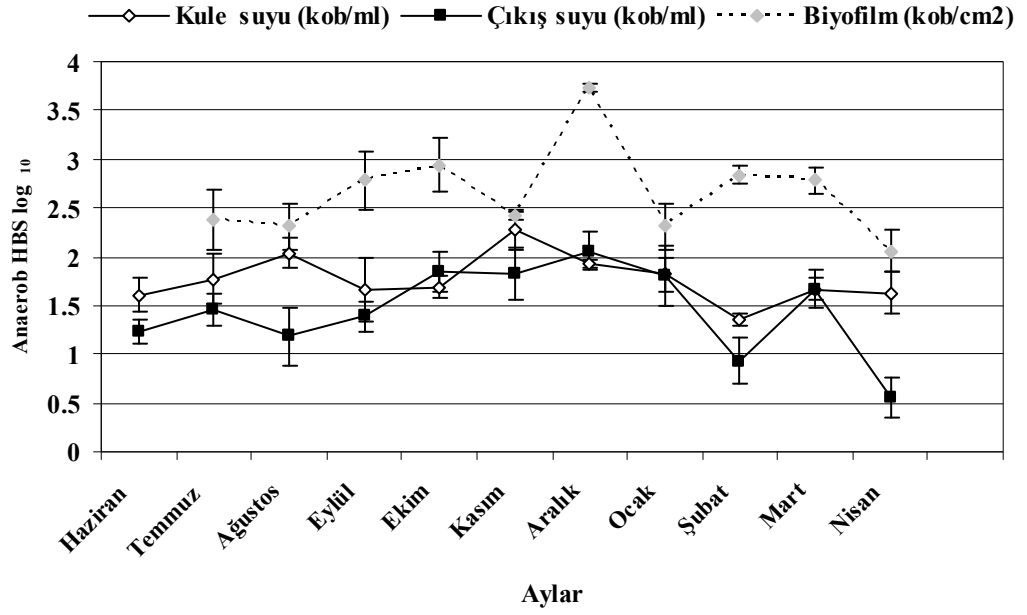
Aylara göre soğutma sistemi kule suyu, çıkış suyu ve bakır kupon yüzeylerde oluşan biyofilmdeki anaerobik heterotrofik bakteri sayıları Tablo 4.6 ve Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

Biyofilmdeki anaerobik heterotrofik bakteri sayılarının kule ve çıkış suyunda bulunan anaerobik heterotrofik bakteri sayılarından daha yüksek olduğu (sırasıyla  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ) tespit edilmiştir (Şekil 4.9).

**Tablo 4.6:** Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki anaerobik heterotrofik bakteri sayıları.

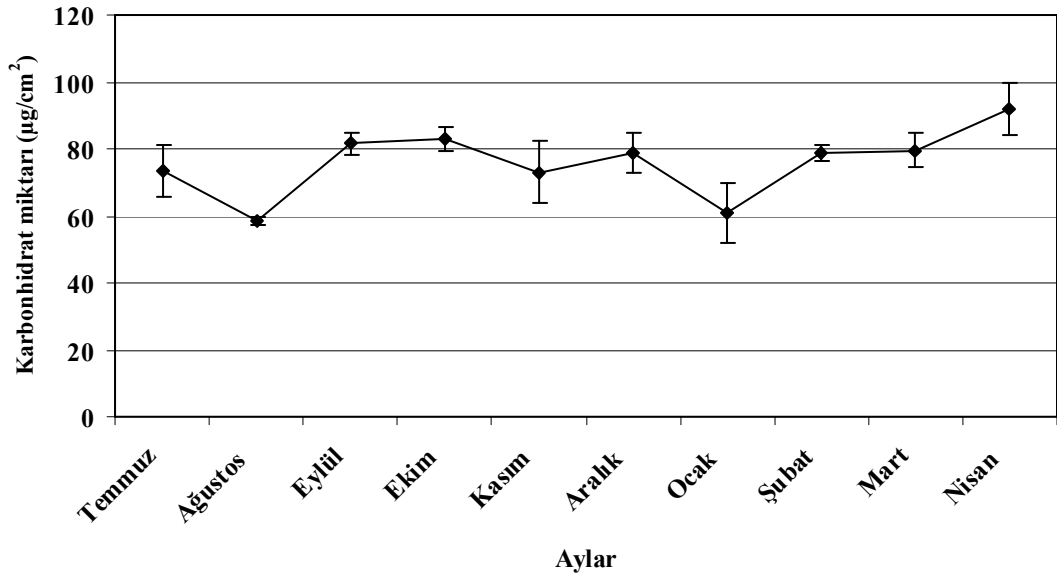
Aylar	Anaerobik Heterotrofik Bakteri Sayıları ( $\log_{10}$ )		
	Kule Suyu (kob/ml)	Çıkış Suyu (kob/ml)	Biyofilm (kob/cm <sup>2</sup> )
<b>Haziran</b>	1.61 ± 0.17	1.23 ± 0.13	
<b>Temmuz</b>	1.77 ± 0.26	1.46 ± 0.16	2.38 ± 0.30
<b>Ağustos</b>	2.04 ± 0.15	1.18 ± 0.30	2.31 ± 0.24
<b>Eylül</b>	1.66 ± 0.32	1.39 ± 0.15	2.78 ± 0.30
<b>Ekim</b>	1.69 ± 0.11	1.85 ± 0.21	2.94 ± 0.28
<b>Kasım</b>	2.27 ± 0.19	1.82 ± 0.27	2.43 ± 0.05
<b>Aralık</b>	1.93 ± 0.04	2.06 ± 0.19	3.74 ± 0.04
<b>Ocak</b>	1.82 ± 0.18	1.80 ± 0.31	2.31 ± 0.24
<b>Şubat</b>	1.35 ± 0.06	0.93 ± 0.24	2.84 ± 0.10
<b>Mart</b>	1.67 ± 0.11	1.67 ± 0.19	2.78 ± 0.14
<b>Nisan</b>	1.63 ± 0.22	0.55 ± 0.21	2.06 ± 0.21

±: Standart sapma



**Şekil 4.9:** Soğutma sisteminin kule suyundaki, çıkış suyundaki ve bakır kuponların yüzeyindeki anaerobik heterotrofik bakteri sayıları. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Şekil 4.10'da biyofilmdeki karbonhidrat miktarlarının aylık değişimleri gösterilmiştir. Biyofilmdeki karbonhidrat miktarı Nisan ayında  $91.72 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ile maksimum değerine ulaşırken, en düşük değer Ağustos ayında  $58.43 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 4.10:** Soğutma sistemine yerleştirilen bakır kuponlarda oluşan biyofilmdeki karbonhidrat miktarları. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda biyofilmde bulunan anaerobik heterotrofik bakteri sayısı ile karbonhidrat miktarı arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki ( $p<0.01$ ) saptanmıştır.

Soğutma sistemi kule suyu, çıkış suyu ve biyofilmden deney süresince *Legionella* cinsi bakteriler izole edilmemiştir.

## 4.2 KONTROL DÜZENEĞİ

Deney düzeneğinde olduğu gibi steril kontrol düzeneğindeki suyun da her ay pH, ÇO, iletkenlik, TÇM, toplam alkalinite,  $Cl^-$ ,  $H_2S$ ,  $SO_4^{-2}$ , çözülmüş  $PO_4^{-3}$  ve sıcaklık değerleri ölçülmüş ve sonuçlar Tablo 4.7'de verilmiştir. Sıcaklık değerlerinin ortalamasının  $28 \pm 2^\circ C$  olduğu bulunmuştur.

Steril kontrol düzenek suyunun kimyasal analizleri sonucunda, genel olarak ölçülen parametrelerin değerlerinin aylara göre büyük farklılıklar göstermediği tespit edilmiştir (Tablo 4.7).

Deney çıkış suyu ile steril kontrol düzenek suyunun fiziko-kimyasal analiz verileri Mann-Witney U testi ile karşılaştırılmıştır. Buna göre deney çıkış suyunun pH, toplam alkalinite, iletkenlik ve TÇM değerlerinin, steril kontrol düzeneği suyundakinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu ( $p<0.01$ ) bulunmuştur. Benzer şekilde  $Cl^-$ , ÇO,  $SO_4^{-2}$  ortalama değerlerinin de anlamlı olarak daha yüksek ( $p<0.05$ ) olduğu görülmüştür.

Kontrol düzenek suyunun sterilitesi düzenli olarak kontrol edilmiş ve deney süresince herhangi bir kontaminasyonun olmadığı tespit edilmiştir.

**Tablo 4.7:** Aylara göre kontrol düzeneği suyunun, pH, ÇO, iletkenlik, TÇM, toplam alkalinite, Cl<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>S, SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> ve çözülmüş PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> değerleri.

Aylar	pH	ÇO (mg/l)	İletkenlik (µS/cm)	TÇM (mg/l)	Toplam alkalinite (mg/l)	Cl <sup>-</sup> (mg/l)	H <sub>2</sub> S (mg/l)	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> (mg/l)	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (µg/l)
<b>Haziran</b>	7.56	7.38	891	619	122.5 ± 3.54	17.34 ± 0.07	0.03 ± 0.04	53.63 ± 0.01	<3
<b>Temmuz</b>	7.96	6.91	984	684	63.75 ± 1.77	20.89 ± 0.07	0.06 ± 0.08	70.03 ± 2.18	66.00 ± 0.01
<b>Ağustos</b>	7.84	7.30	983	684	67.5 ± 3.54	21.88 ± 1.20	0.58 ± 0.03	65.26 ± 0.65	48.50 ± 0.71
<b>Eylül</b>	8.05	7.40	1044	724	85 ± 3.54	22.98 ± 0.57	0	71.26 ± 0.44	83.50 ± 3.54
<b>Ekim</b>	8.19	8.90	1018	706	97.5 ± 3.54	20.57 ± 0.28	0.38 ± 0.10	68.80 ± 0.44	45.50 ± 0.71
<b>Kasım</b>	8.20	8.20	816	568	100 ± 0.01	18.72 ± 1.13	0	108.54 ± 0.54	80.50 ± 2.10
<b>Aralık</b>	7.59	8.20	771	541	113.75 ± 1.77	12.62 ± 0.57	0	69.72 ± 0.44	61.00 ± 4.24
<b>Ocak</b>	7.91	7.90	696	337	82.5 ± 3.54	11.38 ± 0.07	0	78.18 ± 2.40	96.00 ± 1.41
<b>Şubat</b>	7.21	7.30	687	465	87.5 ± 3.54	10.35 ± 0.14	0	67.42 ± 1.09	71.00 ± 1.41
<b>Mart</b>	7.65	6.90	718	448	122.5 ± 3.54	10.92 ± 0.14	0	51.88 ± 0.40	75.00 ± 2.80
<b>Nisan</b>	7.91	7.50	698	340	92.5 ± 3.54	12.52 ± 0.21	0	56.03 ± 1,10	83.50 ± 2.10

µS: MikroSiemens; ±: Standart sapma

### 4.3 KOROZYON

Deney sistemi ve kontrol düzeneğindeki bakır kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarının aylara göre değişimi Tablo 4.8 ve Şekil 4.11’de gösterilmiştir. Deney sistemindeki bakır kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir ( $p < 0.01$ ). Nisan ayında bakır kuponlarındaki ağırlık kaybı maksimum değerine ulaşmıştır ( $1.63 \pm 0.08$  mg/cm<sup>2</sup>).

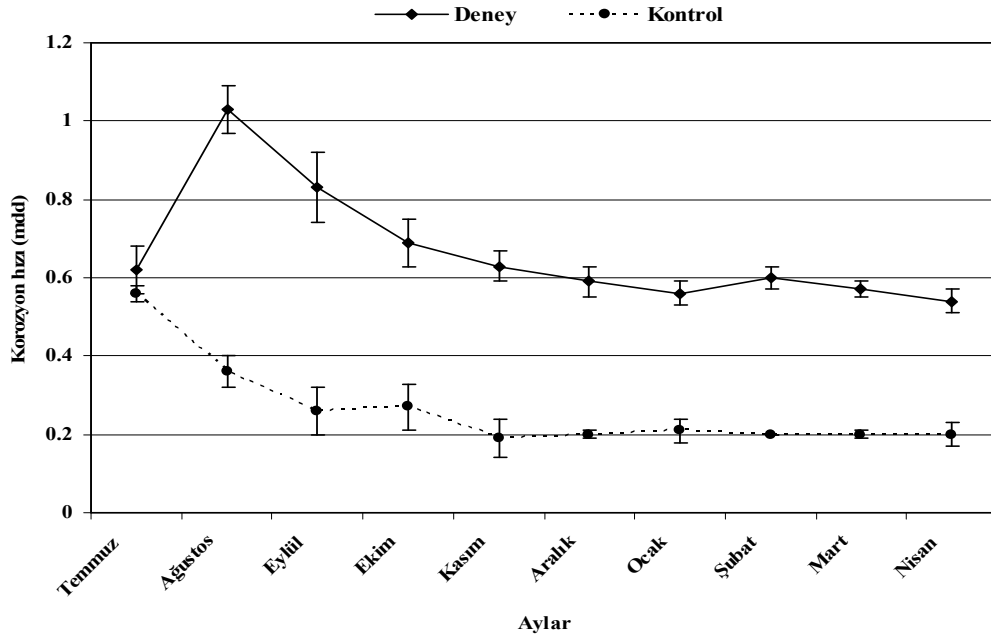
Kontrol düzeneğindeki bakır kuponlarında ağırlık kayıplarının zamana bağlı olarak arttığı ve Nisan ayında maksimum değerine ( $0.62 \pm 0.02$  mg/cm<sup>2</sup>) ulaştığı tespit edilmiştir.

