



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



**DOKTORA TEZİ**

**GÜMÜŞ-BAKIR İYONLARININ GALVANİZLİ ÇELİĞİN  
MİKROBİYOLOJİK KOROZYONUNA ETKİSİ**

**Tuba ÜNSAL**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programı**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Esra İLHAN SUNGUR**

**II. DANIŞMAN  
Prof. Dr. Nurhan CANSEVER**

**Aralık, 2016**

**İSTANBUL**

Bu çalışma 26.12.2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı,  
Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi**



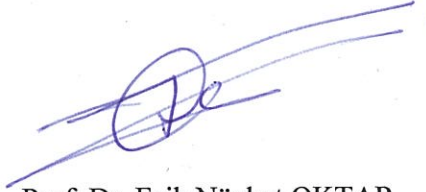
Doç. Dr. Esra İLHAN SUNGUR (Danışman)  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



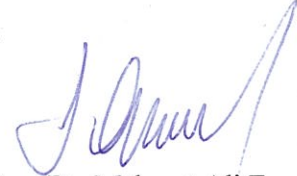
Prof. Dr. Ayten KİMİRAN ERDEM  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Sibel DAĞLILAR  
Yıldız Teknik Üniversitesi  
Kimya-Metalurji Fakültesi



Prof. Dr. Faik Nüzhet OKTAR  
Marmara Üniversitesi  
Mühendislik Fakültesi



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

20.04.2016 tarihli resmi gazetede yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi'nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 33755 ve 21738 numaralı projeleri ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

Hayatımda bir dönüm noktası olan, en zor zamanlarımda hep yanımda bulduğum, her zaman bana yürekten güvenen, güç ve kuvvet veren, vazgeçmemeyi öğreten, umutsuzluklarımda beni çekip toparlayan, her düştüğümde beni yeniden kaldıran, danışmanım, öğretmenim, ömürlük hayat kitabım Sayın Doç. Dr. Esra İLHAN SUNGUR'a,

Varlığıyla her zaman kendimi güvende hissettiğim, doktora eğitimim boyunca değerli fikirleri ve tecrübesi ile gelişimimde büyük emeği olan, asaletini ve başarısını örnek aldığım idolüm Sayın Prof. Dr. Nurhan CANSEVER'e,

Doktora tez çalışmam boyunca olumlu eleştirileri ile bana yol gösteren Sayın Prof. Dr. Ayten KİMİRAN ERDEM'e ve Doç. Dr. Zuhal ZEYBEK'e,

Doktora tez izleme komitemde yer alan ve tezime katkıda bulunma nezaketini gösteren Sayın Prof. Dr. Sibel DAĞLILAR'a,

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

Maddi destekleriyle doktora tez sürecimi kolaylaştıran Türk Petrol Vakfı Müdürü Sayın Cabir CAN'a,

Doktora öğrenimim boyunca desteği ile yanımda olan Öğretim Gör. Simge ARKAN'a ve Araş. Gör. Mustafa KOCABAŞ'a, tez çalışmalarımızı özveriyle birlikte yürüttüğümüz Duygu ARSLAN'a, tez çalışmamın çeşitli aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, Araş. Gör. Dr. Miray ONAN'a, Araş. Gör. Dr. Duygu GÖKSAY KADAİFÇİLER'e, Uzman Biyolog Tuğçe TÜCCAR ve İpek ADA'ya ve diğer tüm çalışma arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca beni ben halime bırakan ve mücadeleci ruhumu keşfetmemi sağlayan babama, yaşadığım zorlukların beni umutsuzluk denizine değil, başarı dağlarına çıkaracağına inandıran anneme, her ağladığımda beni güldürebilen kardeşlerime,

en içten dileklerle teşekkür ederim.

Aralık 2016

Tuba ÜNSAL

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
TABLO LİSTESİ .....	xi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ .....	xii
ÖZET.....	xiv
SUMMARY .....	xvii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL KISIMLAR .....</b>	<b>5</b>
2.1. SOĞUTMA KULESİ .....	5
2.2. BİYOFİLM .....	7
2.3. SOĞUTMA KULE MALZEMESİ OLARAK GALVANİZLİ ÇELİK.....	10
2.4. SOĞUTMA KULESİ VE MİKROORGANİZMA .....	12
2.4.1. Soğutma Kulesinde Bulunan Mikroorganizmalar.....	12
2.4.2. Sülfat İndirgeyen Bakteriler.....	13
2.5. KOROZYON .....	14
2.5.1. Abiyotik (Elektrokimyasal) Korozyon.....	14
2.5.2. Biyotik (Mikrobiyolojik) Korozyon.....	16
2.6. MİKROBİYOLOJİK KOROZYON.....	16
2.6.1. Mikrobiyolojik Korozyon Oluşumunda Mikroorganizmaların Etkileri.....	16
2.6.2. Mikrobiyolojik Korozyona Neden Olan Mikroorganizmalar .....	18
2.6.3. SRB'lerin Korozyon Mekanizmaları .....	20
2.7. MİKROBİYOLOJİK KOROZYONUN İNCELENMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER .....	21
2.7.1. Elektrokimyasal Olmayan Yöntemler.....	22
2.7.1.1. Ağırlık Kaybı Yöntemi .....	22
2.7.2. Elektrokimyasal Yöntemler .....	22
2.7.2.1. Açık Devre Potansiyeli (ADP).....	23
2.7.2.2. Potansiyodinamik Polarizasyon Yöntemi.....	23

2.7.2.3. Tafel Extrapolasyonu Yöntemi .....	24
2.7.2.4. Lineer (Doğrusal) Polarizasyon Direnci Yöntemi (LPR) .....	24
2.7.2.5. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) .....	25
2.7.3. Görüntüleme Yöntemleri (SEM-EDS).....	27
2.8. SOĞUTMA KULELERİNDE KULLANILAN KOROZYONDAN KORUNMA YÖNTEMLERİ .....	27
2.8.1. Mikrobiyolojik Korozyona Karşı Korunma Yöntemleri .....	28
2.8.2. Su Sistemlerinde Ag-Cu İyonlarının Kullanılması .....	30
<b>3. MALZEME VE YÖNTEM .....</b>	<b>33</b>
3.1. GALVANİZLİ ÇELİK VE KUPONLARIN HAZIRLANMASI .....	36
3.1.1. Model Su Sirkülasyon Deney Sistemi İçin Kuponların Hazırlanması.....	36
3.1.2. Elektrokimyasal Deneyle İçin Kuponların Hazırlanması .....	37
3.2. MODEL SU SİRKÜLASYON SİSTEMİNİN KURULUMU, İŞLETİM KOŞULLARI VE YAPILAN ANALİZLER.....	37
3.2.1. Mikrobiyolojik Analizler .....	39
3.2.1.1. Su Örneğinden AHB ve SRB'lerin İzolasyonu ve Sayımı .....	39
3.2.1.2. Biyofilm Örneğinden AHB ve SRB'lerin İzolasyonu ve Sayımı .....	39
3.2.2. EPS Eldesi.....	40
3.2.2.1. EPS İçeriğindeki Toplam Karbonhidrat Miktarının Tespiti .....	41
3.2.2.2. EPS İçeriğindeki Toplam Protein Miktarının Tespiti .....	42
3.2.3. Kuponlarda Korozyon Oluşum Analizleri .....	43
3.2.3.1. Elektrokimyasal Analizler .....	43
3.2.3.2. Ağırlık Kaybı Analizi .....	44
3.2.3.3. Yüzey Analizleri (SEM- EDS).....	45
3.2.4. Model Sistem Suyunun Kimyasal Parametrelerinin İncelenmesi.....	45
3.2.4.1. Sülfat ( $SO_4^{-2}$ ) .....	45
3.2.4.2. Ortofosfat ( $PO_4^{-3}$ ).....	46
3.2.4.3. Klorür ( $Cl$ ).....	47
3.2.4.4. Toplam Alkalinite .....	47
3.2.4.5. Çözünmüş Oksijen .....	47
3.2.4.6. İletkenlik ve Toplam Çözünmüş Madde Miktarı .....	48
3.2.4.7. pH Değeri.....	48
3.3. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ İYONLU DENEY DÜZENİĞİNİN KURULUMU, İŞLETİM KOŞULLARI VE YAPILAN ANALİZLER.....	48
3.3.1. Ag ve Cu İyon Çözeltilerinin Hazırlanması.....	49

3.3.2. Mikrobiyolojik Analizler .....	50
3.3.2.1. Su Örneğinden AHB ve SRB'lerin İzolasyonu ve Sayımı .....	50
3.3.2.2. Biyofilm Örneğinden AHB ve SRB'lerin İzolasyonu ve Sayımı .....	50
3.3.3. EPS Eldesi, Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarının Tespiti .....	50
3.3.4. Biyofilm Örneklerinden Ağır Metal (Zn, Fe, Cu, Ag) Analizi .....	51
3.3.5. Kuponlarda Korozyon Oluşum Analizleri .....	51
3.4. İYONSUZ STERİL KONTROL DÜZENEĞİ (KONTROL 1) İŞLETİM KOŞULLARI VE YAPILAN ANALİZLER.....	51
3.4.1. Kuponlarda Korozyon Oluşum Analizleri .....	52
3.5. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ İYONLU STERİL KONTROL DÜZENEĞİ (KONTROL 2) KURULUMU, İŞLETİM KOŞULLARI VE YAPILAN ANALİZLER .....	53
3.5.1. Kuponlarda Korozyon Oluşum Analizleri .....	53
3.6. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ İYONSUZ KONTROL DÜZENEĞİ (KONTROL 3) KURULUMU, İŞLETİM KOŞULLARI VE YAPILAN ANALİZLER .....	54
3.6.1. Kuponlarda Korozyon Oluşum Analizleri .....	54
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER .....	55
3.8. ARAŞTIRMADA KULLANILAN BESİYERLERİ VE KİMYASAL MADDELER .....	55
3.8.1. Postgate B Besiyeri .....	55
3.8.2. R2A Agar Besiyeri.....	56
3.8.3. Vitamin Solüsyonu.....	56
3.8.4. Protein Tayininde Kullanılan Reaktifler .....	57
3.8.4.1. A Reaktifi: %2 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (0.1 N NaOH içerisinde).....	57
3.8.4.2. B Reaktifi: %0.5 CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O (%1 dipotasyum tartarat içerisinde).....	57
3.8.4.3. C Reaktifi (Alkali bakır çözeltisi) .....	57
3.8.4.4. E Reaktifi (Folin Reaktifi) .....	57
3.8.5. 3N Ayarlı Nitrik Asit Çözeltisi .....	58
3.8.6. Fenolftalein İndikatör Çözeltisi .....	58
3.8.7. Kondisyonlama Çözeltisi .....	58
3.8.8. Güçlü Asit Çözeltisi .....	58
3.8.9. Amonyum Molibdat Çözeltisi.....	58
3.8.10. Kalay Klorür Çözeltisi .....	58
3.8.11. 5 mM Bakır Sülfat Solüsyonu.....	59
3.8.12. 50 mM Hidroklorik Asit .....	59

3.8.13. Korozyon Analizinde Kullanılan Asit Çözeltisi .....	59
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>60</b>
4.1. MODEL SU SİSTEMİ .....	60
4.1.1. Kimyasal Analizler .....	60
4.1.2. Bakteriyolojik Analizler.....	61
4.1.3. Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarı.....	64
4.1.4. Ağırlık Kaybı ve Korozyon Hızı Verileri .....	65
4.1.5. EDS Analizleri .....	66
4.1.6. Elektrokimyasal Analizler.....	67
4.1.6.1. Potansiyodinamik Polarizasyon Eğrileri .....	67
4.1.6.2. Elektrokimyasal Empedans Eğrileri (EIS) .....	69
4.2. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ İYONLU DENEY DÜZENEĞİ.....	74
4.2.1. Bakteriyolojik Analizler.....	74
4.2.2. Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarı.....	83
4.2.4. EDS Analizleri .....	88
4.2.5. Ağır Metal Analizi .....	89
4.2.6. Elektrokimyasal Analizler.....	90
4.2.6.1 Potansiyodinamik Polarizasyon Eğrileri.....	91
4.2.6.2. Elektrokimyasal Empedans Eğrileri (EIS) .....	96
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>110</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>125</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>140</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>141</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: Doğrudan temaslı soğutma kulesi şeması.....	6
Şekil 2.2: Biyofilm oluşum aşamaları: (1) tutunma, (2) kolonilerin büyümesi ve (3) öbek halinde dağılım (Stoodley ve Dirckx, 2003).....	9
Şekil 2.3: EMIC ve CMIC teorisi ile SRB'lerin korozyon mekanizma şeması (Enning ve Garrelfs, 2014).....	21
Şekil 2.4: Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle korozyon akımı ( $i_{kor}$ ) ve korozyon potansiyelinin ( $E_{kor}$ ) bulunuşu (Tosun, 1995).....	24
Şekil 2.5: Nyquist ve Bode eğrisi (Research Solutions, Resources LLC).....	26
Şekil 3.1: Tezin şematik olarak gösterimi; <b>a)</b> model su sirkülasyon sistemi, <b>b)</b> laboratuvar ölçekli iyonlu deney düzenekleri, <b>c)</b> kontrol 1 sistemi, <b>d)</b> kontrol 2 sistemi ve <b>e)</b> kontrol 3 sistemi.....	35
Şekil 3.2: Deneylerde kullanılmak üzere <b>a)</b> laboratuvar ölçekli deney düzenekleri ve <b>b)</b> elektrokimyasal deneyler için hazırlanan kuponlar.....	36
Şekil 3.3: Kupon taşıyıcı düzeneği.....	38
Şekil 3.4: Model su sirkülasyon sistemi.....	39
Şekil 3.5: Fenol sülfürik asit yöntemi ile standart glikoz konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.....	41
Şekil 3.6: Lowry yöntemi ile standart protein konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.....	43
Şekil 3.7: Korozyon hücresi.....	44
Şekil 3.8: Turbidimetrik yöntem ile standart $SO_4^{-2}$ konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.....	46
Şekil 3.9: Kalay klorür yöntemi ile standart $PO_4^{-3}$ konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.....	47
Şekil 3.10: Laboratuvar ölçekli iyonlu <b>a)</b> elektrokimyasal analizlere ait kuponları, <b>b)</b> biyofilm ile ilgili çalışmalarda kullanılacak kuponları içeren deney düzenekleri.....	49

<b>Şekil 3.11:</b> Kontrol 1 düzeneği.....	52
<b>Şekil 3.12:</b> Kontrol 2 düzeneği.....	53
<b>Şekil 3.13:</b> Kontrol 3 düzeneği.....	54
<b>Şekil 4.1:</b> Deney süresince galvanizli çelik yüzeylerde oluşan biyofilm tabakasının aylık gösterimi.....	61
<b>Şekil 4.2:</b> Galvanizli çelik yüzeylerde oluşan biyofilm tabakasının Eylül ( <b>a, b</b> ), Kasım ( <b>c, d</b> ) ve Şubat ( <b>e, f</b> ) aylarına ait SEM görüntüleri.....	62
<b>Şekil 4.3:</b> Biyofilm ve sudaki toplam aerobik heterotrofik bakteri sayılarının aylara göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.....	63
<b>Şekil 4.4:</b> Biyofilm ve sudaki anaerobik SRB sayılarının aylara göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.....	64
<b>Şekil 4.5:</b> Biyofilmdeki karbonhidrat ve protein miktarlarının aylara göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.....	65
<b>Şekil 4.6:</b> Galvanizli çelik kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.....	66
<b>Şekil 4.7:</b> Model su sistemindeki galvanizli çelik kuponların <b>a)</b> Eylül, <b>b)</b> Kasım ve <b>c)</b> Şubat aylarına ait EDS analizleri.....	67
<b>Şekil 4.8:</b> Model sistem suyuna maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.....	68
<b>Şekil 4.9:</b> Model sistem suyuna maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların 6 ay süresince elde edilen <b>a)</b> Nyquist, <b>b)</b> Bode ve <b>c)</b> Faz-frekans empedans eğrileri	70
<b>Şekil 4.10:</b> Galvanizli çelik kuponların <b>a)</b> Kasım ve <b>b)</b> Şubat aylarına ait SEM görüntüleri.....	71
<b>Şekil 4.11:</b> Galvanizli çelik yüzeyinin Ağustos (0.5 sa) ayına ait elektronik eşdeğer devresi.....	71
<b>Şekil 4.12:</b> Galvanizli çelik yüzeyinin Eylül ve Ekim ayına ait elektronik eşdeğer devresi.....	72
<b>Şekil 4.13:</b> Galvanizli çelik yüzeyinin Kasım ve Aralık aylarına ait elektronik eşdeğer devreleri.....	72
<b>Şekil 4.14:</b> Galvanizli çelik yüzeyinin Ocak ve Şubat aylarına ait elektronik eşdeğer devreleri.....	73
<b>Şekil 4.15:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki ve biyofilmdeki toplam AHB sayısının temas sürelerine göre <b>a)</b> Eylül, <b>b)</b> Ekim, <b>c)</b> Kasım, <b>d)</b> Aralık, <b>e)</b> Ocak	

ve <b>f)</b> Şubat aylarındaki değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.....	75
<b>Şekil 4.16:</b> Deney süresince Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki toplam AHB sayısının temas sürelerine göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.....	76
<b>Şekil 4.17:</b> Deney süresince Ag-Cu iyonlarına maruz kalan biyofilmdeki toplam AHB sayısının temas sürelerine göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.....	76
<b>Şekil 4.18:</b> Ag-Cu iyonlarının temas sürelerine bağlı olarak sudaki toplam AHB sayısına etkisi.....	78
<b>Şekil 4.19:</b> Ag-Cu iyonlarının temas sürelerine bağlı olarak biyofilmdeki toplam AHB sayısına etkisi.....	79
<b>Şekil 4.20:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki ve biyofilmdeki SRB sayısının temas sürelerine göre <b>a)</b> Eylül, <b>b)</b> Ekim, <b>c)</b> Kasım, <b>d)</b> Aralık, <b>e)</b> Ocak ve <b>f)</b> Şubat aylarındaki değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir...	80
<b>Şekil 4.21:</b> Deney süresince Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki SRB sayısının temas sürelerine göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.....	81
<b>Şekil 4.22:</b> Deney süresince Ag-Cu iyonlarına maruz kalan biyofilmdeki SRB sayısının temas sürelerine göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.....	81
<b>Şekil 4.23:</b> Ag-Cu iyonlarının temas sürelerine bağlı olarak sudaki SRB sayısına etkisi.....	82
<b>Şekil 4.24:</b> Ag-Cu iyonlarının temas sürelerine bağlı olarak biyofilmdeki SRB sayısına etkisi.....	83
<b>Şekil 4.25:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz kalan biyofilmdeki karbonhidrat ve protein miktarlarının <b>a)</b> Eylül, <b>b)</b> Ekim, <b>c)</b> Kasım, <b>d)</b> Aralık, <b>e)</b> Ocak ve <b>f)</b> Şubat aylarındaki değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.....	84
<b>Şekil 4.26:</b> Biyofilmdeki karbonhidrat miktarlarının temas sürelerine göre ay bazında gösterimi.....	85
<b>Şekil 4.27:</b> Biyofilmdeki protein miktarının temas sürelerine göre ay bazında gösterimi.....	85
<b>Şekil 4.28:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların <b>a)</b> Eylül, <b>b)</b> Kasım ve <b>c)</b> Şubat aylarına ait EDS analizleri.....	89
<b>Şekil 4.29:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Eylül ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.....	92

<b>Şekil 4.30:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Ekim ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.....	93
<b>Şekil 4.31:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Kasım ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.....	94
<b>Şekil 4.32:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Aralık ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.....	95
<b>Şekil 4.33:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Ocak ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.....	96
<b>Şekil 4.34:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Şubat ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.....	96
<b>Şekil 4.35:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Eylül ayına ait <b>a)</b> Nyquist, <b>b)</b> Bode ve <b>c)</b> Faz-frekans eğrileri.....	97
<b>Şekil 4.36:</b> Eylül ayına ait SEM görüntüleri.....	98
<b>Şekil 4.37:</b> Eylül ayına ait <b>a)</b> model sistem <b>b)</b> 0 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devre.....	98
<b>Şekil 4.38:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Ekim ayına ait <b>a)</b> Nyquist, <b>b)</b> Bode ve <b>c)</b> Faz-frekans eğrileri.....	99
<b>Şekil 4.39:</b> Ekim ayında <b>a)</b> model sistem <b>b)</b> 6 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devre.....	100
<b>Şekil 4.40:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Kasım ayına ait <b>a)</b> Nyquist, <b>b)</b> Bode ve <b>c)</b> Faz-frekans eğrileri.....	102
<b>Şekil 4.41:</b> Kasım ayında <b>a)</b> Model sistem, <b>b)</b> 0, 6, 168, 336 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devresi.....	103
<b>Şekil 4.42:</b> Kasım ayına ait SEM görüntüleri.....	103
<b>Şekil 4.43:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Aralık ayına ait <b>a)</b> Nyquist, <b>b)</b> Bode ve <b>c)</b> Faz-frekans eğrileri.....	104
<b>Şekil 4.44:</b> Aralık ayında <b>a)</b> model sistem, <b>b)</b> 0, 6 ve 168 <b>c)</b> 24 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devresi.....	105
<b>Şekil 4.45:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Ocak ayına ait <b>a)</b> Nyquist, <b>b)</b> Bode ve <b>c)</b> Faz-frekans eğrileri.....	106
<b>Şekil 4.46:</b> Ocak ayında <b>a)</b> model sistem <b>b)</b> 6 ve 24 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devresi.....	107
<b>Şekil 4.47:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Şubat ayına ait <b>a)</b> Nyquist, <b>b)</b> Bode ve <b>c)</b> Faz-frekans eğrileri.....	108

<b>Şekil 4.48:</b> Şubat ayında <b>a)</b> model sistem, <b>b)</b> 6, 168 ve 336 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devresi.....	109
<b>Şekil 4.49:</b> Şubat ayına ait SEM görüntüleri.....	109

## TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
<b>Tablo 2.1:</b> Soğutma kulesi suyu için önerilen bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik parametre değerleri.....	7
<b>Tablo 2.2:</b> SRB'ler için önerilen korozyon mekanizmaları.....	21
<b>Tablo 3.1:</b> Galvanizli çeliğin kimyasal bileşimi.....	36
<b>Tablo 4.1:</b> Aylara göre model sistem suyunun kimyasal parametreleri.....	60
<b>Tablo 4.2:</b> Deney süresince model sistemdeki galvanizli çelik kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızı verileri.....	65
<b>Tablo 4.3:</b> Model sistemdeki galvanizli çelik kuponların elektrokimyasal deneylerden elde edilen $E_{kor}$ ve $V_{kor}$ değerleri.....	69
<b>Tablo 4.4:</b> EIS deneylerinden elde edilen empedans parametreleri.....	73
<b>Tablo 4.5:</b> Model sisteme göre Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki ve biyofilmdeki toplam AHB sayısındaki log düşüşleri.....	77
<b>Tablo 4.6:</b> Model sisteme göre Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki ve biyofilmdeki SRB sayısındaki log düşüşleri.....	82
<b>Tablo 4.7:</b> Ag-Cu iyonları ile temas sürelerine göre galvanizli çelik kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hız verileri.....	87
<b>Tablo 4.8:</b> 504 sa'lik temas süresi sonrasında, kontrol 3 ve Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan deney kuponlarına ait ağırlık kaybı ve korozyon hız verileri.....	88
<b>Tablo 4.9:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz kalan biyofilmdeki Zn, Fe, Ag ve Cu iyon konsantrasyon değerleri.....	90
<b>Tablo 4.10:</b> Deney süresince 504 sa'lik temas süresi boyunca Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların $E_{kor}$ ve $V_{kor}$ değerleri.....	91
<b>Tablo 4.11:</b> Ag-Cu iyonlarına maruz kalan kuponların EIS deneylerinden elde edilen empedans parametreleri.....	101

## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
°C	: Santigrat
cm <sup>2</sup>	: Santimetrekare
dk	: Dakika
g	: Gram
h/cm <sup>2</sup>	: Hücre/santimetrekare
kob/ml	: Toplam koloni sayısı/mililitre
l	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
ppm	: Milyonda bir
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
sa	: Saat
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
mpy	: Yılda bir mil

Kısaltmalar	Açıklama
ADP	: Açık devre potansiyeli
AHB	: Aerobik heterotrofik bakteriler
EDS	: Enerji dağılım spektroskopisi
EPS	: Hücre dışı polimerler
ICP-MS	: İndüktif olarak eşleşmiş kütle spektrometresi
MIC	: Mikrobiyolojik olarak desteklenen korozyon
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SRB	: Sülfat indirgeyen bakteriler
TÇM	: Toplam çözünmüş madde
EPA	: Çevre koruma ajansı
$E_{kor}$	: Korozyon potansiyeli
$V_{kor}$	: Korozyon hızı
$i_{kor}$	: Korozyon akımı
$I_{kor}$	: Korozyon akım yoğunluğu
$R_{po}$	: Por direnci
$R_b$	: Biyofilm direnci
$R_f$	: Film direnci
$R_{ct}$	: Yük transfer direnci
$R_s$	: Çözelti direnci
W	: Warburg elementi

<b><math>B_a</math></b>	: Anodik eğrideki eğim
<b><math>B_k</math></b>	: Katodik eğrideki eğim
<b><math>R_p</math></b>	: Polarizasyon direnci
<b><math>C_{dl}</math></b>	: Elektriksel çift tabaka
<b>CPE</b>	: Sabit faz elementi



## ÖZET

### DOKTORA TEZİ

#### GÜMÜŞ-BAKIR İYONLARININ GALVANİZLİ ÇELİĞİN MİKROBİYOLOJİK KOROZYONUNA ETKİSİ

**Tuba ÜNSAL**

**İstanbul Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Esra İLHAN SUNGUR**

**II. Danışman: Prof. Dr. Nurhan CANSEVER**

Mikrobiyal biyofilm ve korozyon, endüstriyel tesislerin vazgeçilmez bir parçası olan soğutma sistemlerindeki en yaygın sorunların başında gelmekte olup, bakım giderlerinin artmasına ve enerji kayıplarına neden olmaktadır. Bu nedenle endüstriyel sistemlerde mikrobiyal aktivitenin kontrolü ve inhibisyonu gerekmektedir. Günümüzde son derece önemli bir konu olan ancak uygulamada yeteri kadar üzerinde durulmayan biyofilmin kontrolü, endüstriyel yatırım ve üretim maliyetlerini etkileyen en önemli faktörler arasındadır.

Endüstride mikroorganizmaların kontrolü için kullanılan biyositlerin çoğu potansiyel karsinojen maddeler olup, bu maddeler içme ve kullanma sularına karışabilmektedirler, bu nedenle de biyosit kullanımında ortaya çıkan ekolojik ve çevresel problemleri engellemek için endüstride kullanımlarına dair yasal sınırlamalar getirilmiştir. Bu bakımdan yeni yöntemlerin geliştirilmesi ve var olan yöntemlerin bilinçli kullanımı daha da önem kazanmaktadır. Günümüzde biyosit kullanımına alternatif ve çevreyle dost olan Ag-Cu iyonizasyon sistemi tercih edilmektedir. Amerika ve Avrupa'da su hijyeni konusunda kullanımı ilk sıralarda tavsiye edilen bu sistemin, ülkemizde bilinçli kullanımı henüz gerçekleşmemiştir. Ag-Cu iyonları ile yapılan çalışmaların genellikle kısa süreli ve saf suşlar ile gerçekleştirilmiş olduğu belirlenmiştir. Bu iyonların uzun süreli

uygulamalarında, metal yüzeylerde karışık mikroorganizma gruplarını içerdiği düşünülen olgunlaşma sürecindeki biyofilmin galvanizli çelikte neden olduğu mikrobiyolojik korozyona, biyofilmdeki aerobik heterotrofik (AHB) ve sülfat indirgeyen bakteriler (SRB) üzerine biyosidal etkinliğine ve biyofilmin yapısını nasıl etkilediğine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Tez kapsamında, EPA (Environmental Protection Agency) içme suyu için belirlenen maksimum Ag ve Cu iyon konsantrasyon değerlerinin (0.1 ppm Ag ve 1.3 ppm Cu) soğutma kulesini simüle eden model bir su sirkülasyon sisteminde; galvanizli çelik yüzeylerde oluşan karışık mikroorganizma gruplarını içerdiği düşünülen olgunlaşma sürecindeki biyofilmin galvanizli çelikte neden olduğu mikrobiyolojik korozyonuna, biyofilmdeki AHB ve SRB'lere karşı biyosidal etkinliğine ve biyofilmin yapısına olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Böylece Ag ve Cu iyonlarının uzun süreli kullanımlarında gelişmiş biyofilmin kontrolünde etkili olup olmadıkları ve bu süreçte biyofilmdeki değişimlerin biyofilmin direncini ve buna bağlı olarak galvanizli çeliğin mikrobiyolojik korozyon davranışını nasıl etkilediğinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bu amaçlar doğrultusunda, deneyler, 3'ü kontrol olmak üzere, 5 farklı düzenekte gerçekleştirilmiştir. Galvanizli çelik kuponlar model su sirkülasyon deney sistemine yerleştirilmiş ve sistem 6 ay boyunca kesintisiz olarak işletilmiştir. Sistemden aylık olarak çıkarılan kuponlardan mikrobiyolojik, EPS eldesi, ağır metal ve ayrıca korozyon oluşum analizleri gerçekleştirilmiştir. Sistem çalıştıktan bir ay sonra laboratuvar ölçekli iyonlu deney düzeneği devreye alınmış ve daha sonraki aylarda da yeniden kurulmuştur. Model su sisteminden her ay düzenli olarak çıkarılan kuponlar, 504 sa boyunca Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılmıştır. Belirli temas süreleri (0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa) sonunda çıkarılan kuponlardan mikrobiyolojik, EPS eldesi, ağır metal ve ayrıca korozyon oluşum analizleri gerçekleştirilmiştir. Şebeke suyunun galvanizli çelik üzerine korozyon etkisinin tespiti için kurulan steril kontrol sistemi (Kontrol 1), steril şebeke suyu ile doldurulmuş, galvanizli çelik kuponlar sisteme yerleştirilmiş ve sistem 6 ay süresince kesintisiz olarak laminar flowda işletilmiştir. Sistemden aylık olarak çıkarılan kuponların ağırlık kayıpları tespit edilmiş ve korozyon hızları hesaplanmıştır. Sistem çalıştırıldıktan bir ay sonrasında itibaren şebeke suyuna ek olarak Ag-Cu iyonlarının galvanizli çeliğin korozyon davranışına olan etkisini tespit etmek için laboratuvar ölçekli iyonlu steril kontrol düzeneği (Kontrol 2) kurulmuştur. Kontrol 1 sisteminden her ay düzenli olarak çıkarılan kuponlar, 504 sa boyunca Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılmıştır. Belirli temas süreleri (0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa) sonunda çıkarılan kuponların ağırlık kayıpları saptanmış ve korozyon hızları hesaplanmıştır. Biyofilm içeren galvanizli çelik yüzeylere 504 sa boyunca model sistem suyunun etkisini belirlemek için ise laboratuvar ölçekli iyonsuz kontrol düzeneği (Kontrol 3) kurulmuştur. Her ay model su sirkülasyon deney sistemden çıkarılan kuponlar 504 sa boyunca model sistem suyuna maruz bırakılmıştır. Düzenek birinci aydan itibaren her ay düzenli olarak kurulmuş ve 504 sa boyunca laminar flow içerisinde işletilmiştir. Kuponların, 0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa'lık temas süreleri sonunda ağırlık kayıpları tespit edilmiş ve korozyon hızları hesaplanmıştır.

Deney süresince EIS deneyleri ve SEM incelemeleri ve EDS analizleri ile biyofilmin tabakalaştığı ve yapısının sürekli olarak değiştiği belirlenmiştir. Model sistemdeki sesil aerobik bakteri sayısının planktonik fazdakinden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Karışık mikroorganizma gruplarının kendi ürettiği EPS'yi kullanabildiği tespit edilmiştir. Ağırlık kaybı ve elektrokimyasal deneylerden elde edilen

veriler, model su sistemindeki galvanizli çeliğin mikrobiyolojik olarak korozyona uğradığını göstermektedir. Ag-Cu iyonlarına maruz kalan planktonik AHB sayısının 6 sa'lik temas süresine kadar azaldığı ve sonrasında artış gösterdiği, biyofilmdeki sayılarının ise ilk 5 aylık (Eylül-Ocak) deney sürecinde 24. sa'te kadar azaldığı ve sonrasında arttığı tespit edilmiştir. Sudaki AHB log düşüşünün SRB'den anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ). Ag-Cu iyonlarına maruz kalan biyofilmdeki EPS içeriğindeki karbonhidrat ve protein miktarının genel olarak 168. sa'lik temas süresi sonrasında azaldığı tespit edilmiştir. Ag-Cu iyonlarına temas sürelerine göre ise deney kuponlarının korozyon hızının zamanla azaldığı ( $p<0.01$ ), kontrol kuponlarının ise zamanla arttığı tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ).

Tez çalışmasından elde edilen veriler doğrultusunda, biyofilmin dinamik bir yapıda olduğu, 504 sa'lik temas süresi sonunda EPA'nın önerdiği maksimum Ag (0.1 ppm) ve Cu (1.3 ppm) iyon konsantrasyonlarının karışık mikroorganizmaları içerdiği düşünülen biyofilmdeki AHB ve SRB'lere biyosidal etkinliğinin yeterli olmadığı, Ag-Cu iyonlarının biyofilmin yapısını değiştirdiği fakat biyofilmin galvanizli çelikte neden olduğu mikrobiyolojik korozyon hızını değiştirmemekle birlikte metalin korozyonunu kimyasal olarak hızlandırdığı sonuçlarına varılmıştır.

Aralık 2016, 163 sayfa.

**Anahtar kelimeler:** Biyofilm, mikrobiyolojik korozyon (MIC), Ag-Cu iyonları, galvanizli çelik, soğutma kulesi.

## **SUMMARY**

### **Ph.D. THESIS**

#### **THE EFFECT OF SILVER-COPPER IONS TO MICROBIOLOGICAL CORROSION OF GALVANIZED STEEL**

**Tuba UNSAL**

**İstanbul University**

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

**Department of Biology**

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

**Co-Supervisor: Prof. Dr. Nurhan CANSEVER**

The major problems occurring in the cooling towers, which are indispensable parts of industrial facilities, include corrosion, pollution, and biofilm formation. Microbial biofilm and corrosion are one of the most frequent problems in cooling systems and they cause increases of maintenance costs and energetic losses. Therefore, the control and inhibition of microbial activity are required in industrial systems. Nowadays, the control of biofilm formation, which is a crucial issue in industry but not focused adequately during the application procedure, is one of the most important factors affecting the industrial investment and production costs.

Most of the biocides used in the control of microorganisms in the industry are potential carcinogenic substances and these may flow into rivers or refinement system waters. In order to prevent ecological and environmental problems regarding the use of biocides, legal limitations of the use of biocides have been provided. It is therefore developing new methods and using the existing methods consciously become even more important. Nowadays, Ag-Cu ionization system, which is an alternative to biocide usage and is environmentally friendly, is preferred. Although in America and Europe, this method has been recommended in the first place for water hygiene, it has not been used consciously in our country yet. It was determined that the studies performed with Ag-Cu ions were

carried out with pure strains and in short-times. In the long-term applications of these ions, there are no studies, about the effect of ions on the microbial corrosion of the galvanized steel surfaces during the maturing period of biofilm and how the ions affect the structure of the biofilm and the biocidal effect on SRB and AHB in the biofilm formed on the galvanized steel surfaces.

Within the scope of this thesis, a model water circulation system simulating a cooling tower was designed and the effect of Ag and Cu concentration levels, in accordance with EPA (Environmental Protection Agency, 0.1 ppm Ag and 1.3 ppm Cu) standards on the maturing biofilm containing mixed bacterial population on galvanized steel surfaces was studied. It was aimed to determine the effect of ions on the microbial corrosion of the galvanized steel surfaces, how the ions affect the structure of the biofilm and the biocidal effect on SRB and AHB in the biofilm formed on the galvanized steel surfaces. Therefore, by showing the changes of the biofilm structure in time, it was aimed to determine if these ions are efficient in the control of mature biofilm over a long period of use. In addition, the resistance of biofilm and how galvanized steel affects the microbiological corrosion behavior will be identified.

In accordance with these purposes, the experiments were carried out in five separate systems, three of which were control. Galvanized steel coupons were placed in the model water circulation test system and the system was operated continuously for 6 months. Microbiological, EPS, heavy metal and corrosion formation analyses were carried out for galvanized steel coupons extracted from the model water circulation system monthly. After a month of the running the circulation system, the laboratory-scale experimental setup containing Ag-Cu ions were put into use. The coupons, which are extracted from the model water circulation system monthly, were subjected to the Ag-Cu ions in the laboratory-scale experimental setup during 504 hours. Microbiological, EPS, heavy metal and corrosion formation analyses were carried out for galvanized steel coupons after different contact times (0, 6, 24, 168, 336 ve 504 hours). Sterile control system (Control 1) was set up to detect the corrosive effect of tap water on galvanized steel. Galvanized steel coupons were placed in the control 1 system and the system was operated continuously for 6 months. The weight loss and the corrosion rates of the coupons, which were extracted from the control 1 system each month, were determined. After a month of the running the control 1 system, the laboratory-scale sterile control setup containing Ag-Cu ions (Control 2) were set up to determine the Ag-Cu ions effect on the microbial corrosion of galvanized steel. The coupons, which are extracted from the control 1 system each month, were subjected to the Ag-Cu ions in the control 2 during 504 hours. The weight loss were determined and the corrosion rates of the coupons were calculated after different contact times (0, 6, 24, 168, 336 ve 504 hours). Laboratory-scale control system without ions (Control 3) was set up to detect the effect of model system water during 504 hours on biofilm including galvanized steel. The coupons, which are extracted from the model system each month, were subjected to the control 3 during 504 hours. The weight loss were determined and the corrosion rates of the coupons were calculated after different contact times (0, 6, 24, 168, 336 ve 504 hours).

During the experiment, the results of EIS experiments and surface analyses showed that the biofilm layers and structure were changed continuously. This suggests that the biofilm is dynamic and constantly changing. It was found that sessile AHB count were higher than planktonic forms in model system ( $p < 0.05$ ). It was determined that the

microorganisms in mixed culture had the ability to biodegrade the carbohydrate and protein produced by own. The results of weight loss and electrochemical experiments indicated that the galvanized steel was underwent microbial corrosion in the model system. It was found that the count of planktonic AHB exposed to Ag-Cu ions decreased up to 6 h contact time to ions and then increased. Also the count of the sessile forms decreased up to 24 h in the first 5 months (September-January) and then increased. It was determined that the log decrease of planktonic AHB were significantly higher than planktonic SRB ( $p < 0.01$ ). It indicates that planktonic SRB forms were more resistant to ions or/and the biofilm protect the SRB. It was determined that the carbohydrate and protein amounts in the EPS content of the biofilm which was exposed to Ag-Cu ions were decreased after 168 h contact time. According to contact times to ions, it was determined that while the corrosion rates of test coupons were decreased ( $p < 0.01$ ) with time, the control coupons were increased ( $p < 0.01$ ). This is an indication that Ag-Cu ions were accelerated the corrosion of galvanized steel chemically.

The data which were obtained from the thesis showed that, the maximum concentrations of Ag (0.1 ppm) and Cu (1.3 ppm) ions which were suggested by EPA were not sufficient to biocidal activity on AHB and SRB. Also, it indicated that although Ag-Cu changed the biofilm structure, these ions did not alter the microbiological corrosion rate of galvanized steel caused by biofilm at the end of the 504 h contact time.

December 2016, 163 pages.

**Keywords:** Biofilm, microbiological corrosion (MIC), Ag-Cu ions, galvanized steel, cooling tower.

## 1. GİRİŞ

Endüstride kullanılan malzemelerin çoğu, doğada bileşik halinde bulunmaktadır. Çeşitli işlem ve yöntemler ile bu malzemeler metal haline dönüştürülmektedir. Ancak termodinamik yasalarına göre tüm metaller doğadaki en kararlı bileşiklerine dönüşme eğilimi göstermektedir. Bu dönüşme eğilimi, korozyon olayıdır. Korozyon, metal ve alaşımlarının, çevrenin çeşitli etkileriyle kimyasal ve elektrokimyasal olarak değişmesi veya fiziksel olarak çözünmesi sonucu gerçekleşmektedir. Korozyona uğrayan metalin dayanıklılığını yitirmesiyle çeşitli tesis ve yapılarda kazalar ve ciddi maddi kayıplar meydana gelmektedir (Üneri, 2011).

Mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu doğrudan ve dolaylı olarak meydana gelen korozyon işlemleri ile metalin bozulması olayına mikrobiyolojik korozyon denmektedir (Hadley, 1948). Korozyon olayının sıkça görüldüğü endüstriyel sistemlerin başında soğutma kuleleri gelmektedir. Su depoları ve soğutma kule sistemleri mikroorganizmaların üremeleri ve gelişmeleri için uygun koşullara sahiptir. Özellikle açık sistem soğutma kulelerinde, kule suyu direkt olarak atmosfere maruz kaldığından dolayı, su veya suyun temasta olduğu hava ile sisteme giren mikroorganizmalar (bakteri, mantar, alg vb.), metal yüzeylere tutunup çoğalarak biyofilm tabakasının oluşmasına neden olmaktadır (Characklis, 1981). Biyofilm tabakası soğutma kulelerindeki metalik malzemelerde korozyona yol açan bakterilerin başında gelen zorunlu anaerobik sülfat indirgeyen bakteriler (SRB) ve *Legionella pneumophila* gibi patojen bakteriler için rezervuar görevi görmektedir (Wingender ve Flemming, 2011).

SRB'lerin neden oldukları korozyon olayını açıklamak için çok sayıda mekanizma önerilmektedir ve bu mekanizmaların hepsi sülfat indirgenmesine bağlı olarak gerçekleşmektedir (Von Wolzogen Kühr ve Van Der Vlugt, 1934; Edyvean ve diğ., 1998; Little ve diğ., 1998). Bu indirgenme işlemleri sonucunda da asidik ve korozif bir ürün olan hidrojen sülfür oluşmaktadır. Oluşan hidrojen sülfür soğutma kulelerinin metal yüzeylerini (paslanmaz çelik, galvanizli çelik vb.) ciddi bir şekilde korozyona uğratarak bakım giderlerinin artmasına ve enerji kayıplarına neden olmaktadır. SRB'lerin

oluşturduğu korozyondan, özellikle soğutma sistemlerinin sirkülasyon boruları, su tankları ve ısı değiştiricileri gibi yapıların önemli ölçüde zarar gördüğü belirtilmektedir (Xu ve diğ., 2012).

Soğutma kulelerinin sağlam ve uzun ömürlü olması için malzeme seçimi büyük önem arz etmektedir. Soğutma kule suyunun biriktiğı ve mikrobiyal popülasyonun yüksek olduğı havuz kısımlarında, korozyona ve biyofaulinge karşı dirençli olmasından dolayı genellikle galvanizli çelik malzemeler tercih edilmektedir. Galvanizli çelikler, yüzeyi çinko metali ile kaplı çelik levhalar olup, çinko kaplama, metali korozif elementlere karşı bir bariyer oluşturması ve çeliğı katodik olarak koruması nedeniyle, mükemmel bir korozyon direnci sağlamaktadır (Hosny ve diğ., 1995; Zhang, 1996; Fujita ve Mizuno 2007). Ancak bu korozyon direnci soğutma sistemlerinde mikrobiyal aktiviteler karşısında yeterli olamamaktadır (Minnoş ve diğ., 2013).

Endüstride aktif olarak kullanılan sistemlerde, biyofilm oluşumu ve mikrobiyolojik korozyonu engellemek için, çeşitli korozyon kontrol yöntemlerinin (kaplamalar, katodik koruma, korozyon inhibitörleri vb.) yanısıra biyositler de kullanılmaktadır. Endüstriyel açıdan tercih edilen biyosit, geniş mikrobiyal spektrumda etkili, ucuz ve çevre dostu olmalı, metaller için korozif olmamalı ve ayrıca inhibe edici etkisini diğeri bileşiklerin bulunduğu ortamlarda ve işletme koşullarında uzun süre koruyabilmelidir. Bir çok tesis ve işletmelerde dezenfektan olarak sıklıkla kullanılan klorun etkisinin sıcaklık ve pH'a bağılı olması, sudan çabuk buharlaşması, biyofilme giriciliğinin yetersiz kalması, metalik malzemeler için korozif olması, kalıcı dezenfeksiyon etkisinin bulunmaması, bazı organik maddelerle birleştğinde kanserojen bileşikler oluşturarak insan ve çevreye karşı toksik etki göstermesi ve ayrıca işleme ve depolama problemleri gibi sınırlamalarından dolayı, son yıllarda soğutma suyunun dezenfeksiyonunda klor yerine Ag-Cu iyonizasyon sistemi gibi alternatif yeni yöntemler uygulanmaktadır (Landeem ve diğ., 1989; Lin ve diğ. 2002; Martinez ve diğ., 2004).

Ag-Cu iyonizasyon sistemi, su hijyeni konusunda Amerika'da yaygın olarak kullanılan ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ile Avrupa Topluluğı'na bağılı Legionella Çalışma Grubu (EWGLI) tarafından AB standartlarında ilk sıralarda kullanımı tavsiye edilen bir yöntem olup, 2003 yılından beri birçok ülkede, hastane sıcak su sistemleri, havuz suları,



su şıfaleme ve su geri dönüşüm şirketleri ve soğutma kulelerinde aktif olarak kullanılmaktadır (Fewtrell, 2014).

Ag-Cu iyonizasyon yönteminin temeli; Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi'nin (NASA) 1960'lı yıllarda hayata geçirdiği bir su dezenfeksiyon sistemine dayanmaktadır. Uzaya gönderilen araçlarda klor gibi kimyasal maddeler bulundurmak sakıncalı olduğu için astronotların içme ve kullanma sularının dezenfeksiyonu üzerine yapılan çalışmalar sonucunda Ag-Cu iyonizasyon sistemi geliştirilmiştir. Elektrolitik olarak üretilen gümüş ( $Ag^{+1}$ ) ve bakır ( $Cu^{+2}$ ) iyonlarının sinerjistik etki göstererek su dezenfeksiyonunun daha etkin bir şekilde gerçekleştirilmesini sağladıkları tespit edilmiştir (Thurman ve Gerba, 1989; Silvestry-Rodriquez ve diğ., 2007). Pozitif yüklü Cu iyonları, bakteri hücrelerinin negatif yüklü koruyucu hücre duvarlarına tutunmakta, bakterinin hücre duvarında delik açarak, Ag iyonlarının hücreye girişini kolaylaştırmaktadır. Böylece hücre içine giren Ag iyonları, hücrenin yarı geçirgen özelliğini bozmakta ve hücresel madde alışverişini engelleyerek mikroorganizmaların ölümüne neden olmaktadır (Martinez ve diğ., 2004).

Ag-Cu iyonları ile yapılan çalışmaların çoğunlukla hastane su sistemindeki mikroorganizmaların özellikle de patojen bir bakteri olan *Legionella* sp.'nin eliminasyonu üzerine olduğu görülmüştür (Rohr ve diğ., 1999; Lin ve diğ., 1998; Kusnetsov ve diğ., 2001; Blanc ve diğ., 2005; Chen ve diğ., 2008). Bununla birlikte, bu iyonların soğutma kulesinde bulunan mikroorganizmalara karşı biyosidal etkinliğine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Martinez ve diğ. (2004) yaptıkları çalışmada, farklı konsantrasyonlarda üretilen Ag-Cu iyonlarının klorun varlığında veya yokluğunda soğutma suyunda bulunan demir indirgeyen bakteriler (IRB), demir yükseltgeyen bakteriler (IOB), SRB ve koliform bakterilerinin üremeleri üzerine etkilerini akvaryum içerisinde 72 saat süresince araştırmışlardır. Kim ve diğ. (2004) tarafından ticari olarak geliştirilen EEKO-BALL olarak adlandırılan, Ag ve Cu içeren inorganik dezenfektanın soğutma kulelerindeki *E. coli* bakterisine etkisini araştırmışlardır. Yun Shih ve Lin (2010) *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Acinetobacter baumannii* bakterilerine karşı Ag-Cu iyonizasyon sisteminin etkisini, açık tip model su sisteminde 120 sa boyunca incelemişlerdir.

Yapılan literatür taramaları sonucunda soğutma kule sularının iyileştirilmesinde Ag-Cu iyonlarının kullanıldığı sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmış olup, bu çalışmaların da kısa

sürelili ve özellikle kule suyundaki bazı mikroorganizmaları hedef aldığı tespit edilmiştir. Ancak kule sularında farklı mikroorganizma grupları (aerobik heterotrofik bakteriler, (AHB) anaerobik heterotrofik bakteriler, funguslar, vb.) bulunmakta ve bu mikroorganizmalar arasındaki ilişkiler de oluşan biyofilmin yapısını ve dolayısıyla da metalin korozyon davranışını etkilemektedir. Ayrıca, Ag ve Cu iyonlarının bazı saf SRB türlerinin mikrobiyolojik korozyon etkilerini azalttığı İlhan-Sungur ve diğ. (2015) tarafından rapor edilmesine rağmen karışık bakteri gruplarını içerdiği düşünülen biyofilimde Ag-Cu iyonlarının galvanizli çeliğin mikrobiyolojik korozyon davranışını nasıl etkilediği konusunda bir bulguya rastlanmamıştır.

Bu tez çalışması ile soğutma kulesinin simüle edildiği model su sirkülasyon sisteminde, Çevre Koruma Ajansı (EPA) standartlarındaki Ag ve Cu (0.1 ppm Ag ve 1.3 ppm Cu) iyonlarının, karışık mikroorganizma gruplarını içerdiği düşünülen biyofilmin galvanizli çelikte neden olduğu mikrobiyolojik korozyona, biyofilmdeki AHB ve SRB'ler üzerine biyosidal etkinliğine ve biyofilmin yapısına olan etkisi incelenmiştir. Bu kapsamda, mikrobiyolojik, EPS eldesi, ağır metal ve ayrıca elektrokimyasal deneylerle (EIS, polarizasyon yöntemi) biyofilmdeki yapı değişimlerini incelemiş ve galvanizli çeliğin mikrobiyolojik korozyon davranışı belirlenmiştir. SEM ve EDS analizleri ile biyofilmin yapısı hakkında fikir sahibi olunmuştur. Böylece Ag-Cu iyonlarının soğutma kulelerinde uzun süreli kullanımında, biyofilm ve buna bağlı olarak korozyonun kontrolünde etkili bir yol olup olmadığının belirlenmesi hedeflenmiştir.

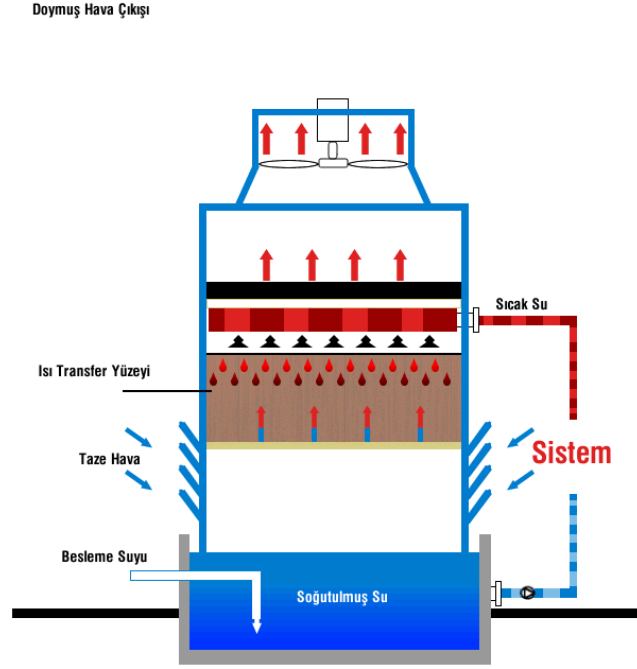
## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. SOĞUTMA KULESİ

Güç santralleri, merkezi klima sistemleri ve petrokimya gibi birçok endüstriyel sistemler yüksek miktarlarda ısı üretmektedirler. Ortaya çıkan bu ısı genellikle yakın çevrede bulunan bir göle veya akarsuya verilmektedir. Bu durumda oluşabilecek ısıl kirlenme için bazı önlemlerin alınması gerekmektedir. Bu gibi durumlarda, atık ısı atmosfere verilmekte ve soğutma suyu ısı kaynağıyla atmosfer arasında, ısı geçişi için aracı akışkan olmaktadır. İşlemlere tabi tutulan bu suyu tekrar kullanabilmek, sudan istenmeyen ısıyı uzaklaştırmak ve bu ısıyı zararsız ve ucuz olarak çevreye atabilmek için bir soğutma kule sistemine ihtiyaç duyulmaktadır (Gönen, 2014). Soğutma kulelerinin boyutu, kullanıldığı endüstriyel sisteme ve kullanılış amacına göre farklı ölçülerde olabilmektedir (Asadzadeh ve Alam, 2014). Günümüzde soğutma kulelerinde, gövde malzemesi olarak cam elyaf takviyeli polyester, ahşap, beton, paslanmaz çelik ve galvanizli çelik gibi malzemeler kullanılmaktadır. Bununla birlikte korozyona ve biyofaulinge karşı dirençli olmasından dolayı galvanizli çelik, soğutma kule malzemesi olarak sıklıkla tercih edilmektedir (Bureau of Energy Efficiency, 2004).