**Tablo 4.8:** Deney ve kontrol düzeneğindeki bakır kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarının oranı.

Aylar	Ağırlık kaybı ortalaması (mg/cm <sup>2</sup> )		Korozyon hızı (mdd)		Oran (deney/kontrol)
	deney	kontrol	deney	kontrol	
<b>Temmuz</b>	0.18 ± 0.03	0.13 ± 0.04	0.59	0.45	1.31
<b>Ağustos</b>	0.62 ± 0.03	0.21 ± 0.02	1.03	0.36	2.86
<b>Eylül</b>	0.75 ± 0.08	0.23 ± 0.06	0.83	0.26	3.19
<b>Ekim</b>	0.82 ± 0.07	0.32 ± 0.08	0.69	0.27	2.56
<b>Kasım</b>	0.95 ± 0.06	0.28 ± 0.07	0.63	0.19	3.32
<b>Aralık</b>	1.06 ± 0.07	0.36 ± 0.03	0.59	0.20	2.95
<b>Ocak</b>	1.17 ± 0.06	0.44 ± 0.07	0.56	0.21	2.67
<b>Şubat</b>	1.45 ± 0.07	0.44 ± 0.05	0.60	0.20	3.00
<b>Mart</b>	1.55 ± 0.06	0.55 ± 0.03	0.57	0.20	2.85
<b>Nisan</b>	1.63 ± 0.08	0.62 ± 0.02	0.54	0.21	2.57

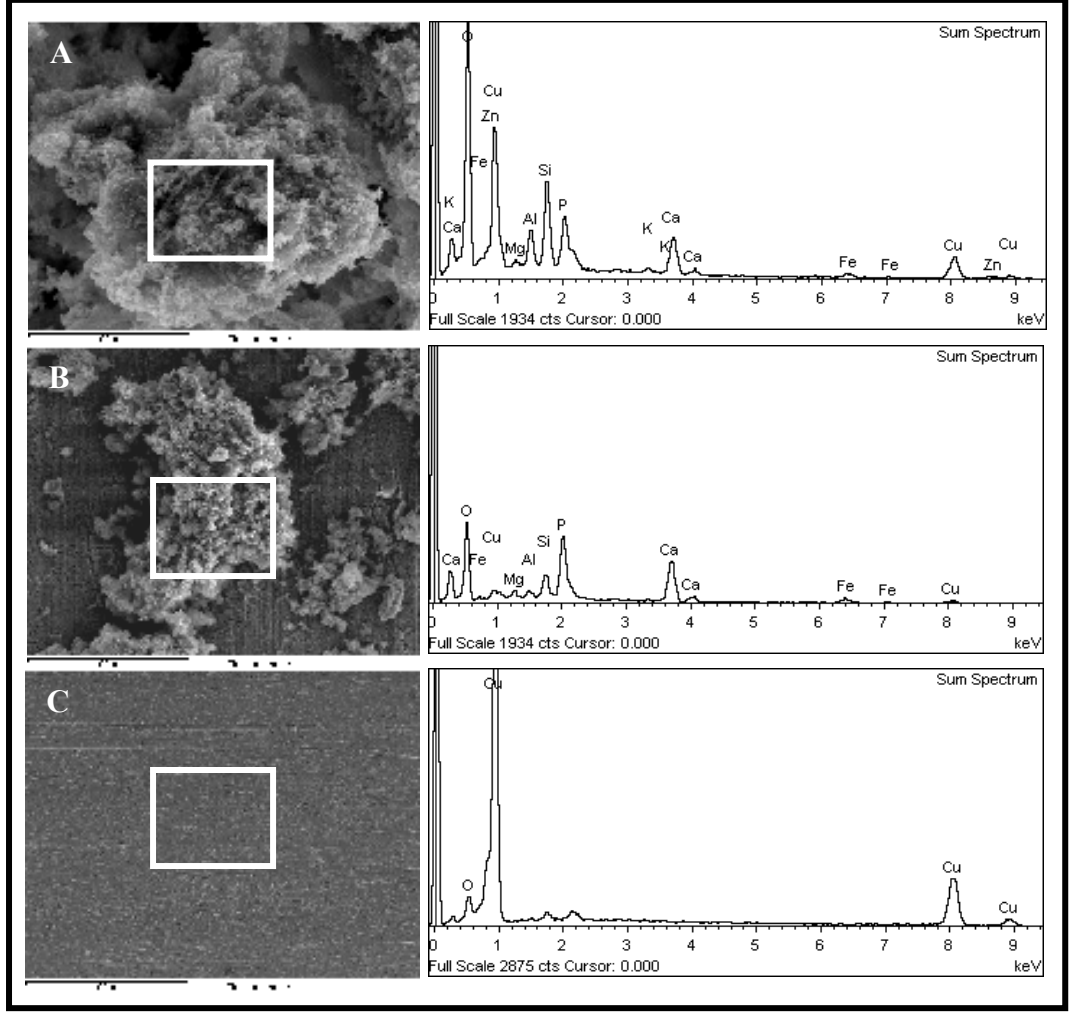
±: Standart sapma; mdd: mg/dm<sup>2</sup>.gün

Deney ve kontrol kuponlarının ağırlık kayıplarının ortalamaları arasındaki farkın anlamlı olduğu ( $p < 0.01$ ) ve deney kuponlarının ağırlık kaybının kontrol kuponlarından daha fazla olduğu tespit edilmiştir.



**Şekil 4.11:** Deney süresince sistemdeki ve kontrol düzeneğindeki bakır kuponların korozyon hızları. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Deney kuponlarının korozyon hızının kontrol kuponlarınınkinden anlamlı derecede daha fazla olduğu saptanmıştır ( $p < 0.01$ ). Deney kuponlarının korozyon hızının kontrol kuponlarının korozyon hızına olan oranı zamanla değişkenlik göstermiş ve en yüksek korozyon hızı oranı Kasım ayında 3.32 olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 4.12:** Bakır yüzeylerde oluşan korozyon ürünlerinin EDS analizi; (A) Deney düzeneğinde 1 ay bırakılan kupon; (B) Deney düzeneğinde 10 ay bırakılan kupon; (C) Steril kontrol düzeneğinde 10 ay bırakılan kontrol kuponu. (A, B ve C) bar = 100  $\mu\text{m}$ .

Şekil 4.12.'de (A), deney düzeneğinde 1 ay tutulan bakır kupon yüzeyinin EDS profilini göstermektedir. Grafikte O, Fe, Zn, Cu piklerinin K, Ca, Mg, Al, Si, ve P piklerine göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Şekil 4.12.(B)'de deney düzeneğinde 10 ay tutulan bakır kupon yüzeyinin EDS analiz sonucu görülmektedir. Grafikte O, Cu, Fe, P ve Ca'un yüksek piklerinin yanısıra Si, Mg ve Al pikleri de gözlenmiştir. (A)'da yüksek pik veren Zn (B)'de görülmemektedir. (C), steril kontrol düzeneğinin EDS analiz

sonucunu göstermektedir. Grafikte yüksek Cu piki ve düşük O piki görülmekte olup başka bir elemente raslanmamıştır.

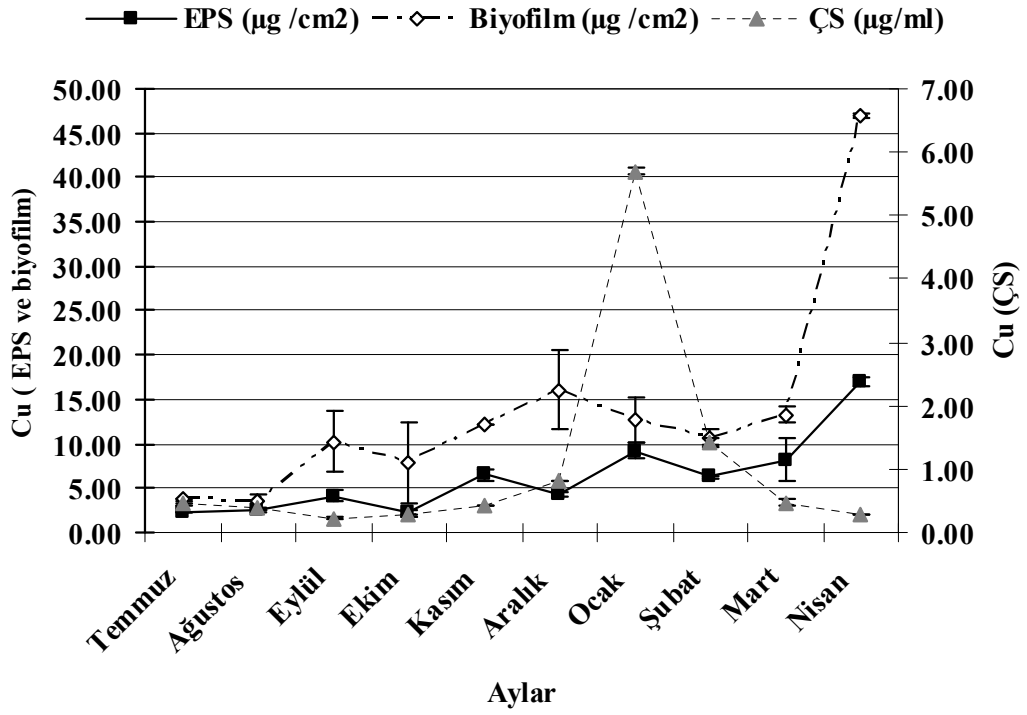
Soğutma sistemindeki çıkış suyu, biyofilm ve EPS'deki bakır miktarları Tablo 4.9 ve Şekil 4.13'de gösterilmiştir. Cu konsantrasyonunun en yüksek biyofilmde en düşük ise suda olduğu görülmektedir. Biyofilm ve EPS'deki en yüksek Cu konsantrasyonu Nisan ayında  $46.85 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ve  $16.96 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  değerlerinde saptanırken çıkış suyunda Ocak ayında  $5.70 \mu\text{g}/\text{ml}$  olarak tespit edilmiştir. Biyofilm ve EPS'deki Cu konsantrasyonları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişkinin ( $p<0.05$ ) olduğu görülmüştür. SRB sayısı ile biyofilmdeki Cu konsantrasyonu arasında ilk 9 ay değerlendirildiğinde aynı yönde anlamlı bir ilişki ( $p<0.01$ ) saptanmıştır. Hem biyofilm hem de EPS'deki Cu konsantrasyonu ile kupon ağırlık kaybı arasında anlamlı bir ilişki ( $p<0.01$ ) tespit edilmiştir.

Deney süresince kontrol düzeneği suyundaki ve filmdeki Cu konsantrasyonu Şekil 4.14'te gösterilmiştir. Hem su hem de filmdeki Cu konsantrasyonunun zamanla arttığı tespit edilmiştir (sırası ile  $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ). Sudaki en yüksek Cu değeri Ocak ayında  $8.14 \mu\text{g}/\text{ml}$  olarak tespit edilirken, filmdeki en yüksek konsantrasyon  $11.85 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak saptanmıştır. Kontrol düzenek suyu ve filmdeki Cu konsantrasyonları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki ( $p<0.05$ ) tespit edilmiştir.

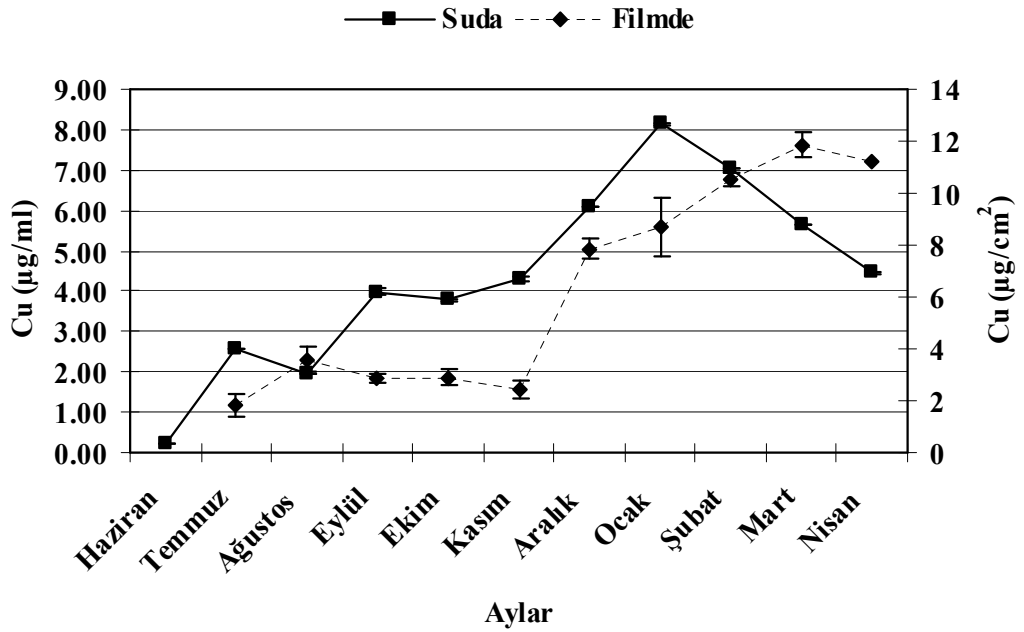
**Tablo 4.9:** Aylara göre soğutma sistemi çıkış suyu, biyofilm ve EPS'deki Cu konsantrasyonu

Aylar	Cu Konsantrasyonu		
	ÇS ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Biyofilm ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	EPS ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )
<b>Haziran</b>	$0.37 \pm 0.01$		
<b>Temmuz</b>	$0.45 \pm 0.01$	$3.69 \pm 0.16$	$2.36 \pm 0.01$
<b>Ağustos</b>	$0.38 \pm 0.01$	$3.56 \pm 0.87$	$2.47 \pm 0.09$
<b>Eylül</b>	$0.23 \pm 0.01$	$10.2 \pm 3.41$	$4.17 \pm 0.63$
<b>Ekim</b>	$0.27 \pm 0.01$	$7.92 \pm 4.51$	$2.17 \pm 0.27$
<b>Kasım</b>	$0.42 \pm 0.01$	$12.1 \pm 0.03$	$6.49 \pm 0.73$
<b>Aralık</b>	$0.81 \pm 0.01$	$16.1 \pm 4.42$	$4.32 \pm 0.22$
<b>Ocak</b>	$5.70 \pm 0.06$	$12.7 \pm 2.5$	$9.23 \pm 0.95$
<b>Şubat</b>	$1.41 \pm 0.07$	$10.8 \pm 0.95$	$6.23 \pm 0.08$
<b>Mart</b>	$0.47 \pm 0.05$	$13.31 \pm 0.79$	$8.24 \pm 2.39$
<b>Nisan</b>	$0.28 \pm 0.01$	$46.85 \pm 0.25$	$16.96 \pm 0.55$

±: Standart sapma

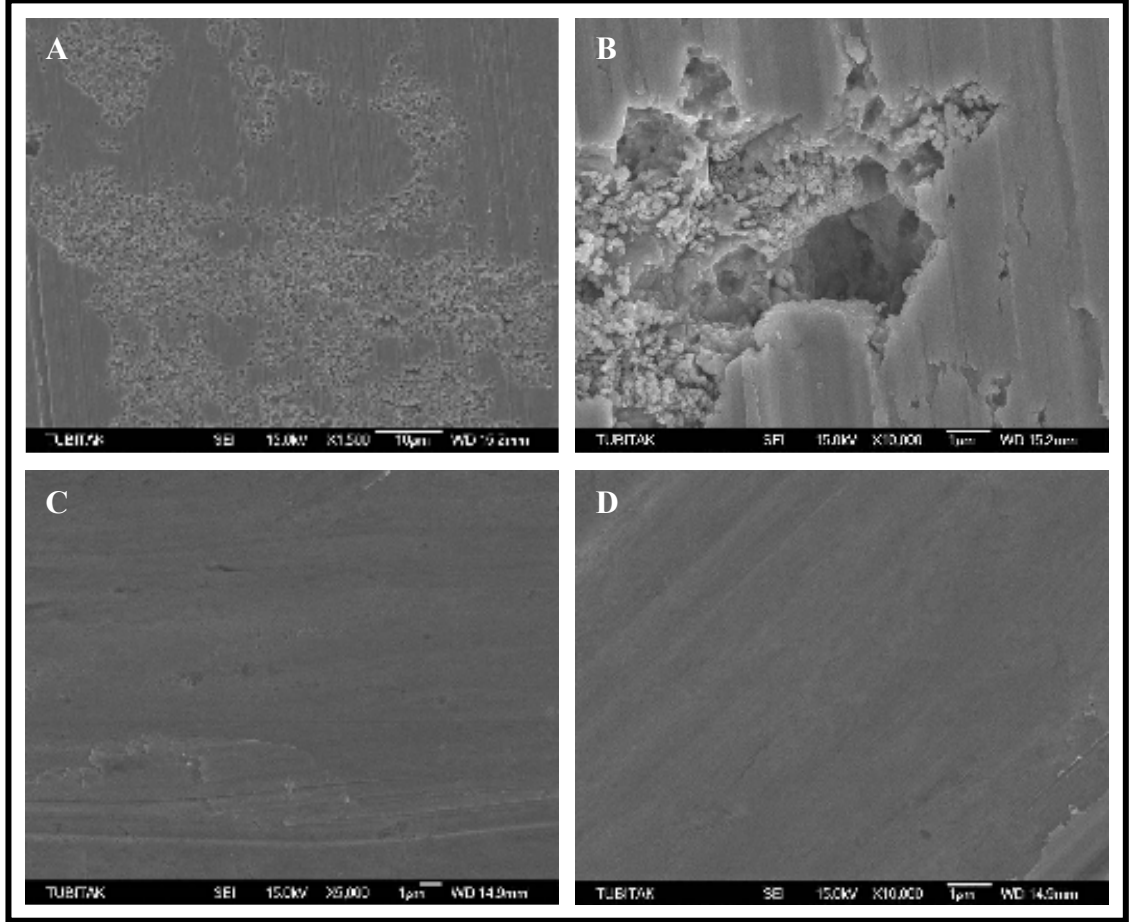


Şekil 4.13: Aylara göre soğutma sistemi çıkış suyu, biyofilm ve EPS'deki Cu konsantrasyonu. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.14: Aylara göre steril kontrol düzenek su ve filmdeki Cu konsantrasyonu. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Şekil 4.15'te A ve B'de deney düzeneğindeki bakır kuponların yüzeylerinde oluşan hasarlar görülmektedir. Deney düzeneğindeki bakır kuponlarda oluşan çukur şeklindeki hasarlar, kontrol düzeneğindeki bakır kuponlarda (C ve D) görülmemektedir.



Şekil 4.15: Bakır yüzeylerde oluşan korozyon hasarlarının SEM mikrografları; (A, B) Deney düzeneğinde 9 ay bırakılan kupon; (C, D) Steril kontrol düzeneğinde 10 ay bırakılan kontrol kuponu.

## 5 TARTIŞMA VE SONUÇ

Bakır ısı ve elektriği yüksek oranda ileten, biofaulinge ve korozyona karşı dirençli bir metal olduğundan soğutma kulelerinde de kullanılan ısı değiştiriciler ve içme suyu sistemleri borularında yaygın olarak kullanılmaktadır (Arens ve diğ., 1995; Critchley ve diğ., 2003; Kjellerup ve diğ., 2006). Mikroorganizmaların, buldukları sıvı ortamlarda biyofilm oluşumuna neden olmaları kaçınılmazdır. Biyofilm oluşumu ve buna bağlı olarak oluşan MIC çok sayıda endüstri çevrelerinde büyük maddi kayıplara neden olmaktadır. Bakırın mikrobiyolojik korozyona uğramadığı düşünölmüş ancak yapılan çalışmalar sonucu bakır (II) iyonlarına karşı tolerans gösterebilen bakterilerin olduğu ve bakırın bu bakteriler tarafından korozyona uğratılabildiği rapor edilmiştir (Dutkiewicz ve Fallowfield, 1998; Critchley ve diğ., 2004). Ancak su soğutma sisteminde biyosit ve korozyon frenleyici eklenen bir ortamda bakırın mikrobiyolojik korozyonunun incelendiği benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma kapsamında biyosit ve korozyon frenleyici eklenen su soğutma sisteminde bulunan bakterilerin bakırın mikrobiyolojik korozyonundaki etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızda deney düzeneğinde yapılan su analizleri sonucunda soğutma sistemine eklenen suyun pH, iletkenlik, TÇM, toplam alkalinite,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{-2}$  ve çözünmüş  $PO_4^{-3}$  değerlerinin, kule suyu ve çıkış suyu değerlerinden daha düşük olduğu bulunmuştur. Deneylerimizin gerçekleştirildiği su soğutma sistemine ait soğutma kulesi açık tip soğutma kulesidir. Sistem içinde dönen su açık havaya maruz kalarak buharlaştığından, su içinde kalan TÇM ve ona bağlı olarak da iletkenlik artmaktadır (Kazanç, 1992; Choudhary, 1998; Lane ve Peck, 2003; Electric power research institute, 2003). Ayrıca sisteme biyosit ve korozyon frenleyici gibi kimyasal maddelerin eklenmesi de gözönünde bulundurulduğunda sisteme eklenen suya ait kimyasal değerlerin sistem kule suyu ve çıkış suyu değerlerinden farklı olması beklenen bir sonuçtur.

İletkenlik ve TÇM'nin artmasını kontrol altında tutabilmek amacıyla sistemden su boşaltılıp yeni su eklenmektedir. Deney düzeneğimizi kurduğumuz su soğutma

sisteminden suyun boşaltılması, sisteme boşaltılan ve buharlaşan su miktarı kadar suyun eklenmesi ile birlikte biyosit ve korozyon inhibitörünün belirlenen miktarlarda sisteme verilmesi otel personelinin inisiyatifine bırakılmış ve sistemin işleyişine herhangi bir müdahalede bulunulmamıştır. Bununla beraber gerçek sistemde kullanılan biyosit ve korozyon frenleyici miktarı hesaplanarak aynı oranda bizim tarafımızdan steril kontrol düzeneğine eklenmiştir. Ayrıca her ay 2 kez düzenli olarak düzenekten su boşaltılmış ve sisteme eklenen su steril edilerek kontrol düzeneği 8 litreye tamamlanmıştır. Bu işletim koşulları altında deney düzenek ve steril kontrol düzenek suyunun kimyasal analizleri yapılmıştır. Deney çıkış suyu ile steril kontrol düzenek suyu kimyasal analiz verileri Mann-Witney U testi ile karşılaştırılmış, deney çıkış suyunun pH, toplam alkalinite, iletkenlik, TÇM,  $Cl^-$ ,  $CO$  ve  $SO_4^{2-}$  değerleri ortalamalarının, steril kontrol düzeneği suyundakinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedenleri kontrol düzeneğinin gerçek sistem şartlarına uygun tasarlanmış olsa da steril bir ortam sağlamak amacı ile kapalı bir sistem olması (her ne kadar hava akışı sağlanıyor olsa da) ve işletim koşulları gerçek sistemde olduğu gibi personel inisiyatifinde olmaması (biyosit kullanım düzeni) olabilir.

İletkenlik, TÇM, pH,  $Cl^-$  ve  $SO_4^{2-}$  parametrelerinin korozyonda etkili oldukları çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Broo ve diğ., 1997; Broo ve diğ.,1999; Souissi ve Triki, 2008). Bu parametreler için önerilen değerler (Socoro de Almeida ve diğ.,1997; Lane ve Peck, 2003; Electric power research institute, 2003; Hilbert, 2006) çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında kule ve çıkış sularında korozyonda önemli etkisi olan iletkenlik ve TÇM değerlerinin bazı aylarda önerilen değerlerden (sırasıyla  $<1200\mu S/cm$ ,  $<500 mg/l$ ) daha yüksek olduğu görülmüştür. Bununla birlikte Hilbert (2006) bizim çalışmamızdaki pH aralığında gerçekleştirdiği çalışmada yüksek iletkenlik değerinin tek başına korozyon oranını arttırmadığını ve böylece korozyon riski oluşturmadığını rapor etmiştir. Hem kule hem de çıkış suyundaki tüm fiziko-kimyasal parametrelerin değerlerinin özellikle yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun örnek alımından bir gün önce sisteme eklenen biyositten kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca hem kule hem de çıkış suyunda özellikle iletkenlik ve TÇM değerlerinin Aralık, Ocak, Şubat ve Mart aylarında yüksek olmasının nedeninin Aralık ayında sisteme bağlı çalışan iletkenlik cihazının bozulması ve su boşaltma/ ekleme işleminin yeterli performansta yapılamamış olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Deney düzeneğinin kurulduğu su soğutma sisteminde fosfat içeren korozyon inhibitörü kullanılmaktadır. Fosfatın korozyonu azalttığı ve fosfatın tükenmesi durumunda ise korozyonun hızlandığı bildirilmiştir (Franklin ve diğ., 1991; Li ve diğ., 2004). Ancak, sistemin kule suyu ve çıkış suyu örneklerinin analizi sonucunda Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında çözünmüş  $PO_4^{-3}$  çok düşük değerlerde saptanmıştır. Bu aylarda havanın sıcaklığından dolayı sistemden daha fazla su boşaltma/ ekleme yapılmış olabilir.