Temas şekillerine göre kapalı ve açık sistem olmak üzere iki tip soğutma kulesi bulunmaktadır (Gül, 2012). Kapalı sistem (indirek temaslı) soğutma kulelerinde sıcak su bir boru içinde hareket etmekte ve suyun sıcaklığı borunun dışındaki dış çevrim suyu ve hava akışı yolu ile düşürülmektedir. Boru içindeki sirkülasyon halindeki su, atmosfer ile doğrudan temas etmemektedir.

Açık sistem (direkt temaslı) soğutma kulelerinde ise kule suyu doğrudan açık havaya maruz kalmakta ve sistemden uzaklaştırılması gereken atık ısı, suyun buharlaşması yolu ile havaya transfer edilmektedir (Şekil 2.1). Bu tip soğutma kulelerinde hava yoluyla gelebilecek her türlü toz, kir ve mikroorganizma soğutma suyuna karışmaktadır (Kazanç, 1992).



Şekil 2.1: Doğrudan temaslı soğutma kulesi şeması.

Soğutma kule suyu ile havanın bağıl ısı seviyeleri arasındaki fark sebebiyle suyun içerisindeki çözülmüş maddeler buharlaşmamaktadır. Böylece suda bulunan TÇM (toplam çözülmüş madde) konsantrasyonunda artış meydana gelmektedir. TÇM miktarı arttıkça, suyun elektriksel iletkenliği de artmaktadır. Bu artış sonucu soğutma kulelerinde su kaynaklı korozyon vb. gibi birçok problem ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple TÇM artışını kontrol altında tutabilmek için düzenli olarak sistemden su boşaltılıp (deşarj), buharlaşan ve boşaltılan su miktarı kadar da sisteme taze su (make-up) eklenmelidir (Kazanç, 1992; Choudhary, 1998; Lane ve Peck, 2003).

Soğutma sistemlerinde su ile temas eden metal ve alaşımlar korozyona uğramaktadır (Xu ve diğ., 2012). Özellikle açık sistem soğutma kulelerinde korozyon olayı sıklıkla görülmektedir. Bu nedenle soğutma kulelerinin verimli çalışabilmesi açısından, kule suyunun fiziksel, kimyasal ve biyolojik parametrelerinin belirli sınırlar içerisinde olması önerilmektedir (Keister, 2008) (Tablo 2.1).

**Tablo 2.1:** Soğutma kulesi suyu için önerilen bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik parametre değerleri.

Parametre	Birim	Değer
<b>Toplam Alkalinite</b>	mg/l	50-300
<b>Sülfat</b>	mg/l	< 250
<b>Klor</b>	mg/l	150- 250
<b>Demir</b>	mg/l	< 0.15
<b>Nitrit (NO<sub>2</sub>)</b>	mg/l	< 1
<b>Nitrat (NO<sub>3</sub>)</b>	mg/l	0-400 ve daha fazla
<b>TÇM</b>	mg/l	< 500
<b>İletkenlik</b>	µS/cm	50-600
<b>pH</b>		6.5-8.5
<b>Heteretrof bakteri</b>	kob/ml	< 1000
<b>SRB</b>	hücre/ml	0

**Kob:** Koloni oluşturan birim

Açık sistem soğutma kuleleri, mikroorganizmaların üremeleri için uygun sıcaklığa, iyi bir havalandırmaya ve pH derecesine sahip olmakla birlikte, yüksek miktarda su içermektedirler. Ayrıca bu sistemlere havadan ve sudan sürekli olarak bakteri ve besin akışı sağlanmaktadır (Morrison, 2015). Böylece mikroorganizmalar çoğalarak soğutma sistemi ekipmanlarında, özellikle de kulenin iç yüzeylerinde, biyofilm tabakası oluşumuna neden olmaktadır. Biyofilm tabakası olgunlaştıkça, tür çeşitliliği artmakta, *Legionella* spp. gibi patojenler ve mikrobiyolojik korozyondan sorumlu en önemli bakteri grubu olan SRB'ler gibi anaerobik bakterilerin bulunmasına olanak sağlamaktadır.

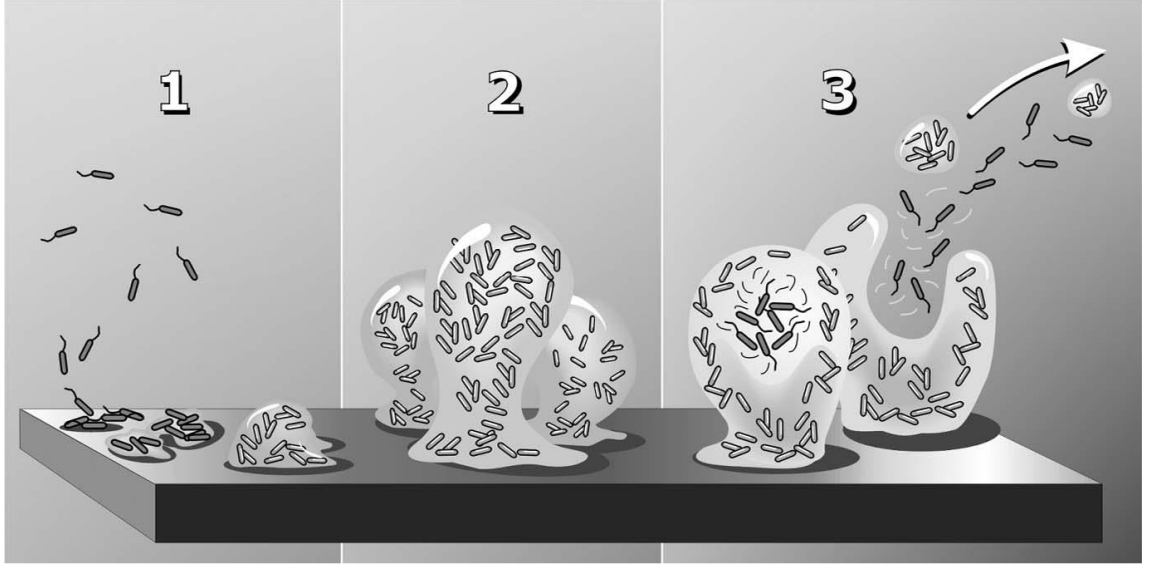
## 2.2. BİYOFİLM

Canlılar hayatta kalabilmek için bazı stratejiler geliştirmektedirler. Yaşamın her alanında tür içi ve türler arası rekabet vardır. Populasyon yoğunluğu arttıkça, meydana gelen strese yönelik çeşitli savunma mekanizmaları (sekonder metabolitler vb.) ortaya çıkmaktadır. Mikroorganizmalar bir yüzeye tutunma eğilimindedirler ve %99'u yüzeye tutunmuş halde (sesil form), sadece %1'i su içinde serbest halde dağılmış (planktonik form) olarak bulunmaktadır (Costerton ve diğ.,1986).

Biyofilm oluşumunun ilk aşamasında, yüzey, su ile temas ettiğinde organik, inorganik moleküller ve sıvı faz birleşerek yüzeyi tabaka halinde kaplamaktadır. Oluşan bu tabakaya, hazırlayıcı tabaka denilmektedir (Donlan, 2002). Planktonik formdaki bakteriler yüzeye yaklaşarak bu hazırlayıcı tabakaya tutunmakta ve bakteri hücresi ile yüzey arasında bazı etkileşimler meydana gelmektedir. Bu süreçte bazı bakteriler yüzeyden ayrılmakta, bazıları ise bu bölgede uzun süre kalabilmek için sudaki ve yüzeydeki besinleri kullanarak hücre dışı polimerik maddeler (EPS) üretmektedirler (Dreeszen, 2003; Aparna ve Yadav, 2008). Biyofilm olgunlaştıkça tabakadan biyofilmden kopmalar meydana gelmekte ve suya geçen bakteriler yeni bir yerde yeni bir biyofilm tabakası oluşturabilmektedir (Characklis, 1981; Costerton ve diğ., 1995; Garrett ve diğ., 2008).

Biyofilm oluşumu doğal bir süreçtir. Suyun mikrobiyolojik yük değeri, sudaki besin ve dezenfektan maddelerinin miktarları ve kalitesi, yüzey malzemesinin çeşidi, suyun sıcaklığı gibi çeşitli ortam şartları biyofilm oluşum ve gelişim sürecini etkilemektedir (Zacheus ve diğ., 2000). Yüzeye tutunan bakteriler, tutunmadan 45 dk sonra, EPS üretmeye başlamaktadırlar. Bunun yanında, biyofilm oluşumu hemen gerçekleşmemektedir. Yüzeyi tanıma ve kabullenme hızlı gerçekleşirken, olgun biyofilm oluşumu 12 saat ile haftalar arasında yapılanmaktadır (Characklis ve Marshall, 1990). Biyofilm geliştikçe, üst tabakasındaki aerobik bakterilerin solunum yapmasından dolayı biyofilm içerisinde bir oksijen gradyanı meydana gelmektedir. Bu biyofilm tabakası 10-25µm kalınlığa ulaştığı zaman, alt kısımlarında anaerobik koşullar oluşmakta, böylece biyofilm içerisinde yüksek miktarda tür çeşitliliğine ve stabiliteye sahip olgun bir biyofilm yapısına dönüşmektedir (Hamilton, 1985).

Olgun biyofilmlerin üç boyutlu yapılarında, kümelenmiş mikroorganizmalar arasında su dolu kanalların olduğu belirlenmiştir. Bu kanallar basit bir dolaşım sistemine benzer şekilde, metabolik olaylarda üretilen toksik maddelerin atılmasında ve besinlerin alınmasında görev almaktadır (Aparna ve Yadav, 2008). Olgun biyofilm tabakasının kalınlığı nedeniyle de çeşitli ajanların difüzyonu engellenmekte ve iç tabakada yer alan mikroorganizmaları sıcaklık, pH değişiklikleri, kuruma gibi çevresel koşullardan, biyolojik ve kimyasal antibakteriyel ajanlardan korunmaktadır (Simoes ve diğ., 2010).



**Şekil 2.2:** Biyofilm oluşum aşamaları: (1) tutunma, (2) kolonilerin büyümesi ve (3) öbek halinde dağılım (Stoodley ve Dirckx, 2003).

Biyofilmin yapısı, kararlı ancak çevresel değişimlere cevap veren, son derece aktif bir sistemdir. Kütesinin %97 gibi büyük bir kısmını su oluşturmaktadır. Su, EPS içinde bağlanabilmekte ya da biyofilm içerisinde bir çözücü olarak bulunabilmektedir (Sutherland, 2001; Allison, 2003). Ayrıca biyofilm tabakası, bünyesinde oldukça fazla su tutabilmesinden dolayı mikroorganizmaları kuruluğa karşı koruyabilmektedir (White ve diğ., 1990).

Biyofilmin içeriği, mevcut organizmaların çeşidine, fizyolojik özelliklerine, ortamın doğasına, akışkanın tipine ve genel fiziksel özelliklere göre değişebilmektedir (Videla, 1996; Beech ve diğ., 2000). EPS, biyofilmin temel bileşenidir. Mikroorganizmaların çevre koşullarına uyum sağlama aşamasında önemi oldukça büyüktür (Tsuneda ve diğ., 2003). Yapısında polisakkarit, protein, lipit, karboksilik asit, üronik asit, nükleik asit ve metal bağlama yeteneğinde olan asidik aminoasit gibi fonksiyonel grupları bulundurmaktadır. İçeriğindeki üronik asit veya pirüvatlar, biyofilmin anyonik özelliklerini kuvvetlendirirken, katyon görevi gören  $Ca^{+2}$  ve  $Mg^{+2}$  ise yüzeyle EPS arasındaki bağ gücünü arttırmaktadır. Bazı Gram pozitif bakterilerde, EPS'nin katyonik yapıdaki kimyasal içeriğine rastlamak mümkündür (Kives ve diğ., 2006). EPS'de makromolekül olarak en fazla miktarda karbonhidratlar bulunmakta olup, kütesinin yaklaşık %65'ini teşkil etmektedirler. Fakat bu makromoleküllerin EPS'deki miktarları

bakterilerin türüne ve büyüme koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Horan ve Eccles, 1986; Zhang ve diğ., 1999).

EPS, koruyucu bir örtü gibi davranarak, mikroorganizmayı korumaktadır (Simoes ve diğ., 2010). Ancak besin azlığı durumlarında, mikroorganizmaların EPS tabakasını yıkararak beslenme amacıyla tüketebildikleri de bilinmektedir (Zhang ve Bishop, 2003). Mikroorganizmaların buldukları ortamda besin maddesi azaldığında, mikroorganizma üremekten çok hücre canlılığının devamı için mücadele etmektedir.

Ayrıca, EPS metal iyonları ile kompleks oluşturabilme yeteneğine de sahiptir. Bu özelliği, korozyon mekanizması açısından oldukça önemlidir (Majumdar, 1999; Kinzler ve diğ., 2003). Yapısındaki fonksiyonel grupların (karboksil, fosfat, sülfat, gliserat, piruvat ve süksinat grupları vb.) farklı oksidasyon durumlarında,  $Ca^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$  ve  $Fe^{+3}$  gibi metal iyonlarına karşı yüksek affiniteye sahip olması, metalin indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarında değişime yol açarak metalin korozyon davranışını değiştirebilmektedir (Beech ve Sunner, 2004).

Mikrobiyal biyofilm ve korozyon, soğutma sistemlerindeki en yaygın sorunların başında gelmekte olup, bakım giderlerinin artmasına ve enerji kayıplarına neden olmaktadır. Aynı zamanda biyofilm, ısı değiştiricilerde, kondenser tüplerde, soğutma dolgu malzemelerinde, su ve atık su devrelerinde ısı kaybı ve tıkanmalara, direkt ya da indirekt olarak da korozyona neden olabilmektedir (Costerton ve diğ., 1986; Mittelman, 1998; Ceyhan ve Ozdemir, 2008; Rao ve diğ., 2009). Günümüzde son derece önemli bir konu olan ancak uygulamada yeteri kadar üzerinde durulmayan biyofilmin kontrolü, endüstriyel yatırım ve üretim maliyetlerini etkileyen en önemli faktörler arasındadır. Bu nedenle biyofilmin kontrolü amacıyla, antifauling özelliğinin yanısıra korozyona karşı dayanıklı olan galvanizli çelik malzemeler kullanılmaktadır.

### **2.3. SOĞUTMA KULE MALZEMESİ OLARAK GALVANİZLİ ÇELİK**

Soğutma kulesi yapımında kullanılacak olan malzemenin seçimi oldukça önemlidir. Malzeme seçilirken, malzemenin ömrüne, çevrenin koroziflik durumuna, sistemin kurulacağı bölgenin coğrafik durumuna, atmosferik koşullarına, atmosferin nem ve



kirlilik derecesine, sistemde kullanılacak suyun parametrelerine (sertliği,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$  ve  $PO_4^{3-}$  iyonları vb.), suyun sıcaklığına, basıncına ve akım hızına dikkat edilmelidir (Erbil, 2012).

Günümüzde soğutma kulesi yapı malzemesi olarak genellikle, paslanmaz çelik, galvanizli çelik, fiberglas ve beton tercih edilmektedir. Su ile temas halinde olan tüm metalik malzemelerde korozyon kaçınılmaz ve geri dönüşü olmayan bir olaydır. Çinkonun korozyon direncinin çeliğe göre daha yüksek olmasından dolayı demir ve çeliği katodik olarak korozyona karşı korumak için çinko kaplama uygulamalarına başvurulmaktadır. Çinko ile kaplanmış olan çeliklere galvanizli çelik denmektedir. Doğal çevresine bağlı olarak çinko oksit ve hidroksit içeren koruyucu tabaka oluşturabilme yeteneği çinkoya korozyona karşı direnç özelliği kazandırmaktadır (Shreir, 1976).

Galvanizli çelik, korozyona ve biyofaulinge karşı dirençli olması ve ayrıca çeliği katodik olarak koruması nedeniyle su depoları ve soğutma kulelerinin yapımında yaygın olarak kullanılmaktadır (Zhang, 1996). Galvanizli çeliğin içeriğindeki çinkonun korozyon direncini etkileyen faktörler; sıcaklık, ortamdaki çözünmüş gazlar (oksijen ve karbondioksit) ve pH değeridir (Doruk, 1982). Sulu ortamlarda bulunan çinkonun korozyon hızı, sıcaklık ve çözünmüş oksijen miktarı ile artmaktadır. Ayrıca çinko için yumuşak sular, sert sulara oranla daha saldırgandır ve pH'ı 7-12.5 arasında değişen sularda çinkonun korozyon hızı en düşük seviyede görölmektedir (Doruk, 1982).

Genel olarak çinkonun mikroorganizmalara karşı toksik etki gösterdiği ve biyofauling oluşumunu engellediği görüşünün bilinmesi nedeniyle galvanizli çelik ile yapılan mikrobiyolojik korozyon çalışmaları oldukça sınırlı kalmıştır. Bununla birlikte Ilhan-Sungur ve diğ. (2007), Ilhan-Sungur ve Çotuk (2010) ve Ilhan-Sungur ve diğ. (2015) yaptıkları çalışmalarda galvanizli çelik yüzeylerde biyofilm oluştuğunu ve mikrobiyolojik korozyona da uğradığını rapor etmişlerdir.

## 2.4. SOĞUTMA KULESİ VE MİKROORGANİZMA

### 2.4.1. Soğutma Kulesinde Bulunan Mikroorganizmalar

Soğutma kuleleri, iyi bir havalandırma, yaklaşık 6-9 arası pH ve 25-42°C arasında sıcaklık değerlerine sahiptirler. Ek olarak bu sistemlerde, sürekli olarak besin akışının da olması farklı mikroorganizma gruplarının bulunmasına olanak sağlamaktadır. Sistemlere giren farklı mikroorganizma gruplarının oluşturduğu biyofilmler, mikroorganizmalar üzerinde sinerjistik ve/veya antagonistik etki yapabilmektedir. Karışık türlerin birbirleriyle oluşturduğu etkileşimler, biyofilmin direncini arttırabilmekte ya da azaltabilmektedir.

Soğutma kule sularında farklı mikroorganizma grupları (aerobik heterotrofik bakteriler, anaerobik heterotrofik bakteriler, funguslar, vb) bulunmaktadır. *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus* cinsleri gibi aerobik bakteriler soğutma suyunda yüksek oranda yer almaktadır (Wiatr, 2006). Özellikle aerobik *Pseudomonas* türleri polar flagellaları ile yüzeylere tutunarak çoğalmakta ve mikrokolonilerin oluşumunda ilk çoğalan bakteriler olmaktadır (Wolfaardt, 1990).

Kule sularında farklı mikroorganizmaların bulunması metal yüzeylerde elektrokimyasal dengenin değişmesine yol açmaktadır. Metal yüzeydeki bazı mikrobiyal hücreler difüzyona karşı bariyer oluşturarak, bu alanları katoda dönüştürmektedirler. Eğer bu alanlar, biyofilm oluşturma aşamalarında, klorür ve sülfat iyonlarının geçişini kabul ederse tekrar anot gibi davranmaya başlamaktadırlar (Chan, 2002).

Soğutma kulelerinde bulunan bakteriler arasında korozyon açısından en etkin bakteri grubu, SRB'lerdir (Beech ve diğ., 1997; Rao ve diğ., 2000; Miranda ve diğ., 2006). Oluşturdukları H<sub>2</sub>S ile su soğutma sistemlerinde bulunan birçok metalik malzemenin korozyonuna neden olmaktadır (Rao ve diğ., 2005; Seth ve Edyvean, 2006; Adeeba ve diğ., 2011; Xu ve diğ., 2012). Özellikle soğutma kulelerinin sirkülasyon boruları, metal dolgu malzemesi ve suyun biriktiği havuz kısımları gibi yapılarının zarar gördüğü belirtilmektedir (Puckorius, 1999).

Soğutma kulelerindeki SRB sayısının mililitrede  $10^2$ 'den daha az olması gerektiği belirtilmektedir (Lu ve diğ., 1989). Bu sayıdan daha yüksek değerlerde olması durumunda sistem açısından tehlike arz etmektedir.

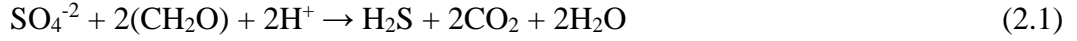
#### 2.4.2. Sülfat İndirgeyen Bakteriler

SRB'ler, anaerobik mikrobiyolojik korozyon ile ilişkili olarak en önemli ve yaygın mikroorganizma grubu olarak kabul edilmektedirler (Hamilton, 1985; Ford ve Mitchell, 1990; Lee ve diğ., 1995). Çok farklı habitatlardan izole edilebilmeleri, SRB'lerin doğada oldukça yaygın olduklarını göstermektedir. Deniz, nehir veya göl sedimentleri, bu bakterilerin tipik habitatlarıdır (Widdel ve Pfennig, 1984; Johnson ve Wood, 1993; John ve diğ., 1994; Finster ve diğ., 1998). Ayrıca petrol yatakları, çeltik tarlaları ve soğutma kuleleri gibi tarımsal ve endüstriyel su sistemlerinde de yaşayabildikleri belirtilmiştir (Ilhan-Sungur ve Çotuk, 2005; Minnoş ve diğ., 2013; Tüccar, 2011). Soğutma kulelerinde en yaygın bulunan SRB türlerinin *Desulfovibrio* sp. ve *Desulfosporosinus* sp. olduğu rapor edilmiştir (Ilhan-Sungur ve diğ., 2011).

SRB'ler küresel, spiral, düz veya kıvrık çomak gibi farklı şekillerde görülebilmektedirler. Çapları 0.4-3  $\mu\text{m}$ 'dir. Tek veya kümeler halinde bulunurlar. Çoğunlukla Gram negatif olmakla birlikte, filamentli ve spor oluşturan türleri Gram pozitif olabilir (Madigan ve Martinko, 2005). Çok az bir kısmı, gaz vakuölü içermektedir. Hareketli veya hareketsiz olabilirler. Hareketleri, taşıdıkları flagelladan kaynaklanmaktadır. Flagella, polar veya peritrik konumlu olabilir. Filamentli formlarında hareket kayma şeklindedir (Widdel ve Pfennig 1984; John ve diğ., 1994). Fe indikatörü içeren besiyerlerinde SRB'lerin kolonileri, FeS çökeltisinden dolayı siyah renktedir. Genel olarak 4-9.5 pH aralığında yaşamaktadırlar ve 500 atm basınca kadar toleranslıdırlar (Stott, 1988; Barton ve Tomei, 1995).

SRB'ler sülfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), sülfid ( $\text{H}_2\text{SO}_3$ ), tiosülfat ( $\text{S}_2\text{O}_3$ ) veya diğer kükürt bileşiklerini son elektron alıcısı olarak kullanarak, bunları asidik ve toksik bir ürün olan  $\text{H}_2\text{S}$ 'e indirgemektedirler (Denklem 2.1).  $\text{H}_2$ , laktat, yağ asitleri, etanol ve dikarboksilik asitler, SRB türleri tarafından kullanılan elektron vericileridir. SRB'lerin sınırlı sayıda substratı (laktat, moleküler hidrojen, prüvat, etanol, vs.) enerji kaynağı olarak kullandıkları bilinse

de, yeni yapılan çalışmalar, 100'den fazla bileşiğin (şekerler, amino asitler, alkol, aromatik bileşikler, vs.) potansiyel elektron vericisi olarak görev yaptığını göstermektedir (Allan ve diğ., 2009).



Oluşan H<sub>2</sub>S özellikle petrol, su dağıtım veya sirkülasyon sistemleri ile birlikte gaz ve gemicilik endüstrisini olumsuz yönde ciddi bir şekilde etkilemektedir. Biyojenik sülfid üretimi, çevresel tehlikeler ile birlikte petrolün degradasyonu ve korozyon hasarları açısından önemli ölçüde ekonomik kayba neden olmaktadır (Nga ve diğ., 1996; Choudhary, 1998; Xu ve diğ., 2012). Ayrıca toksik etkisi çalışanların sağlığı ve güvenliği açısından da büyük bir tehlike oluşturmaktadır (Jayaraman ve diğ., 1999; Rao ve diğ., 2000).

## 2.5. KOROZYON

Doğada bileşikler halinde bulunan metaller, kimyasal işlemlerden geçirilerek elde edilmektedir. Bu yolla elde edilen metaller, bileşik hallerine göre daha yüksek enerjili olmaktadır. Metal ve alaşımlar, çevresel etkilerin neden olduğu kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyonlarla yeniden düşük enerjili yapılarına dönme eğilimi gösterdiklerinden dolayı korozyona uğrarlar (Üneri, 2011). Korozyon olayı, abiyotik ve biyotik koşullar altında gerçekleşebilmektedir.

### 2.5.1. Abiyotik (Elektrokimyasal) Korozyon

Korozyon sırasında anodik (elektron veren, yükseltgenme) reaksiyonlar ile katodik (elektron alan, indirgenme) reaksiyonları birlikte oluşmaktadır. Anodik reaksiyonlar sonucu metal atomları negatif yük kaybederek pozitif yüklü metal iyonlarına dönüşmektedir. Anodik reaksiyonlar, elektron üretmekte ve bu elektronlar metal yüzeyinde toplanmaktadır (Denklem 2.2) (Hamilton, 1985).



Korozyon anotta meydana geldiğinden dolayı, korozyonun devam edebilmesi için anotta açığa çıkan elektronların, potansiyelin daha negatif olduğu katoda taşınması ve burada harcanması gerekmektedir. Ortamın özelliğine bağlı olarak meydana gelen katodik

reaksiyonlarda birden fazla olasılık vardır (Hamilton, 1985). Bunların başlıcaları (Denklem 2.3-2.7):

1- Asitli çözeltilerde hidrojen çıkışı (oksijensiz ortam)



2-Asitli çözeltilerde oksijen indirgenmesi (oksijenli ortam)



3- Nötr ve alkali çözeltilerde oksijen indirgenmesi



4- Metal iyon indirgenmesi



5- Metal açığa çıkışı



Katodik reaksiyonlar içinde en yaygın olanı hidrojen çıkışı ve oksijen indirgenmesidir. Sulu çözeltiler içinde daima  $\text{H}^+$  iyonu vardır. Çözeltinin pH değeri ne kadar küçükse, ortamda bulunan  $\text{H}^+$  iyonu konsantrasyonu da o kadar fazladır, bu nedenle katodik reaksiyonla hidrojen çıkışı kolaylaşmaktadır. Anodik ve katodik reaksiyonlar sonucu oluşan ürünler genellikle korozyon ürünlerini vermek üzere reaksiyona girmektedirler (Denklem 2.8) (Iverson, 1987).



Demir (II) hidroksit ( $\text{Fe}(\text{OH})_2$ ) oksijen varlığında bir çeşit pas olan çözünmeyen demir (III) hidroksite ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ) dönüşmektedir (Denklem 2.9) (Iverson, 1987).



Çelik üstündeki pas çökeltisi üç farklı demir oksit tabakasından oluşmaktadır. En içteki tabaka büyük ölçüde yeşilimsi  $\text{Fe}(\text{OH})_2$  ve en dıştaki tabaka turuncu renkte  $\text{Fe}(\text{OH})_3$

içerirken, arada kalan bölgede magnetit ( $Fe_3O_4$ ) siyah bir ara tabaka oluşturmaktadır (Lee ve diğ., 1995).

### **2.5.2. Biyotik (Mikrobiyolojik) Korozyon**

Mikrobiyolojik korozyon, mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu doğrudan ve/veya dolaylı olarak meydana gelen korozyon olayıdır (Hadley, 1948). Bu korozyon türünün varlığını ilk kez 1910 yılında Gaines (1910) ileri sürmüştür. Bununla birlikte, Von Wolzogen Kühr ve Van der Vlugt (1934), anaerobik koşullar altındaki mikroorganizmaların, metalin korozyon davranışında direkt olarak rol oynadığını göstermişlerdir.

Mikrobiyolojik korozyon olayı uzun süredir bilinmesine rağmen bu konuda yapılan çalışmalara son 30 yılda önem verilmeye başlanmıştır. Endüstrinin gelişmesi ile birlikte, metal malzemelerde meydana gelen mikrobiyal kaynaklı hasarların sayısında artış gözlenmiştir. Türkiye’de 2012 yılına ait korozyon maliyetinin yaklaşık 45 milyar dolar olduğu tahmin edilmekle birlikte, mikrobiyal kaynaklı korozyon maliyeti, bu rakamın yaklaşık %20’sini oluşturmaktadır. Mikrobiyolojik korozyon olayı, su işleme, yağ ve gaz üretim prosesleri, petrokimyasal sentezler, enerji üretimi, fermentasyon, atık su arıtımı, kâğıt endüstrisi ve pek çok endüstri alanında görülmektedir. Bunun yanında mikrobiyolojik korozyon, depolama tankları, boru hatları, tekneler, nükleer atık depoları gibi metallere oluşan sistemlerde de etkilidir (Richards ve diğ., 2015).

## **2.6. MİKROBİYOLOJİK KOROZYON**

### **2.6.1. Mikrobiyolojik Korozyon Oluşumunda Mikroorganizmaların Etkileri**

Mikroorganizmalar fizyolojik özelliklerine bağlı olarak ortaya çıkan faktörlerden biri veya daha fazlası ile korozyona yol açabilmektedirler (Hadley, 1948; Videla, 1996). Korozyonu başlatan veya hızlandıran mikrobiyal faktörleri şu şekilde sıralayabiliriz:

1. Metabolik ürünlerden koroziv bir ortam oluşturulması (Örnek: Kükürt okside eden bakteriler tarafından  $H_2SO_4$  üretimi),

2. Gerilim korozyon kırılmasına yol açan kükürt ve hidrojen gibi metabolitlerin üretilmesi (Örnek: Biyojenik sülfürlerin bakır-nikel alaşımlarındaki koruyucu bakır oksit filmini değiştirmesi),

3. Çatlak korozyonunun meydana gelmesini kolaylaştıran birikintilerin üretilmesi,

4. Korozyonu engellemek için ortama eklenen kimyasalların metabolik tüketimi (Örnek: Benzin/su sistemlerindeki *Hormoconis resiniae* türü fungusların, alüminyum korozyon inhibitörü olan nitrata tüketimi),

5. Katodik veya anodik reaksiyonların hızlandırılması ile korozyon reaksiyonlarının doğrudan etkilenmesi,

6. Metal yüzeyinde oluşan pasif filmin, korozyon ürünleri sonucu oluşan filmin veya koruyucu kaplamanın mikrobiyal değişimi/bozulması,

- Koruyucu filmin metal yüzeyinden çözünmesi (Örnek: Denizdeki *Vibrio* cinsi bakterilerin, çözünmeyen inorganik korozyon ürünlerini oluşturan  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeyerek çözünen bileşikleri oluşturması),

- Metal yüzeyindeki koruyucu tabakanın mikrobiyal etki nedeniyle bozulması (Örnek: Benzin saklama tanklarındaki koruyucu kaplamanın funguslar tarafından tüketimi),

7. Aerobik mikroorganizmalar tarafından ortamdaki oksijenin tüketimi sonucu farklı havalandırma bölgelerinin oluşması,

Mikroorganizmaların aktif çoğalmaları sonucunda koloninin altında, azalan oksijen konsantrasyonu sebebiyle oluşan anaerobik bölge anot gibi davranırken, koloniyi çevreleyen ve oksijen konsantrasyonu değişmeden kalan bölge ise bir katot alanı gibi davranmaktadır.

8. Diğer faktörler

- Metalin hassas bölgesine bakterilerin saldırısı (Örnek: Demir okside eden *Gallionella* cinsi bakterilerin çift fazlı ferrit-östenit kaynaklara tercihli saldırısı),

- Mikroorganizmaların tutunduğu bölgelerde çukurcuk korozyonunun daha hızlı gerçekleşmesi (Örnek: Alüminyum alaşımları üzerinde *H. resinae* fungus miselyumunun tutunma noktalarında oyuklanmanın başlaması),

Ayrıca asidik yapıdan zengin (üronik asit, hümik asit vb.) EPS, metallerin korozyonunu arttırıcı bir etki gösterebilmektedir (Beech ve Sunner, 2004).

### 2.6.2. Mikrobiyolojik Korozyona Neden Olan Mikroorganizmalar

Korozyona sebep olan mikroorganizmaların fizyolojik özellikleri birbirinden farklıdır ve genellikle elektron alıcısı veya enerji kaynağına göre gruplandırılmaktadırlar. Ortamda korozyona yol açan tek bir mikroorganizma grubu varsa sebep olduğu korozyonun mekanizmasını tanımlamak zor olmayabilir, ancak birden fazla türün oluşturduğu korozyon mekanizmasını açıklamak oldukça zordur. Farklı tür mikroorganizmalardan oluşan grupların meydana getirdiği korozyonun daha agresif olduğu belirlenmiştir (Zhu, 2007). MIC'e neden olan bazı mikroorganizmalar şunlardır:

1. Sülfat indirgeyen bakteriler (SRB); sülfat ( $H_2SO_4$ ), sülfid ( $H_2SO_3$ ), tiyosülfat ( $S_2O_3$ ) bileşiklerinin ve ayrıca kükürtün hidrojen sülfüre ( $H_2S$ ) indirgenmesini sağlayan ve geniş yayılım alanına sahip anaerobik bir komünitedir. Metale korozyona uğrattıkları siyah ve kokulu  $FeS$ 'in varlığı ile anlaşılmaktadır.

2. Kükürt oksitleyen bakteriler (SOB); elementel kükürt (S), sülfat ( $H_2SO_4$ ), sülfid ( $H_2SO_3$ ), tiyosülfat ( $S_2O_3$ ), hidrojen sülfürü ( $H_2S$ ) okside ederek sülfürik asit oluşturan kemolitotrofik mikroorganizmalardır. Metal yüzeyinde sarı renkte birikintilerin oluşması yüzeyin korozyona uğradığını göstermektedir. *Thiobacillus*, *Beggiatoa* ve *Sulfolobus* en iyi bilinen aerobik kükürt okside eden bakteri cinsleridir. *Thiobacillus* cinsi bakteriler tarafından oluşturulan  $H_2SO_4$ , etkin korozif bir ürün olup, özellikle çeliğin bulunduğu beton yapıları korozyona uğratmaktadır (Roberts ve diğ., 2002).

3. Demir indirgeyen bakteriler (IRB); düşük pH değerleri dışında çözünmez formda olan  $Fe^{3+}$ 'ü, çözülebilir özellikteki  $Fe^{2+}$ 'ye indirgeyerek, metal yüzey üzerindeki koruyucu  $Fe_2O_3$  filminin çözünmesine yol açarak korozyonun oluşmasına neden olmaktadır. En önemli türleri *Pseudomonas* ve *Shewanella* cinsi bakterilerdir. Bu bakteriler mangan



ve/veya demir oksiti indirgeyerek korozyonu hızlandırmaktadır. Meydana gelen korozyon ürünleri ise koyu yeşilimsi renktedir.

4. Demir oksitleyen bakteriler (IOB); içerisinde bulunduğu çözümlü ya da yüzeye tutunmuş haldeki  $Fe^{+2}$ 'yi,  $Fe^{+3}$ 'e oksitlemektedirler. Genel olarak aerobik bakterilerdir. *Gallionella*, *Leptothrix*, *Acidithiobacillus*, *Sphaerotilus* cinsi bakteriler en iyi bilinen türleridir. Metal yüzeyde kırmızı-kahverengi korozyon ürünleri oluşturmaktadırlar. Bu bakteri türleri, Mn iyonlarını da oksitleyebilmekte ve metal yüzeyinde  $MnO_2$  birikimine neden olmaktadır (Ghiorse, 1984).

5. Asit üreten bakteriler, hem  $HNO_3$ ,  $H_2SO_4$  vb. inorganik ürünler üretirken, hem de  $C_2H_4O_2$ ,  $CH_2O_2$  ve  $C_3H_6O_3$  gibi organik ürünlerde üretebilmektedirler.

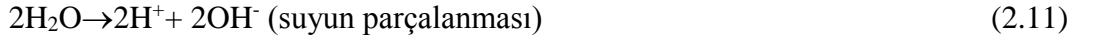
6. Mantarlar; ürettikleri ürünler ile ortamın pH değerini düşürerek korozyona neden olabilmektedirler. *Hormoconis resiniae*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. ve *Fusarium* spp. gibi bazı mantar türlerinin organik asit üreterek korozyona yol açtıkları rapor edilmiştir (Parbery, 1968).

7. Metanojenler; anaerobik koşullarda  $H_2$ 'yi elektron vericisi olarak, pirüvat, asetat ve  $CO_2$ 'i ise elektron alıcısı olarak kullanarak metanı ( $CH_4$ ) oluşturmaktadırlar. Birçok metanojen türü elektron kaynağı olarak sadece demir ve diğer metalleri kullanmaktadır. Böylece bu bakterilerin demir ve çeliği korozyona uğrattıkları belirlenmiştir (Boothpaty ve Daniels, 1991).

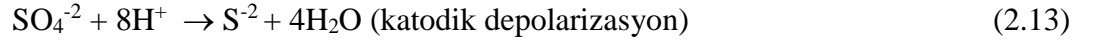
8. Fotosentetik bakteriler ve algler; buldukları ortamda fotosentez yaparak oksijeni üretmekte ve farklı havalandırma tabakalarının oluşmasına neden olmaktadır. Yüksek miktarda tuz içeren ortamlarda yaşayabilen *Dunaliella salina* alg türünün de korozyonda etkili bir mikroorganizma olduğu belirlenmiştir (Ünsal, 2010). Ancak SRB'lerin metabolizması sonucu oluşan  $H_2S$ , metalleri ciddi bir şekilde korozyona uğratmaktadır (Choudhary, 1998). SRB'ler korozyon açısından en önemli bakteri grubunu oluşturmaktadırlar (Hamilton, 1985; Coetser ve Cloete, 2005).

### 2.6.3. SRB'lerin Korozyon Mekanizmaları

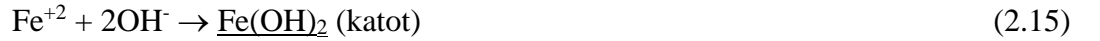
İlk kez 1934 yılında Von Wolzogen Kühr ve Van der Vlugt, “katodik depolarizasyon teorisi” (klasik teori) olarak bir mekanizma önermişler ve SRB'lerin sülfat redüksiyonunu sağlamak için hidrojenaz enzimi ile metal yüzeylerden hidrojeni uzaklaştırabildiğini öne sürmüşlerdir (Thierry ve Sand, 2002). Katodik depolarizasyon teorisi aşağıdaki denklemlerle (Denklem 2.10-2.16) özetlenmiştir (Javaherdashti, 2008):



Bakteriyel etkileşim:



Korozyon ürünleri:



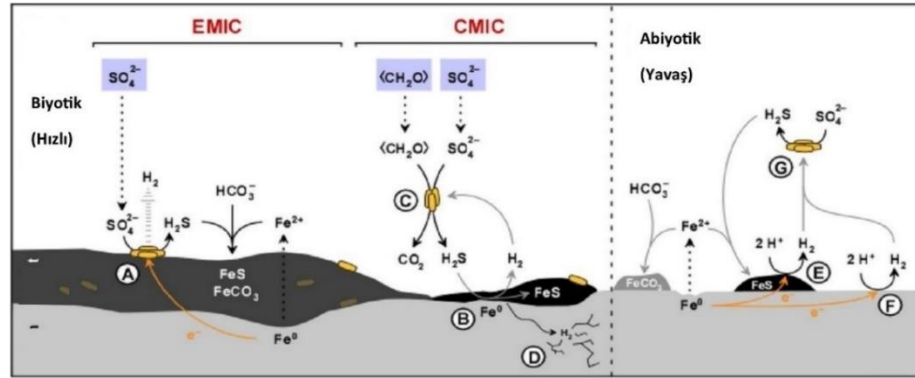
Toplam reaksiyon:



SRB'ler korozyona farklı şekillerde neden olabilmektedirler. Neden oldukları korozyonu açıklamak için çok sayıda mekanizma önerilmektedir. Ancak bu mekanizmaların hepsi sülfatın indirgenmesine dayalıdır (Hamilton, 1985; Lee ve diğ., 1995). SRB'ler için önerilen korozyon mekanizmaları Tablo 2.2'de gösterilmiştir. Son yıllarda SRB'lerin mekanizmasına dair önemli gelişmeler rapor edilmiştir. Enning ve Garrelfs (2014) yaptıkları çalışmada, SRB'lerin korozyon mekanizmasının hem elektriksel hem de kimyasal yolla gerçekleştiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca biyotik koşullarda meydana gelen korozyonun, abiyotik koşullara göre daha hızlı olduğu sonucuna varmışlardır (Şekil 2.3).

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

Yazarlar	Yıl	Korozif işlem/madde
(Von Wolzogen Kühr ve Van Der Vlugt, 1934)	1934	Hidrojenaz ile katodik depolarizasyon
(King ve Wakerley, 1973)	1971	Demir sülfürler (King'in Mekanizması)
(Iverson ve Ohlson, 1983)	1983	Değişken fosfor bileşiği
(Daumas ve diğ., 1988)	1984	Anodik depolarizasyon
(Beech ve Cheung, 1995)	1995	Fe-bağlayan hücre dışı maddeler
(Edyvean ve diğ., 1998)	1995	Sülfid ve hidrojenin neden olduğu gerilmeli korozyon çatlaması
(Litte ve diğ., 1998)	1998	Sülfid
(Romero, 2005)	2005	Üç aşamalı mekanizma (Romero Mekanizması)
(Gu ve diğ., 2009; Zhao ve diğ., 2009)	2009	Biyokatalitik katodik sülfat redüksiyonu (BCSR)
(Enning ve Garrelfs 2014)	2014	Elektriksel (EMIC) ve kimyasal mikrobiyolojik korozyon (CMIC)

**Şekil 2.3:** EMIC ve CMIC teorisi ile SRB'lerin korozyon mekanizma şeması (Enning ve Garrelfs, 2014).

## 2.7. MİKROBİYOLOJİK KOROZYONUN İNCELENMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

Mikrobiyolojik korozyonun incelenmesinde kullanılan yöntemler elektrokimyasal ve elektrokimyasal olmayan yöntemler olarak ikiye ayrılmaktadır (Videla, 1996; Erbil, 2012).

## 2.7.1. Elektrokimyasal Olmayan Yöntemler

### 2.7.1.1. Ağırlık Kaybı Yöntemi

Bu yöntemle korozyon hızı belirlenirken çözünmenin homojen olması ve korozyon ürünlerinin tamamen çözünür olması veya uygun çözücüde çözünerek metal yüzeyinden tamamen uzaklaşması gerekmektedir. Ağırlık kaybı deneyleri için hazırlanmış ve yüzeyi temizlenmiş numune tartıldıktan sonra, korozyon ortamında belirli bir süre bekletilmektedir. Bu süre sonunda korozyon ürünleri temizlendikten sonra yeniden tartılan numunenin korozyonu g, mg veya % kütle azalması ifadesi ile belirtilmektedir. Korozyon hız değeri uygun formülleri kullanarak hesaplanır. Bunun için korozyon hızı, birim zamanda kalıpta azalma veya birim zamanda kütlede azalma şeklinde gösterilir. Çok farklı korozyon hız birimleri kullanılmaktadır. Çalışmamızda ( $V_{kor}$ ), mpy (mil/yıl) cinsinden hesaplan olup, bir yılda 1 mil incelmeyi ifade etmektedir (1 mil= 0,0254 mm) (Denklem 2.17).

$$V_{kor} \text{ (mpy)} = (K \times W) / (A \times t \times d) \quad (2.17)$$

K:  $3.45 \times 10^6$  (mpy için sabit sayı)

d: numunenin yoğunluğu, g/cm<sup>3</sup>

W: ağırlık kaybı (g)

A: yüzey alanı (cm<sup>2</sup>)

t: deney süresi (saat)

Elektrokimyasal deneyler hızlandırılmış deneylerdir. Ağırlık kaybı deneyleri ise gerçeğe daha yakın değerleri vermektedir. Ağırlık kaybı yönteminde korozyon hızı değerleri o andaki korozyon hızını değil, başlangıçtan itibaren geçen uzun bir sürenin ortalamasını ifade etmektedir. Bu nedenle metallerin korozyon davranışlarının belirlenmesinde her iki yöntemin kullanılması önem taşımaktadır.

## 2.7.2. Elektrokimyasal Yöntemler

Elektrokimyasal olarak korozyon hızının belirlenmesi, korozyona uğrayan metal üzerindeki anot ve katot yüzeyleri arasındaki akımın ölçülmesidir. Anot ve katot arasında geçen akım, elektrot potansiyelinde bir değişiklik meydana getirmektedir. Değişime bağlı olarak denge potansiyeli, yani korozyon potansiyeli ve korozyon akım yoğunluğu ölçülebilmektedir (Popova, 2005). Elektrokimyasal tekniklerin gelişmesi ile birlikte korozyon hızının belirlenmesinde polarizasyon eğrileri kullanılmaktadır. Galvanostatik

veya potansiyostatik ölçümlerle elde edilen polarizasyon eğrileri değerlendirilerek, korozyon hızları çok kısa sürede belirlenebilmektedir. Korozyon akımının hesaplanması için akım–potansiyel eğrilerinin çizilmesi gerekmektedir (Berger, 1990; Jones, 1996; Beech, 2004). Akım–potansiyel eğrileri akım veya potansiyelden birinin kontrollü olarak değiştirilmesine karşın diğerinin aldığı değerlerin grafiğe geçirilmesi ile elde edilmektedir. Akım polarizasyon yöntemlerinin uygulanması için referans elektrot ile bağlantılı bir potansiyostat kullanılması gerekmektedir. Potansiyostat, çalışma elektrodunun potansiyelini belli bir aralıkta tutarak değiştiren bu sırada devreden geçen akımı ölçen cihazlardır. Bu sistemi kullanarak farklı ölçümler ve değerlendirmeler yapılabilir. Kullanılan yönteme bağlı olarak, uygulanan potansiyel veya akım kontrol edilebilmekte, farklı potansiyel aralıkları ve tarama hızları kullanılabilir. En yaygın kullanılan elektrokimyasal yöntemler aşağıda verilmiştir.

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

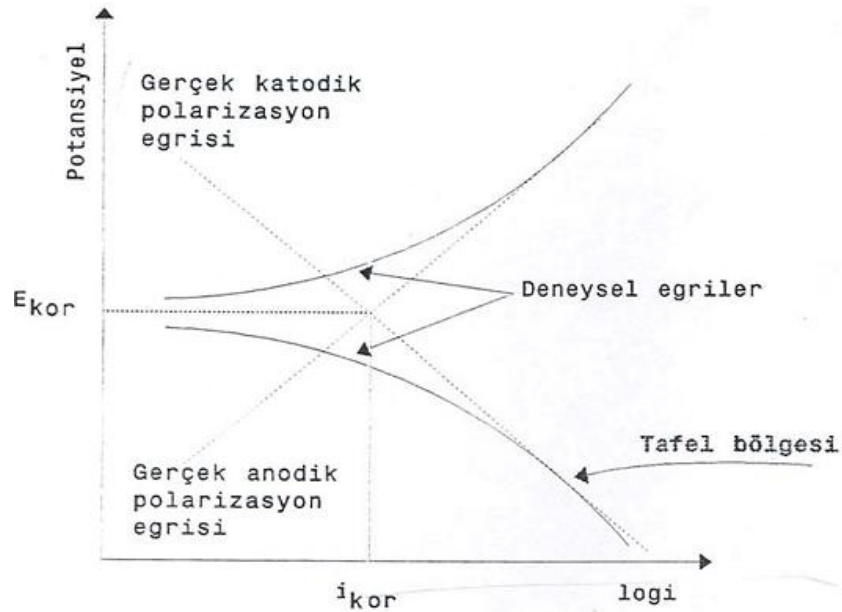
Açık devre potansiyeli ölçümünün de elektrokimyasal bir hücrede, hiç akım geçmediği kabul edilerek, zamana karşı potansiyel değişimi ölçülmektedir. Ölçüm yapılırken metal yüzeyinde herhangi bir yükseltgenme/indirgenme reaksiyonu gerçekleşmemektedir. Ancak metalin korozyona uğraması sonucunda bir potansiyel fark oluşmaktadır. Açık devre potansiyeli tekniği ile oluşan bu potansiyel değeri ölçülmektedir. Bu değer açık devre potansiyeli değeridir. Açık devre potansiyel değerlerinin referans elektrodun potansiyeline göre daha pozitif olması, metalin korozyona karşı dirençli, daha negatif olması ise, korozyona karşı dirençli olmadığını göstermektedir. Açık devre potansiyeli, mikrobiyal korozyonda önemli bir tekniktir (Gilbert ve diğ., 1995).

#### **2.7.2.2. Potansiyodinamik Polarizasyon Yöntemi**

Korozyon potansiyelinden ( $E_{kor}$ ) itibaren belirli bir tarama aralığında ve hızında, katodik yönden anodik yöne doğru tarama yapılarak, potansiyodinamik polarizasyon eğrileri elde edilmektedir. Potansiyodinamik polarizasyon eğrileri, metallerin elektrokimyasal davranışını yorumlamak için oldukça etkili bir yöntemdir. Mikroorganizmalar varlığında metallerin korozyon davranışını ölçülmesinde potansiyodinamik polarizasyon yöntemi kullanılmaktadır. Bununla birlikte, tarama hızı ve deney ortamı, sonuçları etkileyebilmektedir. Hızlı tarama hızları, metal/elektrolit ara yüzeyindeki koşulları negatif yönde değiştirebilmektedir (Üneri, 2011).

### 2.7.2.3. Tafel Extrapolasyonu Yöntemi

Potansiyodinamik tarama yöntemi ile kaydedilmiş potansiyel-akım grafiğinin, potansiyel-log (akım) grafiği olarak yeniden çizilmesi, tafel eğrisini oluşturmaktadır. Korozyon potansiyelinden başlayarak anodik ve katodik yönde çizilen bu eğriler Tafel eğrileri olarak adlandırılmaktadır. Bu eğriler ile metalin korozyon akımı, korozyon yoğunluğu, korozyon potansiyeli, korozyon hızı, polarizasyon direnci ve saçılma parametreleri hesaplanabilmektedir. Bu hesaplamalar için ekstrapolasyon yöntemi kullanılmaktadır. Eğrilerin doğrusal kısımları geriye doğru ekstrapole edildiğinde, eğriler korozyon potansiyelinde ( $E_{kor}$ ) kesişmekte ve aynı zamanda kesişme noktasındaki akım, korozyon akımı ( $i_{kor}$ ) olarak adlandırılmaktadır. Korozyon akımının elektrodun yüzey alanına bölünmesiyle de metalin o noktadaki korozyon hızı olan akım yoğunluğu ( $I_{kor}$ ) elde edilmektedir (Üneri, 2011). Tafel eğrilerinin ekstrapole edilecek doğrusal kısmı oldukça önemlidir ve bu bölgenin güvenli olması için, korozyon potansiyelinden en az 40–50 mV sonra başlaması ve akımın en az 10 kat artmasına kadar sürmesi gerekmektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle korozyon akımı ( $i_{kor}$ ) ve korozyon potansiyelinin ( $E_{kor}$ ) bulunuşu (Tosun, 1995).

### 2.7.2.4. Lineer (Doğrusal) Polarizasyon Direnci Yöntemi (LPR)

Korozyon hızının belirlenmesinde, elektrodun yüzey yapısını bozmayan lineer (doğrusal) polarizasyon direnci yöntemi de kullanılmaktadır. Bu teknikte akım-potansiyel eğrisinin korozyon potansiyeli civarındaki doğrusal kısmının eğiminden polarizasyon direnci

bulunup, aşağıda ifade edilen Stern-Geary eşitliğinde kullanılarak korozyon hızı hesaplanmaktadır (Denklem 2.18).

$$R_p = \frac{\Delta E}{\Delta i} \quad i_{kor} = \frac{B}{R_p} \quad i_{kor} = \frac{\beta_a \times \beta_k}{2,303 \times (\beta_a + \beta_k)} \quad (2.18)$$

Burada,  $i_{kor}$  korozyon akımını,  $\beta_a$  ve  $\beta_k$  değerleri sırasıyla anodik ve katodik Tafel sabitlerini ve  $\Delta E/\Delta i$  değeri ise polarizasyon direncini ( $R_p$ ) göstermektedir.  $\Delta i$  ve  $\Delta E$  sırasıyla, akım yoğunluğunu ve potansiyel farkı ifade etmektedir. Lineer polarizasyon direncinin hesaplanabilmesi için  $\beta_a$  ve  $\beta_k$  sabitlerinin bilinmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmalar  $\beta_a$  ve  $\beta_k$  değerlerinin genellikle 0.03 ile 0.18 V arasında değiştiğini göstermektedir. Yöntemin uygulanmasını kolaylaştırmak açısından bir sistemde  $\beta_a$  ve  $\beta_k$  değerleri bilinmiyorsa  $\beta_a = \beta_k = 0.12$  V alınarak B katsayısı 0.026 V kabul edilmektedir (Üneri, 2002).