Yapılan bir çalışmada soğutma sistemlerinde kaliteli su kullanılarak mikrobiyolojik problemlerin olup olmayacağı araştırılmış ve sonuç olarak suda çok az sayıda mikroorganizmanın olmasının bile ileride sistemin mikrobiyolojik problemlerle karşı karşıya kalabileceği gösterilmiştir (Kjellerup, 2006). Başka bir çalışmada da kullanılan suyun kalitesinin iyi olmasının ısı değiştiricilerde biyofilm ve biyokorozyon oluşumunu engellemediği bildirilmiştir (Roanova ve diğ., 2003).

Çalışmamızda su soğutma sistemine paralel olarak yerleştirilen düzenekteki bakır kuponların yüzeyinde, deney boyunca heterojen yapıda biyofilm tabakasının oluştuğu görülmüştür. Türetgen (2005) yaptığı çalışmada bizim sonucumuza benzer şekilde bakır yüzeylerde heterojen yapıda bir biyofilm oluşumunu tespit etmiştir. Heterojen yapı yüzey alanının artmasına neden olur böylece besin ve ürün transferinin daha etkin olmasını sağlar (Santegoeds ve diğ., 1998).

Bakırın mikroorganizmalara karşı toksik etkisi olduğu bilinmesine karşın (Liu ve diğ., 2000; Fang ve diğ., 2002; Lethola ve diğ., 2004), deneylerimizde aerobik heterotrofik bakterilerin, SOB'un, SRB'nin ve anaerobik heterotrofik bakterilerin bakır kuponların yüzeyinde biyofilm tabakası oluşturabildikleri saptanmıştır. SEM fotoğrafları da bakterilerin bakır yüzeye tutunabildiklerini ve kolonize olabildiklerini göstermektedir. Nitekim Keevil (1989) yaptığı çalışmada su soğutma sistemlerindeki bakır boru yüzeylerinde bakteriyal topluluğun varlığını göstermiştir.

Flemming ve diğ. (1996), bakır yüzeylerde oluşan biyofilmdeki bakteri sayısının diğer yüzeylerde oluşan biyofilmdeki bakteri sayılarından daha düşük olduğunu bildirmiştir. Aynı araştırmacılar bu sonucu bakıra dirençli olan bakterilerin ilk olarak yüzeye tutunup

yüzeyin özelliklerini değiştirerek bakıra hassas olan bakterilerin biyofilme eklenmelerini sağladığı şeklinde yorumlamışlardır. Yapılan diğer çalışmalarda da bakır (II) iyonlarının çok sayıdaki organizma için toksik olduğu ama karışık kültürlerdeki toleranslı suşların düşük toleranslı suşları koruyabileceği rapor edilmiştir (Little ve diğ.,1992; Little ve Lee, 2007). Başka bir çalışmada ise Cu yüzeye tutunan bakteri sayısının diğer metal yüzeylere tutunan bakteri sayısına ancak 200 günden sonra yaklaştığı, 200 güne kadar bakır yüzeylerin heterotrofik bakteriler üzerine toksik etkisinin bulunduğu bildirilmiştir (Lethola ve diğ., 2004). Norton ve diğ. (2004) yaptıkları çalışmada demir ve galvanizli boru yüzeylerindeki aerobik heterotrofik bakteri sayısının bakır yüzeylerdeki bakteri sayısından daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmaların aksine Türetgen (2005) yaptığı çalışmada 6 ay süresince farklı yüzeylerde biyofilm oluşumunu incelemiş ve ilk aydan itibaren aerobik heterotrofik bakteri sayısının en fazla bakır ve galvanizli çelik yüzeylerde olduğunu bildirmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada ise ilk aydan itibaren aerobik heterotrofik bakteri sayısının oldukça yüksek olduğu ve 10 ay süresince de genel olarak plato fazında kaldığı gözlemlenmiştir. Minnoş (2008) aynı koşullar altında galvanizli çelik yüzeylerde gerçekleştirdiği çalışmasında benzer sonuçlar rapor etmiştir. Aerobik heterotrofik bakterilerin kule suyu, çıkış suyu ve biyofilmdeki sayıları arasında ortalamalar açısından anlamlı bir fark saptanamamıştır. Bununla birlikte geçmişte biyositsiz ortamda yapılan diğer çalışmalarda biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakteri sayısının sudakinden daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Türetgen, 2005; İlhan-Sungur, 2007) Bu sonuçlar sisteme eklenen biyositin biyofilme parçalanmalara yol açarak bakterilerin kümeler halinde su fazına geçtiğinin bir göstergesidir. Nitekim, Ocak ayında örneklemeden 1 gün önce sisteme biyosit eklenmiş ve biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakteri sayısının kule ve çıkış suyundaki bakteri sayısından daha az olduğu gözlenmiştir.

Çıkış suyunda bulunan aerobik heterotrofik bakteri sayıları ile biyofilme bulunan aerobik heterotrofik bakteri sayıları arasında aynı yönde anlamlı ( $p<0.05$ ) bir ilişki bulunmuştur. Benzer olarak Almeida ve França (1998) planktonik bakteri sayısında artış olduğunda metal yüzeye tutunan bakterilerin sayısında da artış olduğunu ve planktonik bakterilerle mikroorganizmaların tutunması arasında bir ilişki olduğunu göstermişlerdir.

Çıkış suyunda ve biyofilmde bulunan aerobik heterotrofik bakteriler ile çıkış suyundaki çözülmüş  $PO_4^{-3}$  değeri arasında ters yönde anlamlı bir ilişki ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. Bu sonuç bakterilerin çözülmüş  $PO_4^{-3}$ 'ü besin olarak kullanarak sayılarını arttırdıkları ya da bakteri sayısının biyosit uygulaması ile azaldığında çözülmüş  $PO_4^{-3}$  değerinin arttığı şeklinde yorumlanabilir. (Lehtola ve diğ., 1999; Keinanen ve diğ., 2002). Bununla beraber çalıştığımız sistemde fosfat içerikli korozyon frenleyici kullanılmakta ve miktarı sabit tutulmaktadır. Aynı zamanda fosfat bakteriler tarafından besin kaynağı olarak kullanılmaktadır (Appenzeller ve diğ., 2001; Batte ve diğ., 2003; Park ve diğ., 2008). Bir yandan sistemde biyosit kullanılarak biyofilm oluşumu ve buna bağlı olarak da mikrobiyolojik korozyonun engellenmesi hedeflenirken, diğer yandan biyositin korozyon etkisini ortadan kaldırmak için kullanılan korozyon frenleyici içindeki fosfatın bakteriler tarafından besin maddesi olarak kullanılması bir çelişki gibi görülmektedir.

Klor, suların dezenfeksiyonunda yıllardan beri sıklıkla kullanılmaktadır (LeChevallier ve diğ., 1988; Norton ve LeChevallier, 2000; Rivera ve diğ., 2007). Biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakteriler ile çıkış suyunda bulunan  $Cl^-$  değeri arasında ters yönde anlamlı ( $p<0.05$ ) bir ilişki tespit edilmiştir. Bu sonuç mevcut  $Cl^-$  miktarının biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakterileri etkilediğinin bir göstergesidir. Anaerobik bakteri sayıları ile  $Cl^-$  arasında herhangi bir ilişkinin saptanmaması ise  $Cl^-$ 'un biyofilmin alt katmanlarına yeterli derecede etki edemediği şeklinde yorumlanabilir.

SOB'un su örnekleri ve biyofilm örneklerinde saptanan sayıları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bunun nedeni aerobik olan bu bakterilerin biyofilmin üst katmanında yer almalarından dolayı dış ortam koşullarının direkt etkisi altında kalmaları ve dış koşullardan anaerobik bakterilere göre daha fazla etkilenmeleri olabilir (Bryers ve Characklis, 1982; Characklis ve Cooksey, 1983; Costerton ve diğ., 1987). Genel olarak incelenen bakterilerin özellikle de SOB sayılarının Ağustos ayında bir düşüş yaşadığı gözlemlenmiş ama nedeni tespit edilememiştir. SRB tarafından üretilen  $H_2S$ 'in, SOB tarafından kullanıldığı bildirilmiştir (Roberts ve diğ., 2002). Ancak bizim çalışmamız bu sonucu desteklememektedir. Bunun nedeni sistemimizde biyosit olması ve SOB'ların biyositten etkilenmiş olmaları dışında  $H_2S$ 'in biyofilmin dışına difüze olamaması olabilir (Santegoeds ve diğ., 1998). Bu sonuç EDS analizleri ile de desteklenmektedir. Analiz sonucu S piklerine rastlanmamıştır. Oysa biyofilmden

SRB izolasyonu yapılmıştır. Bu sonuca göre H<sub>2</sub>S biyofilmin alt kısımlarında kükürt bileşiklerini oluşturmuş ve EDS cihazı tarafından derinde olduğu için tespit edilememiş olabilir. SOB ise biyofilmin üst katmanlarında bulunduğundan bu kükürtlü bileşiklerden faydalanamamış olabilir.

Temmuz, Ağustos, Eylül, Ekim, Kasım aylarında kule suyunda bulunan SRB sayılarının çıkış suyunda ve biyofilimde bulunan SRB sayılarından daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca hem kule hem biyofilimdeki en düşük SRB sayısı SOB sayılarında olduğu gibi Ağustos ayında saptanmış ama nedeni tespit edilememiştir. Bu aylarda kule suyundaki ÇO miktarlarının çıkış suyundaki ÇO miktarlarından daha fazla olduğu tespit edilmiştir. SRB anaerobik olduğundan kule suyundaki yüksek ÇO'nun, kule suyunda bulunan SRB'ye toksik etki göstermiş olabileceği düşünülmektedir (Johnson ve diğ., 1997; Dolla ve diğ., 2006). SRB için oksijenin toksik olduğu bilinmesine rağmen SRB'nin bazı suşlarının oksijene karşı tolerans gösterdiği bildirilmiştir (Baumgartner ve diğ., 2006). Ocak ayında biyofilimdeki SRB sayısının çıkış ve kule suyundakinden daha düşük olması biyosit uygulamasının etkisi ile biyofilimden parçaların kopması ve SRB'nin su fazına geçmesi olarak düşünülebilir. SRB sayısının biyofilimde genelde daha yüksek olmasının sebebi biyofilimlerde difüzyonun sınırlı olmasından dolayı alt katmanlarında anoksik bir zonun oluşması olabilir. 4 µm biyofilm kalınlığının anoksik zon oluşumu için yeterli olduğu ve bu durumda aerobik ve anaerobik bakterilerin yakın ilişkide olabildikleri bilinmektedir (Hamilton, 1985; Stewart, 2003).

Biyofilimdeki anaerobik heterotrofik bakteri sayısının kule ve çıkış suyundakine göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Kule suyu, çıkış suyu ve biyofilimde bulunan anaerobik heterotrofik bakteri sayıları arasında ortalamalar açısından anlamlı ( $p<0.01$ ) bir fark tespit edilmiştir. Biyofilimdeki anaerobik heterotrofik bakteri sayısının sudakinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde Ilhan-Sungur (2007) ve Minnoş (2008) çalışmalarında galvanizli çelik yüzeyde oluşan biyofilimdeki anaerobik heterotrofik bakteri sayılarının, aynı ortamdaki sudan izole edilen anaerobik heterotrofik bakteri sayılarından anlamlı derecede daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Bu sonuç biyofilmin, anaerobik bakterilere büyük avantajlar sağladığını ve sayılarını arttırmada

önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (Bryers ve Characklis, 1982; Characklis ve Cooksey, 1983; Costerton ve diğ., 1987).

Biyofilmdeki karbonhidrat miktarı Nisan ayında  $91.72 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ile maksimum değerine ulaşmıştır. En fazla ağırlık kaybının görüldüğü ay da Nisan ayıdır. Hamilton (1985) karbonhidratların korozyonda önemli bir rolü olduğunu bildirmiştir. Almeida ve França (1998) ekzopolimerlerdeki asidik grupların metalik iyonlardan hücreleri koruyarak bakır ile etkileşebildiklerini göstermişlerdir. Bunun dışında EPS'nin önemli özelliklerinden birinin de metal iyonları ile kompleks yapabilme özelliği olduğu bildirilmiştir (Geesey ve Mittelman, 1986; Beech ve Cheung 1995). Yapılan analizler sonucunda biyofilmde bulunan anaerob heterotrofik bakteri sayısı ile karbonhidrat miktarları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişkiye ( $p < 0.01$ ) rastlanmıştır. Yapılan çalışmalarda yeraltında bulunan demir yapıların korozyona uğramalarındaki ana nedenin anaerobik bakteriler olduğu belirlenmiştir (Videla, 1996). Çalışmamızda Ağustos ve Ocak aylarındaki karbonhidrat miktarlarında keskin bir düşüş görülmüştür. Bu düşüşün nedeni bakterilerin metabolik aktivitelerinin düşmesi dolayısıyla EPS üretiminin azalması olabileceği gibi bakterilerin kendi EPS'lerini tüketmeleri de (Zang ve Bishop, 2003; İlhan-Sungur ve diğ., 2007) olabilir. Nitekim yapılan bazı çalışmalarda EPS'nin SRB ve karışık kültürler tarafından parçalanabileceğini bildirilmiştir (Visscher ve diğ., 1999; Dupraz ve diğ., 2004; İlhan-Sungur ve diğ., 2007).