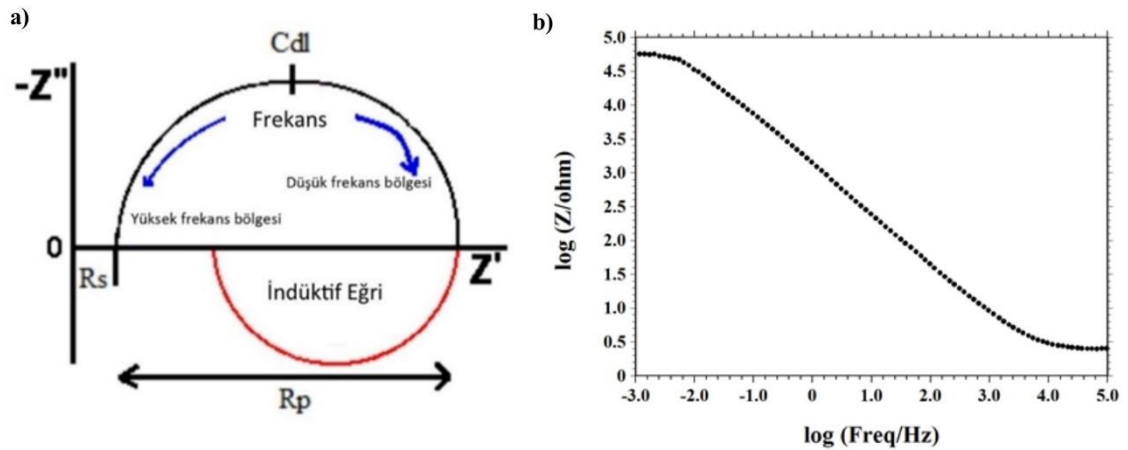
#### 2.7.2.5. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS)

Elektrodun yüzey yapısını bozmayan alternatif akım (AC) empedans tekniği, metal direncini ölçmek için kullanılan bir yöntemdir. Yüksek dirençli ortamlarda ölçüm yapılabilmesi nedeniyle diğer yöntemlere göre daha çok kullanılmaktadır. Metal yüzeyine farklı frekans aralığında küçük genlikli (1-10 mV) ve düşük frekanslı (100-0.001 kHz) alternatif akım uygulanarak AC sinyallerine elektrokimyasal hücrenin yanıtı belirlenmektedir. AC empedans tekniği ile ölçülen polarizasyon direnci ( $R_p$ ) toplam dirence eşittir. Bu yöntem ile elde edilen empedans diyagramlarında genel olarak yarım daireden sapsmış basık yarı dairelerin elde edildiği görülmektedir. Böylece EIS yöntemi ile, metal-çözelti ara yüzeyinde gerçekleşen olaylar açık bir şekilde belirlenmekte ve metalin korozyon mekanizması hakkında oldukça önemli bilgiler sağlanmaktadır (Crombie, 1984, He, 2005). Ayrıca, EIS yöntemi, ara yüzey reaksiyonları ve yüzeyin kinetiği hakkında da bilgi vermektedir. EIS diğer elektrokimyasal yöntemlerle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.

EIS yönteminde işlem, ohm yasasına göre tanımlanmaktadır. Ohm yasası potansiyel-akım oranı için bir direnç (R) (AC'da empedans, Z) tanımlar ve direnç, potansiyel ile akım oranına eşittir ( $R(Z)=E/I$ ). Alternatif akımda gerçek ve sanal durumlar için iki ayrı empedans (Z), sırasıyla Zgerçek (Zreal veya Z') ve Zsanal (Zimaginary, Z''), değeri hesaplanabilmektedir. Hesaplanan bu Z değerleri, X ekseninde Z' ve Y ekseninde Z''

olacak şekilde grafiğe geçirildiğinde, elde edilen grafiğe Nyquist eğrisi denilmektedir. Frekans (Hz) toplam empedans ( $|Z|$ )'a ya da faz kayması ( $\theta$ )'na karşı grafiğe geçirildiğinde ise Bode eğrileri elde edilmektedir. Bode eğrilerinde frekans ile ilgili detaylar anlaşılır şekilde görülmektedir (Bard ve Faulkner, 2000).

EIS yönteminde kullanılan kapasitör iki iletken yüzey ve iletken olmayan bir ortamla (dielektrik) birbirinden ayrıldığında meydana gelmektedir. Elektrokimyasal hücrelerde de metal-çözelti ara yüzeyi, kapasitör gibi davranmaktadır. Kapasitansın değeri, tabakaların boyutuna, tabakalar arası mesafeye ve dielektrik özelliklere bağlı olarak değişmektedir (Buchheit, 2003). Metal-çözelti ara yüzeyi genellikle ideal kapasitör gibi davranmamaktadır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Nyquist ve Bode eğrisi (Research Solutions, Resources LLC).

Korozyon işleminde sürekli olarak metalden yük geçişi vardır. Ancak ara yüzeydeki metal yüzeyinin bozulması nedeniyle de bu yük geçişi bir direnç ile karşılaşmaktadır. Yüksek frekans bölgesindeki kapasitans ve direnç değerleri ile metal yüzeyindeki, düşük frekans bölgesindeki kapasitans ve direnç değerleriyle metal-çözelti ara yüzeyindeki durumlar tartışılmaktadır. Bununla birlikte, EIS verileri çoğunlukla bir eşdeğer elektrik devre modeline uygulanarak analiz edilmektedir. Dirençler, kondansatörler ve indüktörlerin hepsi devre elemanlarını oluşturmaktadır. Uygun olduğu düşünülen devredeki elemanların sistemin fiziksel elektrokimyasında bir karşılığının olması gerekmektedir. Çok az elektrokimyasal hücre tek bir eşdeğer devre elemanı ile modellenebilmektedir. EIS modelleri birbirine bağlı birden fazla elemandan



oluşmaktadır. Bu devre elemanlarının hem seri hem de paralel kombinasyonları bulunmaktadır (Iverson, 1987).

Devreyi oluşturan elemanlardan çözelti direnci ( $R_s$ ); metalin bulunduğu çözeltinin direncini ifade etmektedir. Bir elektrot ile onu çevreleyen elektrolit arasındaki yüzeyde elektriksel çift tabaka ( $C_{dl}$ ) bulunmaktadır. Bu çift tabaka, çözeltideki iyonlar elektrot yüzeyine yapıştıkça meydana gelmektedir (Yuan ve Pehkonen, 2009).  $R_p$ ; metale etki eden tüm dirençlerin toplamını ifade etmektedir. Bazı durumlarda çift tabaka kapasitörü, kapasitör gibi davranmak yerine bir sabit faz elemanı (CPE) olarak davranmaktadır. Bu durumda devrede kapasitör elemanı olarak CPE kullanılmaktadır. Devre elemanlarının sayısal değerlerinin hesaplanması için empedans analiz programları kullanılmaktadır.

### **2.7.3. Görüntüleme Yöntemleri (SEM-EDS)**

Günümüzde en çok kullanılan yüzey analiz yöntemlerinden biri, taramalı elektron mikroskobu (SEM) yöntemidir. SEM analizi, biyotik ve abiyotik koşullarda metal yüzeyinin morfolojisi hakkında bilgi vermektedir. SEM ve enerji dağılım spektroskopisi (EDS) analizlerinin birlikte kullanılması ile yüzeyde biriken korozyon ürünlerinin elementel analizi de yapılabilmektedir.

## **2.8. SOĞUTMA KULELERİNDE KULLANILAN KOROZYONDAN KORUNMA YÖNTEMLERİ**

Soğutma kulelerinde meydana gelen korozyondan korunmak için çeşitli yöntemler (katodik koruma, metalin kaplanması, biyosit kullanımı vb.) kullanılmaktadır. Bu yöntemler uygulanırken soğutma suyunun ve şartlandırma kimyasallarının yüzey sularına karışması ile ilgili yasal zorunluluklar da dikkate alınmalıdır. Soğutma kulelerinde, sistemde kullanılacak suyun özellikleri, suyun etkileşim halinde olduğu havada bulunan ve suda çözünebilen gazların ( $CO_2$ ,  $H_2S$ ,  $SO_2$  vb.) etkisi, ısıtma-soğutma etkisi ile su kirliliği ve birikintinin oluşması, buharlaşma sonucu sürekli beslenen sistemlerde çözünmüş katı madde miktarının artması gibi durumlar göz önünde bulundurularak, kabuk birikimi, korozyon, biyofouling oluşumu kontrol edilmelidir (Lane ve Peck, 2003; Erbil, 2012).

### 2.8.1. Mikrobiyolojik Korozyona Karşı Korunma Yöntemleri

Soğutma kulelerinde, mikrobiyolojik korozyonun meydana gelmeden önlenmesi için bazı tedbirlerin alınması gerekmektedir. Sisteme giren suyun pH değeri, suyun sertliği, sudaki tuz miktarı, çözülmüş oksijen miktarı, diğer iyonların varlığı, sıcaklık ve akış hızı gibi parametrelere dikkat edilmelidir. MIC'e karşı korunabilmek amacıyla katodik koruma, biyosit uygulaması ve metalin kaplanması gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır (Üneri, 2011; Erbil, 2012).

**1. Katodik koruma:** Katodik koruma, korozyona uğrayan sistemin katodik polarizasyonunu sağlamaktadır. Sisteme akım uygulanarak veya katodik kurban metal kullanılarak yapılmaktadır (Zuo, 2007). Ancak katodik polarizasyonun mikrobiyal aktivite ve yüzeyde oluşan biyofilm ile nasıl etkileşim içinde olduğu hakkında yeterli bilgi olmadığından dolayı, bu tekniğin kullanımı sırasında, sistemin tamamında biyolojik ve kimyasal analizlerin yapılması gerekmektedir.

**2. Metalin kaplanması:** Metalin koruyucu kaplamalar ile kaplanması, korozyonu önlemek amacıyla kullanılan en basit ve en ucuz yöntemdir. Organik ve inorganik kaplama yöntemleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Polimerik kaplamalar, metallerin korozyondan korunması için en çok kullanılan yöntem olmasına rağmen, bazı mikroorganizmalar fizyolojik aktivitelerinden dolayı polimer filmleri üzerinde biyofilm oluşturabilmekte, bu filmi besin kaynağına dönüştürebilmekte ve böylece diğer mikroorganizmalar için de tutunmaya açık hale getirmektedirler. Bu nedenle de normal koşullarda polimer kaplamanın koruduğu metaller, mikroorganizmalar varlığında korozyona karşı dirençlerini kaybetmektedirler.

**3. İnhibitör eklenmesi:** İnhibitörler, mikroorganizmaların gelişmesini engelleyen ya da durduran kimyasal bileşiklerdir. Kullanılacağı ortamın türüne göre aktif maddeler içermektedirler. Bu maddelerin türü ve konsantrasyonu oldukça önemlidir. İnhibitör kullanımı, genellikle korozyondan korunmak için yeterli çözüm olmamakla beraber metallerin kullanım sürelerini uzatabilmektedirler.

**4. Biyosit uygulaması:** Biyofilm oluşumunu önlemek amacıyla en çok kullanılan kimyasal yöntemlerden biri de biyosit kullanımudur. Biyositler, oksitleyici ve oksitleyici olmayan yapıda bulunan kimyasal ajanlardır. Endüstriyel alanda klor, brom, iyot, klordioksit, kloraminler, halojenatlı hidantoinler, ozon, hidrojen peroksit, potasyum permanganat gibi oksitleyici biyositler sık olarak kullanılmaktadır. Oksitleyici olmayan biyositler ise heterosiklik ketonlar, guanidin, tiyokarbamat, aldehitler, aminler, tiyosiyanatlar, organotin bileşikleri, halojenli amidler, halojenli glikoller, kuaternar amonyum bileşikleridir.

Biyositler, bakteriler üzerinde farklı etki mekanizmalarına sahiptirler. Bazı biyositler, bakteri hücresinin dış membranını değiştirerek, hücre zarının bariyer özelliğini bozmaktadır. Böylece biyosit molekülleri sitoplazmik membrana girerek, öldürücü etki göstermektedir. Elektrokimyasal olarak aktif ajanlar ise antimikrobiyal etkileri karbonil grubundaki karbon atomunun elektrofilik karakterlerine bağlı olarak nükleofilik bileşenlerle ilişki kurmaktadır. Formaldehit, izotiyozolon gibi organik ve gümüş, bakır, civa gibi inorganik iyonları içeren elektrofilik ajanlar, hücresel nükleofiller ile bağlantı kurarak enzimleri inaktive etmektedir. Ancak bu durum serbest intrasellüler radikallerin oluşumunu da hızlandırmaktadır. Şelatlarla dönüşen aktif bileşenler ise metal katyonlarla kompleks oluşturmaktadır. Böylece bakteri yüzeyine geri dönüşümlü olarak tutunmakta ve küçük lipofilik moleküller ile hücre duvarının ve sitoplazma zarının yapısını bozmaktadırlar. Ayrıca bakteriyostatik koşullarda biyositler oksidatif fosforilasyonu durdurmakta ya da ADP'nin fosforilasyonunu korumakta, böylece metabolik ürünlerin sentezi engellenmektedir (El-Shamy ve diğ. 2009).

Oksitleyici olmayan biyositler, alg, fungi ve bakteri türleri gibi daha dayanıklı mikroorganizmalar üzerinde oksitleyici biyositlerden daha etkili olmaktadır. Klor, organik materyali okside eden hızlı öldürücü ajan olması ve oksitleyici olmayan biyositlerin kullanımından 2-10 kat daha ucuz olmasından dolayı, endüstriyel sistemlerde en yaygın olarak kullanılan biyositlerdir (Martinez ve diğ., 2004). Ancak, dezenfeksiyon etkisinin sıcaklık ve pH'a bağlı olması, tek başına mikroorganizmaları öldürmede yetersiz kalması ve sadece üremelerini baskılaması yada biyofilme giricilik özelliğinin bulunmaması, insan ve çevreye karşı toksik etki göstermesi, metal yüzeylerde korozyona

yol açması, ayrıca işleme ve depolama problemleri gibi sınırlamalarından dolayı son yıllarda soğutma suyunun dezenfeksiyonunda oksitleyici olmayan biyositlerin ve metal iyonlarının kullanımı artmaktadır (Wilsey, 1997; Martinez ve diğ., 2004). Özellikle son yıllarda su sistemlerinin iyileştirilmesinde, biyositlere göre daha ucuz ve etkili olması sebebi ile Ag-Cu iyonizasyon sistemi yaygın olarak tercih edilmektedir.

### 2.8.2. Su Sistemlerinde Ag-Cu İyonlarının Kullanılması

Cu iyonlarının havuz sularında ve içme suyu arıtma çalışmalarında dezenfektan olarak kullanıldığı bilinmektedir (Silvestry-Rodriquez ve diğ., 2007). Yapılan çalışmalarda Ag ve Cu iyonlarının sinerjistik etki gösterdiği ve birçok mikroorganizma için toksik oldukları tespit edilmiştir (Thurmann ve Gerba, 1989). Sudaki mikroorganizmalar dezenfeksiyon amacıyla kullanılan kimyasallara veya zarar verecek birçok dış etkene karşı bağışıklık mekanizması geliştirerek hayatta kalmaya devam etmektedir. Bununla birlikte, Ag ve Cu iyonları elektriksel çekim kuvveti ile bakteriyi bulup, yüzeylerine tutunarak, bakterilerin seçici hücre geçirgenliğini bozmakta ve bakterilerin bu iyonlara karşı bağışıklık geliştirmesini engellemektedirler. Ayrıca bu iyonların, kimyasallarda olduğu gibi yarılanma süresi olmadığından dolayı dezenfeksiyon etkisi uzun süre kaybolmamaktadır (Thurmann ve Gerba 1989; Martinez ve diğ., 2004). İyonizasyon yönteminin bu özellikleri, su dezenfeksiyonu, soğutma sisteminin bakımı ve kontrolü açısından bu yöntemi diğer dezenfeksiyon yöntemlerine göre daha üstün kılmaktadır. Ek olarak suyun pH dengesini değiştirmemeleri ve doğal birer dezenfektan olmaları, içme, kullanma ve soğutma sularının iyileştirilmesinde, iyonizasyon sistemini diğer dezenfeksiyon yöntemlerine göre daha kullanışlı bir yöntem yapmaktadır.

Ag-Cu iyonizasyonunun temeli NASA'nın 1960'lı yıllarda hayata geçirdiği bir su dezenfeksiyon sistemine dayanmaktadır. Uzaya gönderilen araçlarda klor gibi kimyasal maddeler bulundurmamak sakıncalı olduğu için astronotların içme ve kullanma sularının dezenfeksiyonu üzerine yapılan çalışmalar sonucunda Ag-Cu iyonizasyon sistemi geliştirilmiştir.

Ag-Cu iyonizasyon sistemi, su hijyeni konusunda Amerika'da yaygın olarak kullanılan ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ile Avrupa Topluluğu'na bağlı *Legionella* Çalışma Grubu (EWGLI) tarafından AB standartlarında ilk sıralarda kullanımı tavsiye edilen bir

yöntemdir. 2003 yılından beri birçok ülkede, hastanelerde, soğutma kulelerinde, su şişeleme şirketlerinde, havuz suyu dezenfeksiyonunda, başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Fewtrell, 2014).

Ag ve Cu iyonlarının biyosit etkinliğinin belirlenmesi açısından, *L. pneumophila*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Mycobacterium avium*, *Naegleria fowleri*, gibi mikroorganizma türü ile çok sayıda çalışmalar yapılmıştır (Cassells ve diğ., 1989; Landeen ve diğ., 1989; Yahya ve diğ., 1990; Abad ve diğ., 1994; Lin ve diğ., 1996; Lin ve diğ., 1998; Blanc ve diğ., 2005; Chen ve diğ., 2008). Bu çalışmalarda iyonların biyosidal etkinliğinin incelenmesinde genellikle kültürel yöntemler kullanılmıştır. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda bazı bakteri türlerinin kültürde üreyebilme yeteneklerini kaybetmelerine rağmen, metabolik aktivitelerinin devam ettiğini ve uygun koşullar sağlandığında tekrar kültüre edilebilir olduklarını rapor etmişlerdir (Ducret, 2014). Bazı bakterilerin açlık, sıcaklık değişimi, ozmotik basınç ve oksijen konsantrasyonlarındaki artış gibi çevresel baskılara maruz kaldıklarında bir adaptasyon mekanizması geliştirdikleri ve VBNC (viable but not culturable) formuna girdikleri rapor edilmiştir (Oliver, 2005).

Soğutma Teknolojisi Enstitüsü [(Cooling Technology Institute (CTI)] verilerine göre Ag-Cu iyonizasyon sisteminin *Legionella* bakterisine karşı en etkili yöntem olduğu belirlenmiştir (Fewtrell, 2014). Bununla birlikte etkili, ucuz ve çevre dostu bir su iyileştirme yöntemi olan Ag-Cu iyonizasyon sisteminin keşfinden sonra bu sistemin çeşitli su sistemlerinde kullanılmaya başlanması zaman almıştır. Çünkü kullanıcılar, iyonizasyon sistemi yerine uygulama kolaylığından dolayı alışlagelmiş dezenfektanların kullanımını tercih etmektedir. Ülkemizde ve dünyada geleneksel dezenfeksiyon yöntemlerine ciddi bir yatırım söz konusudur. Türkiye’de su sistemleri dezenfeksiyonunda köklü ve geniş bir pazar payına sahip olmalarından dolayı dezenfektan satan firmalar, genellikle dezenfektanların kontrolsüz kullanımları sonucu meydana gelen sağlık, çevre ve korozyon kaynaklı ekonomik sorunları göz ardı etmektedirler. Ek olarak ülkemizde, Ag-Cu iyonizasyon sistemi hakkında yeterli bilgiye sahip olunmaması ve ayrıca bilinçsiz kullanımı sebebiyle de suyun iyileştirilmesinde etkin bir sonuç alınmaması nedeniyle bu sistemin çeşitli endüstriyel alanlarda yaygın olarak kullanımını engellemektedir.

Ag-Cu iyonizasyon sistemleriyle yapılan çalışmaların genellikle hastane kaynaklı su sistemlerinden *Legionella* cinsi bakterilerin eliminasyonu üzerine olduğu görülmüştür (Lin ve diğ., 1998; Rohr ve diğ., 1999; Kusnetsov ve diğ., 2001; Blanc ve diğ., 2005; Chen ve diğ., 2008). Bu sistemin soğutma kulesi suyunda bulunan mikroorganizmalar üzerine biyosidal etkinliğine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Kim ve diğ., 2004; Martinez ve diğ., 2004). Bununla birlikte bu çalışmalarda kullanılan Ag-Cu iyon konsantrasyon değerlerinin, kulenin metalik malzemelerinin (paslanmaz çelik, galvanizli çelik, bakır) özellikle de havuz kısmında sıklıkla kullanılan galvanizli çeliğin mikrobiyolojik korozyon davranışına olan etkisine dair bir bulguya rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu tez çalışması kapsamında EPA'nın önerdiği iyon konsantrasyon değerlerinin (Cu için 1.3 ppm; Ag için 0.1 ppm), karışık bakteri popülasyonunu içerdiği düşünülen biyofilmin neden olduğu galvanizli çelikteki mikrobiyolojik korozyonuna, biyofilmdeki SRB ve AHB'ler üzerine biyosidal etkinliğine ve biyofilmin yapısına etkisi değerlendirilmiştir.

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

Tez çalışması kapsamında EPA'nın önerdiği Ag (0.1 ppm) ve Cu (1.3 ppm) iyon konsantrasyon değerlerinin;

- a) Karışık mikroorganizma gruplarını içerdiği düşünülen biyofilmin galvanizli çelikte neden olduğu mikrobiyolojik korozyona etkisi,
- b) Galvanizli çelik yüzeylerde oluşan biyofilmin yapısına olan etkisi,
- c) Biyofilmdeki AHB ve SRB'lere karşı biyosidal etkinliği incelenmiştir.

Tez kapsamında deneyler, 3'ü kontrol olmak üzere, 5 farklı düzenekte gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).

**1. Model su sirkülasyon deney sistemi;** Galvanizli çelik yüzeylerde biyofilm oluşumuna olanak sağlamak ve beraberinde olgunlaşma sürecindeki biyofilmin galvanizli çeliğin mikrobiyolojik korozyonuna etkisini belirlemek amacıyla model su sirkülasyon deney sistemi kurulmuştur. Soğutma kulesine benzer şekilde suyun sürekli sirküle olduğu model su sirkülasyon tankı 80 l şebeke suyu ile doldurulmuş, galvanizli çelik kuponlar sisteme yerleştirilmiş ve sistem 6 ay süresince kesintisiz olarak işletilmiştir (Şekil 3.1a). Sistemden aylık olarak çıkarılan kuponlardan mikrobiyolojik, EPS eldesi, ağır metal ve ayrıca korozyon oluşum analizleri gerçekleştirilmiştir.

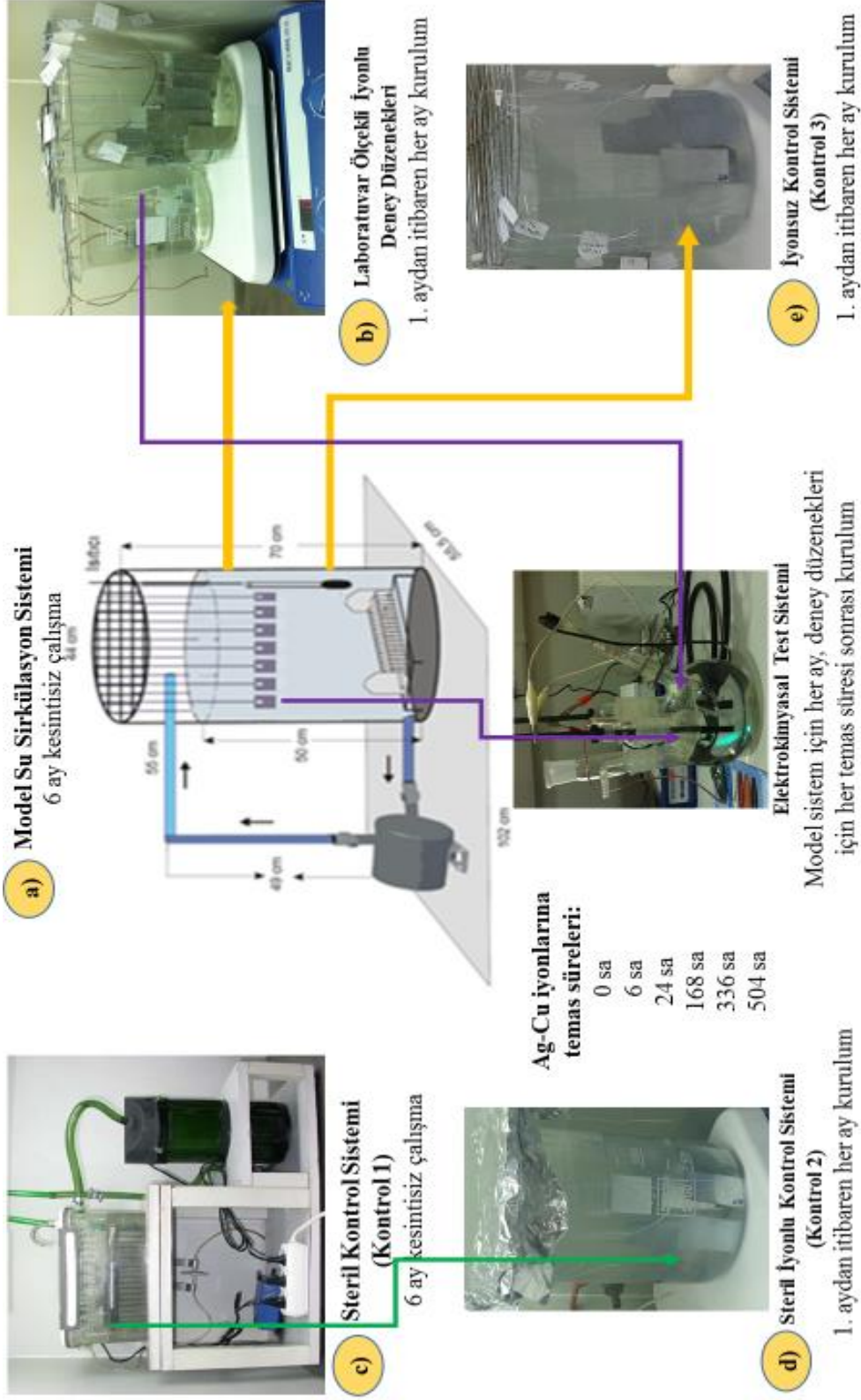
**2. Laboratuvar ölçekli iyonlu deney düzeneği;** Ag-Cu iyonlarının, galvanizli çelik yüzeylerdeki biyofilmin yapısına, biyofilmin galvanizli çelikte neden olduğu mikrobiyolojik korozyona ve biyofilmdeki AHB ve SRB'lere karşı biyosidal etkisinin tespit edilebilmesi için laboratuvar ölçekli iyonlu deney düzeneği kurulmuştur. Her ay model sistemden çıkarılan 19 adet kupon, 2 litrelik cam beherde final konsantrasyonu EPA standartlarına uygun olacak şekilde Ag (0.1 ppm) ve Cu (1.3 ppm) iyonlarını içeren model sistem suyuna maruz bırakılmıştır (Şekil 3.1b). İyonlu deney düzeneği birinci aydan itibaren her ay düzenli olarak kurulmuş ve 504 sa boyunca laminar flow içerisinde aseptik koşullar altında işletilmiştir. Belirli temas süreleri (0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa) sonunda çıkarılan kuponlardan mikrobiyolojik, EPS eldesi, ağır metal ve ayrıca korozyon oluşum analizleri gerçekleştirilmiştir.

**3. Steril kontrol düzeneği (Kontrol 1);** Şebeke suyunun galvanizli çelikteki korozif etkisinin tespiti için steril kontrol düzeneği kurulmuştur. Kontrol 1 düzeneği; ağzı kapalı plastik bir kap ve saatte 7.3 l su sirkülasyonu yapan devridaim pompasından (EHEIM, 2213) oluşmaktadır. Düzenek, steril Şebeke suyu ile doldurulmuş, galvanizli elik kuponlar sisteme yerleştirilmiş ve sistem 6 ay süresince kesintisiz olarak işletilmiştir (Şekil 3.1c). Sistemden aylık olarak çıkarılan kuponların ağrılık kayıpları tespit edilmiş ve korozyon hızları hesaplanmıştır.

**4. Laboratuvar ölçekli iyonlu steril kontrol düzeneği (Kontrol 2);** Şebeke suyuna ek olarak Ag-Cu iyonlarının galvanizli çeliğin korozyon davranışına olan etkisini tespit etmek için kontrol 2 düzeneği kurulmuştur. Her ay kontrol 1 sisteminden çıkarılan 18 adet kupon, 2 litrelik cam beherde final konsantrasyonları 0.1 ppm ve 1.3 ppm olacak Şekilde sırasıyla Ag ve Cu iyonlarını içeren steril model sistem suyuna maruz bırakılmıştır. Düzenek birinci aydan itibaren her ay düzenli olarak kurulmuş ve 504 sa boyunca laminar flow içerisinde aseptik koşullar altında işletilmiştir (Şekil 3.1d). Kuponların 0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa'lik temas süreleri sonunda ağrılık kayıpları saptanmış ve korozyon hızları hesaplanmıştır.

**5. Laboratuvar ölçekli iyonsuz kontrol düzeneği (Kontrol 3);** Biyofilm içeren galvanizli elik yüzeylere 504 sa boyunca model sistem suyunun etkisini belirlemek için kontrol 3 düzeneği kurulmuştur. Her ay model sistemden çıkarılan 19 adet kupon, 2 litrelik cam beherde 504 sa boyunca model sistem suyuna maruz bırakılmıştır. Düzenek birinci aydan itibaren her ay düzenli olarak kurulmuş ve 504 sa boyunca laminar flow içerisinde işletilmiştir (Şekil 3.1e). Kuponların, 0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa'lik temas süreleri sonunda ağrılık kayıpları tespit edilmiş ve korozyon hızları hesaplanmıştır.





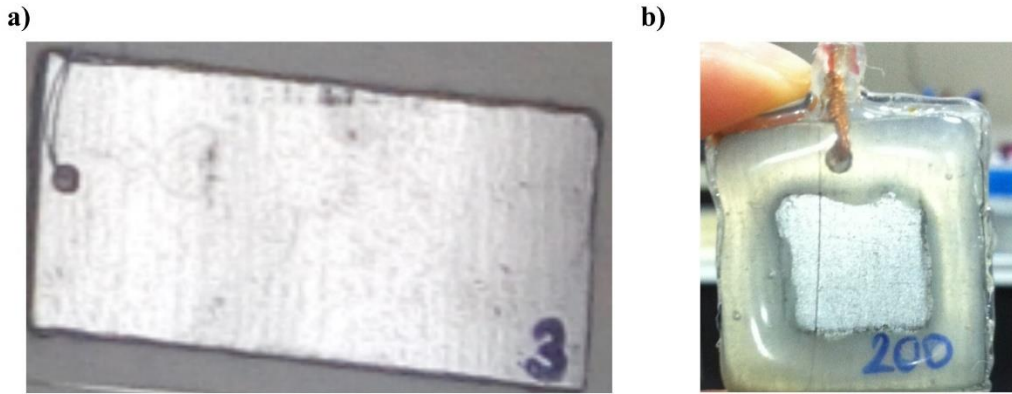
**Şekil 3.1:** Tezin şematik olarak gösterimi; **a)** model su sirkülasyon sistemi, **b)** laboratuvar ölçekli iyonlu deneç düzenekleri, **c)** kontrol 1 sistemi, **d)** kontrol 2 sistemi ve **e)** kontrol 3 sistemi.

### 3.1. GALVANİZLİ ÇELİK VE KUPONLARIN HAZIRLANMASI

Çalışmamızda TEZCAN GALVANİZ A.Ş tarafından üretilen 1 mm kalınlığındaki galvanizli çelik levhalar kullanılmıştır. Galvanizli çeliğin kimyasal bileşimi Tablo 3.1’de verilmiştir. Deney kuponları, model su sirkülasyon sistemi ve elektrokimyasal deneyler için farklı boyutlarda kesilmiş ve hazırlanmıştır (Şekil 3.2).

**Tablo 3.1:** Galvanizli çeliğin kimyasal bileşimi.

% C	% Mn	% Si	% P	% Al	% S	% Fe	Zn kaplama kalınlığı
0.047	0.296	0.003	0.007	0.036	0.007	99.4	235 g/m <sup>2</sup>



**Şekil 3.2:** Deneylerde kullanılmak üzere a) laboratuvar ölçekli deney düzenekleri ve b) elektrokimyasal deneyler için hazırlanan kuponlar.

#### 3.1.1. Model Su Sirkülasyon Deney Sistemi İçin Kuponların Hazırlanması

Kuponlar, galvanizli çelik levhadan ASTM G1–72 (American Society for Testing Material) standartlarına göre 50x25x10 mm boyutlarında kesilerek hazırlanmıştır (Şekil 3.2). Deneylerde toplam 358 adet galvanizli çelik kupon kullanılmıştır. Laboratuvar ölçekli deney ve kontrol düzeneklerine konulacak olan kuponların askıda kalmasını sağlayabilmek için kısa kenarına 2.5 mm çapında delik açılmıştır. Kuponların kesimi sırasında kenar yüzeylerde oluşan pürüzler zımparalanarak giderilmiştir. Kuponların kenar uzunlukları ölçülmüş ve toplam yüzey alanları hesaplanmıştır. Kuponlar yıkanıp, aseton ile temizlendikten sonra Pasteur fırınında kurutulmuştur. Kesik kenarlar, korozyona uğramaması için önce gri renkli epoksi çinko fosfat primer (Moravia, Türkiye) ile astarlanmış ve astar tamamen kuruduktan sonra (24 sa) siyah renkteki epoksi son

kaplama (Moravia, Türkiye) ile boyanmıştır (Zhu, 1999). Kuponlar, tekrar aseton ile temizlendikten sonra Pasteur fırınında kurutulmuş ve ağırlıkları ölçülmüştür. Deney kuponlarının her iki yüzü de UV lamba altında 12 sa bekletilmek suretiyle steril edilmiştir.

### 3.1.2. Elektrokimyasal Deneyler İçin Kuponların Hazırlanması

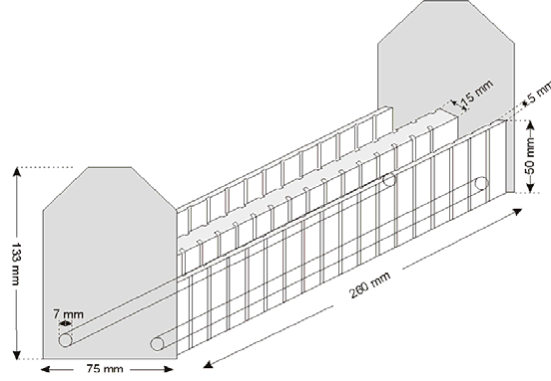
Kuponlar, galvanizli çelik levhadan 25x25x10 mm boyutlarında kesilerek hazırlanmıştır. Elektrokimyasal deneyler için toplam 50 adet galvanizli çelik kupon kullanılmıştır. Kuponlar yıkanıp, aseton ile temizlendikten sonra Pasteur fırınında kurutulmuştur. Daha sonra galvanizli çelik kuponların 1 cm<sup>2</sup> yüzey alanı açıkta kalacak şekilde silikon ile kaplanmıştır. Deney öncesi kuponlar 10 sn'ye %0.6 HNO<sub>3</sub>'e maruz etanol ile yıkanmış ve sonra sıcak havada kurutulmuştur (Hamlaoui ve diğ., 2008). Kupondan alınan verilerin iletilmesi, bakır tel ile sağlanmıştır. Deney kuponlarının her iki yüzü de UV lamba altında 12 sa bekletilmek suretiyle steril edilmiştir. Kuponlar model sistem ve laboratuvar ölçekli deney ve kontrol düzeneklerine yerleştirilebilmeleri için kupon taşıyıcı ızgaralara aseptik koşullar altında tutturularak askıda kalmaları sağlanmıştır (Şekil 3.1).

## 3.2. MODEL SU SİRKÜLASYON SİSTEMİNİN KURULUMU, İŞLETİM KOŞULLARI VE YAPILAN ANALİZLER

Galvanizli çelik yüzeylerde biyofilm oluşumunu sağlamak ve mikrobiyolojik korozyonu incelemek amacıyla deneyler, soğutma kulesindeki gibi suyun sürekli sirküle olduğu model bir su sirkülasyon sisteminde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4). Model su sistemi; 70 cm yükseklikte, 44 cm çapında ve 100 l hacminde olup PE100'den (Polietilen) imal edilmiştir. Su sirkülasyonu (33 l/dk) sağlayan devridaim su pompasına (Balkan Pompa Motor) sahiptir. Sistem, 80 l şebeke suyu ile doldurulmuş ve su seviyesi sistem içinde işaretlenmiştir. Her gün düzenli olarak sistemden 2 l su deşarj edilmiştir. Deşarj ve buharlaşma yolu ile düşen su seviyesi şebeke suyu (3.5 ± 0.25 l/gün) ile tamamlanmıştır. Model su sistemindeki suyun aylık olarak pH, sıcaklık, çözünmüş oksijen (ÇO), iletkenlik, TÇM, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> ve toplam alkalinite değerleri ölçülmüştür.

Galvanizli çelik kuponların yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası ile gerçekleştirilecek olan deneyler için kuponlar pleksiglass malzemeden taşıyıcı bir malzemeye yerleştirilmiş ve

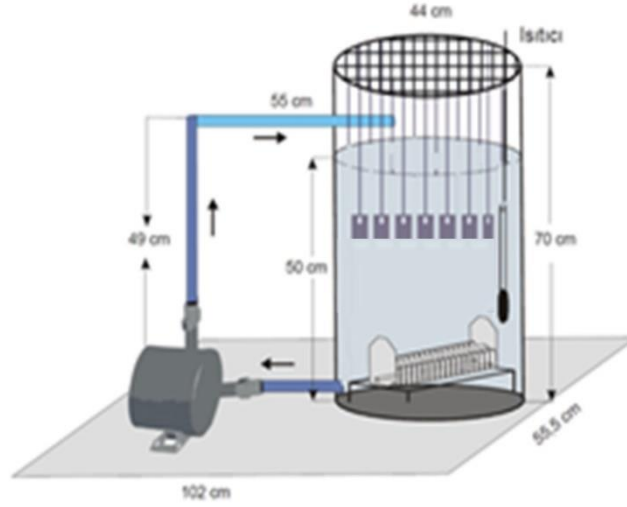
düzenekler model sistemin alt kısmına suyun akışına paralel olacak şekilde konumlandırılmıştır (Şekil 3.3, Şekil 3.4). Kupon taşıyıcı sistemlere konmadan önce sterilizasyon amacıyla %10 sodyum hipoklorit çözeltisi içinde 2 sa bekletilmiş ve sonrasında steril sıcak distile su ile durulanmıştır (Kerr, 1999). Taşıyıcıların her biri 37 adet kupon içermekte olup, model sisteme 7 adet taşıyıcı yerleştirilmiştir.



**Şekil 3.3:** Kupon taşıyıcı düzeneği.

Elektrokimyasal analizlerde kullanılacak olan kuponlar için çelik malzemeden bir taşıyıcı ızgara yaptırılmış ve kuponlar deliklerden geçirilen bakır tel ile taşıyıcı ızgaraya bağlanmıştır. Daha sonra taşıyıcı ızgara model sistemin üst kısmına yerleştirilerek, kuponların model sistem suyunda askıda kalmaları sağlanmıştır.

Galvanizli çelik kuponları içeren kupon taşıyıcı düzenek ve ızgara, model su sistemine yerleştirildikten sonra sistem 6 ay boyunca kesintisiz olarak çalıştırılmış ve kuponlar her ay (30 gün), periyodik olarak sistemden çıkartılmıştır. Biyofilm ve sudaki toplam AHB ve SRB'lerin sayısı saptanmıştır. Biyofilm tabakasından elde edilen EPS içeriğindeki toplam karbonhidrat ve protein miktarı tespit edilmiştir. Kuponlara elektrokimyasal analizler uygulanmış ve, potansiyodinamik polarizasyon ve ağırlık kaybı verilerinden korozyon hızları hesaplanmıştır. Kuponların yüzeyindeki biyofilm tabakası ve korozyon ürünlerini incelemek için SEM ve EDS analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.4: Model su sirkülasyon sistemi.

### 3.2.1. Mikrobiyolojik Analizler

#### 3.2.1.1. Su Örneğinden AHB ve SRB'lerin İzolasyonu ve Sayımı

2 l model sistem su örneği, steril naylon membran filtreden (142 mm çapında ve 0.22 µm por çaplı, Satorius) geçirildikten sonra içerisinde 20 ml steril çeşme suyu bulunan steril bir poşet içerisine konmuş ve stomacher (IUL Instruments) cihazında 2 dk tutulmak suretiyle bakterilerin filtre kağıdından suya geçmeleri sağlanmıştır. Poşet içerisindeki konsantre edilmiş örnekten  $10^{-1}$ 'den başlamak üzere  $10^{-10}$ 'a kadar sulandırım serileri hazırlanmıştır.

Hazırlanan sulandırmılardan AHB'lerin izolasyonu ve sayımı için R2A agar besiyerine üç tekrarlı ekim yapılmış ve petriyerler  $27^{\circ}\text{C}$ 'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası koloniler sayıldıktan sonra "koloni oluşturan birim-kob" olarak kaydedilmiştir (Reasoner ve Geldrich, 1985). SRB'lerin izolasyonu ve sayımı için ise Postgate B besiyeri içeren MPN (Most Probable Number-En Muhtemel Sayı) serilerine ekim yapılmıştır. SRB'lerin sayımında her bir sulandırım için bir MPN serisi kullanılmıştır. Ekim yapılan tüpler  $30^{\circ}\text{C}$ 'lik etüvde 90 gün bekletilmiştir. Tüplerdeki Postgate B besiyerinin renginin siyaha dönüşmesi, SRB'lerin ürediğini göstermektedir (Postgate, 1984).

#### 3.2.1.2. Biyofilm Örneğinden AHB ve SRB'lerin İzolasyonu ve Sayımı

Biyofilmdeki AHB ve SRB sayısının tespiti için her ay sistemden 2 adet kupon çıkartılmıştır. Kuponlar model sistem suyu içeren steril bir kap içerisinde laboratuvar

ortamına getirilmiş ve yüzeylerindeki biyofilm tabakası alınmadan önce, yüzeye gevşek tutunmuş bakterilerin uzaklaştırılması için birkaç kez dikkatlice steril çeşme suyuna daldırılmıştır. Kuponun her iki yüzeyinde de oluşan biyofilm tabakası steril eküvyonlar ile toplanmış ve eküvyonlar içerisinde 20 ml steril çeşme suyu bulunan steril bir poşete konulduktan sonra stomacher (IUL Instruments) cihazında 2 dk tutularak biyofilm homojenatı elde edilmiştir (Gagnon ve Slawson, 1999). Bu biyofilm örneğinden  $10^{-1}$ 'den başlamak üzere  $10^{-10}$ 'a kadar sulandırım serileri hazırlanmıştır. İki kupondan ayrı ayrı hazırlanan sulandırım serilerinden AHB ve SRB ekimleri gerçekleştirilmiştir. Ekimler, bölüm 3.2.1.1.'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır.

### 3.2.2. EPS Eldesi

Biyofilmden EPS eldesi için model sistemden her ay iki adet kupon çıkartılmıştır. Kuponların yüzeyindeki biyofilm tabakası alınmadan önce, planktonik veya yüzeye gevşek tutunmuş bakterilerin uzaklaştırılması için kupon birkaç kez dikkatlice steril bidistile suya daldırılmıştır. EPS eldesi; yıkama, ayırma, ekstraksiyon ve filtrasyon olmak üzere dört aşamada gerçekleştirilmiştir (Zhang ve diğ., 1999).

Yıkama işleminde, kuponun her iki yüzeyindeki biyofilm tabakası steril eküvyon ile toplanmış ve içerisinde 25 ml steril bidistile su bulunan santrifüj tüpünde süspansiyon edilmiştir. Biyofilm süspansiyonu 6000 g'de 10 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant başka bir steril santrifüj tüpüne aktararak saklanmıştır.

Ayırma işleminde, yıkama işleminden geriye kalan biyofilm peleti üzerine 25 ml %8.5 NaCl ve %0.22 formaldehit içeren çözültiden eklenmiş ve süspansiyon en yüksek devirde 1 dk vortekslenmiştir. Daha sonra, ilk iki aşamadaki örnekler steril bir santrifüj tüpünde birleştirilmiştir (Toplam hacim 50 ml).

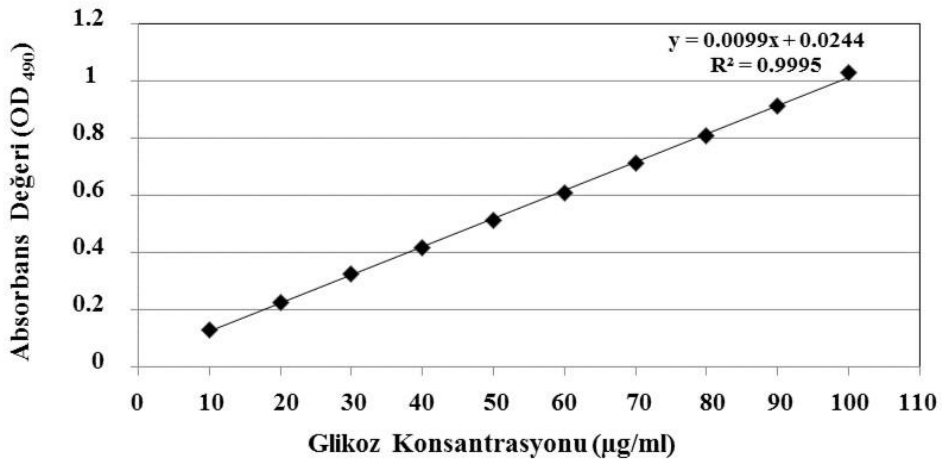
Ekstraksiyon aşamasında, birleştirilmiş örnek süspansiyonu (toplam hacmi 50 ml) 11227 g'de 30 dk santrifüj edilmiştir.

Filtrasyon aşamasında ise, santrifüj işlemi sonucunda elde edilen süpernatant, 0.22 µm por çaplı steril membran filtreden (Sartorius) geçirilerek steril edilmiştir.

### 3.2.2.1. EPS İÇERİĞİNDEKİ TOPLAM KARBONHİDRAT MİKTARININ TESPİTİ

EPS içeriğindeki toplam karbonhidrat miktarının tayininde fenol sülfürik asit yöntemi kullanılmıştır (Dubois ve diğ., 1956). Deney tüplerine (18x20 mm) aktarılan 1 ml EPS solüsyonu üzerine, polisakkaritleri dimerlerine ayırmak için önce 1 ml %5'lik fenol çözeltisi ve daha sonra ise 5 ml konsantre H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edilerek 10 dk bekletilmiştir. Bekleme süresi sonrası tüpler vortekslenmiştir. Tüplerde meydana gelen kimyasal reaksiyon sonucunda sıcaklık yükselmiş ve bu nedenle tüpler 25-30°C'lik su banyosunda 10-20 dk soğumaya bırakılmıştır. Reaksiyon sonucunda sarı-turuncu renk oluşumu gözlenmiş ve rengin koyuluğu spektrofotometre cihazında (Perkin Elmer, Lambda 35) 490 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Toplam karbonhidrat miktarı, absorbans değerinin standart eğriye ait denklemde yerine koyulması ile hesaplanmıştır. Ölçümler 4 tekrarlı yapılmıştır.

Standart eğriyi hazırlamak için 10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml, 40 µg/ml, 50 µg/ml, 60 µg/ml, 70 µg/ml, 80 µg/ml, 90 µg/ml ve 100 µg/ml konsantrasyonlarda standart glikoz çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltilere fenol sülfürik asit yöntemi uygulanmıştır. Kör olarak distile su kullanılmıştır. Her bir konsantrasyonun absorbans değerleri ölçülerek standart grafik çizilmiş ve eğri denklemi oluşturulmuştur (Şekil 3.5). Kontrol için 10 µg/ml, 50 µg/ml ve 100 µg/ml konsantrasyonlardaki standart glikoz çözeltileri deneylerle eş zamanlı olarak ölçülmüştür.



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

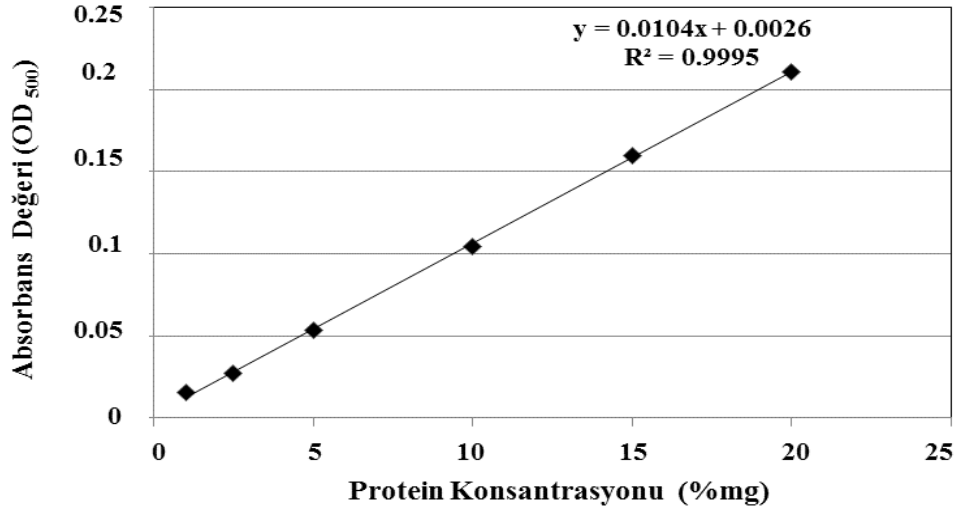
### 3.2.2.2. EPS İçeriğindeki Toplam Protein Miktarının Tespiti

EPS içeriğindeki toplam protein miktarının tayini için Lowry yöntemi kullanılmıştır (Lowry ve diğ., 1951). Yöntem uygulanmadan önce, örneklerdeki tuzların uzaklaştırılması amacı ile EPS solüsyonlarına diyaliz işlemi uygulanmıştır. Diyaliz işlemi için, MW: 6000-8000 diyaliz tüpü (Spectra/Por) kullanılmıştır. İşleme başlamadan önce diyaliz tüpleri 30 dk bidistile suda bekletilerek yumuşamaları sağlanmıştır. Yumuşayan diyaliz tüplerinin bir ucu kıvrılıp, ip ile bağlandıktan sonra kilitli diyaliz klipsi takılmıştır. EPS solüsyonundan 5 ml diyaliz tüpüne aktarılmış ve tüpün açık olan ucu da aynı Şekilde ip ile bağlanıp, klips ile kapatılmıştır. Hazırlanan diyaliz tüpleri, 150 rpm hızla karıştırılan bidistile su içerisinde 24 sa bekletilmif ve kaptaki su her 4 sa'da bir taze bidistile su ile yenilenmiştir (Temizkan ve Arda, 2007).

Diyalizi yapılmış EPS solüsyonundan 0.5 ml alınarak geniş çaplı (18x20 mm) deney tüpüne aktarılmış ve üzerine 2.5 ml C reaktifi (A reaktifi + B reaktifi) eklendikten sonra vortekslenmiş ve oda ısısında 10 dk bekletilmifdir. Daha sonra üzerine 0.25 ml folin reaktifi eklenmiş ve solüsyon vortekslendikten sonra, 30 dk boyunca oda ısısında bekletilmifdir. Böylece, proteinlerin yapısında bulunan aromatik halka içeren amino asit gruplarının, alkali ortam ve bakır varlığında folin reaktifinde bulunan fosfomolibdotungustik asiti indirgeyerek mavi renkli bir kompleks oluşturması sağlanmıştır. Reaksiyon sonucunda meydana gelen mavi rengin koyuluğu spektrofotometre cihazında (Perkin Elmer, Lambda 35) 500 nm dalga boyunda llmştir. Toplam protein miktarı, absorbans değerinin, standart eğriye ait denklemde yerine koyulması ile hesaplanmıştır. Ölçümler 4 tekrarlı yapılmıştır.

Standart eğri hazırlamak için 100 mg sığır serum albümin içeren (BSA), %0.9'luk fizyolojik tuzlu su (FTS) 100 ml'ye tamamlanarak stok çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra stok çözeltiden %1, %2.5, %5, %10, %15 ve %20'lik standart protein zelteleri hazırlanmış ve bu çözeltilere de Lowry yöntemi uygulanmıştır. Kr olarak %0.9'luk FTS kullanılmıştır. Her bir konsantrasyonun absorbans değerleri ölçülerek standart grafik izilmif ve eğri denklemi oluşturulmuştur (Şekil 3.6).





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

### 3.2.3. Kuponlarda Korozyon Oluşum Analizleri

Kuponlardaki korozyon oluşumu tespiti için elektrokimyasal deneyler, ağırlık kaybı, ve yüzey analizleri yapılmıştır. Ayrıca kuponların korozyon hızı, hem ağırlık kaybı hem de elektrokimyasal bir analiz olan potansiyodinamik polarizasyon yöntemi ile tespit edilmiştir.

#### 3.2.3.1. Elektrokimyasal Analizler

Elektrokimyasal analizler korozyon hücresinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7). Analiz öncesinde, korozyon hücresine ait cam malzemeler otoklavda 121°C ve 1 atm basınç altında 15 dk steril edildikten sonra, laminar flow içerisinde aseptik koşullar altında bir araya getirilmiştir. Ölçümler, potansiyostat/galvanostat (Gamry, İnterface 1000) cihazı ile yapılmıştır. Kuponlara açık devre potansiyeli, elektrokimyasal empedans ve potansiyodinamik polarizasyon yöntemi uygulanmıştır. Deneylerde üç elektrot tekniği kullanılmıştır. Karşı elektrot olarak karbon çubuk, referans elektrot olarak doymuş kalomel elektrot (SCE) ve çalışma elektrotu olarak da galvanizli çelik kuponlar kullanılmıştır.



Şekil 3.7: Korozyon hücresi.

**Açık Devre Potansiyeli Ölçümü (ADP):** Model sistem suyunda metalin açık devre potansiyel değerleri belirlenmiştir. Metalin korozyon davranışı, referans elektroda göre tespit edilmiştir.

**Elektrokimyasal Empedans Yöntemi (EIS):** EIS verileri, korozyon potansiyelinde,  $10^5$ - $10^{-1}$  Hz frekans aralığında ve 5 mV genlikte elde edilmiştir. Elektrokimyasal deney süresince Zview yazılım programı kullanılarak Nyquist, Bode ve Faz-frekans diyagramları oluşturulmuştur. Ayrıca EIS verileri ile eşdeğer elektrik devreleri çizilmiş ve devre elemanlarının dirençleri hesaplanmıştır.

**Potansiyodinamik Polarizasyon Yöntemi:** Metalin korozyon potansiyelinden ( $E_{kor}$ ) itibaren yaklaşık +500 mV katodik yönden başlanarak, -1000 mV anodik yöne gidilerek tarama yapılmıştır. Bu potansiyel tarama aralığında, 1 mV/s tarama hızında akım-potansiyel eğrileri elde edilmiştir. Sigmaplot yazılım programında potansiyodinamik eğriler çizilmiş ve eğrilerin  $i_{kor}$  değerleri saptanmıştır. Kuponlara ait  $i_{kor}$  değerlerinden  $V_{kor}$  değerleri hesaplanmıştır.

### 3.2.3.2. Ağırlık Kaybı Analizi

Ağırlık kaybı analizi için aylık olarak 8 adet kupon kullanılmıştır. Yüzeyindeki biyofilm tabakası steril eküvyon ile uzaklaştırılan kuponlar %10 amonyum persülfat çözeltisinde 3–5 dk bekletilmek suretiyle temizlenmiş ve distile su ile durulandıktan sonra Pasteur fırınında kurutulmuştur. Kuponların deney öncesi ve sonrası ölçülen ağırlıklar arasındaki fark, ağırlık kaybı olarak kaydedilmiştir. Korozyon hızı aşağıda belirtilen formül ile hesaplanmıştır (ASTM, 2011).

### 3.2.3.3. *Yüzey Analizleri (SEM- EDS)*

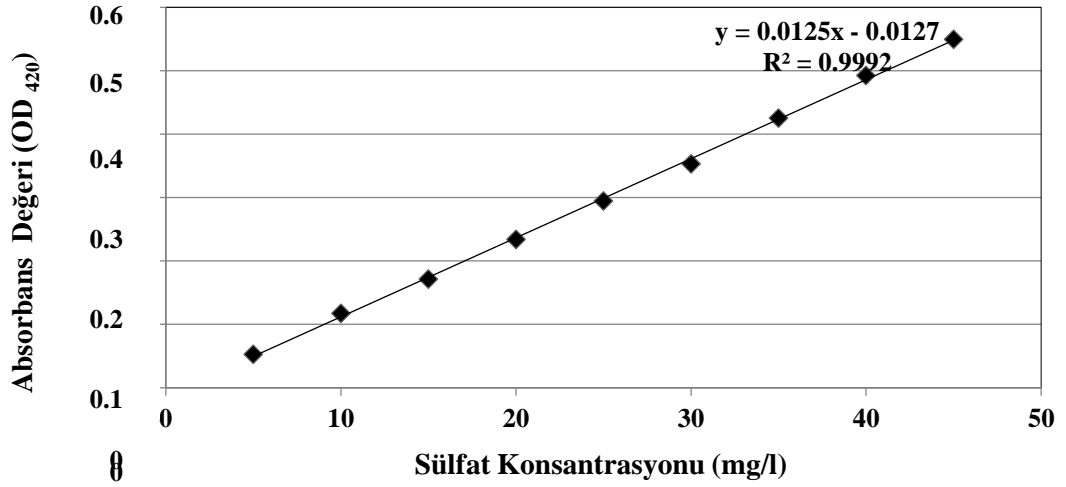
Kuponların yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası ve korozyon ürünleri SEM ve EDS analizleri ile incelenmiştir. Kuponlar analiz öncesi %2.5 glutaraldehit çözeltisinde, +4°C’de 1 sa bekletilerek fikse edilmiş ve birkaç kez steril bidistile suya daldırıldıktan sonra sırasıyla 10’ar dk etanol serilerinden (%30, %50, %80 ve %95) geçirilmiştir. Bekleme süresi sonunda kuponlar, havada kurumaya bırakılmıştır (Campanac ve diğ., 2002). Kuponlar, yüzeyleri 15 nm kalınlıkta altın ile kaplandıktan sonra SEM cihazında (FEI Quanta 450 FED-EDS) incelenmiştir.

### 3.2.4. Model Sistem Suyunun Kimyasal Parametrelerinin İncelenmesi

#### 3.2.4.1. *Sülfat ( $SO_4^{2-}$ )*

Model sistem suyundaki  $SO_4^{2-}$  miktarı turbidimetrik yöntem ile belirlenmiştir (APHA, 1981). 100 ml su örneği üzerine 5 ml kondisyonlama çözeltisi eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Çözeltiye 0.5 g  $BaCl_2$  kristali eklendikten hemen sonra süre başlatılarak, sabit hızda 1 dk karıştırılmıştır. Oluşan  $BaSO_4$  bulanıklığının absorbans değeri, spektrofotometre cihazında (Perkin Elmer, Lambda 35) 420 nm dalga boyunda, 4 dk süresince her 30 sn’de bir ölçülerek belirlenmiştir. Ölçümler 2 tekrarlı yapılmıştır.

Standart eğri hazırlamak için, 5 mg/l, 10 mg/l, 15 mg/l, 20 mg/l, 25 mg/l, 30 mg/l, 35 mg/l, 40 mg/l ve 45 mg/l konsantrasyonlarda standart  $Na_2SO_4$  çözeltileri hazırlanmış ve çözeltilere turbidimetrik yöntem uygulanmıştır. Kör olarak distile su kullanılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri ile standart grafik oluşturulmuş ve eğri denklemi belirlenmiştir (Şekil 3.8). Kontrol için 5 mg/l, 25 mg/l ve 45 mg/l konsantrasyonlardaki standart sülfat çözeltileri deneylerle eş zamanlı olarak ölçülmüştür.

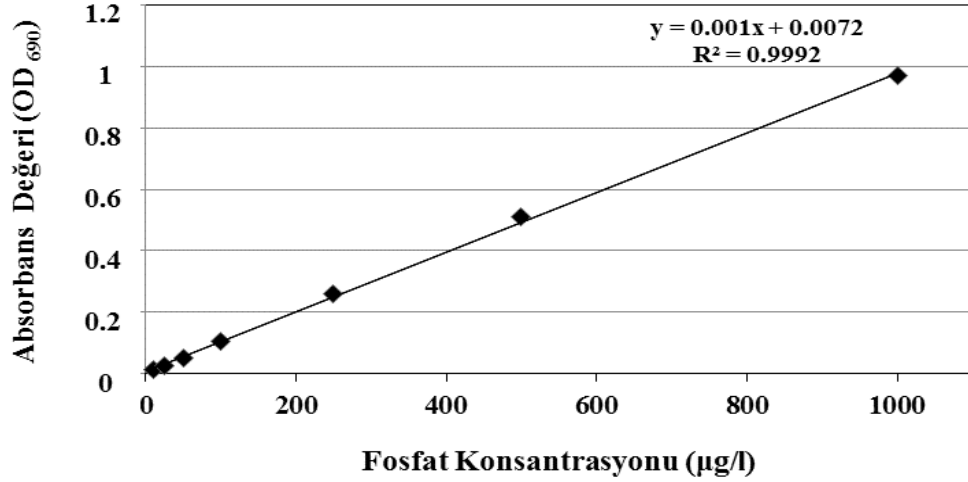


Şekil 3.8: Turbidimetrik yöntem ile standart  $\text{SO}_4^{2-}$  konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.

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

Sudaki  $\text{PO}_4^{3-}$  miktarı, kolorimetrik bir uygulama olan kalay klorür yöntemi ile ölçülmüştür (APHA, 1981). 100 ml su örneğine 0.05 ml (1 damla) fenolftalein indikatörü damlatılmıştır. Pembe renk oluştuğunda, renk giderilinceye kadar örneğe güçlü asit çözeltisi damlatılmıştır. Daha sonra örneğe 4 ml  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  çözeltisi, akabinde 0.5 ml (10 damla)  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  çözeltisi eklenmiş ve 10 dk sonra (fakat 12 dk'dan önce) spektrofotometrede (Perkin Elmer, Lambda 35) 690 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülmüştür. Ölçümler iki tekrarlı gerçekleştirilmiştir.

Standart eğriyi hazırlamak için 10  $\mu\text{g/l}$ , 25  $\mu\text{g/l}$ , 50  $\mu\text{g/l}$ , 100  $\mu\text{g/l}$ , 250  $\mu\text{g/l}$ , 500  $\mu\text{g/l}$ , 1000  $\mu\text{g/l}$  konsantrasyonlarda standart  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  çözeltileri hazırlanmış ve çözeltilere kalay klorür yöntemi uygulanmıştır. Kör olarak distile su kullanılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri ile standart grafik oluşturulmuş ve eğri denklemi belirlenmiştir (Şekil 3.9). Kontrol için 25  $\mu\text{g/l}$ , 250  $\mu\text{g/l}$  ve 1000  $\mu\text{g/l}$  konsantrasyonlardaki standart fosfat çözeltileri deneylerle eş zamanlı olarak ölçülmüştür.



**Şekil 3.9:** Kalay klorür yöntemi ile standart  $\text{PO}_4^{3-}$  konsantrasyonlarından hazırlanmış standart eğri ve denklemi.

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

Model sistem suyundaki klor iyonu miktarı Mohr metodu ile belirlenmiştir (Belcher ve diğ., 1957). 100 ml su örneği 250 ml hacimli Erlenmayere konmuş ve indikatör çözeltisi olarak 1 ml  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  eklenmiştir. Oluşan berrak yeşil-sarı renk bulanık sarı-kiremit rengine dönüşüncüye kadar N/50  $\text{AgNO}_3$  çözeltisi ile titre edilmiştir. Titrasyon işlemi, iyi aydınlatılmış beyaz bir zemin üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bulanık sarı-kiremit renk oluştuğu anda titrasyon durdurulmuş ve harcanan  $\text{AgNO}_3$  miktarı belirlenmiştir. Örnekteki  $\text{Cl}^-$  miktarı aşağıdaki bağıntıdan hesaplanmıştır. Ölçümler iki tekrarlı yapılmıştır.

$$1 \text{ ml N/50 } \text{AgNO}_3 = 0.7092 \text{ mg } \text{Cl}^-$$

#### 3.2.4.4. Toplam Alkalinite

Model sistem suyunun toplam alkalinite değeri fotometre cihazı (Lovibond, MD600) ile ölçülmüştür.

#### 3.2.4.5. Çözünmüş Oksijen

Model sistem suyundaki çözünmüş oksijen miktarı oksimetre cihazı (WTW Oxi-330) ile ölçülmüştür. Her kullanımdan önce cihaz kalibre edilmiştir.

#### **3.2.4.6. İletkenlik ve Toplam Çözünmüş Madde Miktarı**

Model sistem suyunun iletkenliği ve sudaki toplam çözünmüş madde miktarı WTW LF-95 kondüktivitemetre cihazı ile ölçülmüştür. Cihaz her kullanımdan önce 25°C sıcaklığa sahip 0.01M KCl çözeltisi ile kalibre edilmiştir.

#### **3.2.4.7. pH Değeri**

Model sistem suyunun pH değeri, pH metre cihazı (Denver Instrument, Meridian MR-10) ile ölçülmüştür.

### **3.3. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ İYONLU DENEY DÜZENEGİNİN KURULUMU, İŞLETİM KOŞULLARI VE YAPILAN ANALİZLER**

Laboratuvar ölçekli iyonlu deney düzeneği, 2 l hacimli cam beher, kupon taşıyıcı ızgara, kuponlar ve Ag-Cu iyonlarını içeren model sistem suyundan oluşmaktadır (Şekil 3.10). 2 l hacimli cam beher deney öncesi nitrik asitten geçirilmiş, sıcak bidistile su ile durulanmış, Pasteur fırınında 170°C’de 1 sa bekletilmek suretiyle steril edilmiştir. Kuponlar deliklerden geçirilen ip yardımıyla taşıyıcı ızgaraya tutturulmuş ve beher içerisinde birbirlerine değmeyecek şekilde askıda kalmaları sağlanmıştır. Cam beherlerin üzeri steril alüminyum folyo ile örtülmüş ve aseptik koşullar altında laminar flow içerisinde 504 sa boyunca işletilmiştir. Biyofilm ile gerçekleştirilecek çalışmalarda kullanılacak kuponlar ile elektrokimyasal deneylerde kullanılacak kuponlar ayrı beher düzeneğine konulmuşlardır. Deney kuponları için düzeneğe için aylık 19 adet, elektrokimyasal analizler için ise 6 adet galvanizli çelik kupon konulmuştur (Şekil 3.10).

Deney kuponlarını içeren düzenekten 0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa’lik temas süreleri sonunda 3’er adet kupon çıkartılmış ve eş zamanlı olarak 20 ml düzenek suyundan alınmıştır. Biyofilm tabakasındaki AHB ve SRB sayısı, EPS içeriğindeki toplam karbonhidrat ve protein miktarı ve biyofilmdeki ağır metal (Zn, Fe, Ag, Cu) konsantrasyonlarının saptanması için analiz başına birer adet kupon kullanılmıştır. Belirtilen analizler için yüzeylerindeki biyofilm tabakaları toplanan kuponların ağırlık kayıpları tespit edilmiş ve korozyon hızları hesaplanmıştır. Her temas süresi sonrası düzenek suyundan AHB ve SRB izolasyonu ve sayımı gerçekleştirilmiştir. Ayrıca her ay 504 sa ‘lik temas süresi sonunda yüzey analizi için düzenekten bir adet kupon çıkarılmıştır.

Elektrokimyasal kuponları içeren düzenekten ise 0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa'lik temas süreleri sonunda 1'er adet kupon çıkartılmış ve kuponlara elektrokimyasal yöntemler uygulanmıştır. Galvanizli çelik kuponların açık devre potansiyeli, korozyon hızı ve empedans direnci tespit edilmiştir.



**Şekil 3.10:** Laboratuvar ölçekli iyonlu a) elektrokimyasal analizlere ait kuponları, b) biyofilm ile ilgili çalışmalarda kullanılacak kuponları içeren deney düzenekleri.

### 3.3.1. Ag ve Cu İyon Çözeltilerinin Hazırlanması

Ag ve Cu iyonları, %99.9 saflıktaki Ag ve Cu elektrotlarından elektrolitik olarak üretilmiştir. Elektrotların kalınlığı 38 mm, alanı 1.133 mm<sup>2</sup>'dir. Ag ve Cu iyonlarının üretim işlemi, laminar flow içerisinde aseptik koşullar altında gerçekleştirilmiştir. İyonların üretileceği cam beherler, 3N nitrik asit çözeltisi içinde 1 gece bekletilmiş, asidin uzaklaştırılması için sıcak bidistile su ile durulanmış ve Pasteur fırınında steril edilmiştir. Aseptik koşullar altında beherler 1000 ml steril bidistile su ile doldurulmuş ve Ag ve Cu elektrotlar cihaz ile elektrotun bağlantı kısmı suya değmeyecek şekilde ayrı beherlere daldırılmıştır. İyonizasyon cihazı (Carefree Clearwater, 1200-R) 17 volt ve 340 mA akımda çalıştırılarak, iyonların suya geçmeleri sağlanarak stok iyon çözeltileri hazırlanmıştır. Farklı beherlerde üretilen Ag ve Cu iyonlarının konsantrasyonları ICP-MS (Thermo, XSeries2, Lovibond600) cihazı ile belirlenmiştir.

Taze olarak hazırlanmış Ag ve Cu iyon çözeltileri, 0.22 µm por çaplı filtreden (Sartorius) geçirilerek steril edildikten sonra, laminar flow içerisinde model sistem suyu içeren deney düzeneklerine final konsantrasyonları EPA standartlarına uygun olacak şekilde (sırasıyla 0.1 ppm ve 1.3 ppm) eklenmiştir. Galvanizli çelik kuponları taşıyan ızgara, beher üzerine yerleştirildiği andan itibaren deney süresi başlatılmıştır. Deney süresince deney düzenekleri ısıtıcılı-manyetik karıştırıcı ile 150 rpm hızda karıştırılmıştır. Düzeneklerin üzeri steril alüminyum folyo ile kapatılmış ve deney süresince 28°C'de laminar flow içerisinde bekletilmiştir.

### 3.3.2. Mikrobiyolojik Analizler

#### 3.3.2.1. Su Örneğinden AHB ve SRB'lerin İzolasyonu ve Sayımı

100 ml düzenek suyu örneği, steril naylon membran filtreden (142 mm çapında ve 0.22 µm por çaplı, Satorius) geçirildikten sonra, filtre içerisinde 20 ml steril çeşme suyu bulunan steril bir poşet içerisine konmuş ve stomacher (IUL Instruments) cihazında 2 dk tutulmak suretiyle bakterilerin filtre kağıdından suya geçmeleri sağlanmıştır. Konsantre edilmiş örnekten  $10^{-1}$ 'den başlamak üzere  $10^{-10}$ 'a kadar sulandırım serileri hazırlanmıştır. Hazırlanan sulandırmalardan AHB ve SRB'lerin izolasyon ve sayım işlemleri bölüm 3.2.1.1'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır.

#### 3.3.2.2. Biyofilm Örneğinden AHB ve SRB'lerin İzolasyonu ve Sayımı

Biyofilmdeki AHB ve SRB'lerin sayısının tespiti için her temas süresinde iyonlu laboratuvar düzeneğinden 1 adet kupon çıkartılmıştır. Kuponun her iki yüzeyinde de oluşan biyofilm tabakası steril eküvyon ile toplanmış ve daha sonra içerisinde 20 ml steril çeşme suyu bulunan steril poşet içerisine aktarılmış ve stomacher (IUL Instruments) cihazında 2 dk tutulmak suretiyle bakterilerin suya geçmesi sağlanmıştır. Hazırlanan biyofilm homojenatından  $10^{-1}$ 'den başlamak üzere  $10^{-10}$ 'a kadar sulandırım serileri hazırlanmıştır. Sulandırım serilerinden AHB ve SRB'lerin izolasyon ve sayım işlemleri bölüm 3.2.1.2'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır.

#### 3.3.3. EPS Eldesi, Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarının Tespiti

Deney süresince her temas süresi sonrası iyonlu laboratuvar düzeneğinden 1 adet kupon çıkartılmış ve biyofilm tabakasından EPS eldesi bölüm 3.2.2'de anlatıldığı şekilde



gerçekleştirilmiştir. EPS içeriğindeki toplam karbonhidrat ve protein miktarı ise sırasıyla bölüm 3.2.2.1 ve 3.2.2.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **3.3.4. Biyofilm Örneklerinden Ağır Metal (Zn, Fe, Cu, Ag) Analizi**

Deney süresince 0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa’lik temas süreleri sonunda biyofilmdeki Zn, Fe, Cu ve Ag konsantrasyonlarının tespiti için iyonlu laboratuvar düzeneğinden 1 adet kupon çıkartılmıştır. Kuponun her iki yüzeyinde de oluşan biyofilm tabakası steril eküvyon ile toplanmış ve 100 ml steril bidistile su içerisinde süspansiyon edilmiştir. Biyofilm süspansiyonu 3N HNO<sub>3</sub> ile pH:3 olacak şekilde asitlendirilmiş ve sonrasında en yüksek hızda 4 dk vortekslenmiştir. Daha sonra 0.45 µm por çaplı membran filtreden (Sartorius) geçirilerek süspansiyondaki büyük partiküller ortamdan uzaklaştırılmıştır (Percival ve diğ., 1998). Biyofilmdeki Zn, Fe, Cu ve Ag konsantrasyon miktarları, ICP-MS (Thermo, XSeries2) cihazı ile belirlenmiştir.

### **3.3.5. Kuponlarda Korozyon Oluşum Analizleri**

Galvanizli çelik kuponlarda korozyon hızının tespiti hem elektrokimyasal hem de ağırlık kaybı yöntemi ile sırasıyla bölüm 3.2.3.1 ve bölüm 3.2.3.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Ağırlık kaybı yöntemi ile korozyon hızının tespitinde her temas süresi için toplam 3 adet kupon kullanılmıştır. Elektrokimyasal analizlerde ise 1 adet kupon kullanılmıştır. EIS analizleri ile metal yüzeyinin durumu değerlendirilmiş olup, elde edilen verilerden eşdeğer devreler çizilmiştir. SEM-EDS analizleri ile biyofilmin yapısı ve korozyon ürünleri hakkında bilgi edinilmiştir. Kuponlar yüzey analizleri için bölüm 3.2.3.3’de anlatıldığı şekilde hazırlanarak SEM cihazında (FEI Quanta 450 FED-EDS) incelenmiştir.

## **3.4. İYONSUZ STERİL KONTROL DÜZENEĞİ (KONTROL 1) İŞLETİM KOŞULLARI VE YAPILAN ANALİZLER**

Şebeke suyunun galvanizli çelik kuponlar üzerine korozif etkisi, kontrol 1 düzeneğinde incelenmiştir. Bu düzenek esas olarak model sistemdeki galvanizli çelik kuponların biyofilm içermeyen kontrolüdür. 144 adet kontrol kuponu, bölüm 3.1.1’de anlatıldığı şekilde steril edilmiş ve aseptik koşullar altında steril kupon taşıyıcılarına dizildikten sonra suyun akışına paralel olarak kontrol 1 sisteminin içine yerleştirilmiştir (Şekil 3.11).

Kontrol 1 düzeneği; ağzı kapalı plastik bir kap ve saatte 7.3 l su sirkülasyonu yapan devridaim pompasından (EHEIM, 2213) oluşmaktadır. Suyun sıcaklığını 28°C'de sabit tutmak amacıyla düzeneğin içine bir ısıtıcı (VISI-THERM, 100W) yerleştirilmiştir. Hava pompası (Champion) ile düzeneğe oksijen girişi sağlanmıştır. Pompadan gelen hava, 0.22 µm por çapına sahip bir membran filtreden (Sartorius, midisart 2000) geçirilerek steril edilmiş ve böylece sisteme sürekli steril hava akımı sağlanmıştır (Şekil 3.11). Kontrol 1 düzeneği, 8 l çeşme suyu ile doldurulmuş ve su seviyesi plastik kap üzerinde işaretlenmiştir. Her hafta (7 gün) düzenli olarak sistemden 2 l su deşarj edilmiştir. Deşarj ve buharlaşma yolu ile düşen su seviyesi steril şebeke suyu ( $2.25 \pm 0.25$  l/7 gün) ile tamamlanmıştır. Deşarj ve taze su eklenmesi esnasında kontaminasyonu engellemek amacıyla düzenek suyuna gentamisin (50 µg/l) eklenmiştir. Her hafta yapılan deşarj öncesi ve sonrasında, düzenek suyunun R2A agar besiyerine ekilmesi ile suyun steril olup olmadığı kontrol edilmiştir. Galvanizli çelik kuponları içeren kupon taşıyıcıları, kontrol 1 sisteme yerleştirildikten sonra sistem 6 ay boyunca kesintisiz olarak çalıştırılmıştır.



Şekil 3.11: Kontrol 1 düzeneği.

#### 3.4.1. Kuponlarda Korozyon Oluşum Analizleri

Ağırlık kaybı yöntemi ile korozyon hızının tespiti için her ay (30 gün) sistemden aylık olarak 6 adet kupon çıkartılmıştır. Kuponların ağırlık kayıplarının ölçümü ve korozyon hızı hesabı bölüm 3.2.3.2'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Kuponların yüzey analizleri (SEM-EDS) ise bölüm 3.2.3.3'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır.

### 3.5. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ İYONLU STERİL KONTROL DÜZENEĞİ (KONTROL 2) KURULUMU, İŞLETİM KOŞULLARI VE YAPILAN ANALİZLER

Şebeke suyuna ek olarak Ag-Cu iyonlarının galvanizli çeliğin korozyon davranışına olan etkisini tespit etmek için kontrol 2 düzeneği kurulmuştur. Esas olarak bu düzenek, laboratuvar ölçekli iyonlu deney düzeneğinin iyonlu kontrolüdür. Her ay kontrol 1 sisteminden çıkarılan 18 adet kupon, kupon taşıyıcı ızgaraya ip ile tutturulmuş ve 2 litrelik cam beherde final konsantrasyonu EPA standartlarına uygun olacak şekilde Ag (0.1 ppm) ve Cu (1.3 ppm) iyonlarını içeren steril model sistem suyuna maruz bırakılmıştır. Düzenek birinci aydan itibaren her ay düzenli olarak kurulmuş ve 504 sa boyunca laminar flow içerisinde işletilmiştir. Galvanizli çelik kuponlar iyonlu model sistem suyuna maruz kaldığı andan itibaren deney süresi başlatılmıştır. Deney süresince düzenek ısıtıcı-manyetik karıştırıcı ile 150 rpm hızda karıştırılmış ve düzeneğin üzeri steril alüminyum folyo ile kapatılmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12: Kontrol 2 düzeneği.

#### 3.5.1. Kuponlarda Korozyon Oluşum Analizleri

Ağırlık kaybı analizi için 0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa'lık temas süreleri sonunda düzenekten 3'er adet kupon çıkartılmıştır. Kuponların ağırlık kayıplarının ölçümü ve korozyon hızı hesabı bölüm 3.2.3.2'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. SEM ve EDS analizleri için ise 504 sa'lık temas süresi sonunda düzenekten bir adet kupon çıkarılmış ve bölüm 3.2.3.3'de anlatıldığı şekilde kuponların yüzey analizleri yapılmıştır.

### 3.6. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ İYONSUZ KONTROL DÜZENEĞİ (KONTROL 3) KURULUMU, İŞLETİM KOŞULLARI VE YAPILAN ANALİZLER

Biyofilm içeren galvanizli çelik yüzeylere, model sistemdeki maruziyet süresine ek olarak 504 sa süresince model sistem suyunun korozif etkisini belirlemek için kontrol 3 düzeneği kurulmuştur. Bu düzenek model sistemden çıkarılıp 504 sa Ag-Cu iyonlarına maruz kalan kuponların kontrolü olarak kurulmuştur. Dolayısıyla bu düzenek iyonlu steril kontrol düzeneğinin (Kontrol 2) iyonsuz kontrolüdür. Model sistemden çıkarılan kuponlar, yine model suyu içinde 504 sa boyunca bekletilerek ağırlık kayıpları belirlenmiştir. Her ay model sistemden çıkarılan 19 adet kupon kupon taşıyıcı ızgaraya ip ile tutturulmuş ve 2 litrelik cam beher içerisindeki model sistem suyuna 504 sa boyunca maruz bırakılmıştır. Kuponlar model sistem suyuna daldırıldığı andan itibaren deney süresi başlatılmıştır. Izgara, beher üzerine yerleştirildiği Deney süresince düzenek ısıtıcılı-manyetik karıştırıcı ile 150 rpm hızda karıştırılmış ve üzeri steril alüminyum folyo ile kapatılmıştır (Şekil 3.13). Düzenek 28°C’de laminar flowda işletilmiştir.



Şekil 3.13: Kontrol 3 düzeneği.

#### 3.6.1. Kuponlarda Korozyon Oluşum Analizleri

Ağırlık kaybı analizi için 0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa’lik temas süresi sonunda düzenekten 3’er adet kupon çıkartılmıştır. Kuponların ağırlık kayıplarının ölçümü ve korozyon hızı hesabı bölüm 3.2.3.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. SEM ve EDS analizleri için 504 sa’lik temas süresi sonunda düzenekten bir adet kupon çıkarılmış ve kuponların yüzey analizleri bölüm 3.2.3.3’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır.

### 3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen istatistiksel analizlerde SPSS 24.0 programı kullanılmıştır. Su ve biyofilmdeki AHB ve SRB sayıları, EPS'deki toplam karbonhidrat ve toplam protein miktarları, ağırlık kaybı ve korozyon hızı değerleri, model sistem suyunun kimyasal parametreleri arasındaki ilişki Pearson ve Spearman korelasyon katsayıları testi ile belirlenmiştir. Su ve biyofilmdeki AHB ve SRB'lerin sayısal durumu, karbonhidrat ve protein miktarları, ağırlık kaybı ve korozyon hız değerlerinin ortalamalar açısından karşılaştırılması t-testi ve Mann Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. Temas sürelerine göre su ve biyofilmdeki AHB ve SRB'lerin sayısal durumu, log düşüşleri, karbonhidrat ve protein miktarları, ağırlık kaybı ve korozyon hız değerleri arasındaki fark tek yönlü varyans analizi ve Kruskal Wallis testleri ile tespit edilmiştir.

### 3.8. ARAŞTIRMADA KULLANILAN BESİYERLERİ VE KİMYASAL MADDELER

#### 3.8.1. Postgate B Besiyeri

SRB'lerin sayısının tespitinde kullanılan Postgate B besiyerinin bileşimi aşağıda belirtilmiştir (Postgate, 1984):

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

Distile su 1000 ml

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

### 3.8.2. R2A Agar Besiyeri

Tez çalışması kapsamında heterotrofik bakterilerin sayımında kullanılan R2A agar bileşimi aşağıda belirtilmiştir:

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

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

### 3.8.3. Vitamin Solüsyonu

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

Biyotin ( $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ )	2 mg
Folik asit ( $C_{19}H_{19}N_7O_6$ )	2 mg
Piridoksin ( $C_8H_{11}NO_3$ )	10 mg
Tiamin ( $C_{12}H_{17}ClN_4OS$ )	5 mg
Riboflavin ( $C_{17}N_4H_{20}O_6$ )	5 mg
Nikotinik asit ( $C_6H_5NO_2$ )	5 mg

Kalsiyum D Pantotenat ( $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$ )	5 mg
Vitamin B12 ( $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ )	0.1 mg
p-aminobenzoik asit ( $H_2NC_6H_4COOH$ )	5 mg
Lipoik asit ( $C_8H_{14}O_2S_2$ )	5 mg
Distile su	1000 ml

### 3.8.4. Protein Tayininde Kullanılan Reaktifler

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

##### 0.1 N NaOH;

NaOH	4 g
Bidistile su	1000 ml'ye tamamlanmıştır.

##### %2 $Na_2CO_3$ ;

$Na_2CO_3$	2 g
0.1 N NaOH çözeltisi	100 ml'ye tamamlanmıştır.

#### 3.8.4.2. B Reaktifi: %0.5 $CuSO_4.5H_2O$ (%1 dipotasyum tartarat içerisinde)

##### %1 dipotasyum tartarat;

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

##### %0.5 $CuSO_4.5H_2O$

$CuSO_4.5H_2O$	0.05 g
%1 dipotasyum tartarat çözeltisi	10 ml'ye tamamlanmıştır.

#### 3.8.4.3. C Reaktifi (Alkali bakır çözeltisi)

A reaktifi	50 ml
B reaktifi	1 ml

Bu çözelti kullanımından hemen önce, taze olarak hazırlanmıştır.

#### 3.8.4.4. E Reaktifi (Folin Reaktifi)

1500 ml'lik florence balonuna 100 g Na-tungustat, 25 g Na-molibdat, 700 ml bidistile su, 50 ml %85'lik fosfat asidi ve 100 ml derişik HCl eklenmiş ve geri soğutucu altında 10 sa

kaynatılmıştır. Daha sonra bu çözeltiye 150 g  $\text{Li}_2\text{SO}_4$ , 50 ml bidistile su ve birkaç damla brom ilave edilmiştir. Bromun fazlasını uzaklaştırmak için tekrar 15 dk kaynatılmış ve soğutulduktan sonra bidistile su ile son hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Reaktif deneyde kullanılırken 1:2 oranında bidistile su ile seyreltilerek kullanılmıştır.

### 3.8.5. 3N Ayarlı Nitrik Asit Çözeltisi

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

### 3.8.6. Fenolftalein İndikatör Çözeltisi

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

### 3.8.7. Kondisyonlama Çözeltisi

$\text{NaCl}$	7.5 g
Distile su	300 ml
%37 $\text{HCl}$	30 ml
%95 Etil alkol	100 ml
Gliserol	50 ml

### 3.8.8. Güçlü Asit Çözeltisi

300 ml konsantre  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dikkatli bir şekilde, 600 ml distile suya ilave edilmiş ve soğuduktan sonra 4 ml konsantre  $\text{HNO}_3$  eklenip distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

### 3.8.9. Amonyum Molibdat Çözeltisi

25 g  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 175 ml distile suda çözüldürülmüştür. 280 ml konsantre  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dikkatli bir şekilde, 400 ml distile suya ilave edilmiş ve soğuduktan sonra amonyum molibdat solüsyonu eklenip distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

### 3.8.10. Kalay Klorür Çözeltisi

$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2.5 g
Gliserol	100 ml



**3.8.11. 5 mM Bakır Sülfat Solüsyonu**

CuSO <sub>4</sub>	1.248 g
HCl	4.15 ml
Distile su	1000 ml'ye tamamlanmıştır.

**3.8.12. 50 mM Hidroklorik Asit**

HCl	4.15 ml
Distile su	1000 ml'ye tamamlanmıştır.

**3.8.13. Korozyon Analizinde Kullanılan Asit Çözeltisi**

Amonyum persülfat	100 gr
Distile su	1000 ml'ye tamamlanmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. MODEL SU SİSTEMİ

#### 4.1.1. Kimyasal Analizler

Model su sisteminden aylık olarak alınan suyun pH, sıcaklık, ÇO, iletkenlik, TÇM, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> ve toplam alkalinite değerleri ölçülmüştür. Aylık sıcaklık değerlerinin ortalamasının 28 ± 1.5°C olduğu tespit edilmiş ve aylara göre diğer tüm değerler Tablo 4.1’de verilmiştir. Model su sistemine ait pH değerlerinin zamanla arttığı ve Şubat ayında en yüksek değerine (7.92) ulaştığı saptanmıştır (r =0.814, p<0.05). Maksimum SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ve PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> konsantrasyonları sırasıyla Aralık ve Şubat aylarında 67.93 ± 1.13 mg/l ve 8.7 ± 0.2 µg/l olarak tespit edilmiştir. Sudaki serbest ÇO konsantrasyonu ile pH, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, iletkenlik ve TÇM değerleri arasında ters yönde anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (sırasıyla r =-0.828, p<0.05; r =-0.948, p<0.01; r =-0.897, p<0.01; r =-0.893, p<0.01; r = -0.896, p<0.01). Ek olarak suyun iletkenliği ile TÇM, pH, Cl<sup>-</sup> ve SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> değerleri arasında da aynı yönde anlamlı bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla r =1, p<0.01; r = 0.875, p<0.05; r = 0.916, p<0.01; r = 0.787, p<0.05).

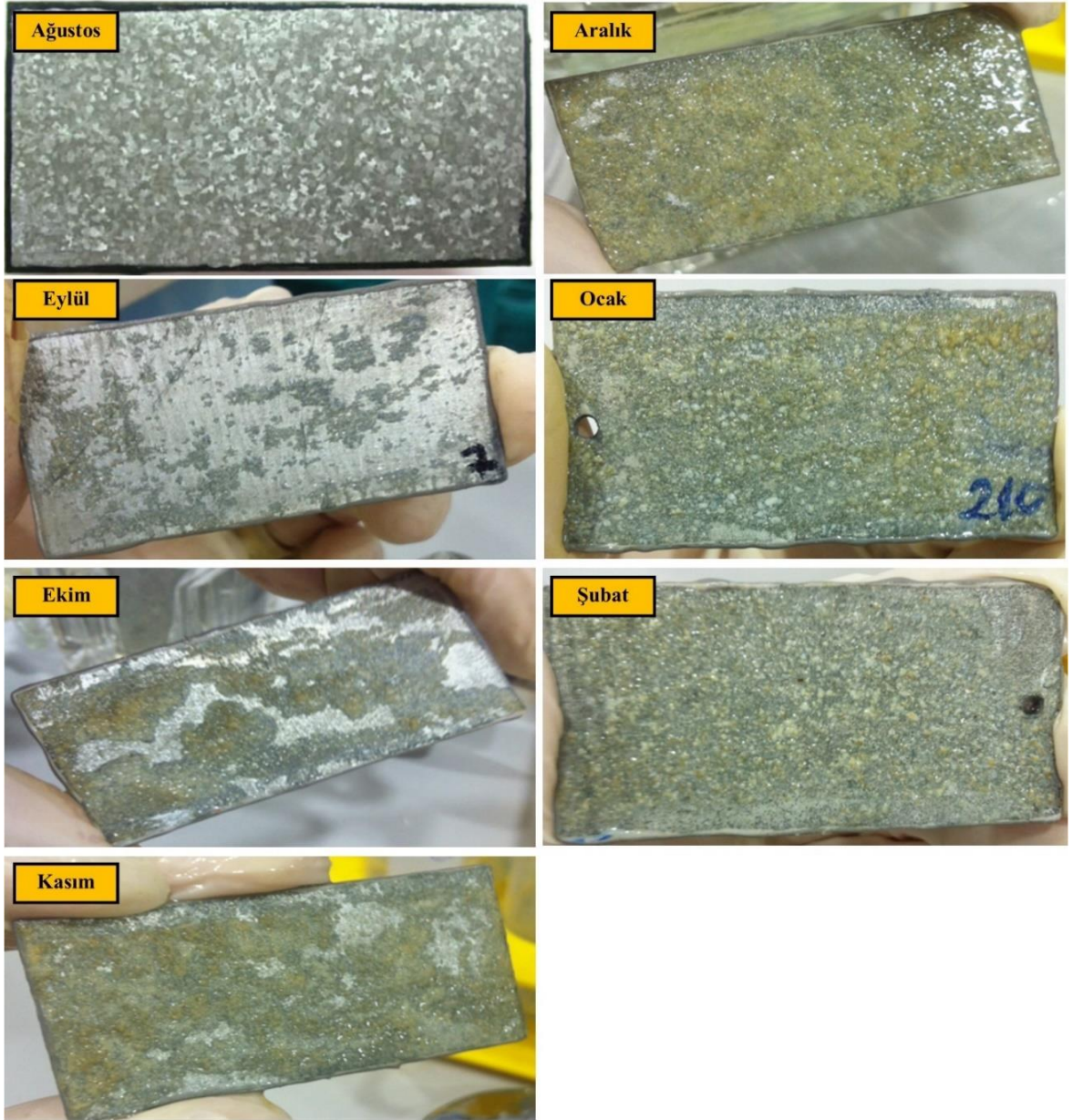
**Tablo 4.1:** Aylara göre model sistem suyunun kimyasal parametreleri.

Aylar	pH	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	ÇO	Cl <sup>-</sup>	Alkalinite	İletkenlik	TÇM
		(mg/l)	(mg/l)					
Ağustos	5.88	43.57 ±1.78	7.8 ±0.2	9.4	4.39 ±0.07	84	395	305
Eylül	7.11	51.88 ±1.52	3.3 ±0.3	8.5	5.10 ±0.08	81	437	340
Ekim	7.38	47.29 ±0.77	3.2 ±0.2	7.8	5.31 ±0.04	91	470	365
Kasım	7.53	62.16 ±2.74	4.7 ±0.1	7.3	5.53 ±0.04	98	525	406
Aralık	7.65	67.93 ±1.13	7.1 ±0.9	6.5	5.81 ±0.03	101	498	386
Ocak	7.40	62.50 ±2.19	4.8 ±0.3	7.2	5.46 ±0.01	101	486	376
Şubat	7.92	53.94 ±0.98	8.7 ±0.2	7.7	5.60 ±0.03	94	490	379

±: Standart sapma; µS: MikroSiemens

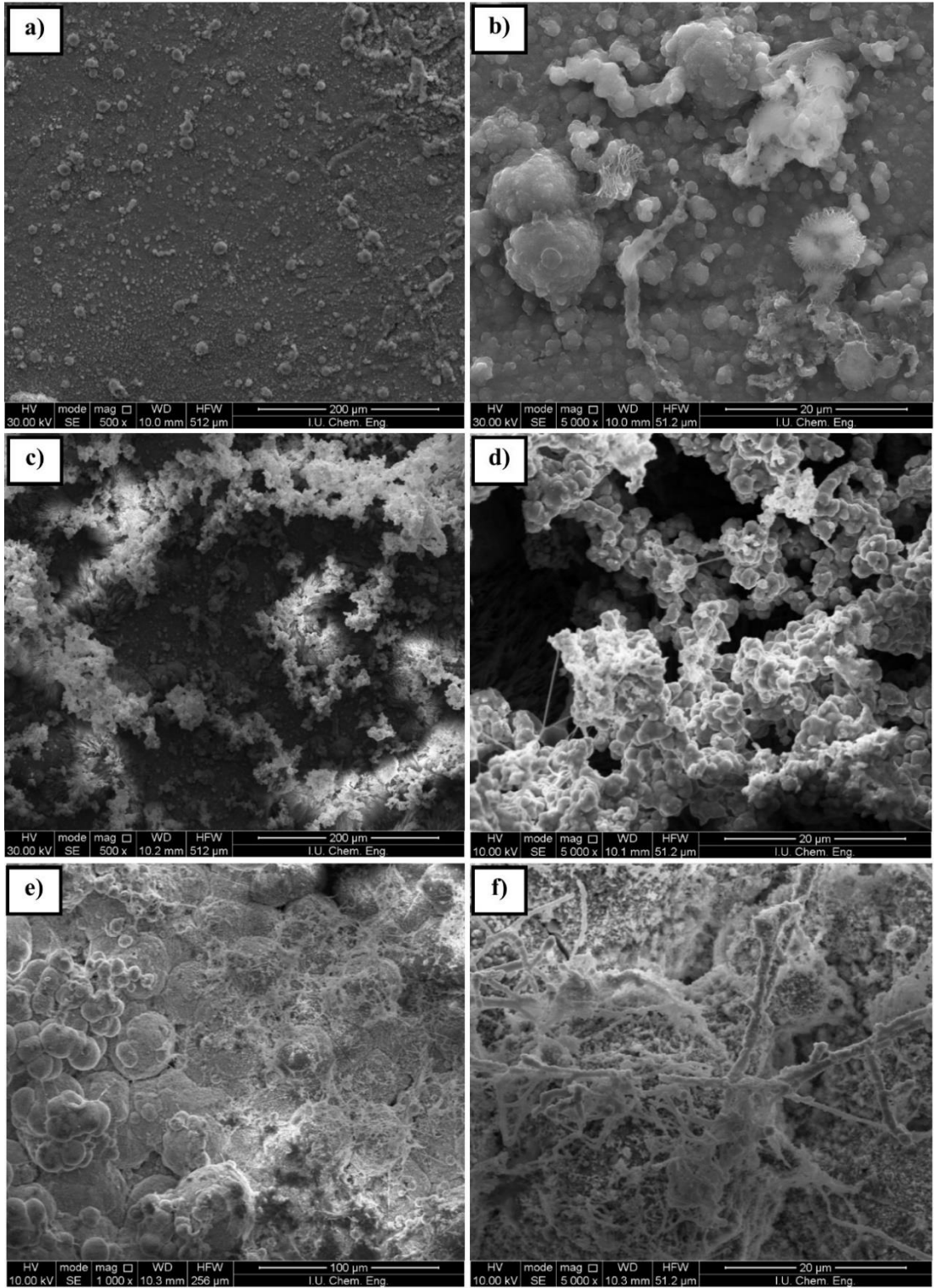
#### 4.1.2. Bakteriyolojik Analizler

Deney süresince galvanizli çelik kuponların yüzeyinde gözle görülebilen, heterojen yapıda, yüzeyden kolaylıkla alınabilen sarımsı-yeşilimsi renkte bir biyofilm tabakasının oluştuğu belirlenmiştir. Kuponların makroskobik görüntüleri Şekil 4.1’te verilmiştir.



**Şekil 4.1:** Deney süresince galvanizli çelik yüzeylerde oluşan biyofilm tabakasının aylık gösterimi.

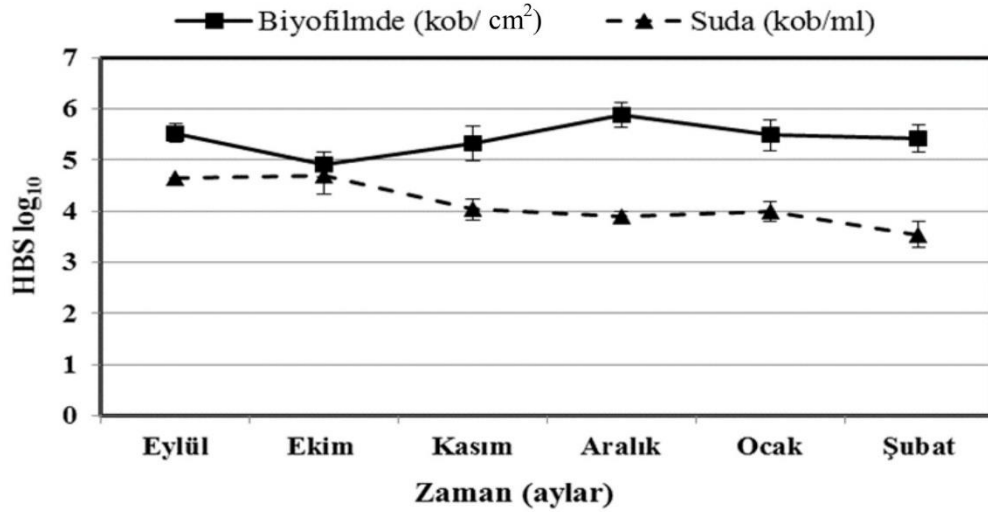
Ayrıca SEM fotoğrafları da mikroorganizmaların galvanizli çelik kuponların yüzeyine tutunarak biyofilm tabakası oluşturduklarını doğrulamaktadır (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2:** Galvanizli çelik yüzeylerde oluşan biyofilm tabakasının Eylül (a, b), Kasım (c, d) ve Şubat (e, f) aylarına ait SEM görüntüleri.

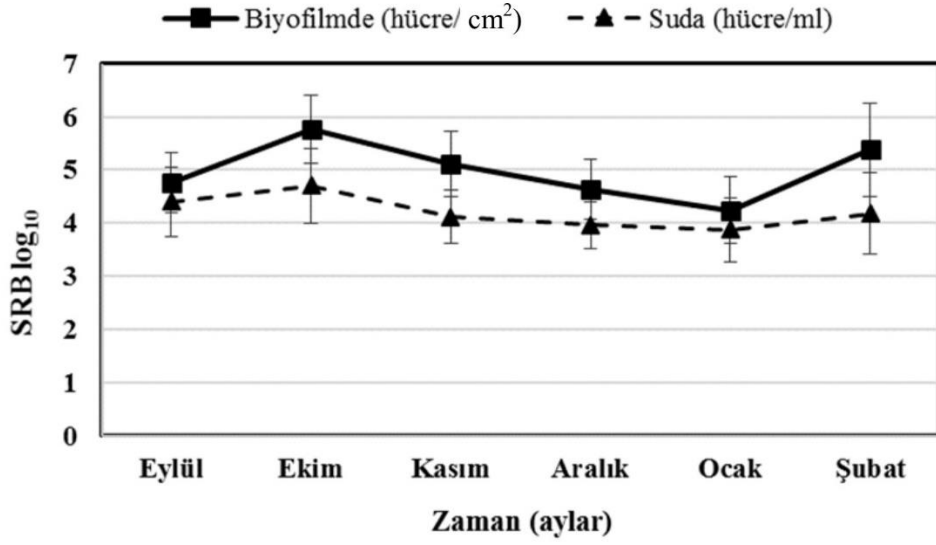
Biyofilm tabakasındaki ve sudaki toplam aerobik heterotrofik bakterilerin sayısal durumu aylık olarak tespit edilmiş ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Biyofilmdeki minimum bakteri sayısı Ekim ayında  $90308 \text{ kob/cm}^2$  olarak tespit edilmiş olup, daha sonrasında bakteri

sayısında artış gözlenmiş ve maksimum değer Aralık ayında 853600 kob/cm<sup>2</sup> olarak belirlenmiştir. Ocak ayından itibaren ise bakteri sayısı azalmış ve Şubat ayında 300064 kob/cm<sup>2</sup> olarak tespit edilmiştir. Sudaki bakteri sayılarının ise biyofilmdeki aksine Ekim ayında maksimum değerde olduğu (65800 kob/ml), Kasım ayında ise sayının azaldığı (11800 kob/ml) belirlenmiştir. Daha sonra ise Ocak ayına kadar önemli bir değişiklik gözlenmezken, Şubat ayında bakteri sayısının azalarak minimum değere (4004 kob/ml) ulaştığı tespit edilmiştir. Ayrıca biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakteri sayısının sudakine göre anlamlı derecede yüksek olduğu ( $p<0.05$ ) ve bakteri sayıları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ( $r= 846$ ,  $p<0.01$ ).



**Şekil 4.3:** Biyofilm ve sudaki toplam aerobik heterotrofik bakteri sayılarının aylara göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

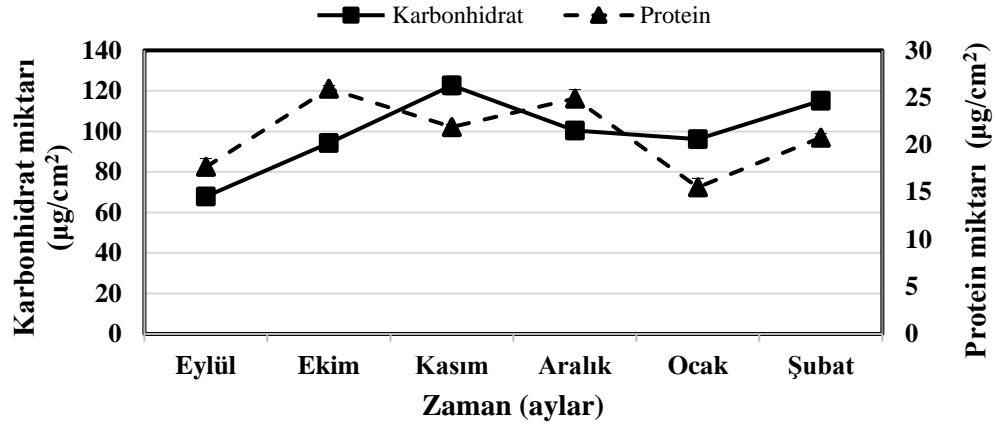
Şekil 4.4'e göre biyofilmdeki ve sudaki SRB sayılarının benzer üreme spektrumu gösterdiği tespit edilmiştir. Ekim ayında biyofilm ve sudaki SRB sayılarının artarak maksimum değere (sırasıyla 1249301 h/cm<sup>2</sup>, 114666 h/ml) ulaştıkları, Kasım ayından itibaren ise azalarak, Ocak ayında minimum değerde (sırasıyla 38310 h/cm<sup>2</sup>, 9000 h/ml) oldukları saptanmıştır. Şubat ayında ise hem biyofilmdeki hem de sudaki bakteri sayısının tekrar artış gösterdiği ve sırasıyla 445579 h/cm<sup>2</sup> ve 24333 h/ml olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4). Biyofilmdeki SRB sayısının, sudakine göre anlamlı derecede yüksek olduğu ( $p<0.05$ ) ve bakteri sayıları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ( $r=0.949$ ,  $p<0.05$ ).



Şekil 4.4: Biyofilm ve sudaki anaerobik SRB sayılarının aylara göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

#### 4.1.3. Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarı

Biyofilmden elde edilen EPS içeriğindeki toplam karbonhidrat ve protein miktarlarının aylara bağlı olarak değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.5). EPS'deki karbonhidrat miktarı, Kasım ayına kadar artmış ve en yüksek değerine ( $122.68 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) ulaşmıştır. Aralık ayından itibaren azalan karbonhidrat miktarı, Şubat ayında tekrar artarak  $115.11 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  değerine ulaşmıştır (Şekil 4.5). EPS içeriğindeki toplam protein miktarında da aylara bağlı olarak artma ve azalmalar gözlenmiştir. Maksimum protein miktarı Ekim ayında, minimum protein miktarı ise Ocak ayında sırasıyla  $25.97 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ve  $15.50 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak tespit edilmiştir. EPS içeriğindeki toplam karbonhidrat ve protein miktarları arasında anlamlı derecede fark olduğu ( $p < 0.01$ ) ve toplam karbonhidrat miktarının proteininkinden daha yüksek değerlerde olduğu saptanmıştır (Şekil 4.5). Ayrıca protein ile fosfat miktarı arasında ters yönde bir ilişki tespit edilmiştir ( $r = -0.828$ ,  $p < 0.05$ ).