*Legionella pneumophila* cinsi bakterilerin doğal su ortamlarından soğutma kuleleri, jakuziler ve merkezi klima gibi insan yapımı su sistemlerine geçtiğinde sayılarının arttığı bilinmektedir (Tison ve diğ., 1980; Paszko-Kolva ve diğ., 1991a). Etrafa yayılan kontamine olmuş su damlacıklarının solunması ile de insanda enfeksiyona neden olurlar. Bu nedenle bu bakterilerin sistemde çoğalmasının engellenmesi gerekir. Bunun için de genellikle su sistemlerinde biyosit kullanılır (Prince ve diğ., 2002; Chang ve diğ., 2007). Ancak biyosit uygulandığı halde istenen sonuç alınamayabilir. Bunun nedenleri kullanılan biyosite *L. pneumophila* bakterisinin dirençli olması, bakterilerin kültüre edilemeyen forma geçmesi ya da *L. pneumophila* bakterisinin amiplerin ya da kistlerinin içinde kendini koruyabilmesi olabilir (Brown ve Barker, 1999; Barbeau ve Buhler, 2001; Murga ve diğ., 2001; Cloete, 2003; Thomas ve diğ., 2004; Donlan ve diğ., 2005; Chang ve diğ., 2007; Maillard, 2007). Çalışmamız sonucunda ne kule ve

çıkış suyunda ne de biyofilmde *Legionella* cinsi bakterilerin varlığına rastlanmamıştır. Bu sonuç bize ya sistemde uygulanan biyositin bu bakterilerin üremesini engellediğini ya da *L. pneumophila* bakterilerinin biyosit uygulamasından dolayı canlı olup kültüre edilemeyen formda da bulunabileceğini düşündürmektedir.

Deney sistemindeki ve steril kontrol düzeneğindeki bakır kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Gerek deney sistemindeki bakır kuponlarda meydana gelen ağırlık kaybı ( $1.63 \pm 0.08 \text{ mg/cm}^2$ ) gerekse kontrol düzeneğindeki bakır kuponlarda meydana gelen ağırlık kaybı ( $0.62 \pm 0.02 \text{ mg/cm}^2$ ) maksimum değerine Nisan ayında ulaşmıştır. İstatistiksel sonuçlara göre deney ve kontrol kuponlarının ağırlık kayıplarının ortalamaları arasındaki farkın anlamlı olduğu ( $p < 0.01$ ) ve deney kuponlarının ağırlık kaybının kontrol kuponlarının ağırlık kaybindan daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca deney ve kontrol kuponlarının korozyon hız ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). Bu sonuçlar toksik etkisine rağmen bakırın mikrobiyolojik olarak korozyona uğradığının bir göstergesidir. Liu ve diğ.(2000), Lethola (2004), Fang ve diğ. (2002) ve Critchley ve diğ. (2003) de benzer sonuçlar bildirmişlerdir. Nitekim deney ve steril kontrol düzenek kuponlarının yüzeylerinde 10. ayın sonunda oluşan korozyon hasarları SEM ile görüntülenmiş ve deney kuponlarında genellikle bakteriler tarafından oluşturulan oyuklanma şeklinde korozyon oluşumları gözlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada korozyon hasarının sesil bakterilerin çoğalmasına bağlı olduğu rapor edilmiştir (Gayosso ve diğ., 2004). Critchley ve diğ. (2001a, 2001b) bakır yüzeylerden izole edilen bazı bakterilerin korozyona neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu bakterilerden *Acidovorax delafieldii* ve *Corynebacterium* spp.'nin ise bakırın korozyonuna neden olduklarını ancak *Sterotrophomonas maltophilia*'nın bakır korozyona uğratmadığını göstermişlerdir. Bremer ve Geesey (1991) tatlı su çevrelerindeki bakır filmlerin lokal korozyonunun direkt bakteri varlığı ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Norton ve LeChevallier (2000) biyofilm popülasyonunda baskın bakteri cinsleri bulunduğunda bakteri-bakteri etkileşimlerinin korozyonda önemli olabileceğini ifade etmişlerdir.

Deney düzeneğinde 1 ay bırakılan bakır deney kuponlarının yüzeylerinden yapılan EDS analizi sonucunda O, Fe, Zn, Cu, K, Ca, Mg, Al, Si, ve P piklerine rastlanmıştır. O ve Cu piklerinin varlığı yüzeyde oluşan CuO ve/veya Cu<sub>2</sub>O oluşumudur. Bunun dışında Fe, Zn, Al, Si elementlerinin bulunması, soğutma sistemindeki galvanizli çelik kulenin korozyona uğrayarak açığa çıkan korozyon ürünlerinin suya geçtiğinin ve EPS'nin bu metalleri bağladığının bir göstergesidir. Geesey ve diğ. (1986), Beech ve Cheung (1995) EPS'nin metalleri bağlayabildiklerini göstermişlerdir. Fe, Zn, Cu, Ca, Si, P, K, Mg gibi elementler mikroorganizmaların gereksinim duyduğu elementlerdir (Öner, 1987). Dolayısı ile EDS analizi sonucu biyofilm bulunan yüzeyden tespit edilmeleri doğaldır. Sistemde korozyon frenleyici olarak kullanılan madde ortofosfat içermektedir. Ayrıca P bakteriler için besin maddesidir (Öner, 1987). EDS analizi sonucu saptanması bakterilerin korozyon frenleyicide bulunan P'ı EPS ile bağladıklarının ve dolayısıyla da kullandıklarının bir işareti olabilir.

Deney düzeneğinde 10 ay kalan bakır kuponların EDS analizi sonucunda ise yüksek O, Cu, Fe pikleri ile birlikte Si, P, Ca, Mg ve Al pikleri gözlenmiştir. Deney düzeneğinde 1 ay kalan kupon sonucunun aksine Zn saptanmamıştır. Bunun nedeni soğutma kulesi malzemesi olan galvanizli çeliğin tamamen korozyona uğradığı ve bunun sonucunda da yüzeydeki koruyucu Zn tabakasının hiç kalmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Steril kontrol düzeneğinde 10 ay kalan bakır kuponun EDS analizi sonucunda yüksek Cu piki ve düşük O piki görülmüştür. Bu sonuç, yüzeyde düşük oranda bakır korozyon ürünü olan CuO ve/veya Cu<sub>2</sub>O oluşumunu göstermektedir. Kontrol düzeneği içinde bakır dışında başka hiçbir metal bulunmamaktadır. Başka elemente rastlanmamasını kontrol düzeneğinin içinde dönen suyun deney düzeneğinde olduğu gibi başka metallerle ilişkili olmamasından ve yüzeyinde biyofilm oluşmadığından su içinde bulunan elementlerin film tarafından bağlanmaması şeklinde açıklayabiliriz. Steril deney düzeneğine de eklenen korozyon inhibitörünün ortofosfat içeriğine rağmen EDS analizi sonucu P'a rastlanmaması ilginçtir.

Biyofilmde ve EPS'de bulunan Cu konsantrasyonunun, çıkış suyundaki Cu konsantrasyonundan daha fazla olduğu görülmüştür. Biyofilmdeki Cu konsantrasyonu ile EPS'de bulunan Cu konsantrasyonu arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu

tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ). Ayrıca hem biyofilmdeki Cu konsantrasyonu ile kupon ağırlık kaybı arasında hem de EPS'deki Cu konsantrasyonu ile kupon ağırlık kaybı arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu ( $p<0.01$ ) tespit edilmiştir. Bu sonuçları değerlendirerek biyofilm ve EPS'nin Cu'ı bağladığını bunun sonucu biyofilm ve EPS'nin korozyon oluşumunu ya da oluşan korozyonu hızlandırabileceğini söyleyebiliriz. Yapılan çalışmalarda EPS'nin yalnızca biyofilmin yapısal düzeninde önemli olmadığı bunun yanında metal yüzeylerden metalin çözünmesinde de direkt etkili olduğu gösterilmiştir. EPS'nin korozyona neden olması onun asidik ve metal bağlama özelliğinden ileri gelmektedir (Bremer ve Geesey, 1991; Fang ve diğ., 2002; Beech ve diğ., 2005; Sand ve Gehrke, 2006).

Arens (1995), yaptığı çalışmada bakıra toleranslı olduğu bulunan *Sphingomonas spp.* ve *Pseudomonas aeruginosa* sayıları ile Cu konsantrasyonu arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki saptamıştır. Dutkiewicz ve Fallowfield (1998) *Agrobacterium* bakterisinin çözülmüş Cu konsantrasyonunu arttırdığını bulmuşlardır. Çalışmamızda SRB ve biyofilmdeki Cu konsantrasyonu arasında 9 ay değerlendirildiğinde aynı yönde anlamlı bir ilişki ( $p<0.01$ ) saptanmıştır. Bu sonuç SRB'nin Cu korozyonunda çok önemli olduğunu gösterir. Metallerin korozyonundan sorumlu tutulan bakterilerin başında SRB gelir (Hamilton, 1985). Nitekim SRB'nin çeşitli metalleri korozyona uğrattığına dair çok sayıda çalışma vardır (Liu ve diğ., 2000; Chan ve diğ., 2002; Kjellerup ve diğ., 2005b; İlhan-Sungur ve diğ., 2007).

Bridge ve diğ. (1999), SRB'nin Cu bağladığını rapor etmişlerdir. Liu ve diğ. (2000) SRB'lerin biyofilmde ürettikleri organik asitlerin metal yüzey üzerindeki koruyucu tabakaya zarar verdiklerini bildirmişlerdir. Jin ve diğ. (2007) yaptıkları çalışmada, 0.8 mg/l çözülmüş Cu konsantrasyonunun sülfat redüksiyonu üzerinde inhibisyon etki göstermediğini, 8 mg/l çözülmüş Cu konsantrasyonunun sülfat redüksiyonunu önemli ölçüde azalttığını, 30 mg/l çözülmüş Cu konsantrasyonunun ise sülfat redüksiyonunu tamamen inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise 20 mg/l Cu (II) konsantrasyonunun SRB için çok toksik olduğu belirlenmiştir. Bu ortamda 9 gün içinde  $SO_4$ 'ın sadece % 5'i indirgenirken kontrol düzeneğinde  $SO_4$ 'ın indirgenme oranının % 85 olduğu bulunmuştur (Fang ve diğ., 2002). Karnachuk ve diğ. (2003) *Desulfovibrio* cinsine ait bir suşun 50 mg/l'dan yüksek Cu konsantrasyonlarında

çoğalma oranının azaldığını göstermişlerdir. Nitekim bizim çalışmamızda 10. ayda biyofilmde bulunan Cu konsantrasyonu 50 mg/l bulunurken 10.ay SRB sayılarında bir düşüş saptanmıştır. Bu düşüşün nedeninin 50 mg/l Cu konsantrasyonunun SRB'ler üzerine negatif yönde etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda bakır deney/kontrol kuponlarının korozyon hızı oranının en yüksek olduğu değer 3.32 (Kasım) bulunurken, Minnoş (2008) aynı zamanda ve aynı koşullar altında galvanizli çelik yüzeylerde gerçekleştirdiği çalışmada deney/kontrol kuponlarının korozyon hızı oranının en yüksek değerini 7.76 (Temmuz) olarak bildirmiştir. Bu sonuç bize bakırın korozyon direncinin galvanizli çelikten daha fazla olduğunu göstermiştir. Ancak ısı değiştiricilerde kullanılan diğer metallerin korozyon direnci ile bakırın korozyon direncini karşılaştırmak ve en uygun metali belirlemek için yeni deney düzeneklerinin kurulması gerekmektedir.

Bu çalışmadan varılan sonuçlar aşağıda kısaca özetlenmiştir;

- Bakırın toksik etkisine rağmen heterotrofik aerobik bakteriler, kükürt okside eden bakteriler, sülfat indirgeyen bakteriler ve heterotrofik anaerobik bakterilerin bakır yüzeylerde biyofilm oluşturduğu gözlenmiştir. Bu sonuç SEM fotoğrafları ile de desteklenmiştir.
- Çalışmamızdaki SRB ve anaerobik heterotrofik bakterilerin sayısının biyofilmde daha yüksek olması biyofilmin anaerobik bakterileri O<sub>2</sub>'nin negatif etkilerinden koruduğunu göstermiştir.
- Çalışmamızdaki korozyon deneyleri sonucunda, bakırın biyosit ve korozyon frenleyici içeren su ortamında mikrobiyolojik olarak korozyona uğradığı saptanmıştır. Ayrıca bu sonuç deney ve kontrol kuponların SEM fotoğrafları ile de desteklenmiştir.
- Biyofilmde ve EPS'de bulunan Cu konsantrasyonunun, çıkış suyundaki Cu konsantrasyonundan daha fazla olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar biyofilm ve

EPS'nin Cu'ı bağladığını bunun sonucu olarak da korozyon oluşumunu ya da oluşan korozyonu hızlandırabileceğini göstermiştir.