Şekil 4.5: Biyofilmdeki karbonhidrat ve protein miktarlarının aylara göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

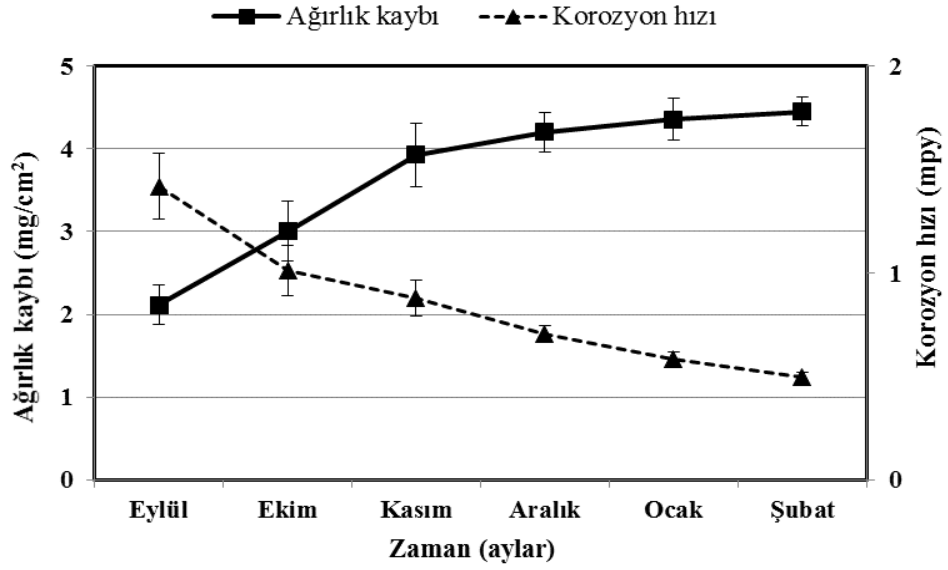
#### 4.1.4. Ağırlık Kaybı ve Korozyon Hızı Verileri

Deney süresince deney ve kontrol kuponlarının ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarındaki değişimler Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Deney ve kontrol düzeneklerinde galvanizli çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamanla arttığı ( $r=0.924$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.971$ ,  $p<0.01$ ), Şubat ayında sırasıyla  $4.45 \pm 0.17$  mg/cm<sup>2</sup> ve  $1.82 \pm 0.02$  mg/cm<sup>2</sup> değerine ulaştığı tespit edilmiştir. Korozyon hızlarının ise zamanla azaldığı (sırasıyla  $r = -0.962$ ,  $p<0.01$ ,  $r = -0.893$ ,  $p<0.05$ ) ve Şubat ayında sırasıyla  $0.49$  ve  $0.20$  mpy olduğu belirlenmiştir. Deney kuponların korozyon hızlarının kontrol kuponlarından anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Ağırlık kaybı deneylerinden elde edilen veriler galvanizli çeliğin mikrobiyolojik olarak korozyona uğradığına işaret etmektedir. Ayrıca deney ve kontrol kuponlarının ağırlık kayıpları ve korozyon hızları arasında ters yönde anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ( $r = -0.976$ ,  $p<0.01$ ;  $r = -0.898$ ,  $p<0.05$ ) (Şekil 4.6).

Tablo 4.2: Deney süresince model sistemdeki galvanizli çelik kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızı verileri.

Aylar	Ağırlık kaybı, deney (mg/cm <sup>2</sup> )	Ağırlık kaybı, kontrol (mg/cm <sup>2</sup> )	Korozyon hızı, deney (mpy)	Korozyon hızı, kontrol (mpy)	(Deney/Kontrol)
Eylül	$2.11 \pm 0.23$	$1.03 \pm 0.05$	1.41	0.69	2.04
Ekim	$3.00 \pm 0.35$	$1.15 \pm 0.02$	1.01	0.39	2.56
Kasım	$3.92 \pm 0.38$	$1.51 \pm 0.01$	0.87	0.34	2.56
Aralık	$4.20 \pm 0.23$	$1.61 \pm 0.01$	0.70	0.27	2.59
Ocak	$4.35 \pm 0.25$	$1.77 \pm 0.15$	0.58	0.24	2.42
Şubat	$4.45 \pm 0.17$	$1.82 \pm 0.02$	0.49	0.20	2.45

± Standart sapma

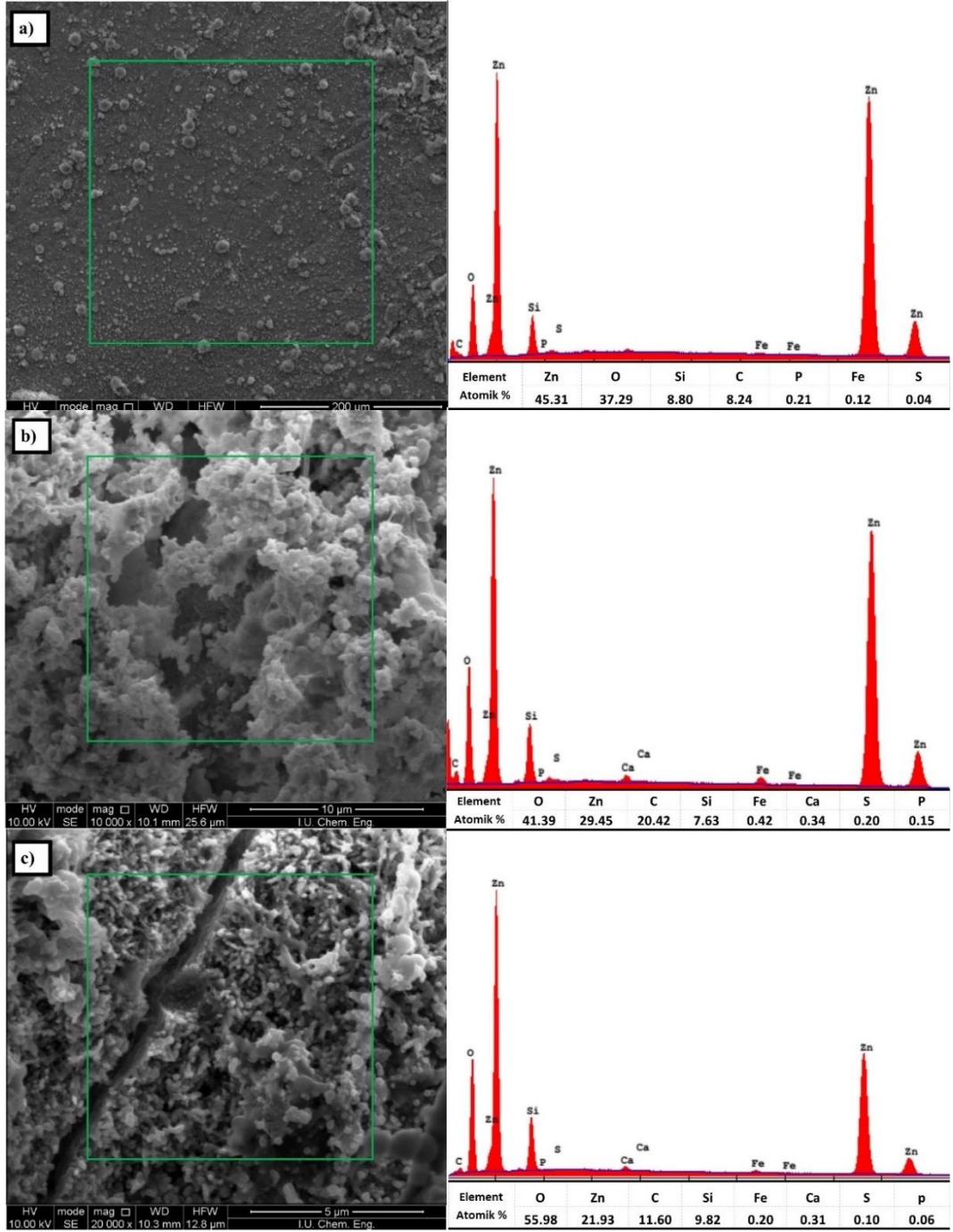


**Şekil 4.6:** Galvanizli çelik kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hızlarının zamana bağlı değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

#### 4.1.5. EDS Analizleri

EDS analiz sonuçları, galvanizli çelik kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin genel olarak yüksek miktarda Zn ile birlikte, O, C ve Si içerdiğini, bununla birlikte eser miktarlarda Fe, S, P elementlerinin bulunduğunu göstermektedir (Şekil 4.7). Eylül ayında Zn (%45.31) elementinin yüksek değerlerde olduğu gözlenirken, Kasım (%29.45) ve Şubat (%21.93) aylarında azaldığı, O elementinin ise Eylül ayına (%37.29) göre Kasım ve Şubat aylarında (sırasıyla %41.39 ve %55.98) artış gösterdiği tespit edilmiştir. Eser miktarlardaki Fe, C ve S piklerinin ise Eylül ayına göre Kasım ayında artış gösterdiği, Şubat ayında ise azaldığı belirlenmiştir. Ek olarak Kasım ve Şubat aylarında Ca elementi gözlenirken, Eylül ayında Ca pikine rastlanmamıştır.





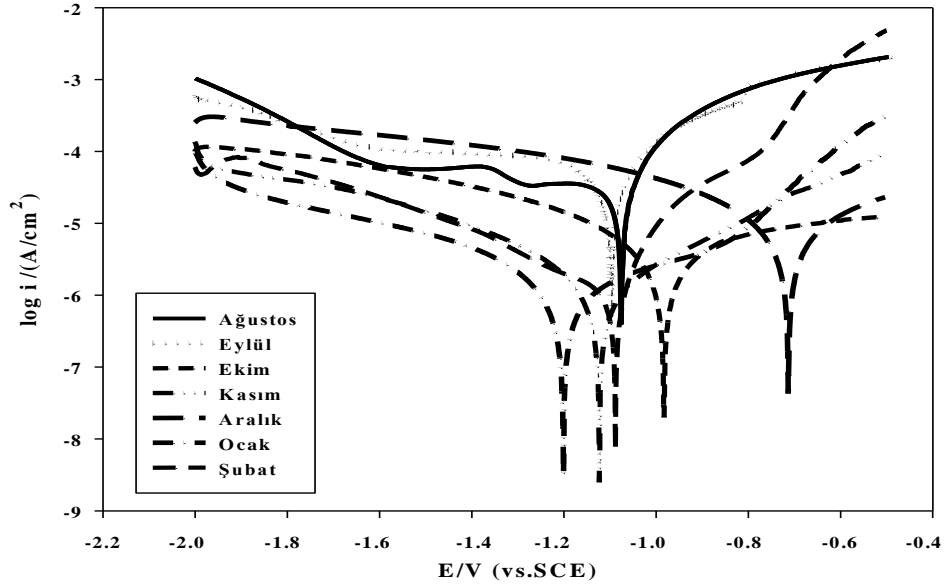
Şekil 4.7: Model su sistemindeki galvanizli çelik kuponların a) Eylül, b) Kasım ve c) Şubat aylarına ait EDS analizleri.

#### 4.1.6. Elektrokimyasal Analizler

##### 4.1.6.1. Potansiyodinamik Polarizasyon Eğrileri

Model su sirkülasyon sisteminden aylık olarak çıkarılan galvanizli çelik kuponlara ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri Şekil 4.8'de verilmiştir. Galvanizli çelik kuponların korozyon potansiyel ( $E_{kor}$ ) değerlerinin deney süresince değişiklik

gösterdiği tespit edilmiştir. Ağustos ayında (0.5 sa sonra) alınan ilk ölçümde  $E_{kor}$ 'un -1.075 V olduğu saptanmıştır. Eylül ayına ait  $E_{kor}$  değerinin, Ağustos ayına göre farklılık göstermediği, ancak Ekim ayında soy değere (-0.982 V) kaydığı belirlenmiştir. Galvanizli çelik kuponların korozyon potansiyel değerlerinin Aralık ayında en soy değere ulaştığı (-0.713 V), Ocak ayında ise en aktif (-1.201 V) değerde olduğu tespit edilmiştir. Kuponların korozyon hız değerleri ( $V_{kor}$ ), akım yoğunluğundan ( $i_{kor}$ ) hesaplanmıştır. Deney süresince kuponların maksimum korozyon hızı Eylül ayında 19.6 mpy olarak tespit edilmiştir. Ekim ayından itibaren korozyon hızında önemli derecede düşüş gözlenmiş olup, en düşük korozyon hız değeri Ocak ayında 0.2 mpy olarak saptanmıştır (Tablo 4.3). Ağırlık kaybı ve elektrokimyasal deneylerden elde edilen  $V_{kor}$  değerleri arasında ortalamalar açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Bununla birlikte, her iki yöntemde de maksimum  $V_{kor}$  değerleri Eylül ayında saptanmasına rağmen, elektrokimyasal deneylerden elde edilen  $V_{kor}$  değerinin (19.6 mpy), ağırlık kaybı deneylerinden elde edilen değer (1.41 mpy) yaklaşık 14 katı olduğu belirlenmiştir.



**Şekil 4.8:** Model sistem suyuna maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.

**Tablo 4.3:** Model sistemdeki galvanizli çelik kuponların elektrokimyasal deneylerden elde edilen  $E_{kor}$  ve  $V_{kor}$  değerleri.

Aylar	$E_{kor}$ (V)	$V_{kor}$ (mV)
Ağustos	-1.075	14.8
Eylül	-1.097	19.6
Ekim	-0.982	0.7
Kasım	-1.123	0.4
Aralık	-0.713	2.1
Ocak	-1.201	0.2
Şubat	-1.088	0.6

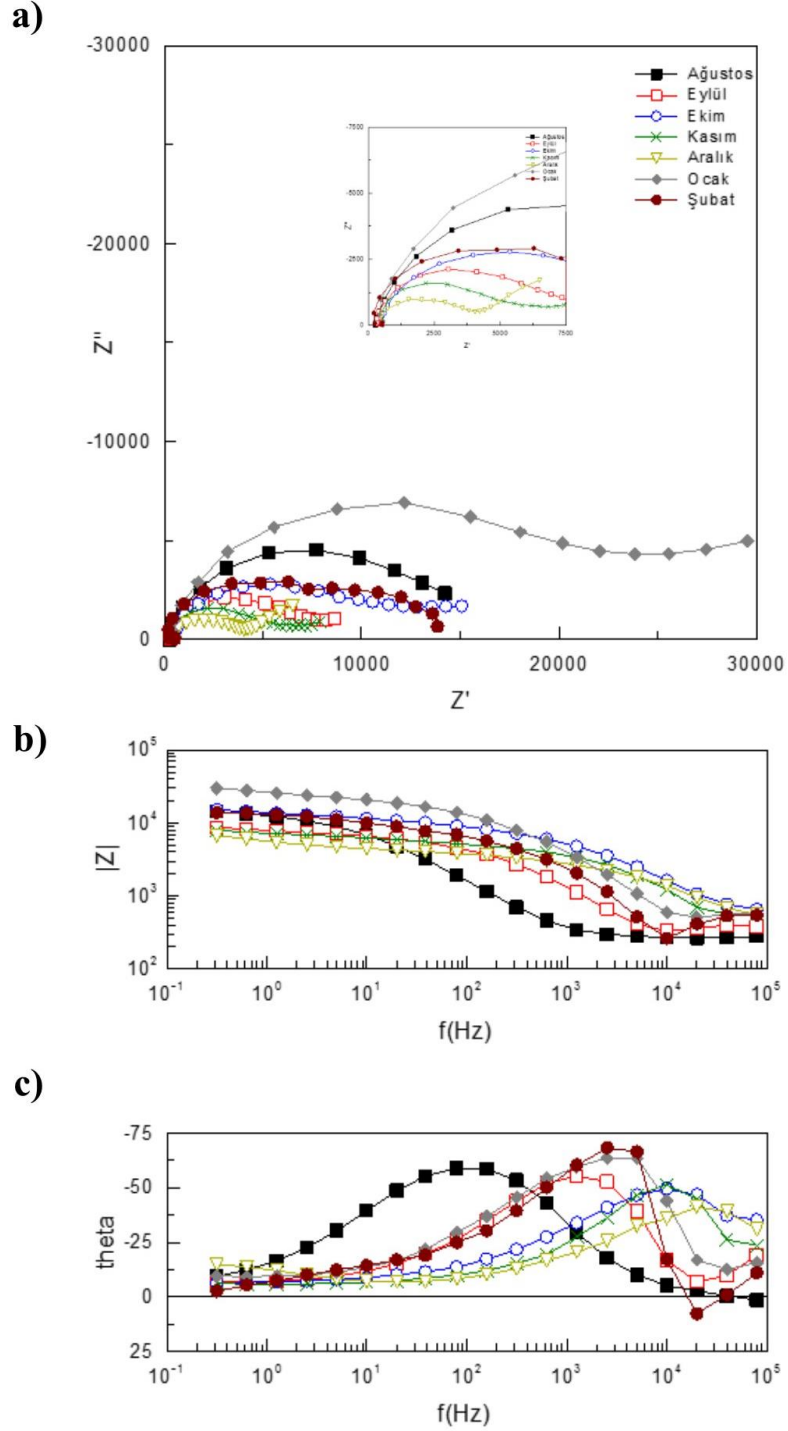
#### 4.1.6.2. Elektrokimyasal Empedans Eğrileri (EIS)

Model su sistemine 6 ay süresince maruz bırakılan kuponlara ait Nyquist, Bode ve Faz-frekans eğrileri Şekil 4.9'da verilmiştir. Nyquist eğrilerine göre, Ağustos ayında (0.5 sa sonra) galvanizli çeliğin yüzeyini tamamen kaplayan ve korozyona karşı yüksek direnç gösteren bir film tabakasının oluştuğu tespit edilmiştir. Eylül, Ekim, Kasım ve Aralık aylarındaki galvanizli çeliğin empedans direncinin, Ağustos ayına göre daha düşük olduğu, Ocak ayında ise tekrar artış göstererek en yüksek değerine ulaştığı belirlenmiştir (Şekil 4.9). Şubat ayında ise merkezden basık ve kapalı bir eğri spektrumu gözlenmiştir.

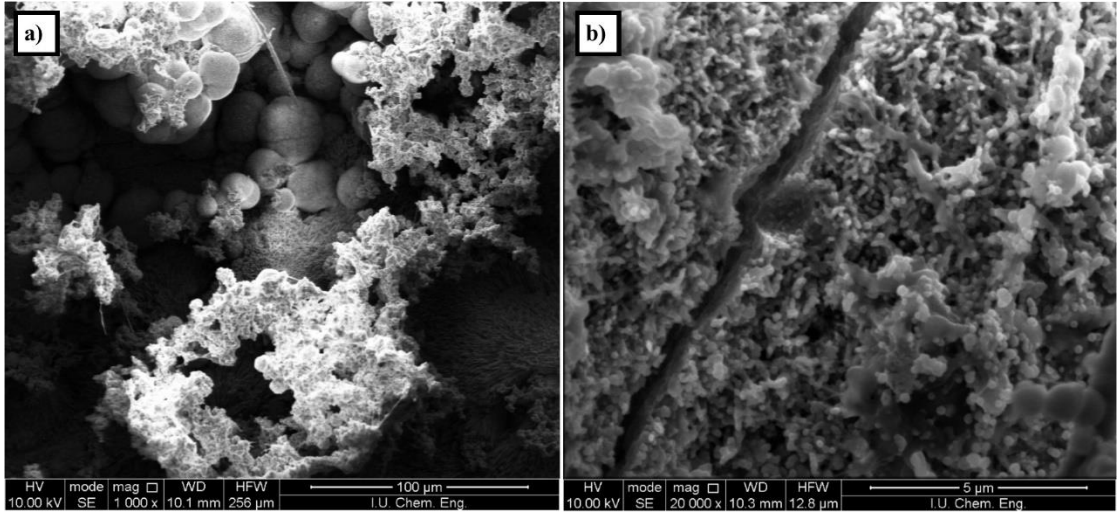
Ağustos ayında elde edilen Bode eğrisinde orta frekans bölgesinde bir eğim gözlenmekle birlikte, diğer aylarda bu eğimin yüksek frekans bölgesine doğru kaydığı belirlenmiştir. Bu durum yüzeyde bir biyofilm tabakasının geliştiğine işaret etmektedir. Nitekim makroskobik fotoğraflarda da Eylül ayından itibaren yüzeyde bir biyofilm tabakasının oluşmaya başladığı ve zamanla da tüm yüzeyi kapladığı gözlenmiştir (Şekil 4.1).

Ağustos ayında (0.5 sa sonra) elde edilen direnç değerlerine göre, Eylül ayında faz açısının yüksek değerinde ve orta frekans bölgesinde bir lupa sahip olduğu tespit edilmiştir. Ekim, Kasım ve Aralık aylarında ise lupların yüksek frekans bölgesine doğru kaydığı tespit edilmiştir. Ocak ve Şubat aylarında ise lupların yüksek faz açılarında ulaştığı, ancak tekrar orta frekans bölgesine doğru kaydığı belirlenmiştir. Ek olarak, Ağustos ayına ait eğrinin düşük faz açısından ( $1.3\Phi$ ), diğer aylarda ise eğrilerin daha yüksek faz açılarından başladığı tespit edilmiştir. Eğrilerin faz açılarının yüksek değerlerden başlamış olması, metal yüzeyde oluşan biyofilmin porlu bir yapıya sahip olduğuna işaret etmektedir.

Nitekim SEM görüntüleri de biyofilm tabakasının por içerdiğini doğrulamaktadır (Şekil 4.10).

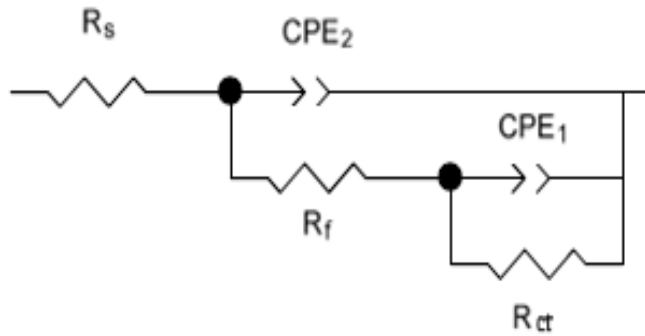


Şekil 4.9: Model sistem suyuna maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların 6 ay süresince elde edilen a) Nyquist, b) Bode ve c) Faz-frekans empedans eğrileri



**Şekil 4.10:** Galvanizli çelik kuponların a) Kasım ve b) Şubat aylarına ait SEM görüntüleri.

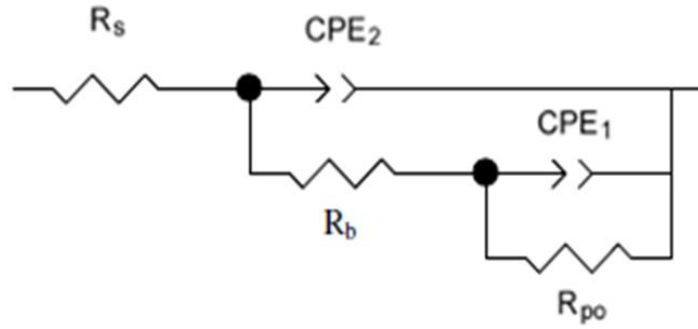
Elde edilen EIS sonuçları uygun elektrik eş değer devreleri ile tanımlanmıştır. Ağustos ayına (0.5 sa'te) ait empedans eğrisinin ideal kapasitöre yakın olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.11). Bu aya ait devre elemanları;  $R_s$ ,  $R_f$ ,  $R_{ct}$ ,  $CPE_1$  ve  $CPE_2$ 'dir. Buna göre;  $R_s$ : çözelti direncini,  $R_f$ : film direncini,  $R_{ct}$ : yük transfer direncini göstermektedir. CPE sabit faz elementi olup,  $CPE_1$  ve  $CPE_2$  sırasıyla çift tabakayı ve film tabakasını temsil etmektedir (Şekil 4.11).



**Şekil 4.11:** Galvanizli çelik yüzeyinin Ağustos (0.5 sa) ayına ait elektronik eşdeğer devresi.

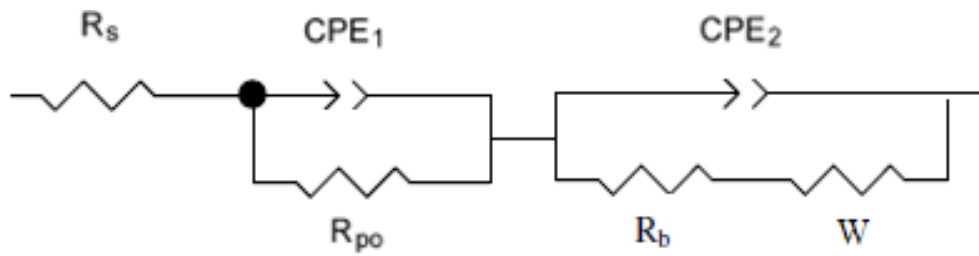
Eylül ayından itibaren biyofilmin gelişmesiyle, 0.5. sa'te oluşan film tabakasının ( $R_f$ ) yerini biyofilm tabakası ( $R_b$ ) almıştır. Ayrıca bu aydan itibaren yük transfer direncine etki eden bir diffüz tabakanın olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle  $R_{ct}$ 'nin yerini, porlu diffüz tabakasını temsil eden  $R_{po}$  almıştır. Eylül ve Ekim ayına ait devre elemanları;  $R_s$ ,  $R_b$ ,  $R_{po}$ ,  $CPE_1$  ve  $CPE_2$ 'dir. Buna göre;  $R_s$ : çözelti direncini,  $R_b$ : biyofilm direncini,  $R_{po}$ : por

direncini göstermektedir. CPE sabit faz elementi olup,  $CPE_1$  ve  $CPE_2$  sırasıyla porlu diffüz tabakayı ve biyofilm tabakasını temsil etmektedir. Devredeki dirençlerin paralel konumlanması, tabakaların iç içe ve birbirleri ile bağlantılı olduklarını ifade etmektedir (Şekil 4.12).



**Şekil 4.12:** Galvanizli çelik yüzeyinin Eylül ve Ekim ayına ait elektronik eşdeğer devresi.

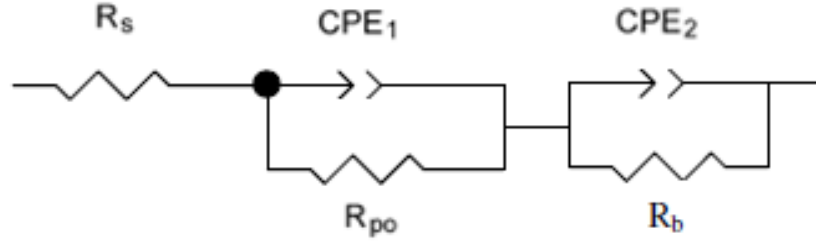
Kasım ve Aralık ayına ait eşdeğer devrede ise biyofilm yapısının olgunlaşmasına bağlı olarak biyofilmdeki porlaşmanın ve dolayısıyla da difüzyonun arttığına işaret eden Warburg (W) elementi gözlenmiştir. Bu aya ait diğer devre elemanları ise;  $R_s$ ,  $R_b$ ,  $R_{po}$ ,  $CPE_1$  ve  $CPE_2$ 'dir. Buna göre  $R_s$ : çözelti direncini,  $R_b$ : biyofilm direncini,  $R_{po}$ : por direncini ifade etmektedir. CPE sabit faz elementi olup,  $CPE_1$  ve  $CPE_2$  sırasıyla porlu diffüz tabakayı ve biyofilm tabakasını temsil etmektedir. Dirençlerin seri bağlanması, tabakaların birbirlerinden bağımsız şekilde oluştuğunu ifade etmektedir (Şekil 4.13).



**Şekil 4.13:** Galvanizli çelik yüzeyinin Kasım ve Aralık aylarına ait elektronik eşdeğer devreleri.

Ocak ve Şubat aylarına ait eğrilerde ise porlu bir diffüz tabakası mevcut olup, ancak korozyon olayının difüzyon etkisi altında gerçekleşmediği gözlenmiştir. Bu nedenle bu aylara ait eşdeğer devrelerde Warburg (W) elementi gözlenmemiştir. Bu aya ait diğer devre elemanları ise;  $R_s$ ,  $R_b$ ,  $R_{po}$ ,  $CPE_1$  ve  $CPE_2$ 'dir. Buna göre  $R_s$ : çözelti direncini,  $R_b$ : biyofilm direncini,  $R_{po}$ : por direncini ifade etmektedir. CPE sabit faz elementi olup,  $CPE_1$

ve CPE<sub>2</sub> sırasıyla porlu diffüz tabakayı ve biyofilm tabakasını temsil etmektedir (Şekil 4.14).



**Şekil 4.14:** Galvanizli çelik yüzeyinin Ocak ve Şubat aylarına ait elektronik eşdeğer devreleri.

İmpedans verilerine göre, Ağustos ayında galvanizli çelik yüzeyde oluşan film direncinin yüksek değerde olduğu ( $11710 \Omega \text{ cm}^2$ ) saptanmıştır (Tablo 4.4). Kuponların biyofilm direncinin ise aylara göre değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Biyofilmin direnci Kasım ayında en yüksek değerine ulaşarak  $3741 \Omega \text{ cm}^2$  olarak tespit edilmiştir. En düşük değer ise Şubat ayında  $1177 \Omega \text{ cm}^2$  olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, kuponların por direncinin de aylara göre farklılık gösterdiği gözlenmiştir. En düşük  $R_{po}$  değeri Aralık ayında  $2829 \Omega \text{ cm}^2$  olarak saptanırken, en yüksek  $R_{po}$  değeri ise Ocak ayında  $23080 \Omega \text{ cm}^2$  olarak ölçülmüştür (Tablo 4.4).

**Tablo 4.4:** EIS deneylerinden elde edilen empedans parametreleri.

Aylar	$R_s$	$R_f$	$R_{ct}$	$R_b$	$R_{po}$	$W \times 10^{-3}$	CPE <sub>1</sub>		CPE <sub>2</sub>	
	( $\Omega \text{ cm}^2$ )	( $\Omega \text{ cm}^2$ )	( $\Omega \text{ cm}^2$ )	( $\Omega \text{ cm}^2$ )	( $\Omega \text{ cm}^2$ )	( $\Omega \text{ cm}^2$ )	$Y_{o1}(\mu\text{F cm}^2)$	$n_1$	$Y_{o2}(\mu\text{F cm}^2)$	$n_2$
<b>Ağustos</b>	280.1	11710	1076	-	-	-	1.95	0.96	1.216	0.98
<b>Eylül</b>	349.8	-	-	3320	6797	-	164.1	0.94	157.7	0.92
<b>Ekim</b>	565.6	-	-	3118	9023	-	159.1	0.93	16.14	0.92
<b>Kasım</b>	223.2	-	-	3741	4671	1.295	185.5	0.96	179.2	0.95
<b>Aralık</b>	473.9	-	-	3355	2829	1.202	171.2	0.95	123.7	0.94
<b>Ocak</b>	541.3	-	-	3453	23080	-	123.7	0.96	250.6	0.95
<b>Şubat</b>	526.2	-	-	1177	13630	-	107.8	0.85	179.2	0.80

## 4.2. LABORATUVAR ÖLÇEKLİ İYONLU DENEY DÜZENEĞİ

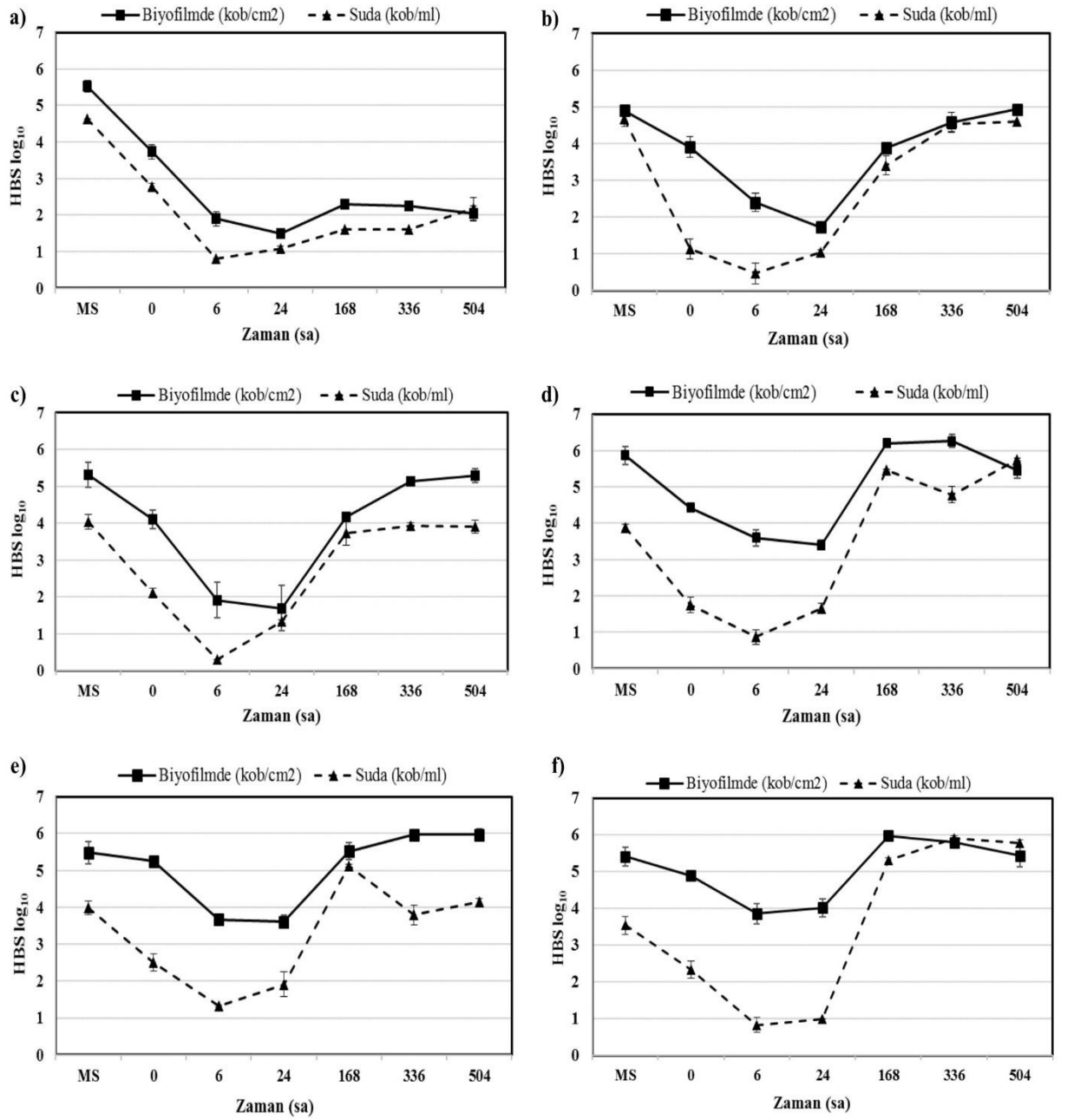
### 4.2.1. Bakteriyolojik Analizler

Deney süresince aylık olarak model sistemden çıkarılan galvanizli çelik kuponlar, cam bir beherde Ag-Cu iyonlarını içeren model sistem suyuna maruz bırakılmıştır. 0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa'lik temas süreleri sonunda, su ve biyofilm örneklerindeki AHB ve SRB sayıları tespit edilmiştir.

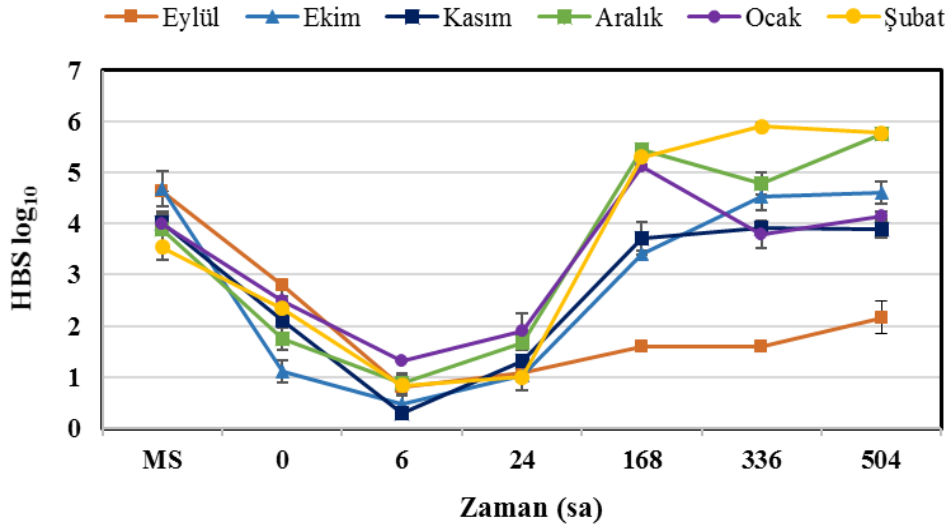
Model sistemden ve iyonlu deney düzeneğinden temas süreleri sonunda elde edilen AHB sayıları Şekil 4.15'te verilmiştir. Biyofilm ve sudaki AHB sayıları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki ( $r=0.851$ ,  $p<0.01$ ) tespit edilmiş olup, sesil bakteri sayısının planktonik fazdakinden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ( $p<0.01$ ) (Şekil 4.15). Deney süresince planktonik AHB sayısının 6 sa'lik temas süresine kadar azaldığı ve sonrasında ise artış gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.15). Temas sürelerine göre sudaki AHB sayıları arasında anlamlı bir farkın olduğu ( $p<0.05$ ) ve 168, 336 ve 504 sa'lik temas süreleri sonundaki bakteri sayılarının, 0, 6 ve 24 sa'lik temas süresi sonunda tespit edilenlerden anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir (sırasıyla  $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ) (Şekil 4.16). Ayrıca 0, 6 ve 24 sa'lik temas süreleri sonundaki planktonik bakteri sayılarının da model sistem suyundakilerle göre anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır (sırasıyla  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ).

Ag-Cu iyonları ile temas sürelerine göre biyofilmdeki AHB sayılarının ilk 5 aylık (Eylül-Ocak) deney sürecinde 24.sa'te kadar azaldığı ve sonrasında ise arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.15). Şubat ayında ise sesil AHB sayısındaki azalmanın 6 sa'lik temas süresine kadar olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.15). Ayrıca temas sürelerine göre biyofilmdeki AHB sayıları arasında anlamlı bir farkın olduğu ( $p<0.05$ ) ve 168, 336 ve 504 sa'lik temas süresi sonrasındaki sesil AHB sayılarının 6 ve 24 sa'lik temas süreleri sonunda tespit edilenlerden anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir (sırasıyla  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ) (Şekil 4.17). Ek olarak 0, 6 ve 24 sa'lik temas süreleri sonunda biyofilmdeki bakteri sayılarının da model sistemdekilere göre anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır (sırasıyla  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ) (Şekil 4.17).

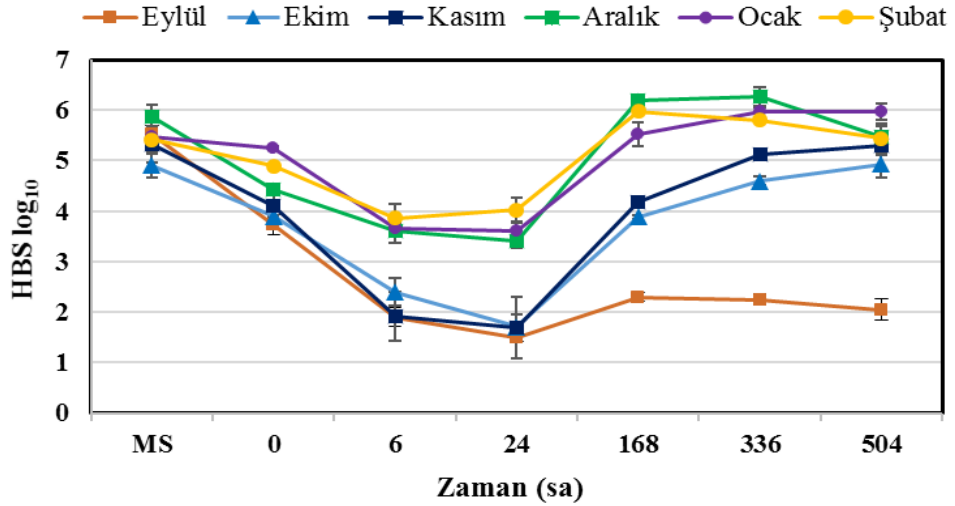




**Şekil 4.15:** Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki ve biyofilme'deki toplam AHB sayısının temas sürelerine göre **a)** Eylül, **b)** Ekim, **c)** Kasım, **d)** Aralık, **e)** Ocak ve **f)** Şubat aylarındaki değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.16: Deney süresince Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki toplam AHB sayısının temas sürelerine göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.17: Deney süresince Ag-Cu iyonlarına maruz kalan biyofilmdeki toplam AHB sayısının temas sürelerine göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

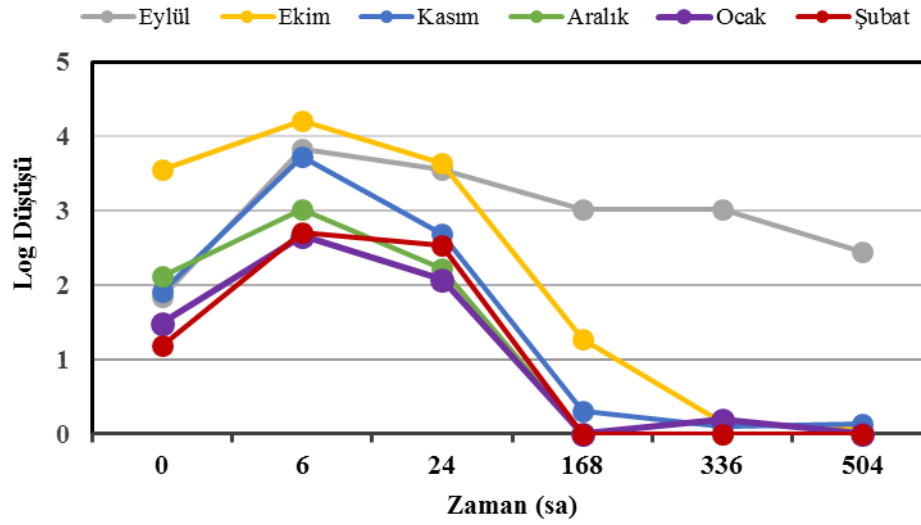
Su ve biyofilmdeki toplam AHB'ler üzerine Ag-Cu iyonlarının etkisini tespit edebilmek için, bu iyonlara temas süreleri boyunca maruz kalan planktonik ve sesil toplam AHB sayıları model sistemden elde edilen bakteri sayıları ile karşılaştırılmış ve logaritmik bakteri sayıları arasındaki fark, "log düşüşü" olarak kaydedilmiştir. Sudaki AHB sayısındaki log düşüşlerinin 6 sa'lik temas süresine kadar arttığı ve maksimum değerlerine ulaştıkları belirlenmiştir. En yüksek log düşüşü de Ekim ayında 4.21 olarak saptanmıştır (Tablo 4.5). 24 sa'lik temas süresinden itibaren ise log düşüşlerinde azalma gözlenmiş ve en düşük log düşüşü Ekim ayında 504 sa'lik temas süresi sonunda 0.07

olarak tespit edilmiştir. Aralık ayından itibaren ise, Ocak ayındaki 336 sa'lik temas süresi haricinde, 168 sa'lik temas süresinden itibaren log düşüşlerinin olmadığı belirlenmiştir. Temas sürelerine göre sudaki AHB sayısındaki log düşüşleri arasında anlamlı bir farkın olduğu ( $p<0.01$ ), 6 ve 24 sa'lik temas süresi sonrasındaki AHB bakteri sayılarının log düşüşlerinin 168, 336 ve 504 sa'lik temas süreleri sonunda tespit edilenlerden, 0 sa'lik temas süresi sonrasındaki AHB bakteri sayılarının log düşüşlerinin ise 336 ve 504 sa'lik temas süreleri sonunda tespit edilenlerden anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ) (Şekil 4.18). Deney süresince sudaki AHB sayılarının log düşüşleri bakımından Eylül ayı dışındaki tüm aylar arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir ( $r=0.948$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.968$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.944$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.916$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.982$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.993$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.979$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.987$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.950$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.982$ ,  $p<0.01$ ). Ayrıca Eylül ayında sudaki AHB bakteri sayılarının log düşüşlerinin Aralık, Ocak ve Şubat aylarında tespit edilenlerden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla  $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ) (Tablo 4.5).

**Tablo 4.5:** Model sisteme göre Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki ve biyofilmdeki toplam AHB sayısındaki log düşüşleri.

	Temas süresi (sa)	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat
<b>AHB Su Log Düşüşü</b>	0	1.84	3.55	1.92	2.13	1.49	1.19
	6	3.83	4.21	3.73	3.02	2.66	2.71
	24	3.55	3.65	2.7	2.22	2.08	2.54
	168	3.03	1.28	0.31	-	-	-
	336	3.02	0.15	0.11	-	0.19	-
	504	2.46	0.07	0.13	-	-	-
<b>AHB Biyofilm Log Düşüşü</b>	0	1.79	0.99	1.21	1.44	0.22	0.52
	6	3.62	2.86	2.56	2.26	1.81	1.54
	24	4.02	3.18	2.93	2.46	1.87	1.38
	168	3.22	1.02	0.52	-	-	-
	336	3.27	0.31	0.18	-	-	-
	504	3.47	-	0.02	0.4	-	-

-: log düşüşü bulunmamaktadır.

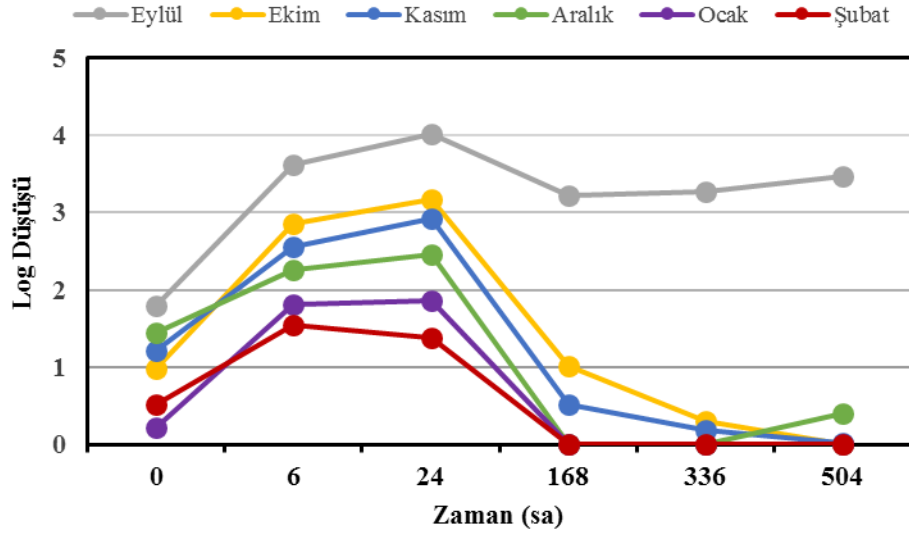


**Şekil 4.18:** Ag-Cu iyonlarının temas sürelerine bağlı olarak sudaki toplam AHB sayısına etkisi.

Deney süresince biyofilmdeki AHB sayılarındaki log düşüşünün Şubat ayı haricinde 24 sa'lik temas süresine kadar arttığı gözlenmiş olup, maksimum ve minimum değerleri sırasıyla Eylül ve Ocak aylarında 4.02 ve 1.87 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.5). Şubat ayında ise maksimum log düşüşü 6 sa'lik temas süresi sonunda 1.54, minimum log düşüşü ise 24 sa'lik temas süresi sonunda 1.38 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.5). 168 sa'lik temas süresinden itibaren ise log düşüşlerinde azalma gözlenmiş ve Aralık ayından itibaren bu aydaki 504 sa'lik temas süresi haricinde, 168, 336 ve 504 sa'lik temas sürelerinde log düşüşü gözlenmemiştir.

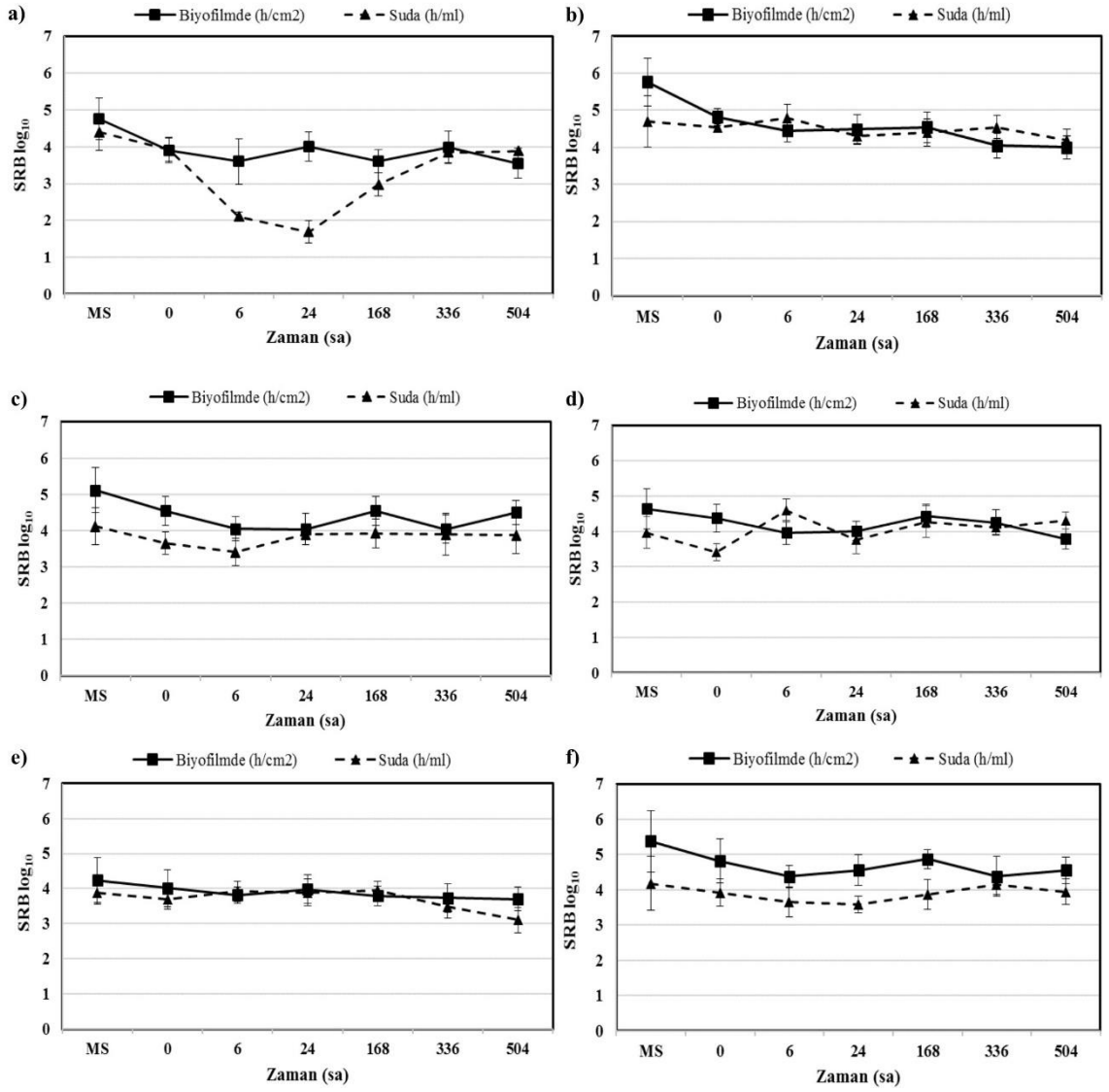
Temas sürelerine göre biyofilmdeki AHB sayılarının log düşüşleri arasında anlamlı bir farkın olduğu ( $p < 0.01$ ) ve 0 sa'lik temas süresi sonrasındaki AHB bakteri sayılarının log düşüşlerinin 6 ve 24 sa'lik temas süresi sonunda tespit edilenlerden, 6 ve 24 sa'lik temas süresi sonrasındaki AHB bakteri sayılarının log düşüşlerinin 168, 336 ve 504 sa'lik temas süreleri sonunda tespit edilenlerden anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla  $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ) (Şekil 4.19). Ayrıca Eylül ayında sesil AHB bakteri sayılarının log düşüşlerinin Ekim, Kasım, Aralık, Ocak ve Şubat aylarında tespit edilenlerden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ) (Şekil 4.19). Ek olarak deney süresince sesil AHB bakteri sayılarının log düşüşleri bakımından Eylül ayı dışındaki tüm aylar arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir ( $r = 0.982$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.890$ ,  $p < 0.05$ ;  $r = 0.964$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.951$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.956$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.965$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.978$ ,

$p<0.01$ ;  $r=0.919$ ,  $p\leq 0.01$ ;  $r=0.965$ ,  $p<0.01$ ;  $r=0.977$ ,  $p<0.01$ ) (Şekil 4.19). Biyofilm ve sudaki AHB sayılarının log düşüşleri arasında ortalamalar açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

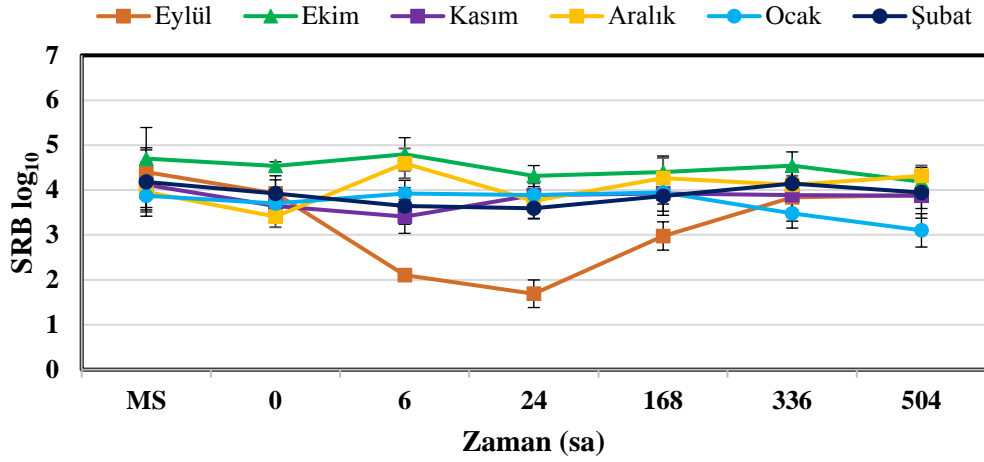


**Şekil 4.19:** Ag-Cu iyonlarının temas sürelerine bağlı olarak biyofilmdeki toplam AHB sayısına etkisi.

AHB sayıları ile birlikte su ve biyofilm örneklerindeki SRB sayıları da tespit edilmiş ve model sistemdeki bakteri sayıları ile karşılaştırmalı olarak Şekil 4.20’de gösterilmiştir. Deney süresince sudaki SRB sayısının temas sürelerine göre değişkenlik gösterdiği, fakat bakteri sayıları arasındaki farkın anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.21). Bununla birlikte Eylül ayında 6 ve 24 sa’lik temas süresi sonunda bakteri sayısında 0 sa’teki ve model sistemdeki bakteri sayılarına göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir ( $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ). Ayrıca sudaki SRB ve AHB sayıları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişkinin varlığı tespit edilmiştir (sırasıyla  $r=0.886$ ,  $p<0.05$ ).

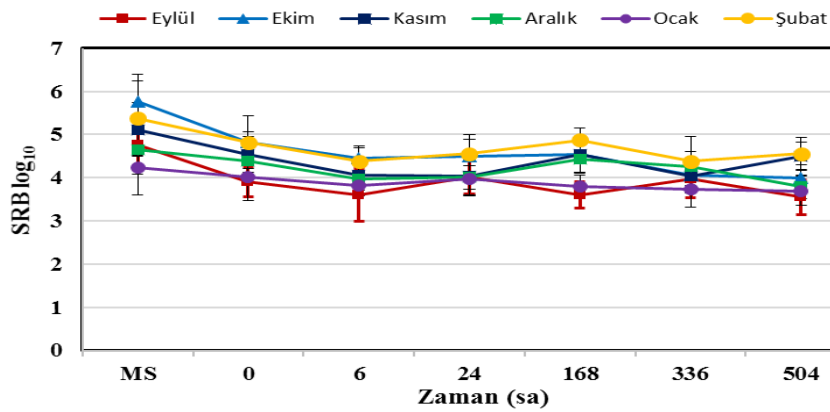


**Şekil 4.20:** Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki ve biyofilmdeki SRB sayısının temas sürelerine göre **a)** Eylül, **b)** Ekim, **c)** Kasım, **d)** Aralık, **e)** Ocak ve **f)** Şubat aylarındaki değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



**Şekil 4.21:** Deney süresince Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki SRB sayısının temas sürelerine göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Deney süresince 0 ve 6 sa'lik temas süreleri sonunda biyofilmdeki SRB sayılarının anlamlı derecede azaldığı (sırasıyla  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ), sonrasında ise artma ve azalmalar şeklinde değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.22). Temas sürelerine göre sesil SRB sayıları arasında anlamlı bir farkın olduğu ( $p < 0.05$ ) ve 0 sa'lik temas süresi sonrasındaki sesil SRB sayılarının, 168, 336 ve 504 sa'lik temas süreleri sonunda tespit edilenlerden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ) (Şekil 4.22). Su ve biyofilmdeki SRB sayıları arasında ortalamalar açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ).



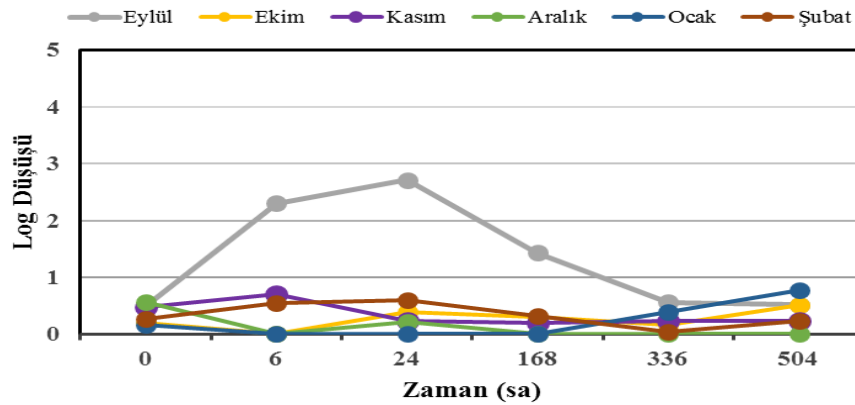
**Şekil 4.22:** Deney süresince Ag-Cu iyonlarına maruz kalan biyofilmdeki SRB sayısının temas sürelerine göre değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.

Planktonik SRB sayısındaki log düşüşlerinin temas süresine göre değişkenlik gösterdiği ve Eylül ayında bakteri sayısındaki log düşüşünün diğer aylara göre anlamlı derecede

yüksek olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla  $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ). Deney süresince en yüksek log düşüşü Eylül ayında 24 sa'lık temas süresi sonunda 2.71 olarak, en düşük log düşüşü ise Şubat ayında 336 sa'lık temas süresi sonunda 0.04 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.6). Ekim ayından itibaren ise bazı temas sürelerinde bakteri sayılarında log düşüşlerinin olmadığı belirlenmiştir. Sudaki AHB log düşüşünün SRB log düşüşünden anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ). Bu durum SRB'lerin Ag-Cu iyonlarına karşı daha dirençli olduklarına işaret etmektedir.

**Tablo 4.6:** Model sisteme göre Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sudaki ve biyofilmdeki SRB sayısındaki log düşüşleri.

	Temas süresi (sa)	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat
<b>SRB Su Log Düşüşü</b>	0	0.48	0.2	0.47	0.56	0.17	0.26
	6	2.3	-	0.71	-	-	0.54
	24	2.71	0.39	0.23	0.21	-	0.59
	168	1.43	0.31	0.19	-	-	0.32
	336	0.56	0.16	0.23	-	0.39	0.04
	504	0.52	0.52	0.24	-	0.77	0.24
<b>SRB Biyofilm Log Düşüşü</b>	0	0.84	0.94	0.57	0.26	0.23	0.56
	6	1.15	1.32	1.06	0.67	0.42	1
	24	0.74	1.27	1.07	0.63	0.26	0.82
	168	1.14	1.22	0.57	0.2	0.45	0.51
	336	0.77	1.71	1.07	0.39	0.51	1
	504	1.2	1.76	0.62	0.85	0.54	0.82

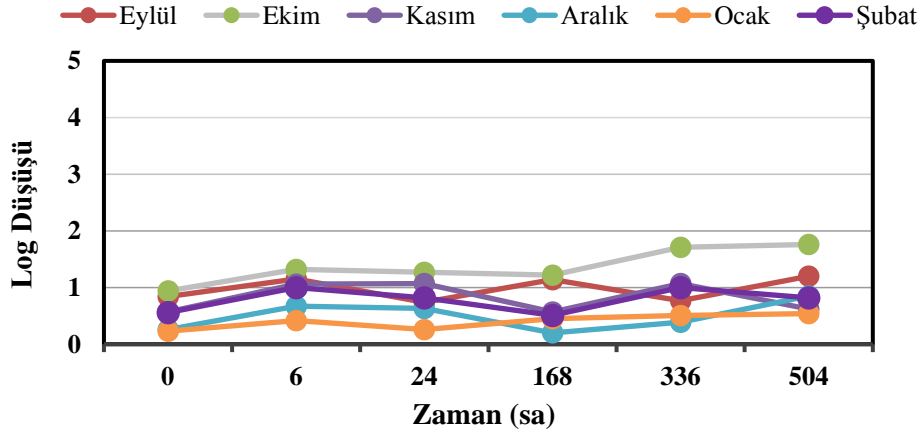


**Şekil 4.22:** Ag-Cu iyonlarının temas sürelerine bağlı olarak sudaki SRB sayısına etkisi.

Deney süresince biyofilmdeki SRB sayısındaki log düşüşünün ise 6 sa'lık temas süresine kadar arttığı gözlenmiş olup, maksimum ve minimum değerleri sırasıyla Ekim



ve Aralık aylarında 1.76 ve 0.2 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.6). Deney süresince 336 ve 504 sa'lik temas süreleri sonunda tespit edilen sesil SRB sayılarının log düşüşlerinin, 0 sa'lik temas süresi sonrasında tespit edilenlerden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ) (Şekil 4.24).

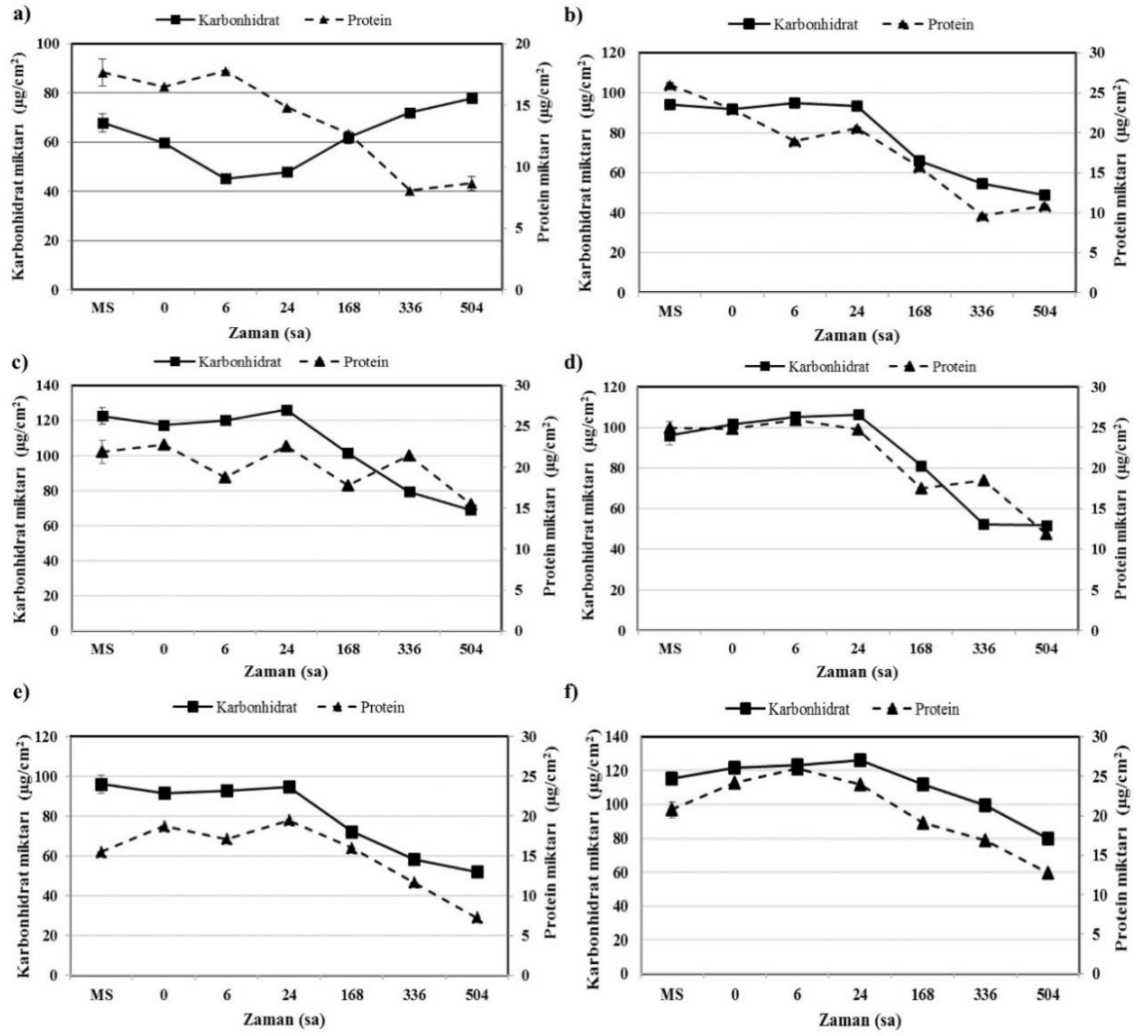


**Şekil 4.23:** Ag-Cu iyonlarının temas sürelerine bağlı olarak biyofilmdeki SRB sayısına etkisi.

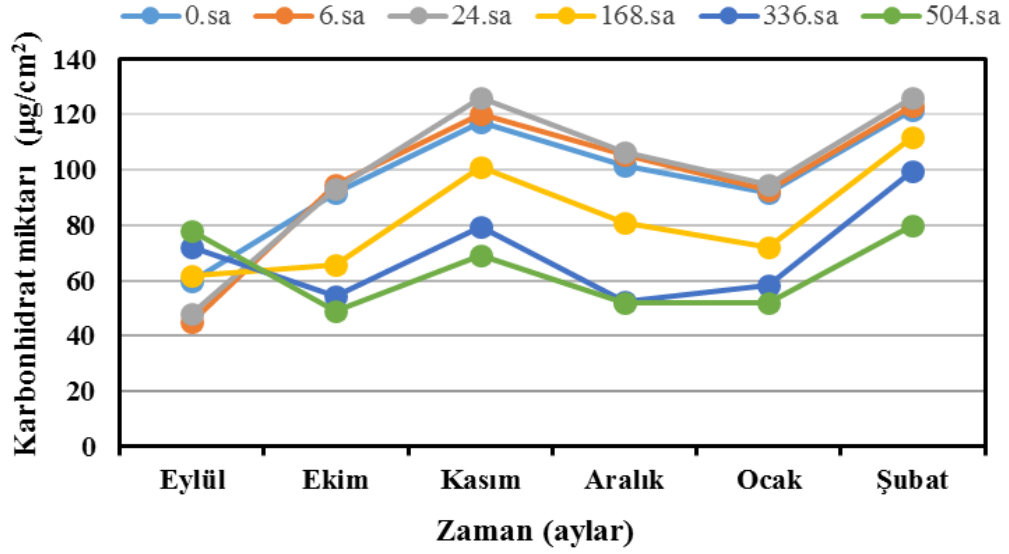
Eylül ayındaki SRB bakteri sayılarının log düşüşlerinin Aralık ve Ocak aylarında tespit edilenlerden, Ekim ayındaki SRB bakteri sayılarının log düşüşlerinin Kasım, Aralık, Ocak ve Şubat aylarında tespit edilenlerden, Kasım ayındaki SRB bakteri sayılarının log düşüşlerinin ise Ocak ayında tespit edilenden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla  $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ). Biyofilmdeki AHB log düşüşü ile SRB log düşüşü arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ).

#### 4.2.2. Toplam Karbonhidrat ve Protein Miktarı

Model sistemden her ay çıkarılan kuponlar, 504 sa boyunca Ag (0.1 ppm)-Cu (1.3 ppm) iyonlarına maruz bırakılmış ve 0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa'lik temas süreleri sonunda kuponların yüzeyinden toplanan biyofilmdeki toplam karbonhidrat ve protein miktarları tespit edilmiştir. Deney süresince Eylül ayı dışında toplam karbonhidrat miktarında 24.sa'te kadar önemli bir değişiklik gözlenmezken (Şekil 4.25), 168.sa'ten itibaren 0, 6 ve 24 sa'lik temas sürelerine göre anlamlı bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p\leq 0.01$ ) (Şekil 4.26).

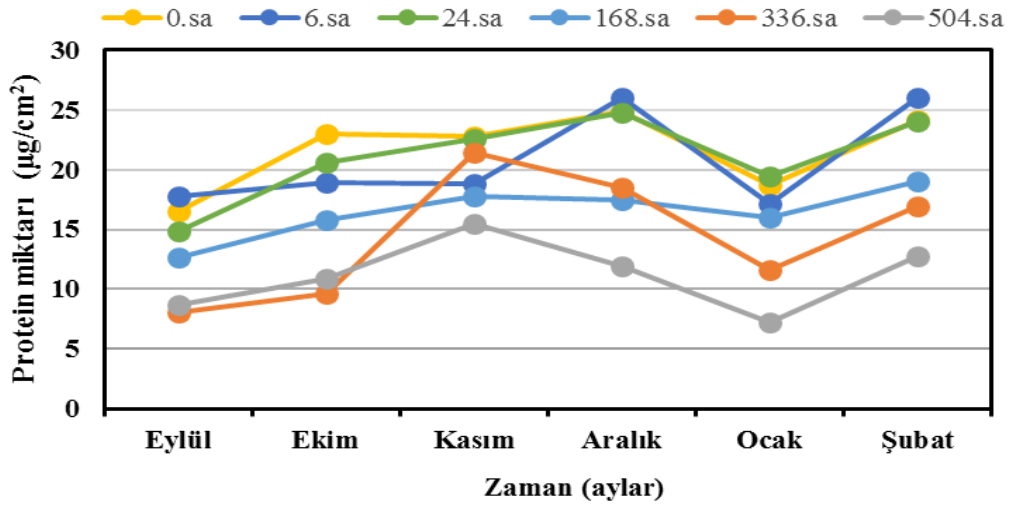


**Şekil 4.24:** Ag-Cu iyonlarına maruz kalan biyofilmdeki karbonhidrat ve protein miktarlarının a) Eylül, b) Ekim, c) Kasım, d) Aralık, e) Ocak ve f) Şubat aylarındaki değişimi. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir.



Şekil 4.25: Biyofilmdeki karbonhidrat miktarlarının temas sürelerine göre ay bazında gösterimi.

Deney süresince protein miktarının ilk 24.sa'te kadar artış ve azalmalar gösterdiği (Şekil 4.25), daha sonraki temas sürelerinde ise azalma eğiminde olduğu ve bu azalmanın da 168. sa'ten itibaren 0, 6 ve 24 sa'lik temas sürelerine göre anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ).



Şekil 4.26: Biyofilmdeki protein miktarının temas sürelerine göre ay bazında gösterimi.

Deney süresince karbonhidrat ile protein miktarı arasında Eylül ayında ters yönde, Ekim, Aralık, Ocak ve Şubat aylarında ise aynı yönde anlamlı bir ilişki saptanmıştır (sırasıyla  $r = -0.890$ ,  $p < 0.05$ ;  $r = 0.936$ ,  $p < 0.05$ ;  $r = 0.892$ ,  $p < 0.05$ ;  $r = 0.945$ ,  $p < 0.05$ ;  $r = 0.965$ ,  $p < 0.05$ ).

### 4.2.3. Ağırlık Kaybı ve Korozyon Hızı Verileri

Deney süresince model sistemden aylık olarak çıkarılan ve sonrasında Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların 504 sa'lik temas süresi boyunca tespit edilen ağırlık kayıpları ve korozyon hız verileri Tablo 4.7'de gösterilmiştir. Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan deney ve kontrol kuponlarının ağırlık kayıplarının zamanla arttığı tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ). Deney kuponlarındaki ağırlık kayıplarının, kontrol kuponlarındakinden anlamlı derecede fazla olduğu saptanmıştır ( $p<0.01$ ) (Tablo 4.7).

Temas sürelerine bağlı olarak da hem deney kontrol kuponlarının ağırlık kayıplarında anlamlı bir artış görülmüş olup ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ), 504 sa'lik temas süresi sonunda tespit edilen kontrol ağırlık kayıplarının, 0.sa'teki değerlerden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ( $p<0.01$ ,  $<0.01$ ). Ayrıca 0 sa'lik temas süresi sonrasındaki ağırlık kayıpları ile model sistemden elde edilen verilerin birbirine çok yakın değerlerde olduğu ve aralarındaki farkın da anlamlı olmadığı belirlenmiştir (Tablo 4.7).

Galvanizli çeliğin hem deney hem de kontrol kuponlarının korozyon hızlarının zamanla azaldığı ( $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ) ve deney kuponlarına ait korozyon hızının kontrol kuponlarındakinden anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ) (Tablo 4.7). Temas sürelerine göre ise deney kuponlarının korozyon hızı zamanla azalırken ( $p<0.01$ ), kontrol kuponlarındakinin zamanla arttığı tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ). Bu durum Ag-Cu iyonlarının galvanizli çeliğin korozyonunu kimyasal olarak hızlandırdığının bir göstergesidir. Deney ve kontrol 2 kuponlarının ağırlık kaybı deneylerinden elde edilen veriler, Ag-Cu iyonları varlığında iyonsuz model sistem ortamındaki gibi galvanizli çeliğin mikrobiyolojik korozyona uğradığını göstermektedir (Tablo 4.7). Bununla birlikte deney kuponlarına ait korozyon hız verileri kontrol 3 deneylerinden elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında, Ag-Cu iyonlarının galvanizli çeliğin mikrobiyolojik korozyona uğrama hızını değiştirmedini göstermektedir (Tablo 4.8).

**Tablo 4.7:** Ag-Cu iyonları ile temas sürelerine göre galvanizli çelik kuponların ağırlık kayıpları ve korozyon hız verileri.

	Temas süreleri (sa)	Ağırlık kaybı, deney (mg/cm <sup>2</sup> )	Ağırlık kaybı, kontrol 2 (mg/cm <sup>2</sup> )	Korozyon hızı, deney (mpy)	Korozyon hızı, kontrol (mpy)	(deney/kontrol)
<b>Eylül</b>	MS	2.11 ±0.23	1.03 ±0.05	1.41	0.69	2.04
	0	2.12 ±0.11	1.04 ±0.01	1.39	0.70	1.99
	6	2.15 ±0.22	1.08 ±0.01	1.43	0.72	1.99
	24	2.25 ±0.13	1.12 ±0.01	1.46	0.73	2.00
	168	2.53 ±0.21	1.43 ±0.04	1.38	0.78	1.77
	336	2.71 ±0.13	1.78 ±0.02	1.24	0.82	1.52
	504	2.94 ±0.27	2.02 ±0.06	1.16	0.80	1.45
<b>Ekim</b>	MS	3.00 ±0.35	1.15 ±0.02	1.01	0.39	2.56
	0	3.03 ±0.07	1.16 ±0.01	1.02	0.39	2.62
	6	3.04 ±0.10	1.20 ±0.01	1.04	0.40	2.59
	24	3.15 ±0.02	1.24 ±0.01	1.04	0.41	2.54
	168	3.28 ±0.09	1.55 ±0.02	0.98	0.47	2.10
	336	3.37 ±0.20	1.90 ±0.02	0.91	0.52	1.76
	504	3.43 ±0.22	2.14 ±0.01	0.85	0.53	1.60
<b>Kasım</b>	MS	3.92 ±0.38	1.51 ±0.01	0.87	0.34	2.56
	0	3.93 ±0.04	1.52 ±0.01	0.87	0.34	2.56
	6	3.95 ±0.04	1.56 ±0.01	0.87	0.35	2.50
	24	3.99 ±0.30	1.60 ±0.01	0.88	0.35	2.48
	168	4.15 ±0.33	1.91 ±0.04	0.86	0.40	2.17
	336	4.35 ±0.19	2.26 ±0.02	0.84	0.44	1.92
	504	4.50 ±0.09	2.50 ±0.06	0.81	0.45	1.78
<b>Aralık</b>	MS	4.20 ±0.23	1.61 ±0.01	0.70	0.27	2.59
	0	4.23 ±0.09	1.62 ±0.01	0.71	0.27	2.61
	6	4.26 ±0.03	1.66 ±0.01	0.71	0.28	2.55
	24	4.33 ±0.10	1.70 ±0.01	0.72	0.28	2.54
	168	4.41 ±0.11	2.01 ±0.01	0.70	0.32	2.19
	336	4.53 ±0.17	2.36 ±0.02	0.68	0.36	1.92
	504	4.64 ±0.06	2.60 ±0.01	0.66	0.37	1.78
<b>Ocak</b>	MS	4.35 ±0.25	1.77 ±0.15	0.58	0.24	2.42
	0	4.35 ±0.06	1.78 ±0.01	0.58	0.24	2.42
	6	4.38 ±0.02	1.82 ±0.02	0.58	0.24	2.37
	24	4.48 ±0.13	1.86 ±0.01	0.59	0.25	2.38
	168	4.54 ±0.04	2.17 ±0.01	0.58	0.28	2.08
	336	4.69 ±0.02	2.52 ±0.02	0.57	0.31	1.84
	504	4.76 ±0.05	2.76 ±0.01	0.56	0.33	1.72
<b>Şubat</b>	MS	4.45 ±0.17	1.82 ±0.02	0.49	0.20	2.45
	0	4.47 ±0.11	1.83 ±0.01	0.50	0.20	2.44
	6	4.49 ±0.29	1.87 ±0.02	0.50	0.21	2.39
	24	4.55 ±0.19	1.91 ±0.01	0.50	0.21	2.35
	168	4.68 ±0.03	2.22 ±0.01	0.50	0.24	2.09
	336	4.75 ±0.09	2.57 ±0.02	0.49	0.27	1.83
	504	4.83 ±0.05	2.81 ±0.02	0.48	0.28	1.70

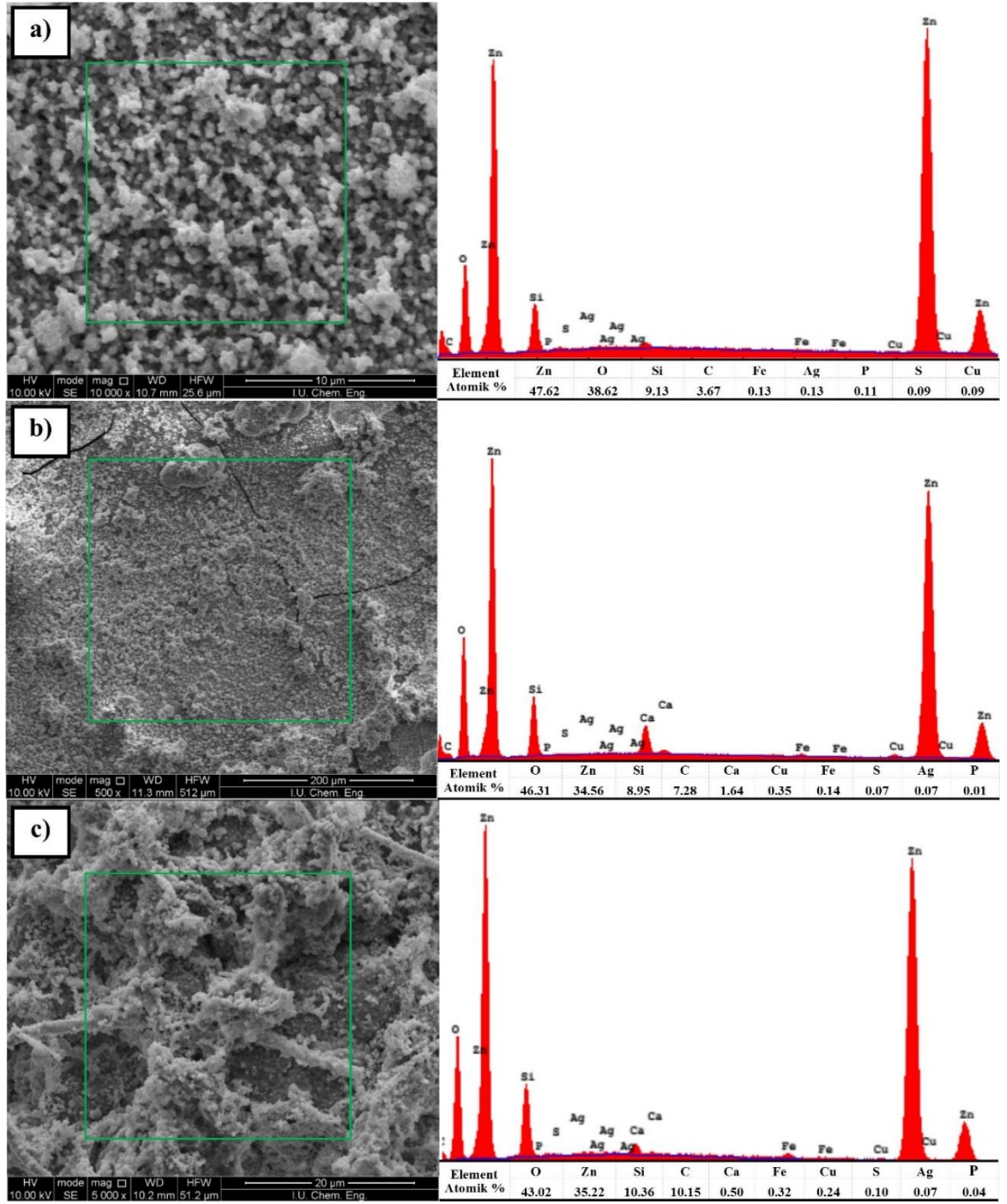
MS: Model sistem

**Tablo 4.8:** 504 sa'lik temas süresi sonrasında, kontrol 3 ve Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan deney kuponlarına ait ağırlık kaybı ve korozyon hız verileri.

Aylar	Ortam	Ağırlık kaybı, deney (mg/cm <sup>2</sup> )	Korozyon hızı, deney (mpy)	Deney/Kontrol
Eylül	Deney	2.94 ±0.27	1.16	1.05
	Kontrol3	2.78 ±0.23	1.1	
Ekim	Deney	3.43 ±0.22	0.85	0.92
	Kontrol 3	3.69 ±0.35	0.92	
Kasım	Deney	4.50 ±0.09	0.81	1.08
	Kontrol 3	4.13 ±0.38	0.75	
Aralık	Deney	4.64 ±0.06	0.66	1.06
	Kontrol 3	4.31 ±0.23	0.62	
Ocak	Deney	4.76 ±0.05	0.56	1.08
	Kontrol 3	4.42 ±0.25	0.52	
Şubat	Deney	4.83 ±0.05	0.48	1.07
	Kontrol 3	4.49 ±0.17	0.45	

#### 4.2.4. EDS Analizleri

Deney süresince her ay model sistemden çıkarılan ve 504 sa boyunca Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponlara ait EDS analiz sonuçları Şekil 4.28'de verilmiştir. İyonsuz model sistem ortamındaki galvanizli çelik kuponların EDS sonuçlarına benzer şekilde, Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan kuponların yüzeylerinde oluşan korozyon ürünlerinin genel olarak yüksek miktarda Zn, O, C ve Si ile birlikte eser miktarlarda Fe, S, P içerdiği, diğer aylara göre Eylül ayında Zn (%47.62) elementinin yüksek ve O elementinin (%38.62) ise daha düşük değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Eylül ayında da Ca pikine rastlanmamıştır. Ek olarak biyofilmdeki Ag pikinin Eylül ayında %0.13 olduğu, sonrasında ise sabit kaldığı (%0.07) belirlenirken, Cu pikinin Eylül ayına (%0.09) göre Kasım ayında (%0.35) artış gösterdiği, Şubat ayında (%0.24) ise tekrar azaldığı tespit edilmiştir.



**Şekil 4.27:** Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların **a)** Eylül, **b)** Kasım ve **c)** Şubat aylarına ait EDS analizleri.

#### 4.2.5. Ağır Metal Analizi

Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan biyofilmdeki Zn, Fe, Ag ve Cu iyonlarının temas sürelerine bağlı olarak (6, 24, 168, 336 ve 504 sa) konsantrasyon miktarlarındaki değişimler aylık olarak tespit edilmiş ve Tablo.4.9’da verilmiştir. Eylül ayında biyofilmdeki Zn miktarının zamanla arttığı ve 504. sa’te maksimum değerine (844.61

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) ulaştığı saptanmıştır. Diğer aylarda ise Zn miktarında temas sürelerine bağlı olarak artış ve azalmalar gözlenmiştir (Tablo 4.9). Deney süresince biyofilmdeki Fe miktarının temas sürelerine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği saptanmakla birlikte, Aralık ayından itibaren Fe miktarında artış gözlenmiş ve maksimum değer Şubat ayında 504.sa'te  $0.60 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak tespit edilmiştir. Biyofilmdeki Ag ve Cu miktarlarının da temas sürelerine bağlı olarak değişkenlik gösterdikleri ve sırasıyla  $0.001-0.020 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ve  $0.23-5.12 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  aralıklarında oldukları belirlenmiştir.

**Tablo 4.9:** Ag-Cu iyonlarına maruz kalan biyofilmdeki Zn, Fe, Ag ve Cu iyon konsantrasyon değerleri.

	Temas süresi (sa)	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat
<b>Zn</b> ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	6	120.47	299.01	257.43	881.35	486.99	303.16
	24	291.45	295.93	185.41	984.96	498.91	261.77
	168	647.96	408.77	325.99	190.92	360.81	252.59
	336	662.15	399.77	456.42	612.80	173.39	226.22
	504	844.61	547.76	394.15	392.86	552.40	469.36
<b>Fe</b> ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	6	0.01	0.11	0.10	0.34	0.20	0.38
	24	0.10	0.26	0.12	0.33	0.30	0.27
	168	0.04	0.17	0.17	0.06	0.14	0.31
	336	0.12	0.10	0.12	0.31	0.07	0.14
	504	0.17	0.13	0.19	0.15	0.48	0.60
<b>Ag</b> ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	6	0.004	0.014	0.002	0.001	0.008	0.002
	24	0.009	0.004	0.004	0.004	0.005	0.008
	168	0.002	0.003	0.001	0.004	0.003	0.005
	336	0.005	0.004	0.003	0.004	0.005	0.003
	504	0.020	0.002	0.003	0.002	0.005	0.001
<b>Cu</b> ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	6	0.23	0.83	1.33	1.18	1.26	0.66
	24	1.28	0.73	1.48	5.12	2.67	1.22
	168	1.73	2.09	1.89	1.27	2.44	1.31
	336	1.92	1.39	1.86	3.30	0.56	0.78
	504	2.06	1.72	1.88	1.57	2.42	1.90

#### 4.2.6. Elektrokimyasal Analizler

Elektrokimyasal deneylerde önce kuponların açık devre potansiyelleri belirlenmiş, sonra empedans yöntemi uygulanmış ve en son kuponların potansiyodinamik eğrileri çizilmiştir. Ancak daha kolay anlaşılması için ilk olarak potansiyodinamik eğriler sonrasında empedans eğrileri verilmiştir.



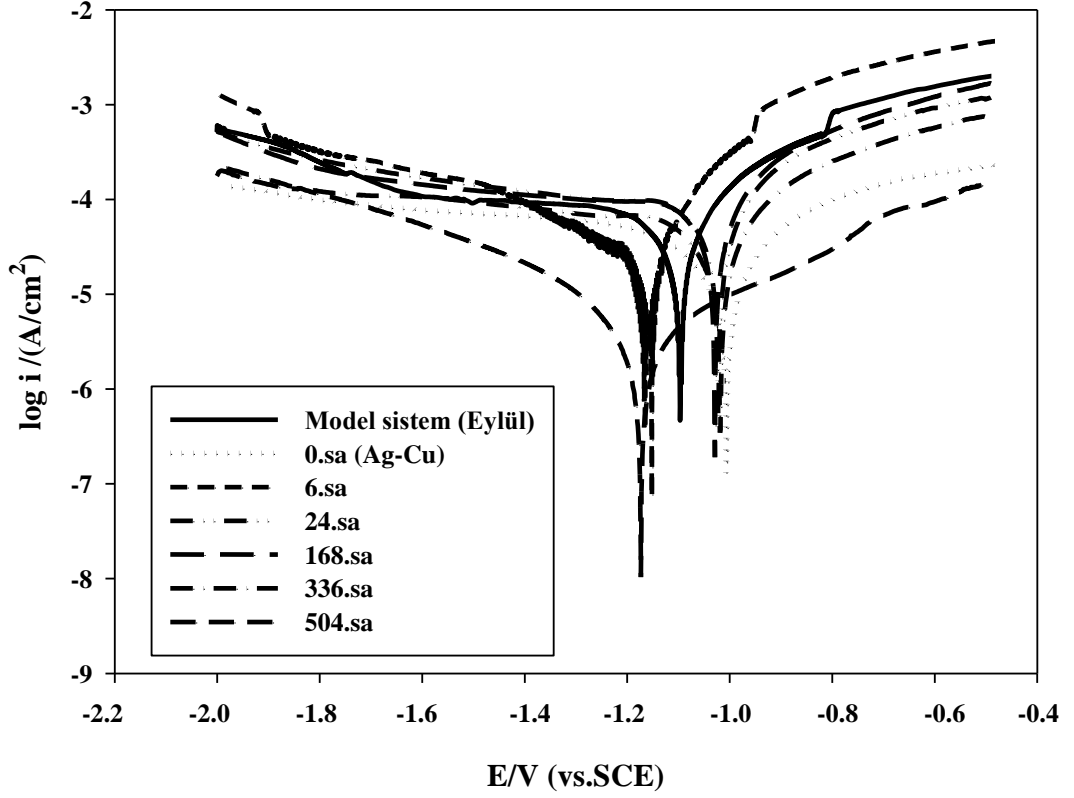
#### 4.2.6.1 Potansiyodinamik Polarizasyon Eğrileri

Eylül ayından itibaren her ay model sistemden çıkarılan kuponlar, 504 sa boyunca Ag (0.1 ppm) ve Cu (1.3 ppm) iyonlarına maruz bırakılmış ve belirli temas süreleri (0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa) sonunda kuponlara elektrokimyasal analizler uygulanmıştır. Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların korozyon potansiyel değerlerinin deney süresince değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.10).

**Tablo 4.10:** Deney süresince 504 sa'lik temas süresi boyunca Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların  $E_{kor}$  ve  $V_{kor}$  değerleri.

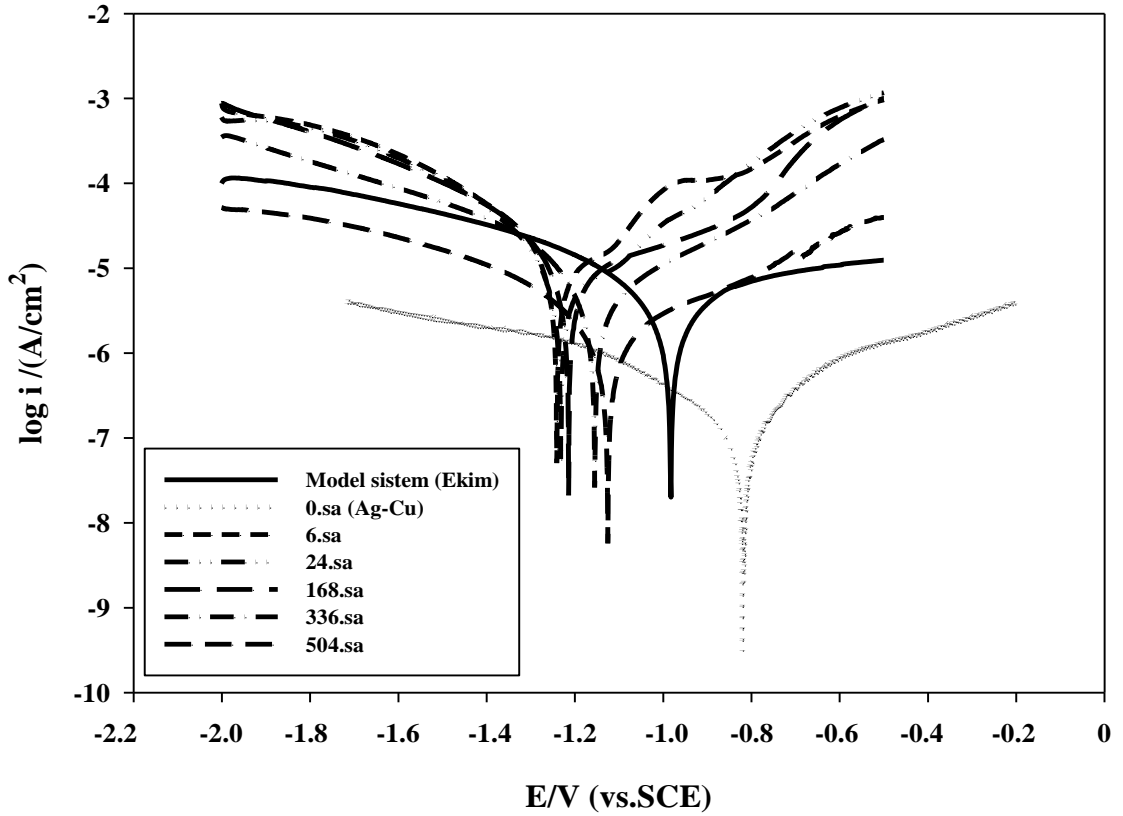
	Temas süresi (sa)	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat
$E_{kor}$ (V)	MS	-1.097	-0.987	-1.123	-0.713	-1.201	-1.088
	0	-1.007	-0.818	-1.18	-1.002	-1.128	-1.033
	6	-1.158	-1.241	-0.75	-1.096	-0.89	-0.617
	24	-1.022	-1.232	-1.22	-0.98	-1.156	-1.066
	168	-1.029	-1.214	-1.105	-1.086	-0.98	-0.646
	336	-1.019	-1.155	-1.098	-0.91	-1.087	-1.004
	504	-1.173	-1.125	-1.03	-0.87	-1.077	-0.995
	$V_{kor}$ (mpy)	MS	19.6	0.8	0.4	2.1	0.2
0		9.2	0.2	0.5	0.3	0.5	0.8
6		15	5	1.2	1.5	0.9	1
24		23.4	3.9	0.3	2.7	1.5	0.7
168		24.5	4	1.8	2.5	1	0.4
336		16.5	2.9	2.9	0.4	1.6	3.7
504		2.6	0.9	0.2	1.6	1.9	1.6

Eylül ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrilerinde deney kuponu 0 sa'lik temas süresi sonunda ölçülen  $E_{kor}$  değerinin model sisteme göre daha soy değere kaydığı (-1.007 V), 6. sa'te ise daha aktif değerde (-1.158 V) olduğu saptanmıştır. 24.sa'ten itibaren  $E_{kor}$  değerinin 504.sa'te kadar soy bölgede kaldığı, 504.sa'te ise tekrar aktif değere (-1.173 V) kaydığı belirlenmiştir (Tablo 4.10, Şekil 4.29). Galvanizli çelik kuponların korozyon hız değerlerinin 168. sa'te kadar arttığı ve en yüksek değerine (24.5 mpy) ulaştığı, sonrasında ise kuponların korozyon hızının azaldığı tespit edilmiş ve 504. sa'te 2.6 mpy olarak saptanmıştır. Ayrıca, 0. ve 6. sa'teki korozyon hızının model sisteme göre azaldığı, fakat 24 ve 168. sa'lerde tekrar arttığı tespit edilmiştir (Tablo 4.10).



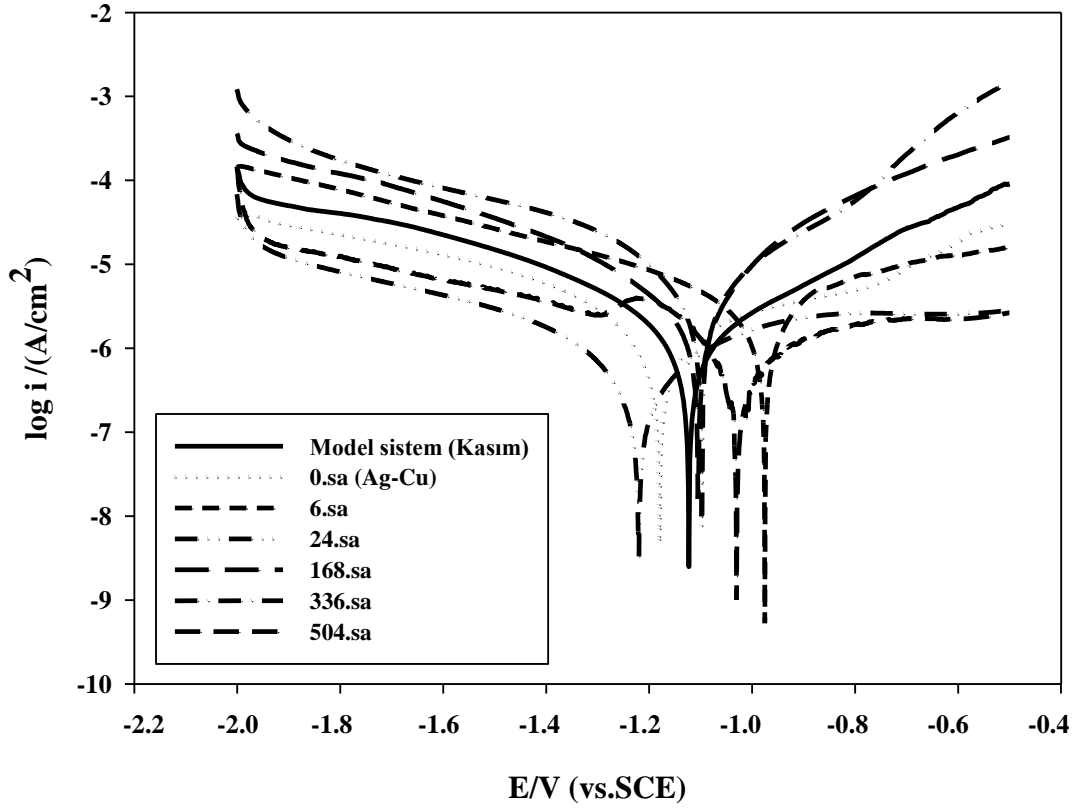
**Şekil 4.28:** Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Eylül ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.

Ekim ayında da Eylül ayına benzer şekilde Ag-Cu iyonları ile ilk temas süresi (0.sa) sonrası galvanizli çelik kuponların  $E_{kor}$ 'unun soy değere (-0.818 V) kaydığı, fakat daha sonraki temas sürelerinde ise model sisteme göre daha aktif değerlerde olduğu saptanmıştır (Tablo 4.10, Şekil 4.30). Temas süreleri boyunca korozyon hız değerlerinde farklılıklar gözlenmiştir. En yüksek korozyon hız değeri 6. sa'te 5 mpy olarak belirlenmiş ve sonrasında ise kuponların korozyon hızının azaldığı saptanmıştır (Tablo 4.10). 0. sa'teki korozyon hızının (0.2 mpy) model sisteme (0.7 mpy) göre 3.5 kat azaldığı tespit edilmekle birlikte diğer temas sürelerindeki korozyon hızlarının model sistemdekine göre yüksek olduğu belirlenmiştir.



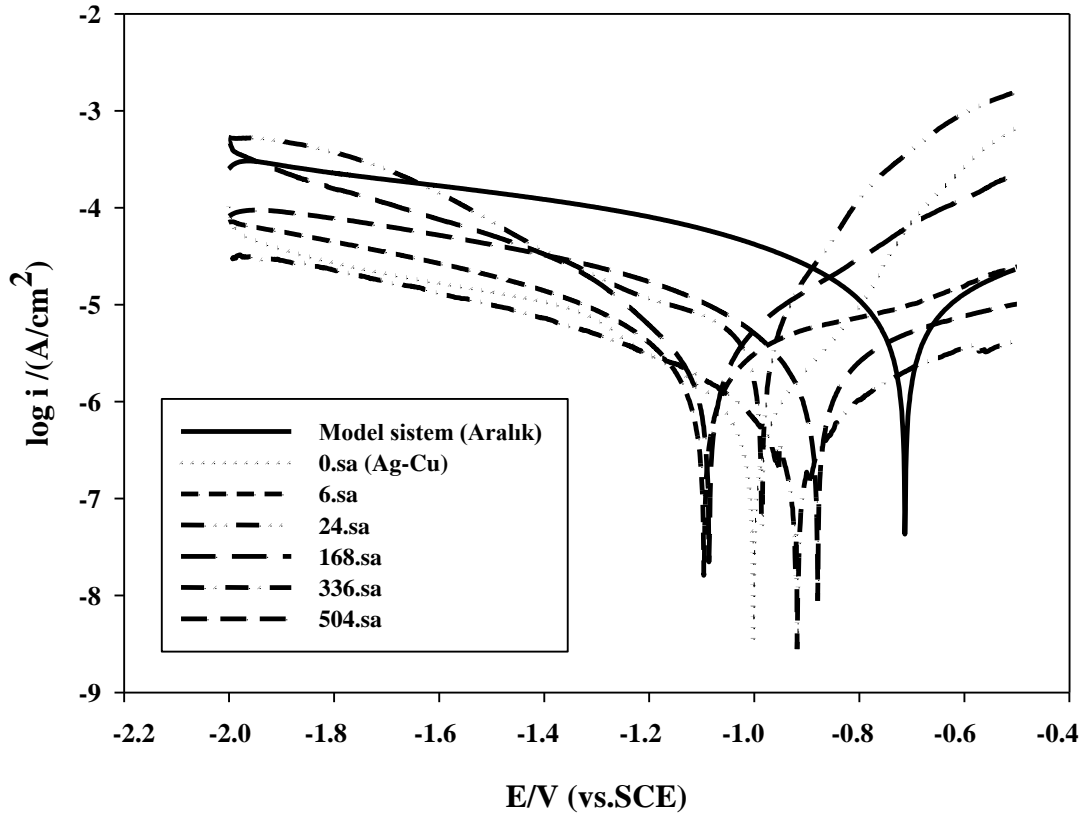
**Şekil 4.29:** Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Ekim ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.

Kasım ayında Eylül ve Ekim aylarının aksine ilk temas süresi (0.sa) sonrası galvanizli çelik kuponların  $E_{kor}$  değerinin model sisteme göre aktif değere (-1.18 V) kaydığı ve temas süresi boyunca da en aktif değere 0. sa'te ulaştığı tespit edilmiştir.  $E_{kor}$ 'un en soy değeri ise 6. sa'te -0.75 V olarak ölçülmüştür (Tablo 4.10, Şekil 4.31). Kasım ayına ait 0. sa'teki galvanizli çelik kuponlarının korozyon hızının model sisteminkine (0.4 mpy) yakın bir değerde (0.5 mpy) olduğu ve diğer temas sürelerinde ise değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek korozyon hız değeri 336. sa'te 2.9 mpy olarak belirlenmiştir (Tablo 4.10).



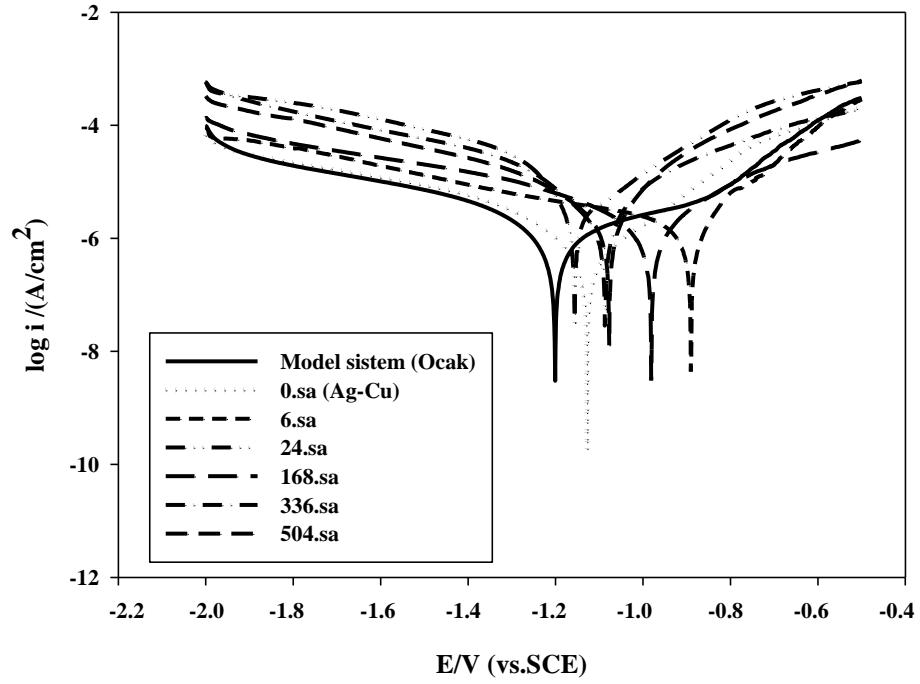
**Şekil 4.30:** Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Kasım ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.

Aralık ayında tüm temas sürelerinde  $E_{kor}$ 'un, model sisteme göre aktif bölgede ve birbirlerine yakın değerlerde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.32).  $E_{kor}$ , 6. sa'te en aktif değere (-1.096 V) ulaşırken, 504. sa'te ise en soy değerde -0.87 V olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.10). Galvanizli çelik kuponların korozyon hızı 24. sa'te kadar artmış ve maksimum  $V_{kor}$  değeri 2.7 mpy olarak belirlenmiştir. Eylül ayına benzer şekilde 0. ve 6. sa'te korozyon hızının model sisteme göre azaldığı, fakat 24. ve 168. sa'lerde tekrar arttığı tespit edilmiştir.

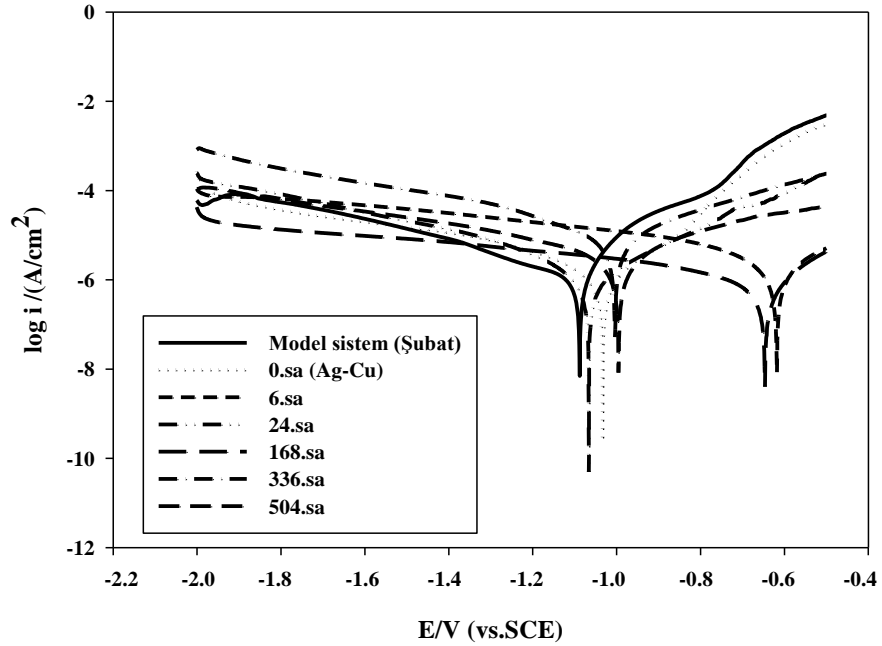


Şekil 4.31: Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Aralık ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.