- Çalışmamızın sonuçlarından biri de hem biyofilmdeki Cu konsantrasyonu ile kupon ağırlık kaybı arasında hem de EPS'deki Cu konsantrasyonu ile kupon ağırlık kaybı arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğunun ( $p<0.01$ ) tespit edilmesi, biyofilm ve EPS'nin korozyonda önemli bir rolü olduğunu desteklemiştir.
- Çalışmamızda ilk 9 aydaki SRB ve biyofilmdeki Cu konsantrasyonu arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki ( $p<0.01$ ) tespit edilmiştir. Bu sonuç SRB'nin bakırın korozyonundan sorumlu temel bakterilerden biri olduğunu göstermiştir.

## KAYNAKLAR

- ALLISON, D.G., 2003, The biofilm matrix, *Biofouling*, 19, 139–50.
- ALMEIDA, M., FRANCA, F.P., 1998, Biofilm formation on brass coupons exposed to a cooling system of an oil refinery, *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 20, 39–44.
- American Society for Testing and Material, 1975, Standard recommended practice for preparing, cleaning and evaluating corrosion test specimens. In: *Annual book of ASTM standards*, Designation:G1-72, pp. 626–629, American Society for Testing Materials, Philadelphia, 0300137510.
- Apha-Awwa-Wpcf, 1981, *Standars methods for the examination of water and wastewater*, American Public Health Association, Washington DC, 0-87553-091-5.
- APPENZELLER, B.M.R., BATTE, M., MATHIEU, L., BLOCK, J.G., LAHOUSSINE, V., CAVARD, J., GATEL, D., 2001, Effect of adding phosphate to drinking water on bacterial growth in slightly and highly corroded pipes, *Water research*, 35 (4), 1100-1105.
- ARENS, P., TSCHEWITSKI, G.J., WOLLMAN, M., FOLLNER, H., JACOBI, H., 1995, Indicators for microbiologically induced corrosion of copper pipes in a cold water plumbing system, *Zentralblatt fuer hygiene und umweltmedizin*, 196, 444-454.
- ARMON, R., PAYMENT, R., 1990, A Transparent Medium for Isolation of *Legionella pneumophila* from Environmental Water Sources, *Journal of microbiol method*, 11, 65-71.
- BAKER, J.S., DUDLEY, L.Y., 1998, Biofouling in membrane system-a review, *Desalination* 118, 81–90.
- BARBEAU, J., BUHLER, T., 2001, Biofilms augment the number of free-living amoebae in dental unit waterlines, *Research in microbiology*, 152, 753-760.
- BASSLER BL., 1999, How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing, *Current opinion in microbiology*, 2(6) , 582-587.
- BATTE, M., KOUDJONOU, B., LAURENT, P., MATHIEU, L., COALLIER, J., PREVOST, M., 2003, Biofilm responses to ageing and to a high phosphate load in a bench-scale drinking water system, *Water research*, 37, 1351-1361.

- BAUMGARTNER, L.K., REID, R.P., DUPRAZ, C., DECHO, A.W., BUCKLEY, D.H., SPEAR, J.R., PRZEKOP, K.M., VISSCHER, P.T., 2006, Sulfate reducing bacteria in microbial mats: changing paradigms, new discoveries, *Sedimentary geology*, 185, 131-145.
- BEECH, I.B., CHEUNG, C.W.S., 1995, Interactions of exopolymers produced by sulphate-reducing bacteria with metal ions, *International biodeterioration and biodegradation*, 35, 59-72.
- BEECH, I.B., 2004, Corrosion of technical materials in the presence of biofilms-current understanding and state-of-the art methods of study, *International biodeterioration and biodegradation*, 53, 177-183.
- BEECH, I.B., SUNNER, J.A., 2004, Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals, *Current opinion in biotechnology*, 15, 181-186.
- BEECH, I.B., SUNNER, J.A., HIRAOKA, K., 2005, Microbe- surface interactions in biofouling and biocorrosion processes, *International microbiology*, 8, 157-168.
- BIANUCCI, G., BIANUCCI, E.R., 1987, *L'analisi chimica delle acque naturali ed inquinate*, Hoepli, Milano, 882031987
- BOOPATHY, R., DANIELS, L., 1991, Effect of pH on anaerobic mild steel corrosion by methanogenic bacteria, *Applied and environmental microbiology*, 57 (7), 2104-2108.
- BORENSTEIN, S.W., 1994, *Microbiologically influenced corrosion handbook*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 0-8311-3056-3.
- BORKOW, G., GABBAY, J., 2005, Copper as a biocidal tool, *Current medicinal chemistry*, 12(8), 1-13.
- BOULANGER, C.A., EDELSTEIN, P.H., 1995, Precision and Accuracy of Recovery of *Legionella pneumophila* From Seeded tap Water by Filtration and Centrifugation, *Applied and environmental microbiology*, 61 (5), 1805-1809.
- BOYD, C.E., TUCKER, C.S., 1992, *Water quality and pond soil analyses for aquaculture*, Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama, 9780817307219
- BREMER, P.J., GEESEY, G.G., 1991, Laboratory based model of microbiologically induced corrosion of copper, *Applied and environmental microbiology*, 57, 1956-1962.
- BRIDGE, T.A.M., WHITE, C., GADD, G.M., 1999, Extracellular metal-binding activity of the sulphate-reducing bacterium *Desulfococcus multivorans*, *Microbiology*, 145, 2987-2995.
- BRITISH STANDARD, 1998, *Water Quality Part 4: Microbiological Methods*, Detection and Enumeration of *Legionella* BS 6068 - 4.12:1998; ISO 11731:1998.

- BROO, A.E., BERGHULT, B., HEDBERG, T., 1997, Copper corrosion in drinking water distribution systems- the influence of water quality, *Corrosion science*, 39(6), 1119-1132.
- BROO, A.E., BERGHULT, B., HEDBERG, T., 1999, Drinking water distribution-the effect of natural organic matter (NOM) on the corrosion of iron and copper, *Water science and technology*, 40(9), 17-24.
- BROWN, M.R.W., BARKER, J., 1999, Unexplored reservoirs of pathogenic bacteria: protozoa and biofilms, *Trends in microbiology*, 7(1), 46-50.
- BRYERS, J.D., CHARACKLIS, W.G., 1982, Process governing primary biofilm formation, *Biotechnology and bioengineering*, 24, 2451-247.
- CAMPANAC, C., PINEAU, L., PAYARD, A., BAZIARD-MOUYSSET, G., ROQUES, C., 2002, Interactions between biocide cationic agents and bacterial biofilms, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46 (5) 1469–1474.
- CHAN, K.Y., XU, L.C., FANG, H.H.P., 2002, Anaerobic electrochemical corrosion of mild steel in the presence of extracellular polymeric substances produced by a culture enriched in sulfare-reducing bacteria, *Enviromental science and technology*, 36, 1720-1727.
- CHANG, C.W., HWANG, Y.H., CHENG, W.Y., CHANG, C.P., 2007, Effects of chlorination and heat disinfection on long-term starved *Legionella pneumophila* in warm water, *Journal of applied microbiology*, 102, 1636-1644.
- CHARACKLIS, W., COOKSEY, K., 1983, Biofilms and microbial biofouling, *Advanced applied microbiology*, 29, 93-138.
- CHOUDHARY, S.G., 1998, Emerging microbial control issues in cooling water systems, *Hydrocarbon processing*, 77 (5), 91-102.
- CHRISTENSEN, B.E., KJOSBAKKEN, J., SMIDSROD, O., 1985, Partial chemical and physical characterization of two extracellular polysaccharides produced by marine, periphtic *Pseudomonas* sp. Strain NCMB 2021, *Applied and environmental microbiology*, 50(4), 837-845.
- CLOETE, T.E., 2003, Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51, 277-282.
- COCHRAN W.G., 1950, Estimation of bacterial densities by means of the "most probable number". *Biometrics*, 6(2), 105–116.
- COSTERTON, J.W., CHENG K.J., GEESEY, G.G., LADD, T.I., NICKEL, J.C., DASGUPTA, M., MARRIE, T.J., 1987, Bacterial biofilms in nature and disease, *Annual review of microbiology*, 41, 435-64.

- COSTERTON, J.W., LEWANDOWSKI, Z., CALDWELL, D.E., KORBER, D.R., LAPPIN-SCOTT, H.M., 1995, Microbial biofilms, *Annual review of microbiology*, 49, 711-745.
- COSTERTON, J.W., 1999, Introduction to biofilm, *International journal of antimicrobial agents*, 11, 217-221.
- CRITCHLEY, M.M., CROMAR, N.J., MCCLURE, N., FALLOWFIELD, H.J., 2001a, Biofilm accumulation in cold water copper plumbing systems and significance for microbiologically influenced corrosion, *Journal of applied microbiology*, 91, 1-6.
- CRITCHLEY, M.M., CROMAR, N.J., MCCLURE, N., FALLOWFIELD, H.J., 2001b, The effect of distribution system biofilm bacteria on cuprosolvency in Adelaide drinking water, *Water science and technology, Water supply* 2, 319-324.
- CRITCHLEY, M.M., CROMAR, N.J., MCCLURE, N., FALLOWFIELD, H.J., 2003, The influence of the chemical composition of drinking water on cuprosolvency by biofilm bacteria, *Journal of applied microbiology*, 94, 501-507.
- CRITCHLEY, M.M., PASETTO, R., O'HALLORAN, R.J., 2004, Microbiological influences in 'blue water' copper corrosion, *Journal of applied microbiology*, 97, 590-597.
- DAVEY, M.E., O'TOOLE, G.A., 2000, Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics, *Microbiology and molecular biology reviews*, 64 (4), 847-867.
- DE LUCA, G., STAMPI, S., LEZZI, L., ZANNETTI, F., 1999, Effect of Heat and Acid Decontamination Treatments on the Recovery of *Legionella pneumophila* from Drinking Water Using Two Selective Media. *New microbiology*, 22 (3), 203-208.
- DENNIS, P.J.L., 1988, *Isolation of Legionellae from Environmental Specimens*, p. 31-57. In Harrison, T.G., Taylor, A.G.(ed.). *A Laboratory Manual for Legionella*, John Wiley Sons Ltd. ISBN 047191861X.
- DOLLA, A., FOURNIER, M., DERMOUN, Z., 2006, Oxygen defense in sulfate- reducing bacteria, *Journal of biotechnology*, 126, 87-100.
- DOMEK, M.J., LECHEVALLIER, M.W., CAMERON, S.C., MCFETERS, G.A., 1984, Evidence for the role of copper in the injury process of coliform bacteria in drinking water, *Applied and environmental microbiology*, 48 (2), 289-293.
- DONLAN, R.M., 2002, Biofilms: Microbial life on surfaces, *Emerging infectious diseases*, 8, 881-890.
- DONLAN, R.M., COSTERTON, J.W., 2002, Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms, *Clinical microbiology reviews*, 15 (2), 167-193.
- DONLAN, R.M., FORSTER, T., MURGA, R., BROWN, E., LUCAS, C., CARPENTER, J., FIELDS, B., 2005, *Legionella pneumophila* associated with the protozoan *Hartmannella vermiformis* in a model multi- species biofilm has reduced susceptibility to disinfectants, *Biofouling*, 21(1), 1-7.

- DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A., SMITH, F., 1956, Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical chemistry*, 28, 350–356
- DUNNE, W.M., 2002, Bacterial adhesion: Seen any good biofilms lately?, *Clinical Microbiology reviews*, 15 (2), 155-166.
- DUPRAZ, C., VISSCHER, P.T., BAUMGARTNER, L.K., REID, R.P., 2004, Microbe-mineral interactions: early carbonate precipitation in hypersaline lake (Eleuthera island, Bahamas), *Sedimentology*, 51, 745-765.
- DUTKIEWICZ, C., FALLOWFIELD, H., 1998, Assessment of microbial involvement in the elevation of copper levels in drinking water, *Journal of applied microbiology*, 85, 597-602.
- EDWARDS, M., FERGUSON, J.F., REIBER, S.H., 1994, The pitting corrosion of copper, *Journal AWWA*, July, 74-90.
- ELECTRIC POWER RESEARCH INSTITUTE, 2003, Use of degraded water sources as cooling water in power plants, Consultant Report, P500-03-110.
- FANG, H.H.P., XU, L.C., CHAN, K.Y., 2002, Effects of toxic metals and chemicals on biofilm and biocorrosion, *Water research*, 36, 4709-4716.
- FAUNDEZ, G., TRONCOSO, M., NAVARRETE, P., FIGUEROA, G., 2004, Antimicrobial activity of copper surfaces against suspensions of *Salmonella enterica* and *Campylobacter jejuni*, *BMC Microbiology*, 4, 1-7.
- FIELDS, B. S., 1997, *Legionella* and Legionnaires' Disease, p. 666-675. In Hurst, C.J., Knudsen, G.R., McInerney, M.J., Stetzenbach, L.D. and Walter, M.V. (ed.). *Manual of Environmental Microbiology*, ASM, Washington, D.C.
- FLEMMING, H.C., GRIEBE, T., SCHAULE, G., 1996, Antifouling strategies in technical systems a short review, 34(5), 517-524.
- FLEMMING, H.C., 2002, Biofouling in water systems- cases, causes and countermeasures, *Applied microbiology biotechnology*, 59, 629-640.
- FORD, T., MITCHELL, R., 1990, The ecology of microbial corrosion, *Advances in microbial ecology*, 11, 231–262.
- FRANKLIN, M.J., WHITE, D.C., ISAACS, H.S., 1991, Pitting corrosion by bacteria on carbon steel, determined by the scanning vibrating electrode technique, *Corrosion science*, 32 (9), 945-952.
- GAGNON, G.A., SLAWSON, R.M., 1999, An efficient biofilm removal method for bacterial cells exposed to drinking water, *Journal of microbiological methods* 34, 203-214.