Ocak ve Şubat aylarında diğer aylardan farklı olarak galvanizli çelik kuponların  $E_{kor}$  değerlerinin tüm temas süreleri boyunca model sisteme göre daha soy bölgede olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.33, Şekil 4.34). Kasım ayına benzer şekilde  $E_{kor}$  değerlerinin 6. sa'te en soy değerlerde (sırasıyla -0.89 V, -0.617 V), 24.sa'te ise en aktif değerlerde (sırasıyla -1.156 V ve -1.066 V) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.10). Ocak ayında galvanizli çelik kuponların korozyon hızlarının 24. sa'te kadar arttığı, 168. sa'te azaldığı ve sonrasında ise tekrar artış göstererek 504. sa'te maksimum değerine (1.9 mpy) ulaştığı tespit edilmiştir. Şubat ayında ise galvanizli çelik kuponların korozyon hız değerleri değişkenlik göstermiş olup, maksimum ve minimum değerleri sırasıyla 336. sa'te 3.7 mpy ve 168. sa'te 0.4 mpy olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.10). Model sistem ile karşılaştırıldığında ise  $V_{kor}$  değerlerinin 168. sa hariç genel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.32: Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Ocak ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.

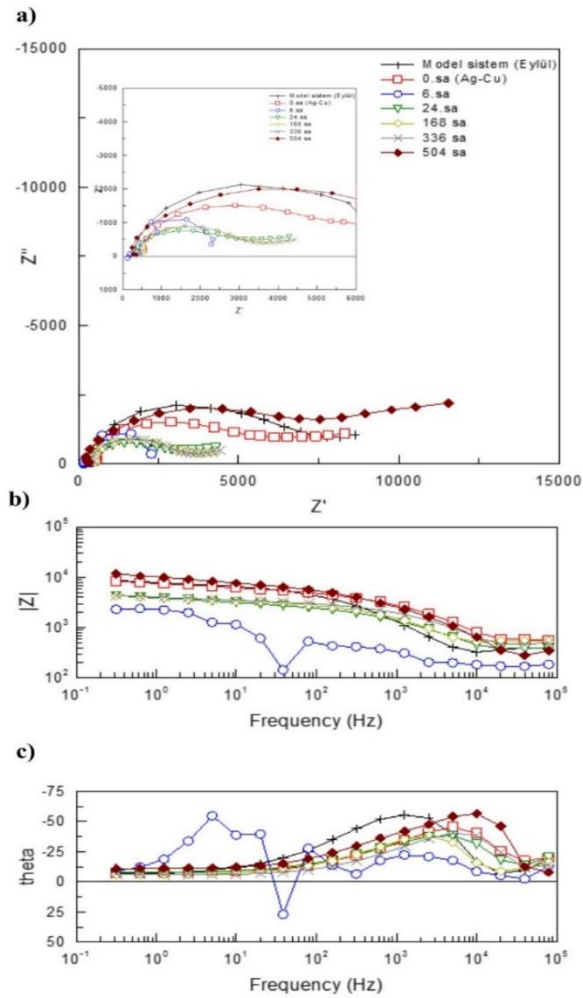


Şekil 4.33: Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Şubat ayına ait potansiyodinamik polarizasyon eğrileri.

#### 4.2.6.2. Elektrokimyasal Empedans Eğrileri (EIS)

Ag-Cu iyonlarına 504 sa boyunca maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların belirli temas süreleri (0, 6, 24, 168, 336 ve 504 sa) sonunda elektrokimyasal empedans eğrileri elde edilmiştir. Eylül ayına ait Nyquist, Bode ve Faz-frekans eğrileri Şekil 4.35'te

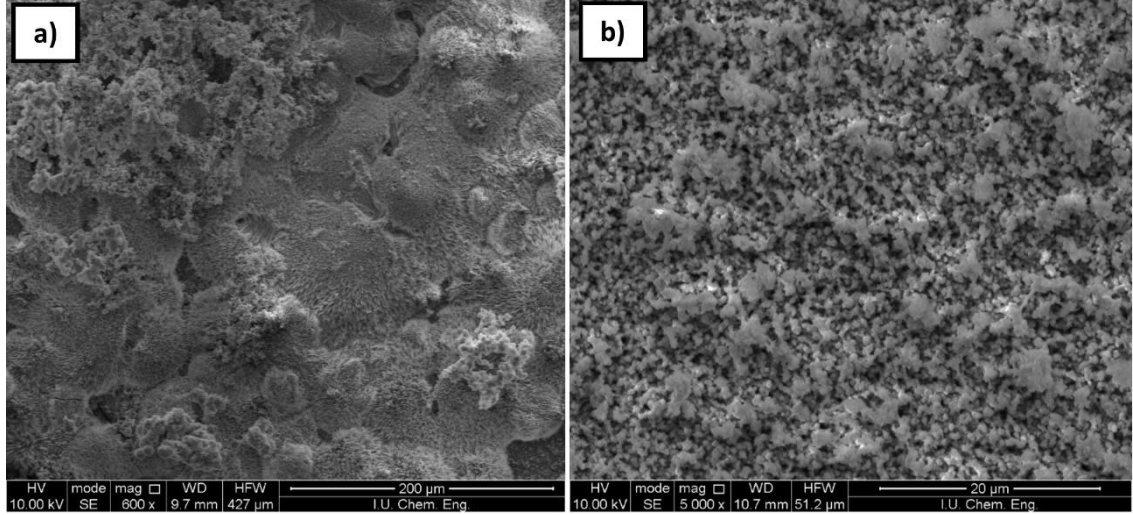
verilmiştir. 0 sa'lik temas süresinden itibaren galvanizli çeliğin empedans direncinin model sistemdekine göre azaldığı belirlenmiş olup, 504 sa'lik temas süresi sonunda ise empedans direncinin tekrar arttığı ve en yüksek değerine ulaştığı (11549  $\Omega$ ) tespit edilmiştir (Şekil 4.35a). Faz-frekans eğrilerine bakıldığında da 504.sa'te faz açısının arttığı görülmektedir (Şekil 4.35c). Bu durum biyofilmin yüzeyde iyi bir bariyer özelliği gösterdiğine işaret etmektedir. Nitekim 504 sa'teki  $V_{kor}$  değerinde de diğer temas sürelerine göre azalma gözlenmiştir (Tablo 4.10).



**Şekil 4.34:** Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Eylül ayına ait **a)** Nyquist, **b)** Bode ve **c)** Faz-frekans eğrileri.

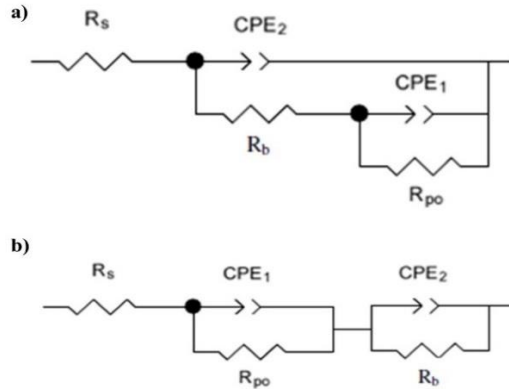
6 sa'lik temas süresi sonunda en yüksek faz açısı düşük frekans bölgesinde  $55^\circ$  olarak tespit edilmiştir. Düşük frekansta tespit edilen yüksek faz açısı yüzeyin homojen olmadığına işaret etmektedir. Tüm temas süreleri boyunca yüksek frekans bölgesinde gözlenen yüksek faz açıları ise metal yüzeyinin tekdüze olmadığını ve biyofilmin porlar

içerdiğini göstermektedir (Şekil 4.35b-c). Nitekim SEM görüntüleri bu durumu desteklemektedir (Şekil 4.36).



Şekil 4.35: Eylül ayına ait SEM görüntüleri.

EIS sonuçları, Eylül ayındaki model sisteme ait devreye göre 0 sa'lik temas süresi sonunda metal yüzeyinin değiştiği ve iki tabakanın birbirlerine seri olarak bağlandıkları tespit edilmiştir (Şekil 4.37). Bu durum, Ag-Cu iyonlarına maruziyet sonrası biyofilmin yapısının değiştiğine işaret etmektedir.

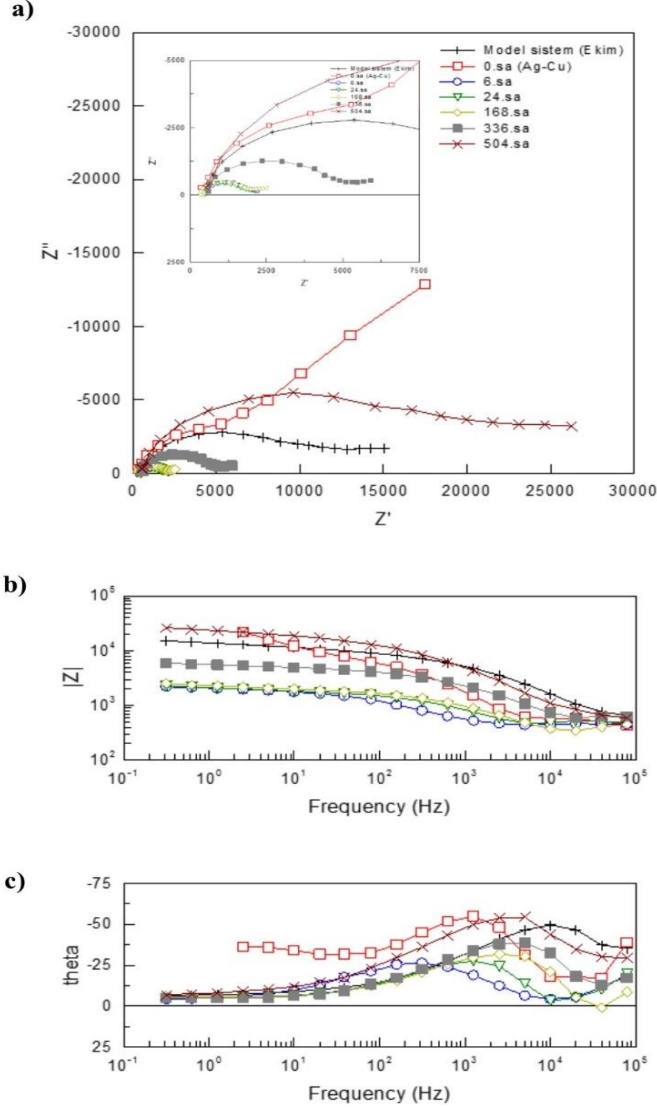


Şekil 4.36: Eylül ayına ait a) model sistem b) 0 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devre.

Ekim ayında, Eylül ayında tespit edilen aksine, 0 sa'lik temas süresi sonunda galvanizli çeliğin empedans direncinin model sistemdekine göre arttığı belirlenmekle birlikte, 6 sa'lik temas süresinden itibaren azaldığı, fakat 504. sa'te Eylül ayına benzer şekilde empedans direncinin tekrar arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.38a). 504 sa'lik temas süresinde direncin tekrar artması ise, bu temas süresinde metal yüzeyinin daha kararlı

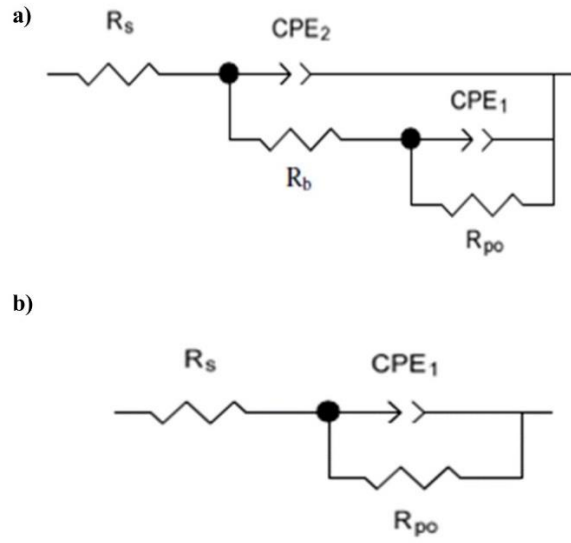


hale dönüştüğüne işaret etmektedir. Ayrıca 504 sa'te tespit edilen yüksek faz açısı değeri ( $54.29^\circ$ ) de yüzeyin iyi bariyer özelliği gösterdiğini desteklemektedir (Şekil 4.38c).



**Şekil 4.37:** Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Ekim ayına ait **a)** Nyquist, **b)** Bode ve **c)** Faz-frekans eğrileri.

6 sa'lik temas süresi sonunda faz açısının azaldığı ve orta frekans bölgesine doğru kaydığı gözlenmiştir (Şekil 4.38c). Bu durum biyofilmin yapısının değiştiğine ve yüzeyin pürüzlülüğünün arttığına işaret etmektedir. Nitekim 6. sa'te elde edilen eşdeğer devrenin diğer temas sürelerinden farklı olarak tek tabakalı olduğu ve bu tabakanın biyofilm tabakasını içine alan porlu diffüz tabakadan oluştuğu saptanmıştır (Şekil 4.39).

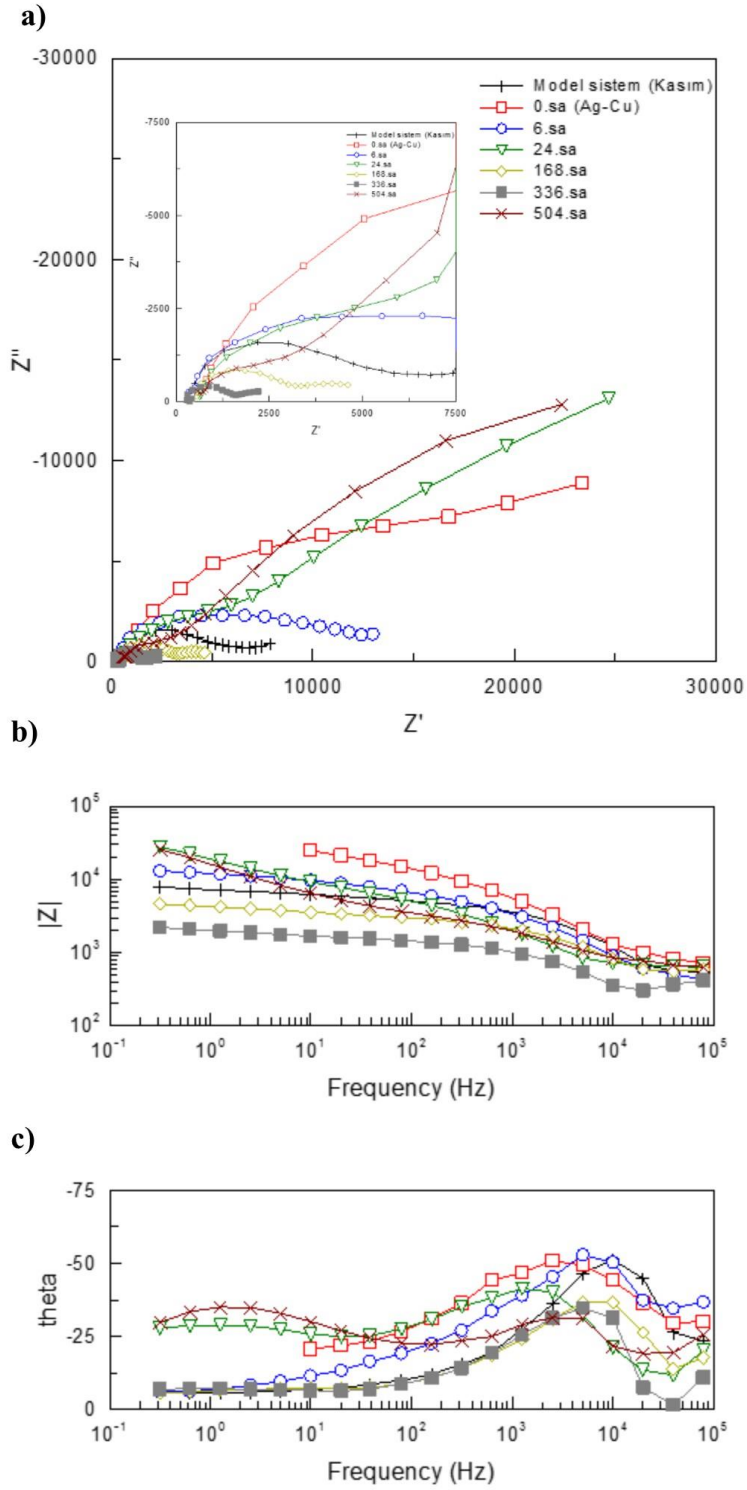


**Şekil 4.38:** Ekim ayında **a)** model sistem **b)** 6 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devre.

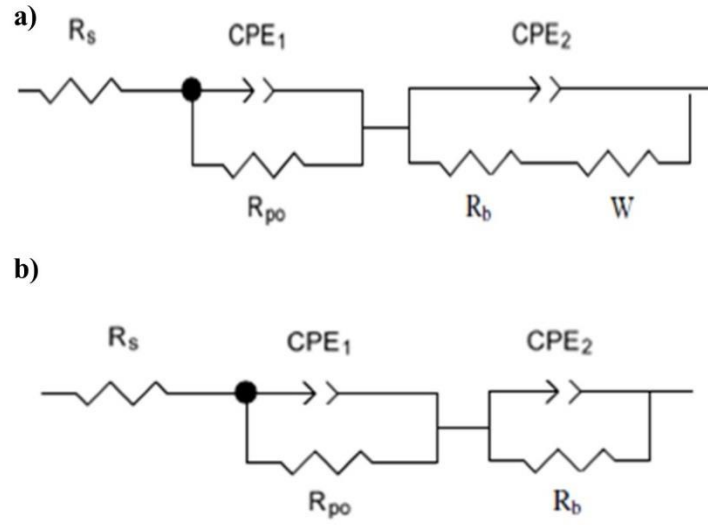
Kasım ayında ilk temas sürelerinde (0, 6 ve 24 sa) yüzeyin model sisteme göre daha dirençli olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.11, Şekil 4.40a). Önceki aylardan farklı olarak 24 ve 504 sa'lik temas süresi sonunda hem yüksek hem de düşük frekans bölgesinde lup oluşumu gözlenmiştir. Düşük frekansta gözlenen küçük luplar porlu diffüz tabaka ile veya yüzeydeki birikintilerden kaynaklanan korozyon ürünlerinin oluşturduğu tabaka ile de ilişkili olabilir (Şekil 4.41b). Nitekim SEM görüntüleri de bu ihtimali desteklemektedir. Biyofilm tabakası üzerinde birikintiler içeren kumlu bir tabakanın oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.42). Diğer temas sürelerine ait eşdeğer devrelerin ise warburg elementini içermemesi korozyon olayının difüzyon kontrolü altında olmadığına bir göstergesidir (Şekil 4.41c).

**Tablo 4.11:** Ag-Cu iyonlarına maruz kalan kuponların EIS deneylerinden elde edilen empedans parametreleri.

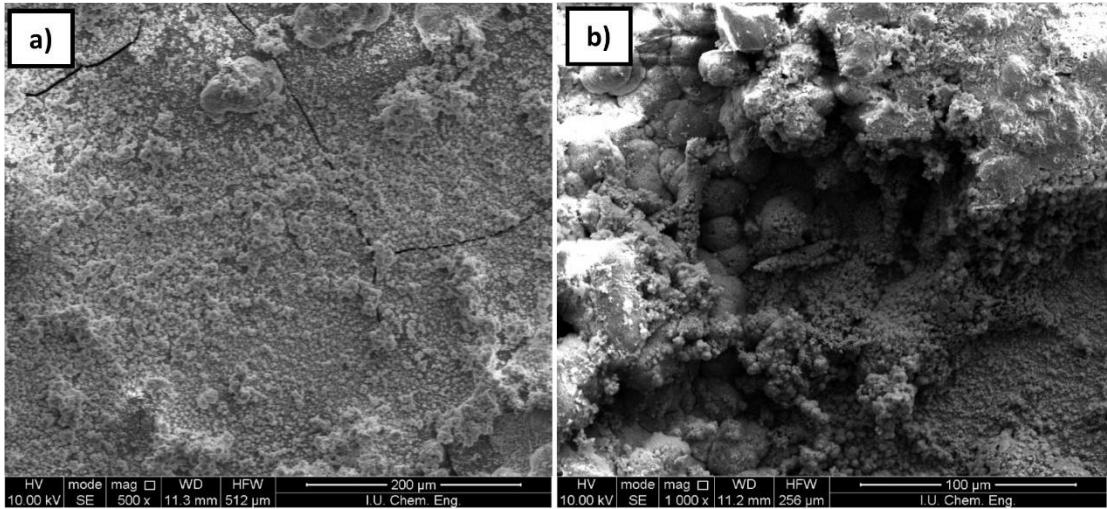
Aylar	$R_s$	$R_t$	$R_{ct}$	$R_b$	$R_{po}$	$W_x 10^{-3}$	$CPE_1$	$CPE_2$		
<b>Eylül</b> <b>0.sa</b>	90.01	-	-	623	5645	-	50.16	0.94	84.27	0.96
<b>Ekim</b> <b>6.sa</b>	472.3	-	-	-	1505	-	41.24	0.95	-	-
<b>Kasım</b> <b>0.sa</b>	480.2	-	-	1178	30560	-	60.18	0.96	91.95	0.87
<b>6.sa</b>	281.2	-	-	8370	35880	-	72.29	0.92	40.93	0.93
<b>168.sa</b>	524.5	-	-	1192	9292	-	48.92	0.95	52.84	0.92
<b>336.sa</b>	402.2	-	-	741	3171	-	35.58	0.90	43.25	0.95
<b>Aralık</b> <b>0.sa</b>	517.1	-	-	5750	14300	-	66.20	0.97	64.72	0.94
<b>6.sa</b>	939.8	-	-	9834	14370	-	59.14	0.96	50.60	0.95
<b>24.sa</b>	378.7	-	-	-	3693	-	107.8	0.85	-	-
<b>Ocak</b> <b>6.sa</b>	607.3	-	-	-	29586	-	38.05	0.95	-	-
<b>24.sa</b>	441.3	-	-	-	3104	-	22.14	0.98	-	-
<b>Şubat</b> <b>6.sa</b>	420.61	-	-	5764	12705	1.45	67.52	0.92	36.87	0.67
<b>168.sa</b>	571.8	-	-	1817	20818	1.67	123.5	0.95	106.1	0.73
<b>336.sa</b>	552.6	-	-	1234	3592	1.18	24.02	0.95	12.73	0.85



Şekil 4.39: Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Kasım ayına ait a) Nyquist, b) Bode ve c) Faz-frekans eğrileri.

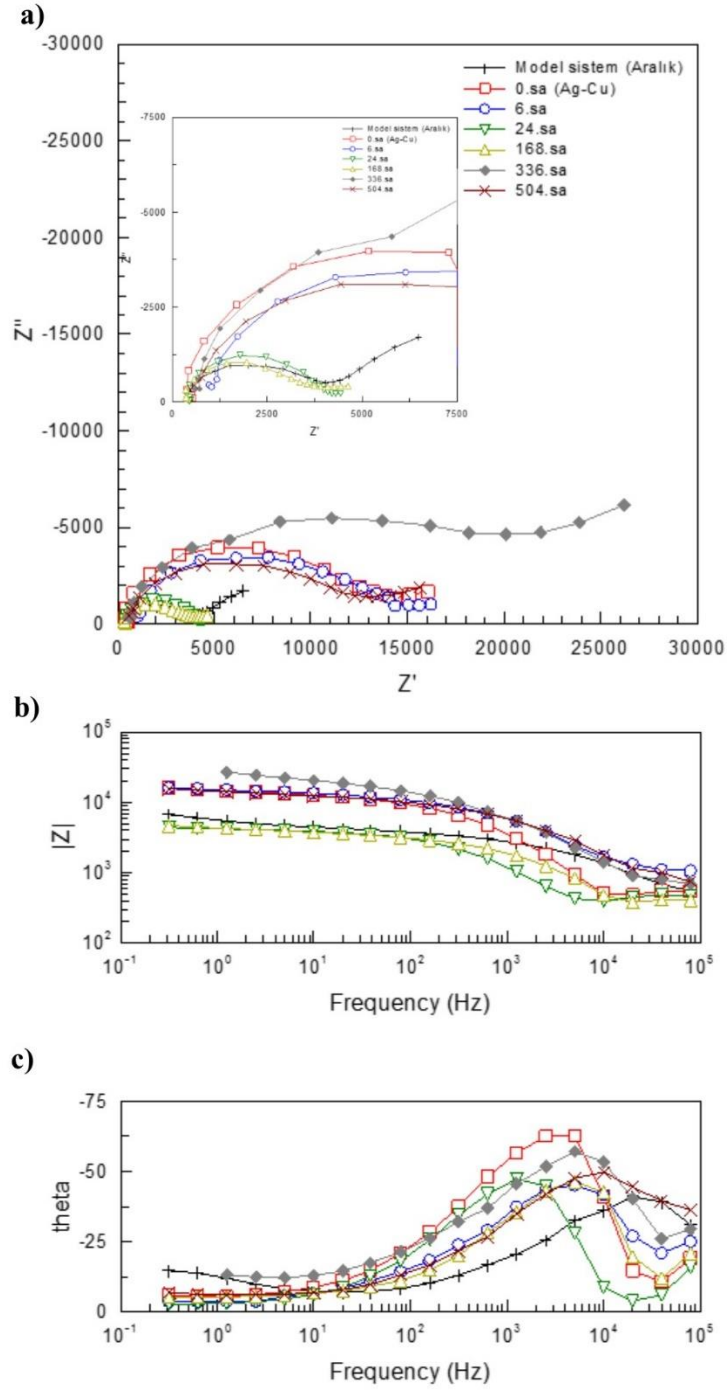


**Şekil 4.40:** Kasım ayında **a)** model sistem, **b)** 0, 6, 168, 336 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devresi.

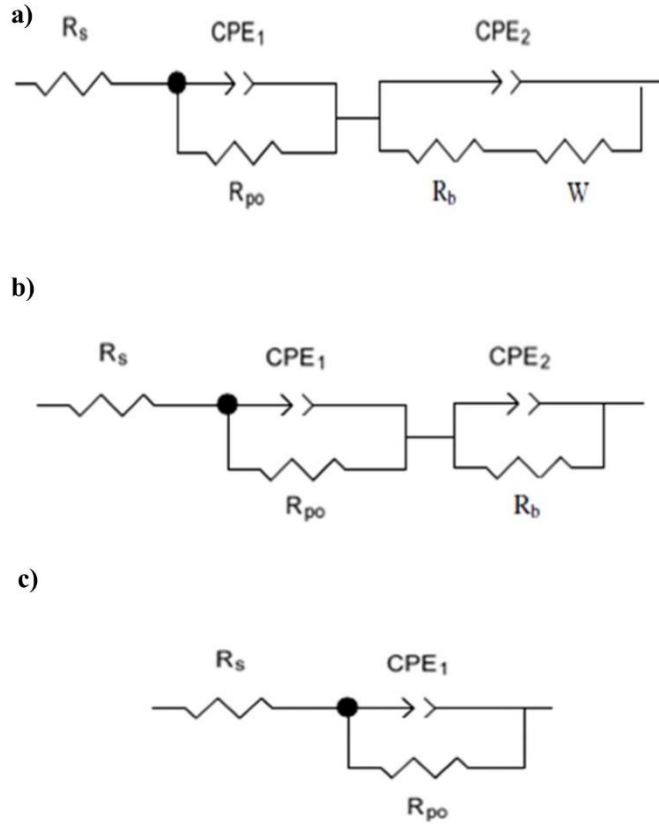


**Şekil 4.41:** Kasım ayına ait SEM görüntüleri.

Aralık ayında 0 ve 6 sa'lik temas süresi sonunda galvanizli çeliğin empedans direncinin model sisteme göre yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.43a). Bode eğrilerinde, düşük frekans bölgesinde eğim gözlenmemesi, biyofilmde difüzyonun gerçekleşmediğine işaret etmektedir (Şekil 4.43c). Nitekim eşdeğer devrelerde de difüzyonu ifade eden warburg elementi saptanmamıştır (Şekil 4.44b). 24. sa'te görülen lupun ise diğer temas sürelerine göre orta frekansa doğru kaydığı gözlenmiştir. Bu durum yüzeyin pürüzlülüğü ve biyofilmin yapısındaki değişim ile ilgili olabilir. 24 sa'te ait eşdeğer devrede biyofilmin yapısının değiştiği ve biyofilm ve porlu diffüz tabakayı içeren tek tabakalı forma dönüştüğü tespit edilmiştir (Şekil 4.44c).

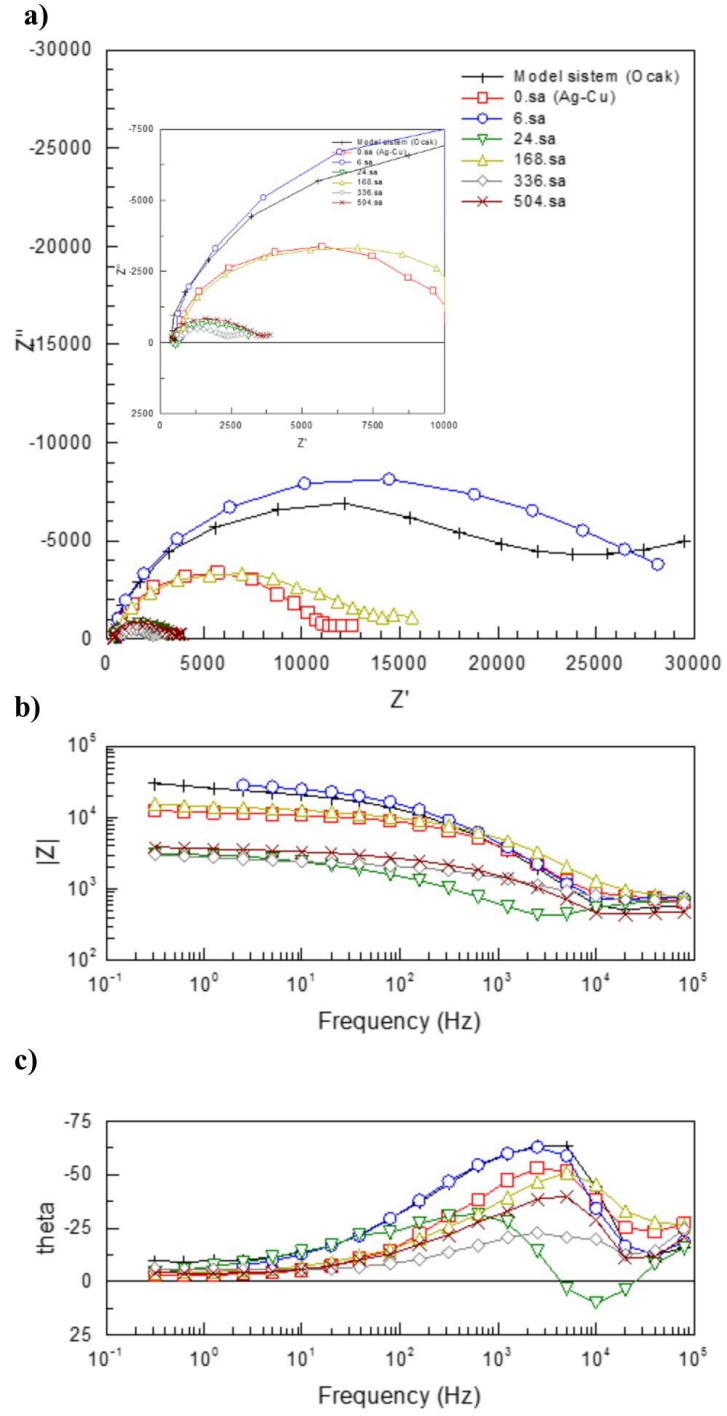


Şekil 4.42: Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Aralık ayına ait a) Nyquist, b) Bode ve c) Faz-frekans eğrileri.



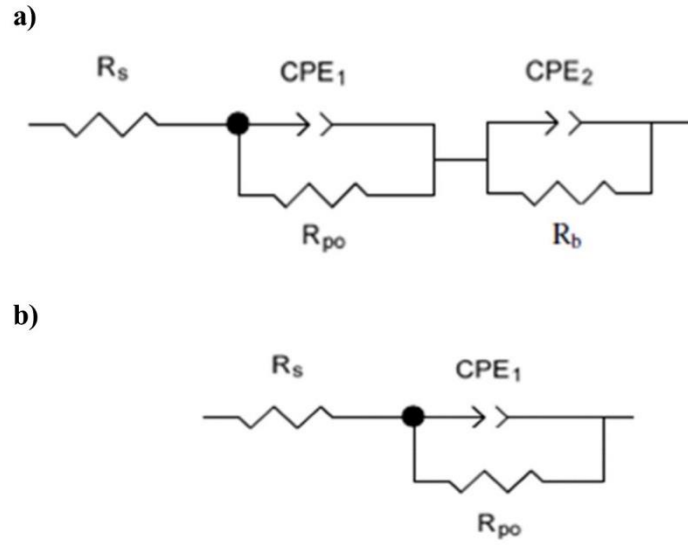
**Şekil 4.43:** Aralık ayında **a)** model sistem, **b)** 0, 6 ve 168 **c)** 24 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devresi.

Ocak ayında 6 sa'lik temas süresi sonunda galvanizli çeliğin empedans direncinin model sisteminkinden yüksek olduğu ve böylece biyofilmin koruyucu özelliğinin devam ettiği tespit edilmiştir (Şekil 4.45a). Bununla birlikte 24 sa'lik temas süresi sonunda orta frekans bölgesinde gözlenen lup oluşumu, yüzeyin pürüzlü hale geldiğine işaret etmektedir (Şekil 4.45c). Elektriksel eşdeğer devreler, 6 ve 24 sa'lik temas süreleri sonunda metal yüzeyindeki tabakalaşmanın değiştiğini ve bu temas sürelerine ait devrenin porlu tek bir difüz tabakadan oluştuğunu göstermektedir (Şekil 4.46).



Şekil 4.44: Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Ocaik ayına ait a) Nyquist, b) Bode ve c) Faz-frekans eğrileri.

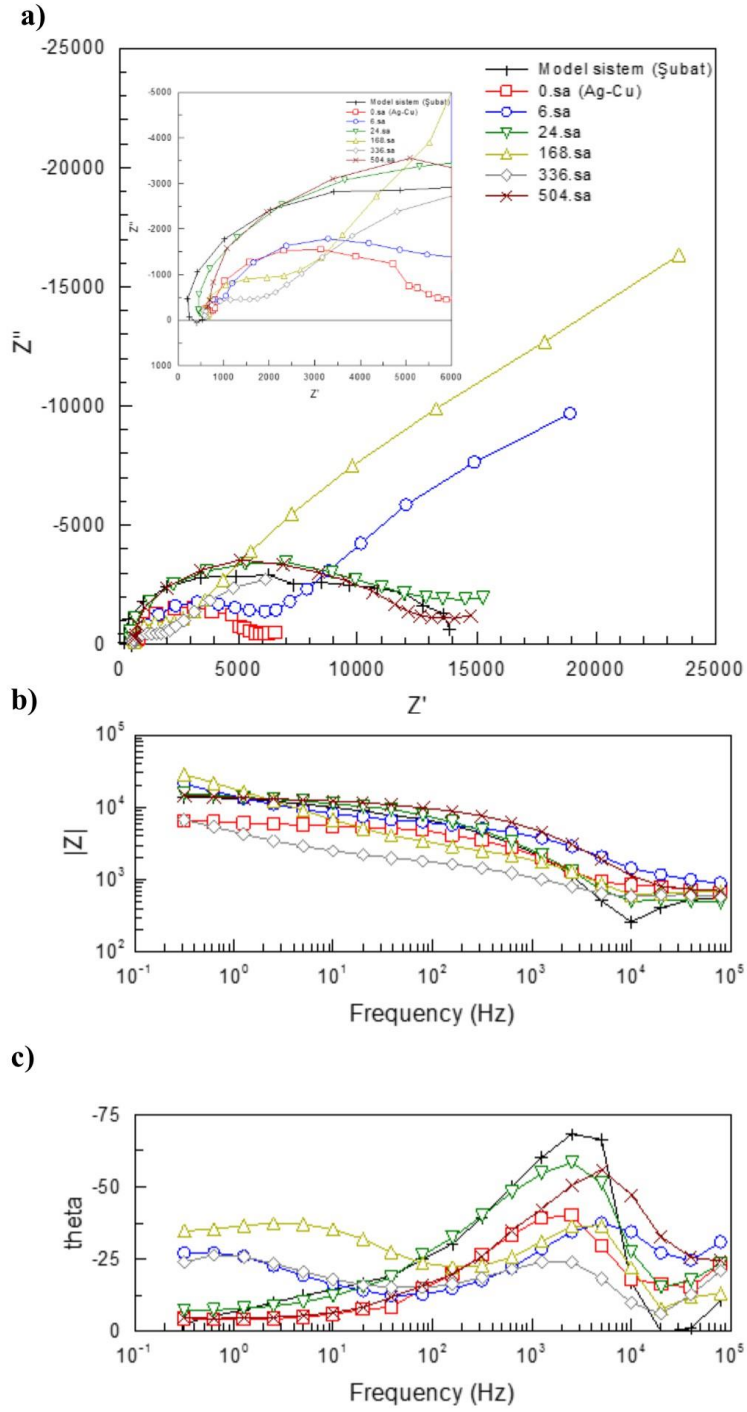




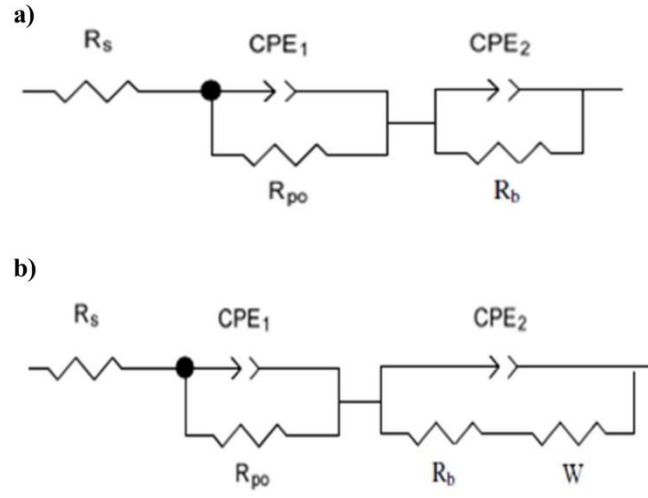
**Şekil 4.45:** Ocak ayında **a)** model sistem **b)** 6 ve 24 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devresi.

Şubat ayında 6, 168 ve 336 sa'lik temas süresi sonrası biyofilmin yapısının değiştiği ve bu temas sürelerinde korozyon olayında difüzyonun da etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.48). Ayrıca bode eğrilerinde düşük frekansta görülen eğim, bu temas sürelerinde difüzyon olayının gerçekleştiğinin bir göstergesidir. Ayrıca bu temas sürelerine ait faz-frekans eğrilerinin yüksek faz açılarından başladığı saptanmıştır. Bu durum metal yüzeyde porlaşmanın yüksek olduğuna işaret etmektedir. Nitekim Şubat ayına ait SEM görüntüleri de bu bulguyu desteklemektedir (Şekil 4.49).

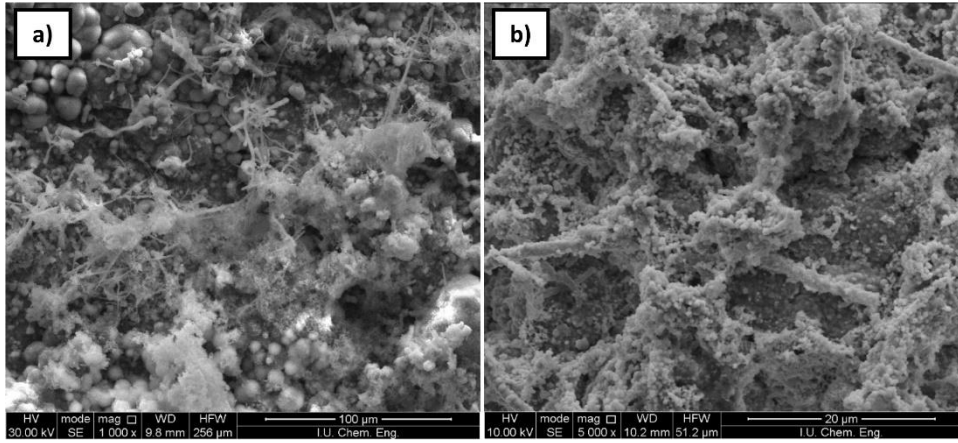
Deney süresince elde edilen EIS verilerine göre, Ekim ayı ile birlikte Ag-Cu iyonları ile ilk temas süresinden (0. sa) itibaren metalin direncinin model sisteme göre arttığı, Şubat ayında ise metalin direncinin 24 sa'lik temas süresi sonuna kadar korunduğu tespit edilmiştir. Bu durum biyofilmin zamanla kalınlaştığına ve/veya olgunlaştığına ve bu nedenle de korozyona ve Ag-Cu iyonlarının giriciliğine karşı yüzeyde iyi bir bariyer özellik gösterdiğine işaret etmektedir. Bununla birlikte elektriksel eşdeğer devreler, Ag-Cu iyonlarının temas süresine bağlı olmaksızın biyofilmin yapısını ve dolayısıyla da galvanizli çeliğin korozyon davranışını değiştirdiğini göstermektedir. Nitekim  $i_{kor}$ 'dan elde edilen  $V_{kor}$  değerlerinde de hem ay hem de temas süreleri bazında korozyon hızında değişiklik gözlenmiş olup, artış ya da azalışların belirli bir düzende gerçekleşmediği görülmüştür.



Şekil 4.46: Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan galvanizli çelik kuponların Şubat ayına ait a) Nyquist, b) Bode ve c) Faz-frekans eğrileri.



**Şekil 4.47:** Şubat ayında **a)** model sistem, **b)** 6, 168 ve 336 sa'lik temas süresi sonunda çizilen eşdeğer devresi.



**Şekil 4.48:** Şubat ayına ait SEM görüntüleri.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tez çalışması kapsamında galvanizli çelik yüzeylerde biyofilm oluşumu soğutma kulesini simüle eden model su sirkülasyon sisteminde gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda model sistemlerin gerçek sistemleri yansıttığı ortaya konmuştur (Türetgen, 2005, İlhan-Sungur, 2007). Nitekim model sisteme ait kimyasal parametre değerlerinin, Kiester (2008) tarafından gerçek bir soğutma kulesi için önerilen değer aralığında olduğu görülmüştür. Bununla birlikte Minnoş (2008) tarafından rapor edilen gerçek soğutma kulesine ait kimyasal parametre değerlerinin hem bu tez çalışmasındaki değerlerden hem de aynı model sistemi kullanan İlhan-Sungur (2007) tarafından tespit edilenlerden yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durum kimyasal parametrelerin özellikle önemli rol oynadığı çalışmalarda, kesinlikle tespit edilmeleri gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Model su sistemine ait pH değerlerinin zamanla arttığı ve Şubat ayında en yüksek değerine (7.92) ulaştığı ( $r = 0.814$ ,  $p < 0.05$ ) tespit edilmiştir. Model sistem suyunda pH'ın artması, ortamda mikroorganizmaların çoğaldıklarının bir göstergesi olabilir. Nitekim Olson (1993) tarafından yapılan çalışmalarda, soğutma kulesine benzer şekilde hazırlanan su sisteminde pH değerlerinin zamanla arttığı ve bu durumun karışık mikroorganizma popülasyonunun etkilediği reaksiyonlar sonucunda asiditenin azalmasından kaynaklandığı rapor edilmiştir.

Deneyle esnasında Zn'nun birçok mikroorganizma grubuna karşı toksik etkisi olduğu rapor edilmesine rağmen (Gadd ve Griffiths, 1978; Cohen ve diğ., 1991; Utgikar ve diğ., 2003), galvanizli çelik kuponların yüzeyinde gözle görülebilen, heterojen yapıda ve yüzeyden kolaylıkla alınabilen sarımsı-yeşilimsi renkte biyofilm tabakasının oluştuğu gözlenmiştir. Makroskopik fotoğraflar ve SEM görüntüleri de bakterilerin galvanizli çelik yüzeyde kolonize olabildiğini göstermektedir. Nitekim Chang ve diğ. (2003), Türetgen ve Çotuk (2005), İlhan-Sungur (2007) ve Minnoş ve diğ. (2013) de galvanizli çelik yüzeylerde biyofilmin oluştuğunu rapor etmişlerdir. Soğutma sistemlerinde biyofilm oluşumu istenmeyen bir durum olup, başta mikrobiyolojik korozyon olmak üzere,

filtrelerin tıkanması ve ısı kaybının oluşması gibi sistemin çalışmasını engelleyebilecek ciddi problemlere yol açabilmektedir (Characklis, 1990; Ludensky, 2003).

Model su sisteminde deney süresince biyofilmdeki aerobik heterotrofik bakteri sayısının sudakine göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Türetgen (2005), İlhan-Sungur (2007) ve Almeda ve França (1998) yapmış oldukları model sistem çalışmalarında biyofilmdeki aerobik bakteri sayısının sudakine oranla daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Biyofilmdeki bakteri sayısının sudan yüksek olmasının nedeni; biyofilmin mikroorganizmaları sıcaklık, pH değişiklikleri, kuruma, vb. çevresel koşullardan ve ayrıca biyolojik ve kimyasal antibakteriyel ajanlardan koruması, sahip olduğu su kanalları sayesinde de besinleri depolaması ve atıkların uzaklaştırılması olabilir (Characklis ve Cooksey, 1983; Garrett ve diğ., 2008). Bununla birlikte Minnoş (2008) ve Duda (2010) soğutma kule suyunda bulunan planktonik ve sesil bakteri sayıları arasında anlamlı bir fark tespit etmemişlerdir. Ek olarak çalışmamızda su ve biyofilmdeki bakteri sayıları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir ( $r= 846$ ,  $p<0.01$ ). Kerr ve diğ. (1999) çalışmamıza benzer şekilde aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğunu bildirirken, İlhan-Sungur (2007) biyofilm ve sudaki AHB'ler arasında ters yönde bir ilişki olduğunu rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar ortam koşullarının, biyofilm ve sudaki bakteriler arasındaki ilişki ve buna bağlı olarak da sayıları ve dağılımları üzerine etkisi olduğunun bir göstergesidir.

Biyofilmdeki SRB sayısının, AHB sayılarına benzer şekilde sudakinden anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Bu durum biyofilmin, anaerobik SRB'leri oksijenin toksik etkisinden koruduğunun bir göstergesi olabilir. Nitekim Minnoş (2008) gerçek soğutma kulesi koşulları için de benzer sonuçları rapor etmiştir. Ek olarak sesil ve planktonik SRB sayıları arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki saptanmıştır ( $r=0.949$ ,  $p<0.05$ ). Minnoş (2008) su ve biyofilmdeki anaerobik SRB sayıları arasında bir ilişki tespit etmezken, İlhan-Sungur (2007) aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Bu durum, aerobik bakterilere benzer şekilde ortam koşullarının biyofilm ve sudaki anaerobik bakteriler arasındaki ilişkiyi de etkilediğini göstermektedir.

Deneyle esnasında EPS içeriğindeki toplam karbonhidrat miktarının Kasım ayına kadar arttığı, Aralık ayında azaldığı, Ocak ayından itibaren ise tekrar artış gösterdiği tespit edilmiştir. Aralık ayında karbonhidrat miktarının azalması, EPS'nin mikroorganizmalar tarafından tüketildiğinin bir göstergesi olabilir. Nitekim karışık kültürdeki mikroorganizmaların açlık fazına girdikleri zaman kendi ürettikleri EPS'yi kullanabildikleri rapor edilmiştir (Zhang ve Bishop, 2003; Ceyhan ve Özdemir, 2008). Çalışmamızda EPS içeriğindeki toplam protein miktarının ise deney süresince artma ve azalmalar gösterdiği, aynı zamanda protein ile sudaki fosfat miktarı arasında ters yönde bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir ( $r=-0.828$ ,  $p<0.05$ ). Bu durum karbonhidrata ek olarak proteinin de bakteriler tarafından kullanıldığının ve ayrıca fosfatın proteinin yapısına katıldığının bir göstergesi olabilir. Spoering ve Lewis (2001) ve Teitzel ve Parsek (2003) yaptıkları çalışmalarda EPS'nin negatif yüklü fosfat, sülfat, karboksilik asit gibi fonksiyonel gruplar ile bağ yapmasının biyofilmdeki bakterilerin antimikrobiyal ajanlara karşı daha dirençli hale gelmesini sağladığını rapor etmişlerdir.

Ağırlık kaybı deneylerinden elde edilen veriler, model su sistemindeki galvanizli çeliğin mikrobiyolojik olarak korozyona uğradığına işaret etmektedir. Çalışmamıza benzer şekilde Ilhan-Sungur (2007) ve Minnoş (2008) galvanizli çelik kuponların ağırlık kayıplarının zamana bağlı olarak arttığını, korozyon hızının ise zamana bağlı olarak azaldığını ve böylece galvanizli çeliğin mikroorganizmalar tarafından korozyona uğradığını rapor etmişlerdir. Ağırlık kaybı sonuçlarımızın Ilhan-Sungur'un (2007) çalışması ile yakın değerlerde olduğu gözlenirken, Minnoş (2008)'un yaptığı çalışmaya göre daha düşük değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun Minnoş (2008) tarafından yapılan çalışmanın gerçek soğutma sisteminde yapılmış olması ve sisteme eklenen biyositten kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Ağırlık kaybı ve elektrokimyasal deneylerden elde edilen  $V_{kor}$  değerleri karşılaştırıldığında, aralarında ortalamalar açısından anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, her iki yöntemde de maksimum  $V_{kor}$  değerleri Eylül ayında saptanmasına rağmen, elektrokimyasal deneylerden elde edilen  $V_{kor}$  değerinin (19.6 mpy), ağırlık kaybı deneylerinden elde edilenin (1.41 mpy) yaklaşık 14 katı olduğu belirlenmiştir. Unsal ve diğ. (2016) ve Arkan (2015) kapalı laboratuvar düzeneğinde

gerçekleştirdikleri çalışmalarında, elektrokimyasal deneylerden elde edilen verilerin, ağırlık kaybı yönteminden elde edilenlerden yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Bu durumun yöntem farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü ağırlık kaybı yönteminde tüm yüzey alanı hesaba katılırken, elektrokimyasal ölçümler sadece  $1 \text{ cm}^2$ 'lik alanda olan durumu yansıtmaktadır. Eğer elektrokimyasal analizlerde, ölçüm alınan  $1 \text{ cm}^2$ 'lik alanda çukurcuk korozyonu var ise, o noktadaki korozyon hızı yüksek değerlerde ölçülmektedir.

Metal yüzey su ile temas ettiğinde, organik moleküller ve sıvı faz birleşerek yüzeyde hazırlayıcı tabaka olarak adlandırılan bir film tabakası oluşturmaktadır (Donlan, 2002). Bu süre zarfında mikroorganizmaların yüzeye tutunabildikleri, ancak EPS üretiminin ilk 45 dk sonra gerçekleştiği rapor edilmiştir (Characklis ve Marshall, 1990). Nyquist eğrilerine göre, 0.5 sa (Ağustos) sonra galvanizli çeliğin yüzeyini tamamen kaplayan ve korozyona karşı yüksek direnç gösteren bir hazırlayıcı film tabakasının oluştuğu saptanmıştır. Diğer aylara ait Nyquist eğrilerinde merkezden basık ve kapalı bir eğri spektrumu gözlenmiştir. Bu durum yüzeyin kararlı olmadığını ve ideal egriden sapmaların meydana geldiğini dolayısıyla galvanizli çelik yüzeyindeki tabakanın heterojen yapıda olduğuna işaret etmektedir. Nitekim Sheng ve diğ. (2007) ve Hernandez-Gayosso ve diğ. (2005) benzer eğrileri çalışmalarında gözlemlemiş ve yüzeyde yük transfer direncinin tek başına olmadığını, ayrıca bir difüz tabakanın bulunduğunu, bu durumun yüzeyin porözitesi ile ilgili olduğunu ve bu nedenle eğrilerde kapasitör yerine sabit faz elementinin (CPE) kullanılması gerektiğini rapor etmişlerdir.

Ağustos ayına ait eğrinin düşük faz açısından ( $1.3\Phi$ ), diğer aylarda ise eğrilerin daha yüksek faz açılarından başladığı tespit edilmiştir. Eğrilerin faz açılarının yüksek değerlerden başlamış olması, metal yüzeyde oluşan biyofilmin porlu bir yapıya sahip olduğuna işaret etmektedir. SEM fotoğrafları da oluşan biyofilm tabakasının por içerdiğini doğrulamaktadır. İlhan-Sungur ve diğ. (2015) ve Unsal ve diğ. (2016) de benzer durumu çalışmalarında rapor etmişlerdir. Ancak Ocak ve Şubat aylarında başlangıç faz açılarının azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum ise yüzeydeki porların azaldığı ve özellikle Şubat ayında metal yüzeyinde yüksek miktarda birikintilerin oluştuğuna işaret etmektedir. Ek olarak faz-frekans eğrilerindeki lupların Ağustos ayına göre yüksek frekans bölgesine doğru kaydığı tespit edilmiştir. Bu durumun biyofilm oluşumundan

kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim Doğru-Mert ve diğ. (2011) *Spirulina* sp. varlığında faz-frekans eğrilerinin, kontrol ortamına göre yüksek frekans bölgesine doğru kaydığını rapor etmişlerdir.