- GAINES, R.H., 1910, Bacterial activity as a corrosion influence in the soil, *Journal of engineering for industrial chemistry*, 2, 128-130.
- GARRET, J.H., 1891, *The Action of Water on Lead*, London, England. H.K. Lewis.
- GAYOSSO, M.J. H., OLIVARES, G.Z., ORDAZ, N.R., RAMIREZ, C.J., ESQUIVEL, R.G., VIVEROS, A.P., 2004, Microbial consortium influence upon steel corrosion rate, using polarisation resistance and electrochemical noise techniques, *Electrochimica acta*, 49, 4295-4301.
- GEESEY, G.G., MITTELMAN, M.W., IWAOKA, T., GRIFFITHS, P.R., 1986, Role of bacterial exopolymers in the deterioration of metallic copper surfaces, *Materials performance*, 25, 37-40.
- GEORGE, R.P., MURALEEDHARAN, P., SREEKUMARI, K.R., KHATAK, H.S., 2003, Influence of surface characteristics and microstructure on adhesion of bacterial cells onto a type 304 stainless steel, *Biofouling*, 19 (1), 1-8.
- GHIORSE, W.C., 1984, Biology of Iron-and Manganese-Depositing Bacteria, *Annual review of microbiology*, 38, 515-550.
- GOODWIN, J.A.S, FORSTER, C.F., 1985, A further examination into the composition of activated sludge surfaces in relation to their settling characteristics, *Water research*, 19, 527-533.
- GUIAMET, P.S., GOMEZ DE SARAVIA, S.G., 2005, Laboratory studies of biocorrosion control using traditional and environmentally friendly biocides: an overview, *Latin American applied research*, 35, 295-300.
- HADLEY, R.F., 1948, Corrosion by micro-organisms in aqueous and soil environments. In: UHLIG, H.H. (ed), *Corrosion handbook*, pp. 466-470, John Wiley & Sons, USA, 0471895628.
- HALL- STOODLEY, L., STOODLEY, P., 2002, Developmental regulation of microbial biofilms, *Current opinion in biotechnology*, 13, 228-233.
- HAMILTON, W.A., 1985, Sulphate reducing bacteria and anaerobic corrosion, *Annual review of microbiology*, 39, 195-217.
- HEUKELEKIAN H, HELLER A., 1940, Relation between Food Concentration and Surface for Bacterial Growth, *Journal of bacteriology*, 40(4), 547-558.
- HIBIYA, K., NAGAI, J., TSUNEDA, S., HIRATA, A., 2004, Simple prediction of oxygen penetration depth in biofilms for wastewater treatment, *Biochemical engineering journal*, 19, 61-68.
- HILBERT, L.R., 2006, Monitoring corrosion rates and localised corrosion in low conductivity water, *Corrosion science*, 48, 3907-3923.

- HOLT, J.G., KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A., STALEY, J.T., WILLIAMS, S.T., 1994, Less conspicuous sulfur oxidising bacteria p:433. In Holt, J.G., Krieg, N.R.(eds.) *Bergey's manual of determinative bacteriology*, Ninth Edition, Williams and Wilkins, USA.
- IVERSON, W.P., 2001, Research on the mechanisms of anaerobic corrosion, *International biodeterioration and biodegradation*, 47, 63-70.
- İLHAN-SUNGUR E., 2007, *Model Bir Su Sisteminde Sülfat İndirgeyen Bakterilerin Galvanizli Çelik Saclarda Oluşturduğu Korozyonun İncelenmesi*, PhD Tezi, İstanbul Üniversitesi
- İLHAN-SUNGUR, E., CANSEVER, N., ÇOTUK, A., 2007, Microbial corrosion of galvanized steel by a freshwater strain of sulphate reducing bacteria (*Desulfovibrio sp.*), *Corrosion science*, 49, 1097-1109.
- JAYARAMAN, A., SUN, AK., WOOD, TK., 1998, Characterization of axenic *Pseudomonas fragi* and *Escherichia coli* biofilms that inhibit corrosion of SAE 1018 steel, *Journal of applied microbiology*, 84(4), 485-492.
- JAYARAMAN, A., ORNEK, D., DUARTE, D.A., LEE, C.C., MANSFELD, F.B., WOOD, T.K., 1999, Axenic aerobic biofilms inhibit corrosion of copper and aluminum, *Applied microbiology biotechnology*, 52, 787-790.
- JEFFERSON, K.K., 2004, What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS microbiology letters*, 236, 163-173.
- JIN, S., DREVER, J.I., COLBERG, P.J., 2007, Effects of copper on sulfate reduction in bacterial consortia enriched from metal-contaminated and uncontaminated sediments, *Environmental toxicology and chemistry*, 26(2), 225-230.
- JOHN, G.H., NOEL, R.K., PETER, H.A.S., JAMES, T.S., STANLEY, T.W., 1994, *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 9<sup>th</sup> ed., Williams & Wilkins, Baltimore, USA, 0-683-00603-7.
- JOHNSON, M.S., ZHULIN, I.B., GAPUZAN, M.E.R., TAYLOR, B.L., 1997, Oxygen-dependent growth of the obligate anaerobe *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough, *Journal of bacteriology*, 179(17), 5598-5601.
- KARNACHUK, O.V., KUROCHKINA, S.Y., NICOMRAT, D., FRANK, Y.A., IVASENKO, D.A., PHYLLIPENKO, E.A., TUOVINEN, O.H., 2003, Copper resistance in *Desulfovibrio* strain R2, *Antonie van Leeuwenhoek*, 83, 99-106.
- KAZANÇ, A., 1992, *Soğutma kuleleri*, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi.
- KEEVIL, C.W., 1989, *Chemostat models of human and aquatic corrosive biofilms*. In Recent Advances in Microbial Ecology (ed. T. Hattori et al) pp. 151-156. Tokyo: Japan Scientific Societies Press.

- KEINANEN, M.M., KORHONEN, L.K., LEHTOLA, M.J., MIETTINEN, I.T., MARTIKAINEN, P.J., VARTIAINEN, T., SUUTARI, M.H., 2002, The microbial community structure of drinking water biofilms can be affected by phosphorus availability, *Applied and environmental microbiology*, 68(1), 434-439.
- KJELLEBERG, S., MOLIN, S., 2002, Is there a role for quorum sensing signals in bacterial biofilms?, *Current opinion in microbiology*, 5, 254-258.
- KJELLERUP, B.V., THOMSEN, T.R., NIELSEN, J.L., OLESEN, B.H., FROLUND, B., NIELSEN, P.H., 2005a, Microbial diversity in biofilms from corroding heating systems, *Biofouling*, 21 (1), 19- 29.
- KJELLERUP, B.V., VEEH, R.H., SUMITHRARATNE, P., THOMSEN, T.R., BUCKINGHAM-MEYER, K., FROLUND, B., STURMAN, P., 2005b, Monitoring of microbial souring in chemically treated, produced- water biofilm systems using molecular techniques, *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, 32, 163-170.
- KJELLERUP, B.V., GUDMONSSON, G., SOWERS, K., NIELSEN, P.H., 2006, Evaluation of analytical methods for determining the distribution of biofilm and active bacteria in commercial heating system, *Biofouling*, 22 (3), 145-151.
- KONEMAN, E.W., ALLEN, S.D., DOWELL, W.R., SOMMERS, H.M., 1983, *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, Second Edition, J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
- KUCHTA, J.M., STATES, S.J., MCNAMARA, M., WADOWSKY, R.M., YE, R.B., 1983, Susceptibility of *Legionella pneumophila* to Chlorine in Tap Water, *Applied and environmental microbiology*, 46 (5), 1134-1139.
- LANDOULSI, J., PULVIN, S., RICHARD, C., FERON, D., 2005, Microbial influenced corrosion of stainless steels in natural waters: interest of enzymatic approach, *Material technology*, 93, 59-67.
- LANDOULSI, J., KIRAT, K.E., RICHARD, C., FERON, D., PULVIN, S., 2008, Enzymatic approach in microbial-influenced corrosion: a review based on stainless steels in natural waters, *Environmental science and technology*, 42(7), 2233-2242.
- LANE, J., PECK, D., 2003, Condenser water treatment using pulsed power, Cooling Technology Institute Annual Conference, February 10-13 San Antonio, Texas, Cooling Technology Institute, 1-16.
- LECHEVALLIER, M.W., CAWTHON, C.D., LEE, R.G., 1988, Factors Promoting survival of bacteria in chlorinated water supplies, *Applied and environmental microbiology*, 54(3), 649-654.
- LEE, W., CHARACKLIS, W.G., 1993, Corrosion of mild steel under anaerobic biofilm, *Corrosion*, 49 (3), 186-199.

- LETHOLA, M.J., MIETTINEN, I.T., VARTIAINEN, T., MARTIKAINEN, P.J., 1999, A new sensitive bioassay for determination of microbially available phosphorus in water, *Applied and environmental microbiology*, 65 (5), 2032-2034.
- LETHOLA, M.J., MIETTINEN, I.T., KEINANEN, M.M., KEKKI, T.K., LAINE, O., HIRVONEN, A., VARTIAINEN, T., MARTIKAINEN, P.J., 2004, Microbiology, chemistry and biofilm development in a pilot drinking water distribution system with copper and plastic pipes, *Water research*, 38, 3769-3779
- LI, S., NI, L., SUN, C., WANG, L., 2004, Influence of organic matter on orthophosphate corrosion inhibition for copper pipe in soft water, *Corrosion science*, 46, 137-145.
- LITTLE, B.J., WAGNER, P.A., MANSFELD, F., 1992, An overview of microbiologically influenced corrosion, *Electrochimica acta*, 37 (12), 1-17.
- LITTLE, B., RAY, R., HART, K., WAGNER, P., 1995, Fungal-induced corrosion of wire rope, *Materials performance*, 34, 55-58.
- LITTLE, B.J., LEE, J.S., 2007, *Microbiologically influenced corrosion*, Wiley-Interscience A John Wiley & Sons, Inc., Publication, Canada, 978-0-471-77276-7.
- LIU, Y., TAY, J.H., 2001, Detachment forces and their influence on the structure and metabolic behavior of biofilms, *World journal of microbiology & biotechnology*, 17, 111-117.
- LIU, H., XU, L., ZENG, J., 2000, Role of corrosion products in biofilms in microbiologically induced corrosion of carbon steel, *British corrosion journals*, 35 (2), 131-135.
- MAILLARD, J.Y., 2007, Bacterial resistance to biocides in the healthcare environment should it be of genuine concern?, *Journal of hospital infection*, 65(52), 60-72.
- MARSHALL, K.C., 1997, *Colonization, Adhesion, and Biofilms*, p. 358-365. In Hurst, C.J., Knudsen, G.R., McInerney, M.J., Stetzenbach, L.D., Walter, M.V. (ed.). *Manual of Environmental Microbiology*, ASM, Washington, D.C.
- MİNNOŞ, B., 2008, *Soğutma Kulesinde Sülfat İndirgeyen Bakterilerin Galvanizli Çelik Üzerine Korozif Etkisinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- MORI, T., NONAKA, T., TAZAKI, K., KOGA, M., HIKOSAKA, Y., NODA, S., 1992, Interactions of nutrients, moisture and pH on microbial corrosion of concrete sewer pipes, *Water research*, 26 (1), 29-37.
- MURGA, R., FORSTER, T.S., BROWN, E., PRUCKLER, J.M., FIELDS, B.S., and DONLAN, R.M., 2001, Role of Biofilms in the Survival of *Legionella pneumophila* in a Model Potable-Water System, *Microbiology*, 147, 3121-3126.
- MYERS, C., NEALSON, K.H., 1988, Bacterial manganese reduction and growth with manganese oxide as the sole electron acceptor, *Science*, 240, 1319-1321.

- NORTON, C.D., LECHEVALLIER, M.W., 2000, A pilot study of bacteriological population changes through potable water treatment and distribution, *Applied and environmental microbiology*, 66, 268-276.
- NORTON, C.D., LECHEVALLIER, M.W., FALKINHAM, J.O., 2004, Survival of *Mycobacterium avium* in a model distribution system, *Water research*, 38, 1457-1466.
- OBUEKWE, C.O., WESTLAKE, D.W.S., PLAMBECK, J.A., COOK, F.D., 1981, Corrosion of mild steel in cultures of ferric iron reducing bacterium isolated from crude oil I. Polarization characteristics, *Corrosion*, 37(8), 461-467.
- ÖNER, M., 1987, *Mikrobal Ekoloji*, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.
- PALANICHAMY, S., MARUTHAMUTHU, S., MANICKAM, S.T., RAJENDRAN, A., 2002, Microfouling of manganese-oxidizing bacteria in Tuticorin harbour waters, *Current science*, 82(7), 865-869.
- PARK, S.K., KIM, Y.K., CHOI, S.C., 2008, Response of microbial growth to orthophosphate and organic carbon influx in copper and plastic based plumbing water systems, *Chemosphere*, 72, 1027-1034.
- PARVIZI, M.S., ALADJEM, A., CASTLE, J.E., 1988, Behaviour of 90–10 cupronickel in sea water, *International materials reviews*, 33(4):169–200.
- PASMORE, M., TODD, P., PFEIFER, B., RHODES, M., BOWMAN, C.N., 2002, Effect of polymer surface properties on the reversibility of attachment of *Pseudomonas aeruginosa* in the early stages of biofilm development, *Biofouling*, 18, 65-71.
- PASZKO-KOLVA, C., SHAHAMAT, M., YAMAMOTO, H., SAWYER, T., VIVES-REGO, J., and COLWELL, R.R., 1991a, Survival of *Legionella pneumophila* in the Aquatic Environment, *Microbial ecology*, 22, 75-83.
- PASZKO-KOLVA, C., YAMAMOTO, H., SHAHAMAT, M., SAWYER, T.K., MORRIS, G., and COLWELL, R.R., 1991b, Isolation of Amoebae and *Pseudomonas* and *Legionella* spp. From Eyewash Stations. *Applied and environmental microbiology*, 57(1), 163-167.
- PEDERSEN, K., 1990, Biofilm development on stainless steel and PVC surfaces in drinking water. *Water research*, 24, 239-243.
- PEDERSEN, J.C., 1992, Natamycin as a fungicide in agar media, *Applied and environmental microbiology*, 58(3), 1064-1066.
- PERCIVAL, S.L., KNAPP, J.S., EDYVEAN, R.G., WALES, D.S., 1998, Biofilm development on stainless steel in mains water, *Water research*, 32, 243-253.
- PERCIVAL, S.L., KNAPP, J.S., WALES, D.S., EDYVEAN, R.G.J., 1999, The effect of turbulent flow and surface roughness on biofilm formation in drinking water, 22, 152-159.

- POMPERMAYER, D.M.C, GAYLARDE, C.C., 2000, The influence of temperature on the adhesion of mixed cultures of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to polypropylene, *Food microbiology*, 17, 361-365.
- POPE, D.H., DUQUETTE, D.J., JOHANNES, A.H., WAYNER, P.C., 1984, Microbiologically influenced corrosion of industrial alloys, *Materials performance*, 23(4), 14-18.
- POSTGATE, J.R., 1984, *The sulphate reducing bacteria*, 2<sup>nd</sup> ed., Cambridge University Press, Cambridge, 0521257913.
- POWER, M.E., VAN DER MEER, J.R., HARMS, H., WANNER, O., 2001, Colonization of aerobic biofilms by sulfate-reducing bacteria, *Biofouling*, 17, 275-288.
- PRINCE, E.L., MUIR, A.V.G., THOMAS, W.M., STOLLARD, R.J., SAMPSON, M., LEWIS, J.A., 2002, An evaluation of the efficacy of Aqualox for microbiological control of industrial cooling tower systems, *Journal of hospital infection*, 52, 243-249.
- RASMUSEN, T.B., GIVSKOV, M., 2006, Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs, *International Journal of medical microbiology*, 296, 149-161.
- REASONER, D.J., GELDRICH, E.E., 1985, A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water, *Applied and environmental microbiology*, 49, 1-7.
- RIVERA, J.M., AGUILAR, L., GRANIZO, J.J., VOS-ARENILLA, A., GIMENEZ, M.J., AGUILAR, J.M., PRIETO, J., 2007, Isolation of *Legionella* species/ serogroup from water cooling systems compared with potable water systems in Spanish healthcare facilities, *The Journal of hospital infection*, 67, 1-7.
- ROBERTS, D.J., NICA, D., ZUO, G., DAVIS, J.L., 2002, Quantifying microbially induced deterioration of concrete: initial studies, *International biodeterioration and biodegradation* 49, 227-234.
- ROGERS, J., and KEEVIL, C.W., 1992, Immunogold and Fluorescein Immunolabelling of *Legionella pneumophila* within an Aquatic Biofilm visualized by Using Episcopic Differential Interference Contrast Microscopy, *Applied and environmental microbiology*, 58 (7), 2326-2330.
- ROZANOVA, E.P., DUBININA, G.A., LEBEDEVA, E.V., SUNTSOVA, L.A., LIPOVSKICH, V.M., TSVETKOV, N.N., 2003, Microorganisms in heat supply systems and internal corrosion of steel pipelines, *Microbiology*, 72 (2), 179-186.
- SAND, W., 1997, Microbial mechanisms of deterioration of inorganic substrates- a general mechanistic overview, *International biodeterioration and biodegradation* 40(2-4), 183-190.

- SAND, W., GEHRKE, T., 2006, Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron(III) ions and acidophilic bacteria, *Research in microbiology*, 157, 49-56.
- SANTEGOEDS, C.M., FERDELMAN, T.G., MUYZER, G., DE BEER, D., 1998, Structural and functional dynamics of sulfate-reducing populations in bacterial biofilms, *Applied and environmental microbiology*, 64, 3731–3739.
- SCORRO DE ALMEIDA, L.F., DE MATOS BELEZA, V., BRA'S PEREIRA, I.M., 1997, Contribution of air pollution to the fouling of heat exchangers in cooling water circuits, *Experimental thermal and fluid science*, 141, 438-441.
- SCOTTO, V., DI-CLINTIO, R., MARCENARO, G., 1985, The influence of marine aerobic microbial film on stainless steel corrosion behaviour, *Corrosion science*, 25(3), 185-194.
- SCOTTO, V., LAI, M.E., 1998, The ennoblement of stainless steels in seawater: a likely explanation coming from the field, *Corrosion science*, 40(6), 1007-1018.
- SHIRTLIFF, M.E., MADER, J.T., CAMPER, A.K., 2002, Molecular interactions in biofilms, *Chemistry & biology*, 9, 1-20.
- SIEDLAREK, H., WAGNER, D., FISCHER, W.R., PARADIES, H.H., 1994, Microbiologically influenced corrosion of copper: the ionic transport properties of biopolymers, *Corrosion science*, 36(10), 1751-1763.
- SOUISSI, N., TRIKI, E., 2008, Modelling of phosphate inhibition of copper corrosion in aqueous chloride and sulphate media, *Corrosion science*, 50, 231-241.
- STAROSVETSKY, J., STAROSVETSKY, D., ARMON, R., 2007, Identification of microbiologically influenced corrosion (MIC) in industrial equipment failures, *Engineering failure analysis*, 14, 1500-1511.
- SUNGUR, E., MINNOS, B., DOGRUOZ, N., 2008, Isolation of aerobic heterotrophic and anaerobic sulphate reducing bacteria from model water system by filtration method, *IUFS Journal of biology*, 67 (1), 33-38.
- STEWART P.S., 2003, Diffusion in biofilms, *Journal of bacteriology*, 185(5), 1485-1491.
- STOITCHKOV, N.J., DIMITROV, G.I., 1998, Effectiveness of crossflow plate heat exchanger for indirect evaporative cooling, *International journal of refrigeration*, 21(6), 463-471.
- SUTHERLAND, I.W., 2001, Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework, *Microbiology*, 147, 3-9.
- SZEWZYK, U., SZEWZYK, R., MANZ, W. SCHLEIFER, H.K., 2000, Microbiological safety of drinking water, *Annual review of microbiology*, 54, 181-127.

- THIERRY D., SAND, W., 2002, Microbially influenced corrosion. In: P. Marcus and J. Oudar, Editors, *Corrosion mechanism in theory and practice*: second edition, Marcel Dekker, New York , p. 563-605.
- THOMAS, V., BOUCHEZ, T., NICOLAS, V., ROBERT, S., LORET, J.H., LEVI, Y., 2004, Amoebae in domestic water systems: resistance to disinfection treatments and implication in Legionella persistence, *Journal of applied microbiology*, 97, 950-963.
- TISON, D.L., POPE, D.H., CHERRY, W.B., and FLIERMANS, C.B., 1980, Growth of *Legionella pneumophila* in Association with *Blue-Green Algae (Cyanobacteria)*, *Applied and environmental microbiology*, 39: 456-459.
- TÜRETGEN, İ., 2005, *Su Sistemlerinde Mikrobiyal Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi*, PhD Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- TÜRETGEN, İ., İLHAN-SUNGUR, E., ÇOTUK, A., 2005, Enumeration of *Legionella pneumophila* in cooling tower water systems, *Environmental monitoring and assessment*, 100 (1-3), 53-58.
- VALCARCE, M.B., SANCHEZ S.R., VAZQUEZ, M., 2006, Brass dezincification in a tap water bacterial suspension, *Electrochimica acta*, 51, 3736-3742.
- VIDELA, H.A., 1996, *Manual of biocorrosion* , CRC Press, UK, 0873717260, 2005, microbial diversity in biofilms from corroding heating systems.
- VIDELA, H.A., 2002, Prevention and control of biocorrosion, *International biodeterioration & biodegradation*, 49, 259-270.
- VISSCHER, P.T., GRITZER, R.F., LEADBETTER, E.R., 1999, Low-molecular-weight sulfonates, a major substrate for sulfate reducer in marine microbial mats, *Applied and environmental microbiology*, 65(8), 3272-3278.
- VON WOLZOGEN KÜHR, C.A.H., VE VAN DER VLUGT, L.S., 1934, The graphitization of cast iron as an electrochemical process in anaerobic soils, *Water*, 18, 147-165.
- WADOWSKY, R.M. and YEE, R.B., 1983, Satellite Growth of *Legionella pneumophila* with an Environmental Isolate of *Flavobacterium breve*, *Applied and environmental microbiology*, 46(6), 1447-1449.
- WAGNER, D., LITTLE, B., 1993, Impact of alloying on microbiologically influenced corrosion, *Materials selection & design*, 65-68.
- WAGNER, D., CHAMBERLAIN, A.H.L., 1997, Microbiologically influenced copper corrosion in potable water with emphasis on practical relevance, *Biodegradation*, 8, 177-187.
- WIDDEL, F., PFENNIG, N., 1984, Dissimilatory sulfate reducing bacteria. In: Noel, R.K. (ed.), *Systematic bacteriology*, pp. 663-679, Williams&Wilkins, Baltimore, USA, 0-683-04108-8.

- ZHANG, X., BISHOP, P.L., KUPFERLE, M.J., 1998, Measurement of polysaccharides and proteins in biofilm extracellular polymers, *Water science and technology*, 37(4-5), 345-348.
- ZHANG, X., BISHOP, P.L., KINKLE, B.K., 1999, Comparison of extraction methods for quantifying extracellular polymers in biofilms, *Water science and technology*, 39 (7), 211–218.
- ZHANG, X., BISHOP, P.L., 2003, Biodegradability of biofilm extracellular polymeric substances, *Chemosphere*, 50, 63–69.
- ZOBELL, C.E., 1943, The effect of solid surfaces upon bacterial activity, *Journal of Bacteriology*, 46, 539-557.
- ZUO, R., KUS, E., MANSFELD, F., WOOD, T.K., 2005, The importance of live biofilms in corrosion protection, *Corrosion science*, 47, 279-287.

## ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Antakya'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Antakya'da, lise öğrenimimi İstanbul'da tamamladım. 1994 yılında kayıt olduğum İ.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 1998 yılında mezun oldum. 2000 yılında İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsünün Genel Biyoloji Yüksek Lisans Programına kayıt oldum. 2001 yılında İ.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Anabilim Dalı Genel Biyoloji Programına Araştırma Görevlisi olarak atandım. 2004 yılında yüksek lisanstan mezun olup aynı yıl İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsünün Genel Biyoloji Doktora Programına kayıt oldum.

İ.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Anabilim Dalı'nda Mikrobiyoloji, İmmünoloji, Özel Mikrobiyolojik Yöntemler ve Bakteri Genetiği derslerinin örgün programlarının uygulamalarında öğretim elemanı olarak görev yapmaktayım.