Deney süresince elektrokimyasal empedans verilerinden elde edilen verilerle tanımlanan eşdeğer devrelere göre, Eylül ayında oluşan biyofilmin yapısının Ekim ayındakine benzer olduğu, Kasım ve Aralık ayında biyofilmdeki porlaşmanın artması ile birlikte bu aylarda korozyonun difüzyon kontrolünde gerçekleştiği, Ocak ve Şubat aylarında ise biyofilmin tabakalaştığı ve difüzyonun etkisinin azaldığı görülmektedir. Bu durum deney süresince biyofilmin tabakalaşmasının ve dolayısıyla da yapısının sürekli olarak değiştiğini göstermektedir. Bu da biyofilmin dinamik bir yapıda olduğunun ve sürekli olarak yapısının değiştiğinin bir göstergesidir. Nitekim, AHB sayımı sırasında da her aya ait Petri kutularında farklı baskın koloni tipleri gözlemlenmiştir. Costerton ve diğ. (1995) ve Stoodley ve diğ. (2002) de biyofilmin kompleks ve dinamik yapıda olduğunu çalışmalarında rapor etmişlerdir.

Kasım ve Şubat aylarına ait EDS analizlerinde, biyofilm tabakasının Ca elementi içerdiği tespit edilmiştir. Ca iyonları biyofilmin yapısında iskelet görevi görerek biyofilmin mimarisini etkilemektedir (Donlan, 2002). EPS içeriğindeki negatif yüklü polimerler, iyonik etkileşimlerle Ca iyonlarını bağlamakta ve EPS'nin çapraz köprülü hale gelmesini ve jelimsi bir yapıya dönüşmesini sağlamaktadır (Hoyle ve Costerton, 1989). Sarkisova ve diğ. (2005), Ca iyonu eklenen biyofilmlerde hücre dışı proteaz miktarının arttığını ve proteazların alginat içinde saklandığını tespit etmişlerdir. Ayrıca hücre dışı virülans faktörü olan pikosiyanın miktarının Ca elementinin eklenmesiyle arttığını saptamışlardır. Bununla birlikte tez çalışmasında Eylül ayında kuponların yüzeyindeki biyofilmin Ca elementini içermediği gözlenmiştir. Bu durum, biyofilmin ilk ayda olgunlaşmadığına işaret etmektedir. Bununla birlikte deney süresince AHB sayısının genel olarak değişmemesi, literatür bilgisine göre biyofilmin olgunlaştığı şeklinde yorumlanmaktadır (Stewart ve Franklin, 2008; Park ve diğ., 2015). Bu sonuçlar, bakterilerin plato fazı oluşturma sürecine göre “olgun biyofilm” atfının yapılmasının doğru olmadığını bir göstergesi olabilir. Bununla birlikte, Donlan (2002) yaptığı çalışmada su kanallarına ve heterojen bir yapıya sahip 14 günlük biyofilmi olgun olarak nitelendirmiştir.



Biyofilm oluşumu, birçok endüstride ciddi problemler oluşturmaktadır. Bu nedenle endüstriyel sistemlerde mikrobiyal aktivitenin kontrolü ve inhibisyonu gerekmektedir. Endüstriyel su sistemlerinde hem biyofilm oluşumunu hem de mikrobiyolojik korozyonu engelleyebilmek için biyosit olarak genellikle klor kullanılmaktadır. Fakat klorun etkisinin sıcaklık ve pH'a bağlı olması, biyofilme giricilik özelliğinin olmaması, insan ve çevreye karşı toksik etki göstermesi, ayrıca işleme ve depolama problemleri gibi sınırlamalarından dolayı son yıllarda su sistemlerinin iyileştirilmesinde Ag ve Cu gibi metal iyonlarının kullanımı artmaktadır. Ancak su sistemlerinin iyileştirilmesinde Ag ve Cu iyonlarının tek başına uygulandıklarında mikroorganizmaların gelişimini engellemede yetersiz kaldıkları, birlikte kullanıldıklarında ise, sinerjistik etki göstererek su dezenfeksiyonunun daha etkin bir şekilde gerçekleştirilmesini sağladıkları tespit edilmiştir (Thurman ve Gerba, 1989; Martinez ve diğ., 2004). Ag ve Cu iyonlarının birlikte kullanıldığı birçok çalışma rapor edilmiştir (Yahya ve diğ., 1990; Landeen ve diğ., 1989; Lin ve diğ., 1996; Rohr ve diğ., 1999). Ayrıca son zamanlarda metaller ile dezenfektanların kombinasyon halinde etkinliği üzerine yapılan çalışmalar da önem kazanmaya başlamıştır (Velasquez ve diğ., 2008; Luna-Pabello ve diğ., 2009; Blanc ve diğ., 2005). Çalışmalarda kullanılacak olan Ag ve Cu iyon konsantrasyonlarının EPA'nın belirlediği içme suyu limitlerinin altında olması önerilmektedir. Tez çalışması kapsamında ise EPA tarafından belirlenen maksimum Ag için 0.1 ppm ve Cu için 1.3 ppm iyon konsantrasyon miktarları kullanılmıştır. Çünkü Ag-Cu iyonları ile gerçekleştirilen çalışma sonuçlarında EPA limitlerinin altındaki iyon konsantrasyon değerlerinin biyosidal etkinliklerinin yeterli olmadığı rapor edilmiştir (Martinez ve diğ., 2004; Silvestry-Rodriquez ve diğ., 2008; Kusnetsov ve diğ., 2001; Rohr ve diğ., 2000).

Ag-Cu iyonlarına maruz kalan sesil aerobik bakteri sayısının planktonik fazdakinden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ( $p < 0.01$ ). Bu durum planktonik fazdaki bakterilerin ağır metallerin toksik etkisinden kaçmak için verdiği doğal bir tepki olabileceği gibi, sesil aerobik bakterilerin Ag-Cu iyonlarına karşı dayanıklılığının planktonik formlarına göre daha fazla olduğunun da bir göstergesi olabilir. Nitekim ağır metaller ile gerçekleştirilen çalışmalarda biyofilmdeki bakterilerin, planktonik formlarına göre daha dirençli oldukları rapor edilmiştir (Spoering ve Lewis, 2001; Teitzel ve Parsek, 2003; Gadd, 2008).

Deney süresince planktonik AHB sayısının 6 sa'lik temas süresine kadar azaldığı ve sonrasında artış gösterdiği, biyofilmdeki sayılarının ise ilk 5 aylık (Eylül-Ocak) deney sürecinde 24. sa'te kadar azaldığı ve sonrasında arttığı tespit edilmiştir. Bu durum sesil AHB'lerin planktoniklere göre Ag-Cu iyonların toksik etkisinden daha uzun süre etkilendiğine işaret etmektedir. Yun-Shih ve Lin (2010) model sistemde yaptıkları çalışmada farklı konsantrasyonlardaki Ag ve Cu iyonlarının saf planktonik ve sesil patojen bakteri türleri üzerine etkisini 120 sa'lik temas süresi boyunca araştırmışlardır. Ag-Cu iyonlarının planktonik formdaki *P. aeruginosa*'nın 12 sa'lik temas süresine kadar azaldığı, daha sonra arttığı, sesil formdakilerin ise 24 sa'lik temas süresine kadar azaldığı, sonrasında arttığını rapor etmişlerdir. Bu durum Ag-Cu iyonları ile gerçekleştirilen biyosidal etkinlik testlerinde temas süresinin kısa olmaması gerektiğine işaret etmektedir.

Aralık ayından itibaren, genel olarak 168 sa'lik temas süresinden itibaren planktonik AHB sayısında log düşüşlerinin olmadığı belirlenmiştir. Benzer durum sesil AHB sayılarında da gözlenmiştir. Bu durum ilk 24 sa'lik temas süresinde bakterilerin VBNC fazına girmiş olduğuna işaret edebilir. Cu iyonlarının toksik etkisi nedeniyle birçok Gram-negatif bakteri türünün VBNC fazına girdiği rapor edilmiştir (Alexander ve diğ., 1999; Oliver, 2005). Dwidjosiswojo ve diğ. (2011) Cu iyonlarının bina su tesisatında sağlık tehlikesi oluşturan potansiyel patojen olan *P. aeruginosa* üzerine toksik etkisini araştırdıkları çalışmalarında 20°C'de 24 sa'lik temas süresi sonrasında mikroskoptaki toplam hücre sayısında azalma gözlemezlerken, kültürdeki sayılarında azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Bu azalmanın bakterinin VBNC fazına girmiş olmasından kaynaklandığını öne sürmüşlerdir. Aynı çalışmada sisteme Cu iyonları için şelatör madde ekleyerek *P. aeruginosa*'nın tekrar üremesini sağladıkları rapor edilmiştir. Bununla birlikte bazı çalışmalarda birçok bakteri türünün ağır metallerle maruz kaldığında VBNC fazından resüsitasyon (canlanma) yapma kabiliyetinin olduğu ve stres ortadan kalktığında kültüre edilebilir forma döndükleri rapor edilmiştir (Roszak ve diğ., 1984; Bates ve Oliver, 2004). Ducret ve diğ. (2014) ise laboratuvar ortamında geliştirilen durağan fazdaki *L. pneumophila*'nın hücre süspansiyonlarına biyosit eklenmesinden sonra VBNC fazına girdiğini fakat biyositten etkilenmiş hücrelerin besiyerindeki pirüvat ve/veya glutamatı kullanarak tekrar kendilerini yenileyebildiklerini tespit etmişlerdir. Pirüvat ve glutamatın antioksidan etkisi bilinmektedir. Bu yenilenme olayının nasıl meydana geldiği

tam olarak bilinmemekle birlikte, askorbik asit, propil galat veya  $\alpha$ -ketoglutarat da dahil olmak üzere diğer antioksidan bileşikler besiyeri ortamına eklendiğinde, kültüre edilemeyen *L. pneumophila* hücrelerinin yenilenmediği, dolayısıyla, piruvat ve glutamatın etkisinin antioksidan özellikleriyle ilişkili olmadığı tespit edilmiştir. Piruvat ve glutamatın, *L. pneumophila*'nın karmaşık yaşam döngüsünde tekrar üremesini destekleyen proteinleri sağlamış olabileceğini belirtmişlerdir. Nitekim bizim çalışmamızda da özellikle 24. sa'te protein miktarlarında bir artış gözlenmiştir.

Ek olarak, alginat, ağır metaller için güçlü şelat oluşturan bir maddedir (Park ve diğ., 2007). Çalışmamızda EPS içeriğinde ağır metaller ile şelat oluşturacak bir madde olup olmadığı bilinmemekle birlikte, EPS, iyonları bağlayarak 24 sa'lik temas süresi sonrasında Ag ve Cu'nun etkinliğinin azalmasına neden olmuş olabilir. Ek olarak, Karcprzak ve Malina (2005) ise küf şeklindeki mantarların metal iyonlarını hücre duvarlarına bağlama yeteneğinin yanı sıra, metal iyonları ve hücre dışı enzimler arasında kimyasal kompleksler oluşturma kapasitesine sahip olduklarını belirtmişlerdir. Model sistem suyunda bulunan mantarların metal iyonlarını bağlama özellikleri sayesinde Ag ve Cu iyonlarının toksik etkisi azalmış olabilir. Nitekim özel mantar besiyerlerine yapılan ekimlerde farklı morfolojilerde çok sayıda mantarın model sistem suyunda var olduğu tespit edilmiştir. Jjiemba ve diğ., (2015) yaptıkları çalışmaların Ag-Cu iyonizasyon etkinliğinin, suyun pH ve TDS değerlerinden etkilendiğini rapor etmişlerdir. Ag ve Cu iyonlarının varlığında pH 9'da *Legionella* sp.'nin sadece onda birine etki ettiğini, bununla birlikte pH değeri 7-8 arasındaki değerlerde olduğunda su sisteminden rahatlıkla *Legionella*'yı elimine edebildiklerini bildirmişlerdir. Tez çalışmasında saptanan pH değerlerinin 7-8 arasında olduğundan dolayı, Ag-Cu iyonlarının etkinliğinin pH değerlerinden etkilenmediği düşünülmektedir. Ayrıca 168 sa'lik temas süresinden itibaren Ag-Cu iyonlarının biyofilme giriciliği ve dolayısıyla biyofilmdeki bakteriler üzerine toksik etkisi azalmış ve böylece biyofilmde çoğalan AHB'ler suya geçmiş olabilir. Deneyler esnasında özellikle 168 sa'lik temas süresi sonrasında deney ortamında biyofilm kalıntıları görülmekle birlikte (Ek-1), bu durumu netleştirebilmek için su ve biyofilm örneklerinden DAPI-CTC analizlerinin yapılması gerekmektedir. Tez kapsamı dışında deney süresince her temas süresi sonunda su ve biyofilm örneklerinden bu analizler yapılmış olup, sonuçlar değerlendirme aşamasındadır.

Eylül ayında sesil AHB bakteri sayılarının log düşüşlerinin Ekim, Kasım, Aralık, Ocak ve Şubat aylarında tespit edilenlerden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.01$ ). Bu durum Eylül ayında biyofilmin henüz yeterli olgunluğa erişmediğine ve bu yüzden de Ag-Cu iyonlarından diğer aylara göre daha fazla etkilendiğine işaret edebilir. Nitekim makroskobik ve SEM fotoğrafları ile birlikte EDS analizleri de Eylül ayındaki biyofilmin henüz gelişmiş bir biyofilm yapısına ulaşmadığı sonucunu desteklemektedir. Diğer aylardan itibaren ise biyofilmin gelişmesi ile EPS'nin ağır metalleri bağlama yeteneği sayesinde, ağır metallerle karşı daha koruyucu hale gelmiş, biyofilme difüze olmalarını geciktirmiş ve böylece ağır metallerin toksik etkilerini azaltmış olabilir (Jang ve diğ., 2001; Pal ve Paul, 2008).

Ayrıca sudaki AHB log düşüşünün ise SRB'den anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ). Bunun nedeni aerobik bakterilerin biyofilmin üst katmanında yer almalarından dolayı dış ortam koşullarının direkt etkisi altında kalmaları ve dış koşullardan anaerobik bakterilere göre daha fazla etkilenmeleri olabildiği gibi (Bryers ve Characklis, 1982; Characklis ve Cooksey, 1983; Costerton ve diğ., 1987), SRB'lerin Ag-Cu iyonlarına karşı daha dirençli olduğuna da işaret etmektedir. Nitekim Martinez ve diğ. (2004) SRB içeren karışık bakteri popülasyonunda 0.6 ppm Ag ve 1.2 ppm Cu konsantrasyonlarının SRB'ler üzerine inhibisyon etkisi olmadığını rapor etmişlerdir.

Deney süresince Ag-Cu iyonları varlığında iyonsuz ortamdakinin aksine su ve biyofilmdeki SRB sayıları arasında farkın anlamlı olmadığı saptanmıştır ( $p>0.05$ ). Bu durum Ag-Cu iyonlarının su ve biyofilm arasındaki bakteri geçişini etkilediğinin bir göstergesidir.

Sonuçlar, Ag ve Cu iyonlarının biyofilm ve sudaki AHB ve SRB'ler üzerine gösterdiği biyosidal etkinliğinin aynı olmadığını göstermektedir. Martinez ve diğ. (2004) soğutma kulesinde farklı mikroorganizma grupları ile yaptığı çalışmada 1.2 ppm Ag ve 0.6 ppm Cu konsantrasyonları ile 72 sa'lik temas süresi sonunda sudaki SRB sayısının belirgin şekilde azaldığını, bununla birlikte bu konsantrasyon miktarının heterotrofik bakterileri inaktive etmek için yetersiz olduğunu, aksine bakterileri daha agresif yaptığını rapor etmiştir. Bununla birlikte Arkan ve diğ. (2015) Ag-Cu iyonlarının *Desulfovibrio* sp.'nin hem sayısını arttırdığını hem de bakterinin metale karşı daha agresif bir tavır sergilemesine yol açtığını bildirmiştir. Yun-Shin ve Lin (2010) ise model su sisteminde

yaptıkları çalışmada Ag-Cu iyonlarının saf patojen bakteri türlerini farklı temas sürelerinde inaktive ettiklerini rapor etmişlerdir. Çalışmalar Ag ve Cu iyonlarının toksik etkisinin mikroorganizma türüne, ortamdaki suyun kimyasal özelliklerine ve çevresel faktörlere bağlı olduğunu göstermektedir (Gadd, 1992; Sani ve diğ., 2001; Pal ve Paul, 2008; Gadd, 2010).

Deney süresince Eylül ayı dışında Ag-Cu iyonlarına maruz kalan biyofilmdeki toplam karbonhidrat ve protein miktarında 168. sa'te anlamlı bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Bu azalmanın nedeni, bakterilerin metabolik aktivitelerinin düşmesi sonucunda EPS üretiminin azalması ve beraberinde bakterilerin kendi EPS'lerini tüketmeleri olabilir. Karışık kültürdeki bakterilerin açlık fazına girdikleri zaman kendi ürettikleri EPS'yi kullanabildikleri ve karbonhidratı proteinelere göre daha fazla tükettikleri rapor edilmiştir (Boyd ve Chakrabarty, 1994; Zhang ve Bishop, 2003). Biyofilmdeki AHB sayısındaki 168 sa'lik temas süresinden sonra meydana gelen artış, karbonhidrat ve proteinleri kullanarak VBNC fazından vejetatif hale geçtiklerini de ifade edebilir. Nitekim VBNC fazından çıkan bakteri türlerinde, biyositten etkilenmiş hücrelerin pirüvat ve/veya glutamatı kullanarak tekrar kendilerini yenileyebildikleri rapor edilmiştir (Ducret ve diğ., 2014).

Ag-Cu iyonlarına maruz kalan deney kuponlarının ağırlık kayıplarının, kontrol 2 kuponlarındakinden anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ( $p<0.01$ ) Bu durum, Ag-Cu iyonları varlığında da iyonsuz model sistem ortamındaki gibi galvanizli çeliğin mikrobiyolojik korozyona uğradığını göstermektedir. Bununla birlikte deney kuponlarına ait korozyon hız verileri kontrol 3 deneylerinden elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında, Ag-Cu iyonlarının galvanizli çeliğin mikrobiyolojik korozyona uğrama hızını değiştirmedini göstermektedir. Tez çalışmasına benzer şekilde karışık bakteri grubu içerdiği düşünülen biyofilmin galvanizli çelikte neden olduğu mikrobiyolojik korozyona Ag-Cu iyonlarının etkisinin nasıl olduğuna dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. İlhan-Sungur ve diğ (2015) Ag-Cu iyonları varlığında saf *Desulfovibrio* sp. bakterisinin galvanizli çeliğin korozyon hızını arttırdığını, bununla birlikte saf *Desulfosporosinus* sp. bakterisine maruz bırakılan metalin ise korozyon hızının azaldığını rapor etmişlerdir. Arkan (2015) Ag-Cu iyonları varlığında *Desulfovibrio* sp. bakterisinin 316L paslanmaz çelik üzerine korozyon etkisinin, iyonsuz kültür ortamındakinden 12 kat

fazla olduğunu tespit etmiştir. Unsal ve diğ. (2016) ise Ag-Cu iyonları varlığında saf *Desulfovibrio* sp. bakterisinin paslanmaz çeliğin korozyon hızını azalttığını tespit etmişlerdir. Böylece, Ag-Cu iyonlarının biyofilm içeren metal yüzeylerde neden olduğu mikrobiyolojik korozyona olan etkisinin, bakteri türüne, deney koşullarına ve çalışmada kullanılan metal malzemenin cinsine bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Nitekim Videla ve Herrera (2009) mikrobiyolojik korozyonun tek bir mekanizma ya da tek bir türe bağlı olmadığını, karışık mikroorganizmaları içeren biyofilmde, biyofilm ve metal arasında farklı reaksiyonların oluştuğunu, mikroorganizmaların türünün, iyonların konsantrasyon miktarlarının, pH ve oksijen seviyelerindeki değişimlerin, metalin korozyon hızını etkilediğini rapor etmişlerdir. Bu nedenle tek tür ile yapılan çalışmaların gerçek sistemlerdeki durumu tam olarak yansıtmadığı düşünülmektedir.

Ag-Cu iyonlarına maruziyet sürelerine göre ise deney kuponlarının korozyon hızının zamanla azaldığı ( $p < 0.01$ ), kontrol kuponlarının ise zamanla arttığı tespit edilmiştir ( $p < 0.01$ ). Bu durum Ag-Cu iyonlarının galvanizli çeliğin korozyonunu kimyasal olarak hızlandırdığının bir göstergesi olabilir. Ag ve Cu iyonlarının korozyona neden olmadığı birçok ticari firma tarafından ifade edilmekle birlikte, Ag ve Cu iyonlarının karışık mikroorganizma içeren metalik yüzeylerde (paslanmaz çelik, galvanizli çelik, bakır) mikrobiyolojik korozyon davranışına olan etkisi veya bu iyonların direk olarak metal yüzeyde korozyona yol açıp açmadığına dair bilimsel bir çalışmaya rastlanmamıştır. Kim ve diğ. (2004) yaptığı derleme çalışmasında inorganik dezenfektanların aksine, Ag-Cu iyonlarının korozyon problemlerine neden olmadığını rapor etmiş, ancak referans verilen çalışmalarda korozyon deneylerine rastlanmamıştır.

Biyofilmdeki Ag konsantrasyon miktarının sabit kaldığı, Cu iyonlarının miktarında ise azalma ve artışların olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, Ag'nin bakteriler tarafından tüketilmediğinin, bununla birlikte Cu'nun metabolizmada kullanıldığının bir göstergesi olabilir. Nitekim Cu, bakteri metabolizmasındaki birçok enzim reaksiyonunda kofaktör olarak kullanılmakta ve sitokrom c oksidaz, süperoksit dismutaz vb. enzimlerin sentezinde yer almaktadır (Arredondo ve Nunez, 2005; Madigan ve Martinko, 2005).

Ag-Cu iyonlarına maruz kalan kuponların  $E_{kor}$  değerlerinin aylara ve temas sürelerine göre değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak Ocak ve Şubat aylarında diğer aylardan farklı olarak galvanizli çelik kuponların  $E_{kor}$  değerlerinin tüm temas süreleri

boyunca model sisteme göre daha soy bölgede olduğu belirlenmiştir. Ag ve Cu iyonlarına maruz kalan galvanizli çeliğin  $E_{kor}$  değerlerinin model sisteminkine göre soy değerlerde olması, yüzeyin diğer aylara göre daha kararlı bir yapıda olduğuna ve bu aylarda Ag-Cu iyonlarının biyofilme giricilik etkisinin diğer aylara göre daha az olduğuna işaret edebilir. Biyofilmin kompleks ve dinamik oluşu nedeniyle, içerisindeki farklı mikroorganizma türlerinin çoğalmaları ve aktiviteleri sonucu metalin indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonları sürekli değişmekte ve bu durum metalin korozyon davranışını ve hızını etkilemektedir. Nitekim Ag-Cu iyonlarına maruz bırakılan kuponların  $V_{kor}$  değerlerinde de hem ay hem de temas süreleri bazında değişkenlik gözlenmiş olup, artış ya da azalışların belirli bir düzende gerçekleşmediği görülmüştür.

Deney süresince elde edilen EIS verilerine göre, Ekim ayı ile birlikte Ag-Cu iyonları ile ilk temas süresinden (0. sa) itibaren metalin direncinin model sisteme göre arttığı, Şubat ayında ise metalin direncinin 24 sa'lık temas süresi sonuna kadar korunduğu tespit edilmiştir. Bu durum biyofilmin zamanla kalınlaştığına ve/veya olgunlaştığına ve bu nedenle de korozyona ve Ag-Cu iyonlarının giriciliğine karşı yüzeyde iyi bir bariyer özellik gösterdiğine işaret etmektedir. Bununla birlikte elektriksel eşdeğer devreler Ag-Cu iyonlarının temas süresine bağlı olmaksızın, biyofilmin yapısını ve dolayısıyla da galvanizli çeliğin korozyon davranışını değiştirdiğini göstermektedir. Sonuçlar hem bakteri sayıları hem de biyofilmin yapısı açısından sıfır saatlik temas süresinin biyosit çalışmalarında önemli olduğunu, çalışmalarda sıfır saatlik temas süresinin de dikkate alınması gerektiğine işaret etmektedir. Nitekim Pereira ve diğ. (2000) ve Tote ve diğ. (2010) biyosit ile ilgili çalışmalarında sıfır saatlik temas süresi sonrası bakteri sayılarında önemli değişikliklerin olduğunu rapor etmişlerdir.

Kasım ve Şubat aylarında faz-frekans eğrilerinde düşük frekansta küçük lupların gözlenmesi, yüzeydeki birikintilerden kaynaklanan korozyon ürünlerinin oluşturduğu tabaka ile ilişkili olabilir. Nitekim SEM görüntüleri de biyofilm yapısının değiştiğini, yüzeyde kumsu, heterojen yapıda ve porlu bir tabakanın varlığına işaret etmektedir. Elektriksel eşdeğer devreler, Ag-Cu iyonlarının temas süresine bağlı olmaksızın biyofilmin yapısını ve dolayısıyla da galvanizli çeliğin korozyon davranışını değiştirdiğini göstermektedir. Raman ve diğ., (2008), Hernandez-Gayosso ve diğ. (2005)

EIS yöntemini kullandıkları çalışmalarında biyosit kullanımının metal yüzeyini değiştirdiğini rapor etmişlerdir.

Ag-Cu iyonlarına maruz kalan biyofilmin, yüksek miktarda Zn, O, C ve Si ile birlikte eser miktarlarda Fe, S, P içerdiği saptanmıştır. Zn ve O elementlerinin varlığı çinko hidroksitlerle ilişkili olabilir, çünkü bu metalin korozyon direnci koruyucu  $Zn(OH)_2$  filminin oluşumundan kaynaklanmaktadır. Ayrıca Ocak ve Şubat aylarında biyofilmde Fe elementinin saptanması da yüzeydeki Zn'nin çözüldüğünün ve çelik yüzeyin açığa çıkarak korozyona uğradığının bir göstergesidir. Nitekim İlhan-Sungur (2007) da benzer sonuçları rapor etmiştir. Suban ve diğ. (2010) galvanizli çelik yüzeylerde SRB varlığında biyofilm içinde yuvarlak şekilli ZnS agregatlarının oluştuğunu ve bu yapıların metali koruduğunu rapor etmişlerdir. Tez çalışmamızda SEM görüntülerinde yuvarlak şekilli agregatlara rastlanmış olup, biyofilmde ZnS bileşikleri oluşmuş olabilir. Ayrıca EDS analizlerinde biyofilmde düşük miktarda P elementi saptanmıştır. Bu durum biyofilmde fosfor bileşiklerinin oluştuğuna işaret edebilir. Nitekim Iverson ve Olson (1983) uçucu fosfor bileşiklerinin SRB aktivitesi ile ya da çevredeki inorganik fosfat bileşikleri ve hidrojen sülfür'ün reaksiyonu ile üretildiğini rapor etmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilen şekilde özetlenmiştir:

1. Deney süresince EIS deneyleri ve yüzey analizleri ile olgunlaşma sürecindeki biyofilmin tabakalaştığı ve yapısının değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum biyofilmin dinamik bir yapıda olduğunun ve sürekli olarak değiştiğinin bir göstergesidir.
2. Deney süresince EPS'deki protein miktarının değişkenlik gösterdiği ve ayrıca protein ile sudaki fosfat miktarı arasında ters yönde bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir ( $r=-0.828$ ,  $p<0.05$ ). Bu durum karbonhidrata ek olarak proteinin de bakteriler tarafından kullanıldığının ve ayrıca fosfatın proteinin yapısına katılarak fosfoprotein oluşturduğunun bir göstergesi olabilir.
3. Model sisteme ait eğrilerde yüzeyde yük transfer direncinin tek başına olmadığını, ayrıca bir difüz tabakanın bulunduğunu, bu durumun yüzeyin porözitesi ile ilgili



olduğunu ve bu nedenle eğrilerde kapasitör yerine sabit faz elementinin (CPE) kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

4. Deney süresince model sistemdeki AHB sayısının genel olarak değişmemesi, literatür bilgisine göre biyofilmin olgunlaştığı şeklinde yorumlanırken, EIS verilerine göre elde edilen sonuçlar, bakterilerin plato fazı oluşturma sürecine göre “olgun biyofilm” atfının yapılmasının doğru olmadığı görüşüne varılmıştır.
5. EIS verileri, Ag-Cu iyonlarının biyofilmin yapısını değiştirdiğini göstermektedir.
6. Ag-Cu iyonlarına maruz kalan planktonik AHB sayısının 6 sa’lik temas süresine kadar azaldığı ve sonrasında artış gösterdiği, biyofilmdeki sayılarının ise ilk 5 aylık (Eylül-Ocak) deney sürecinde 24. sa’te kadar azaldığı ve sonrasında özellikle 168. sa’ten itibaren önemli ölçüde artış gösterdiği tespit edilmiştir. İlk 24 sa’lik temas süresi boyunca bakterilerin VBNC fazına girmiş olabileceği düşünüldüğünden dolayı, karışık mikroorganizma gruplarını içeren biyofilm ile yapılan antimikrobiyal çalışmalarında temas süresinin önemli olduğu, kısa temas sürelerinin biyosit etkinliğini değerlendirmede yetersiz olduğu belirlenmiştir.
7. Sudaki AHB log düşüşünün SRB’den anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.01$ ). Bunun nedeni aerobik bakterilerin biyofilmin üst katmanında yer almalarından dolayı dış ortam koşullarının direkt etkisi altında kalmaları ve dış koşullardan anaerobik bakterilere göre daha fazla etkilendiklerine işaret etmektedir. Bu durum Ag ve Cu iyonlarının toksik etkisinin mikroorganizma türüne ve dolayısıyla ekolojisine bağlı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle tek tür ile yapılan biyofilm çalışmaları gerçek sistemlerdeki koşulları yansıtmayabilir. Ag-Cu ile ilgili biyosit etkinlik çalışmalarında hedeflenen ortamın saf yada karışık kültür içerip içermediğinin göz önünde bulundurulması ve ayrıca karışık kültürdeki bakteri populasyon çeşitliliğinin de dikkate alınması önerilmektedir.

8. Sonuçlar hem bakteri sayıları hem de biyofilmin yapısı açısından sıfır saatlik temas süresinin biyosit çalışmalarında önemli olduğunu, çalışmalarda sıfır saatlik temas süresinin de dikkate alınması gerekliliğine işaret etmektedir.
9. Ag -Cu iyonlarına temas sürelerine göre ise deney kuponlarının korozyon hızının zamanla azaldığı ( $p<0.01$ ), kontrol kuponlarının ise zamanla arttığı tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ). Bu durum Ag-Cu iyonlarının galvanizli eliğın korozyonunu kimyasal olarak hızlandırdığının bir göstergesi olabilir.
10. Korozyon oluşum analizlerinden elde edilen veriler, Ag-Cu iyonları varlığında model su sistemindeki gibi Ag-Cu iyonları varlığında da galvanizli eliğın mikrobiyolojik olarak korozyona uğradığına işaret etmektedir.
11. Ağırlık kaybı ve elektrokimyasal veriler karşılaştırıldığında, metallerin mikrobiyolojik korozyonu üzerine biyositlerin etkinliklerinin test edilmesinde her iki yöntemin de birlikte kullanılması gerekliliğı ortaya konmuştur.
12. 504 sa'lik temas süresi sonunda EPA'nın önerdiği maksimum Ag (0.1 ppm) ve Cu (1.3 ppm) iyon konsantrasyonlarının karışık mikroorganizmaları içerdiği düşünölen biyofilm üzerine biyosidal etkinliğinin yeterli olmadığı saptanmıştır. Bu nedenle daha yüksek konsantrasyonlarda Ag ve Cu iyonlarının kullanımı EPA standartlarına uygun olmayacağından dolayı, soğutma kulelerinde Ag-Cu iyonizasyon sisteminin kullanımını önerilmemektedir.

## KAYNAKLAR

- Abad, F.X., Pinto, R.M., Diez, J.M., Bosch, A., 1994, Disinfection of human enteric viruses in water by copper and silver in combination with low level of chlorine, *Applied environmental microbiology*, 60 (7), 2377-2383.
- Adeeba, F.K., Patil, A.P., Rao, T.S., 2011, Effect of zinc addition to copper in improving its corrosion resistance in sulfide polluted synthetic seawater, *Transactions of the indian institute of metals*, 64 (1-2), 99-103.
- Alabbas, F.M., Bholra, R., Spear, J.R., Olson, D.L., Mishra, B., 2013, Electrochemical characterization of microbiologically influenced corrosion on linepipe steel exposed to facultative anaerobic *Desulfovibrio* sp., *International journal of electrochemical science*, 8, 859-871.
- Alexander, E., Pham, D., Steck, T.R., 1999, The viable-but-nonculturable condition is induced by copper on *Agrobacterium tumefaciens* ve *Rhizobium leguminosarum*, *Applied environmental microbiology*, 65, 3754–3756.
- Allen, M., Lauro, F.M., Williams, T.J., Burg, D., Siddiqui, K.S., De Francisci, D., 2009, The genome sequence of the psychrophilic archaeon, *Methanococcoides burtonii*: the role of genome evolution in cold-adaptation, *ISME journal*, 3, 1012–1035
- Almeda, M. and França, F.B., 1998, Biofilm formation on brass coupons exposed to cooling system of an oil refinery, *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, 20, 39-44.
- Allison, D.G., 2003, The biofilm matrix, *Biofouling*, 19, 139-150.
- American Public Health Association (APHA), 1981, Standard methods for the examination of water and wastewater, American Public Health Association, Washington DC, 0-87553-091-5.
- American Society for Testing And Material, 2011, Practice for preparing, cleaning and evaluating corrosion test specimens, In: Annual book of ASTM standards, Designation: G1-81, American Society for Testing Materials, Philadelphia, 89-93.
- Aparna, M.S., Yadav, S., 2008, Biofilms: microbes and disease, *Brazilian journal of infectious disease*, 12 (6), 526-30.
- Arkan, S., Ilhan-Sungur, E., Cansever, N., 2016, Corrosive metabolic activity of *Desulfovibrio* sp. on 316L stainless steel, *Journal of materials engineering and performance*, 25, 12, 5352-5362.

- Arkan, S., 2015, *316L paslanmaz çeliğinin mikrobiyolojik korozyon davranışına Ag-Cu iyonlarının etkisi*, (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Üniversitesi.
- Arredondo, M., Nunez, M.T., 2005, Iron and copper metabolism, *Molecular aspects of medicine*, 26 (4-5), 313-327.
- Asadzadeh, E., Alam, M., 2014, A survey on hyperbolic cooling towers world academy of science, engineering and technology, *International journal of civil, environmental, structural, construction and architectural engineering*, 8 (10), 1027-1039.
- Bard, J.A., Faulkner, R.L., 2000, *Electrochemical Methods–Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons: New York.
- Barton, L.L., Tomei, F.A., 1995, *Characteristics and activities of sulfate-reducing bacteria in sulfate-reducing bacteria*, ed: Barton L.L., *Biotechnology Handbooks*, Vol. 8, Plenum Press, New York.
- Bates, T.C., Oliver, J.D., 2004, The viable but nonculturable state of kanagawa positive and negative strains of *Vibrio parahaemolyticus*, *Journal of microbiology*, 42, 74–79.
- 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., Zinkevich, V., Tapper, R., Gubner, R., 1997, Direct involvement of an extracellular complex product by a marine sulfate-reducing bacterium in deterioration of steel, *Geomicrobiology*, 15, 121-134.
- Beech I. B., Gaylarde C. C., 1999, Recent advances in the study of biocorrosion – an overview, *Revista de microbiologia*, 30, 177-190.
- Beech, I., Bergel, A., Mollica, A., Flemming, H.C. (Task Leader), Scotto, V., Sand, W., 2000, Simple methods for the investigation of the role of biofilms in corrosion, Brite Euram Thematic Network on MIC of Industrial Materials, Task Group1, Biofilm Fundamentals, Brite Euram Thematic Network No. ERB BRRT-CT98-5084.
- Beech, I.B., 2004, Corrosion of technical materials in the presence of biofilms current understandings and state-of-the art methods for study, *International biodeterioration and biodegradation*, 5; 177-183.
- Beech, I.B., Sunner, J., 2004, Biocorrosion: Towards understanding interactions between biofilms and metals, *Current opinion in biotechnology*, 15, 181-186.
- Belcher, R., Macdonald, A.M.G, Pany, E., 1957, On mohr's method for determination of chlorides, *Analytica chimica acta*, 16, 524-529.

- Berger, D.M., 1990, *Corrosion theory*, Gilbert, Commonwealty companies, ISBN 978-0-07-148243-1.
- Blanc, D.S., Carrara, P., Zanetti, G., Francioli, P., 2005, Water disinfection with ozone, copper and silver ions, and temperature increase to control *Legionella*: Seven years of experience in a university teaching hospital, *Journal of hospital infection*, 60 (1), 69-72.
- Boopathy, R., Daniels L., 1991, Effect of pH on anaerobic mild steel corrosion by methanogenic bacteria, *Applied and environmental microbiology*, 57, 2104–2108.
- Boyd, A., Chakrabarty, A.M., 1994, Role of alginate lyase in cell detachment of *Pseudomonas aeruginosa*, *Applied and environmental microbiology*, 60 (7), 2355-2359.
- Bryers, J.D., Characklis, W.G., 1982, Process governing primary biofilm formation, *Biotechnology and bioengineering*, 24, 2451-247.
- Buchheit, G.R., 2003, The use of electrochemical techniques in the study of surface treatments for metals and alloys, *Corrosion technology*, 18, 257-359.
- Bureau of Energy Efficiency, 2004, *Cooling Towers*, Energy efficiency in electrical utilities, In: Ministry of Power, Chapter 7, 135-151, India.
- Campanac, C., Pineau, L., Payard, A., Baziard-Mouysset, G., Roques, C., 2002, Interactions between biocide cationic agents and bacterial biofilms, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46 (5) 1469-1474.
- Cassells, J.M., Yahya, M.T., Gerba, C.P., Rose, J.B., 1989, Efficacy of a combined system of copper and silver and free chlorine for inactivation of *Naegleria fowleri* amoebas in water, *Applied environmental microbiology*, 55 (12), 3045-3050.
- Ceyhan, N., Ozdemir, G., 2008, Extracellular polysaccharides produced by cooling water tower biofilm bacteria and their possible degradation, *Biofouling*, 24, 129-135.
- Chan, K.Y., Xu, L.C., Fang, H.H.P., 2002, Effects of toxic metals and chemicals on biofilm and biocorrosion, *Water research*, 36, 4709–4716.
- Chang, Y.C., Le Puil, M., Biggerstaff, J., Randall, A.A., Schulte, A., Taylor, J.S, 2003, Direct estimation of biofilm density on different pipe material coupons using a specific DNA-probe, *Molecular and cellular probs*, 17 (5), 237-43.
- Chang, X., Chen, S., Gao, G., Yin, Y., Cheng, S., Liu, T., 2009, Electrochemical behavior of microbiologically influenced corrosion on Fe<sub>3</sub>Al in marine environment, *Acta metallurgica sinica (English letters)*, 22, 313-320.
- Characklis, W.G., 1981, Fouling biofilm development: A process analysis, *Biotechnology and bioengineering*, 23, 1923-1960.

- Characklis, W., Cooksey, K., 1983, Biofilms and microbial biofouling, *advanced applied microbiology*, 29, 93-13.
- Characklis, W.G., Marshall, K.C., 1990, *Microbial fouling*, In: Characklis WG, Marshall KC, editors. Biofilms. New York: John Wiley & Sons, 523–84.
- Chen, Y.S., Lin, Y.E., Liu, Y.C., Huang, W.K., Shih, H.Y., Wann, S.R., Lee, S.S., Tsai, H.C., Li, C.H., Chao, H.L., Ke, C.M., Lu, H.H., Chang, C.L., 2008, Efficacy of point-of-entry copper-silver ionisation system in eradicating *Legionella pneumophila* in a tropical tertiary care hospital: Implications for hospitals contaminated with Legionella in both hot and cold water, *Journal of hospital infection*, 68 (2), 152-158.
- Choudhary, S.G., 1998, Emerging microbial control issues in cooling water systems, *Hydrocarbon processing*, 77 (5), 91-102.
- Coetser, S.E., Cloete, T.E., 2005, Biofouling and biocorrosion in industrial water systems, *Critical reviews microbiology*, 31(4), 213-232.
- Cohen, I., Bitan, R., Nitzan, Y., 1991, The effect of zinc and cadmium ions on *Escherichia coli*, *Microbios*, 68, 157–168.
- 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, 435-464.
- Costerton, J.W., Nickel, J.C., Ladd, T.I., 1986, *Bacteria in nature*, Plenum Publishing Corporation, New York, ISBN: 0-30643173-4.
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., Caldwell, D.E., Korber, D.R., Lappin-Scott, H.M., 1995, Microbial biofilms, *Annual review of microbiology*, 49, 711-745.
- Crombie, D.J., Moody, G.J., and Thomas, J.D.R., 1984, Corrosion of mild steel under diesel oil by sulphate-reducing bacteria, *Materials chemistry and physics*, 10, 91-105.
- Daumas, S., Massiani, Y., Crousier, J., 1988, Microbiological battery induced by sulphate-reducing bacteria, *Corrosion science*, 28, 1041-1050.
- Donlan, R.M., 2002, Biofilms: Microbial life on surfaces, *Emerging infectious diseases*, 8 (9), 881-90.
- Doruk, M., 1982, *Korozyon ve önlenmesi*, ODTÜ Mühendislik Fakültesi, Ankara.
- Dreeszen, H.P., 2003, *The key to understanding and controlling bacterial growth in automated drinking water systems*, 2<sup>nd</sup>ed., Edstrom Industries, INC, 4230-DS3100 10/03 IH.

- 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.
- Ducret, A., Chabaliere, M., Dukan, S., 2014, Characterization and resuscitation of 'non-culturable' cells of *Legionella pneumophila*, *BMC Microbiology*, 14, 3-10.
- Duda, S.M., 2010, *Biological control in cooling water systems using nonchemical water treatment devices*, Master thesis, University of Pittsburgh, USA.
- Dwidjosiswojo, Z., Richard, C., Moritz, M.M., Dopp, E., Flemming, H.C., Wingender, J., 2011, Influence of the copper ions on viability and cytotoxicity on *Pseudomonas aeruginosa* under conditions relevant to drinking water environment, *International journal of hygiene and environmental health*, 214 (6), 485-492.
- Edyvean, R.G.J., Benson, J., Thomas, C.J., Beech, I.B., Videla, H.A., 1998, Biological influences on hydrogen effects in steel in seawater, *Materials Performance*, 37 (4), 40-44.
- El-Shamy, A.M., Soror, T.Y., El-Dahan, H.A., Ghazy, E.A. and Eweas, A.F., 2009, Microbial corrosion inhibition of mild steel in salty water environment, *Materials chemistry and physics*, 114, 156-159.
- Enning, D. and Garrelfs, J., 2014, Corrosion of iron by sulphate reducing bacteria: new views of an old problem, *Applied environmental microbiology*, 80 (4), 1226-1236.
- Erbil, M., 2012, *Korozyon: İlkeler-Önlemler*, Türkiye Korozyon Derneği, Ankara.
- Fewtrell, L., 2014, Silver: water disinfection and toxicity, *Centre for research into environment and health*, 1-53.
- Finster, K., Liesack, W., Thamdrup, B., 1998, Elemental sulfur and thiosulfate disproportionation by *Desulfocapsa sulfoexigens* sp. nov., a new anaerobic bacterium isolated from marine surface sediment. *Applied environmental microbiology*, 64 (1), 119-125.
- Flemming, H.C., 2002, Biofouling in water systems- cases, causes and countermeasures, *Applied microbiology and biotechnology*, 59 (6), 629-640.
- Ford, T. and Mitchell, R., 1990, The ecology of microbial corrosion, *advances in microbial ecology*, 11, 231-262.
- Fujita, S. and Mizuno, D., 2007, Corrosion and corrosion test methods of zinc coated steel sheets on automobiles, *Corrosion science*, 49, 211-219.
- Gadd, G.M., Griffiths, A.J., 1978, Microorganisms and heavy metal toxicity, *Microbial Ecology*, 4, 303-317.
- Gadd, G.M., 1992, Metals and microorganisms: A problem of definition, *FEMS Microbiology letters*, 100 (1-3), 197-203.

- Gadd, G.M., 2008, *Transformation and mobilization of metals, metalloids, and radionuclides by microorganisms*, Biopysico-Chemical Processes of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments, In: Violante, A., Huang, P.M., Gadd, G.M. (eds.), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, ISBN-13: 978-0471737780, 53-96.
- Gadd, G.H., 2010, Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation, *Microbiology*, 156, 609-643.
- Gagnon, G.A. and 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.
- Garrett, R.T., Bhakoo, M., Zhang, Z., 2008, Bacterial adhesion and biofilms on surfaces, review, *Progress in natural science*, 18, 1049–1056.
- Gaylarde, C.C., Bento, F.M., Kelley, J., 1999, Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control, *Revista de microbiologia*, 30, 1-10.
- Ghiorse, W.C., 1984, Biology of iron- and manganese-depositing bacteria, *Annual review of microbiology*, 38, 515-550.
- Gilbert, P.T., Shreir, L.L., Jarman, R.A., Burstein, G.T. (Eds.). 1995, *Corrosion: Metal/Environment Reaction*, 3<sup>rd</sup> ed., Butterworth-Heinemann Ltd., Linacre House, Jordan Hill, Oxford OX2 8DP.
- Gönen, M., 2014, *Buharlaştırımlı soğutma deneyi*, Süleyman Demirel Üniversitesi, <http://muhendislik.sdu.edu.tr/assets/upload/sites/148/files/soğutma-kulesi12022015.pdf>, [Ziyaret tarihi: 01/11/2016].
- Gu, T., Zhao, K., and Nescic, S. 2009, A Practical mechanistic MIC model, Ohio University, mechanistic model for MIC based on a biocatalytic association of corrosion engineers, P. O. Box 218340 Houston TX 77084 USA
- Gu, T. and D. Xu, 2010, Demystifying MIC cathodic sulfate reduction theory, National mechanisms, CORROSION 2010.
- Gül, H., 2012, *Ters Akımlı Soğutma Kulesi Performans Analizi*, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi.
- Hadley, R.F., 1948, *Corrosion by micro-organisms in aqueous and soil environments*, Corrosion handbook, In: Uhlig, H.H. (ed), John Wiley & Sons, USA, 471895628, 466-470.
- Hamilton, W.A., 1985, Sulphate reducing bacteria and anaerobic corrosion, *Annual review of microbiology*, 39, 195-217.



- Hamlaoui, Y., Pedraza, F., Tifouti, L., 2008, Corrosion monitoring of galvanized coatings through electrochemical impedance spectroscopy, *Corrosion Science*, 50, 1558-1566.
- He, H., Xie, Q., Zhang, Y., Yao, S., 2005, A simultaneous electrochemical impedance and quartz crystal microbalance study on anti-human immunoglobulin G adsorption and human immunoglobulin G reaction. *Journal of biochemical and biophysical methods*, 62, 191-205.
- Hernandez-Gayosso, M.J., Zavala-Olivares, G., Ruiz-Ordaz, N., Garcia-Esquivel, R., Mora-Mendoza, J.L., 2005, Microbial consortium influence upon steel corrosion rate, using the electrochemical impedance spectroscopy technique, *Materials and corrosion*, 55, 9, 676-683.
- Horan, N.J., Eccles, C.R., 1986, Purification and characterisation of extracellular polysaccharide from activated sludge, *Water research*, 20, 1427-1432.
- Hosny, A.Y., El-Rafei, M.E., Ramadan, T.A., El-Gafari, B.A., Morsy S.M., 1995, Corrosion resistance of zinc coatings produced from a sulfate bath, *Metal finishing*, 93, 55-59.
- Hoyle, B.D., and Costerton, J.W., 1989, Transient exposure to a physiologically-relevant concentration of calcium confers tobramycin resistance upon sessile cells of *Pseudomonas aeruginosa*, *FEMS Microbiology letters*, 51, 339-341.
- Ilhan-Sungur, E., Cotuk, A., 2005, Characterization of sulfate reducing bacteria isolated from cooling towers, *Environmental monitoring and assessment*, 104 (1-3), 211-219.
- Ilhan-Sungur, E., Cansever, N., Cotuk, A., 2007, Microbial corrosion of galvanized steel by a freshwater strain of sulphate reducing bacteria (*Desulfovibrio* sp.), *Corrosion science*, 49, 1097-1109.
- Ilhan-Sungur, E., 2007, *Model Bir Su Sistemindeki Sülfat İndirgeyen Bakterilerin Galvanizli Çelik Saclarda Oluşturduğu Korozyonun İncelenmesi*, Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Ilhan-Sungur, E., Çotuk, A., 2010, Microbial corrosion of galvanized steel in a simulated recirculating cooling tower system, *Corrosion science*, 52, 161-171.
- Ilhan-Sungur, E., Öztürk, D., Abbas, B., Muzer, G., 2011, Diversity of microbial communities in cooling tower water, 4th Congress of European Microbiologists, FEMS 2011, Geneva, Switzerland.
- Ilhan-Sungur, E., Ünsal, T., Cansever, N., 2015, Microbiologically influenced corrosion of galvanized steel by *Desulfovibrio* sp. and *Desulfosporosinus* sp. in the presence of Ag-Cu ions, *Materials chemistry and physics*, 162, 839-51.
- Iverson, W.P., 1987, Microbial corrosion of metals, *Advances in applied microbiology*, 32, 1-36.

- Iverson, W.P., Olson, G.J., 1983, Anaerobic corrosion by sulfate reducing bacteria due to highly reactive volatile phosphorus compounds, *Microbial Corrosion*, 5, 46-53.
- Jang, A., Kim, S.M., Kim, S.Y., Lee, S.G., Kim, I.S., 2001, Effect of heavy metals (Cu, Pb, and Ni) on the compositions of EPS in biofilms, *Water science and technology*, 43 (6), 41-48.
- Javaherdashti, R., 2008, *Microbiologically Influenced Corrosion: An Engineering Insight*, Springer, London, ISBN-13: 978-1848000735.
- Jayaraman, A., Hallock, P.J., Carrson, R.M., Lee, C.C., Mansfeld, F.B., Wood, T.K., 1999, Inhibiting sulfate-reducing bacteria in biofilms on steel with antimicrobial peptides generated in situ, *Applied microbiology and biotechnology*, 52, 2, 267-275.
- Jjemba, P., Johnson, W., Bukhari, Z., LeChevallier, M., 2015, Occurrence and control of legionella in recycled water systems, *Pathogens*, 4, 470-502.
- 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, A.C., Wood, M., 1993, Sulphate reducing bacteria in deep aquifer sediments of the London basin: Their role in anaerobic mineralization of organic matter, *Journal of applied bacteriology*, 75, 190-197.
- Jones, D.A., 1996, *Principles and prevention of corrosion*, 2<sup>nd</sup> ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.
- Karcprzak, M., Malina, G., 2005, The tolerance and Zn<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup> and Fe<sup>2+</sup> accumulation by *Trichoderma atroviride* and *Mortierella exigua* isolated from contaminated soil, *Journal of Soil Sciences*, 85, 283-290.
- Kazanç, A., 1992, *Soğutma kuleleri*, Tez (Yüksek Lisans), Yıldız Teknik Üniversitesi.
- Keister, T., 2008, *Cooling water management basic principles and technology*, ProChemTech International, Inc, Brockway, Pennsylvania.
- Kerr, C.J., Osborn, K.S., Robson, G.D., Handley, P.S., 1999, The relationship between pipe material and biofilm formation in a laboratory model system, *Journal of applied microbiology*, 85, 29-38.
- Kim, J., Cho, M., Oh, B., Choi, S., Yoon, J., 2004, Control of bacterial growth in water using synthesized inorganic disinfectant, *Chemosphere*, 55 (5), 775-780.
- King, R.A., Miller, J.D.A., Corrosion by the sulphate-reducing bacteria, *Nature*, 233, 491-492.
- King, R.A., Wakerley, D.S., 1973, Corrosion of mild steel by ferrous sulphide, *British corrosion journal*, 8, 41-45.

- Kinzler, K., Gehrke, T., Telegdi, J., Sand, W., 2003, Bioleaching- a result of interfacial processes caused by extracellular polymeric substances (EPS), *Hydrometallurgy*, 71, 83-88.
- Kives, J., Orgaz, B., SanJosé, C., 2006, Polysaccharide differences between planktonic and biofilm-associated EPS from *Pseudomonas fluorescens* B52, *Colloids surfaces* 52, 123-127.
- Kusnetsov, J., Ilvainen, E., Elomaa, N., Zacheus, O., Martikainen, P.J., 2001, Copper and silver ions more effective against *Legionellae* than against *Mycobacteria* in a hospital warm water system. *Water research*, 35 (17), 4217–4225.
- Landeen, L.K., Yahya, M.T., Gerba, C.P., 1989, Efficacy of copper and silver ions and reduced levels of free chlorine in inactivation of *Legionella pneumophila*, *Applied and environmental microbiology*, 55 (12), 3045-3050.
- Lane, J., Peck, D., 2003, Condenser water treatment using pulsed power, *Cooling Technology Institute Annual Conference*, 10-13 February, San Antonio, Texas, Cooling technology institute, 1-16.
- Lee, W., Lewandowski, Z., Nielsen, P.H., Hamilton, W.A., 1995, Role of sulfate reducing bacteria in corrosion of mild steel: A review, *Biofouling*, 8, 165-194.
- Lin, E.Y., Vidic, R.D., Stout, J.E., Yu, V.L., 1996, Individual and combined effects of copper and silver ions on inactivation of *Legionella pneumophila*, *Water research*, 30 (8), 1905-1913.
- Lin, E.Y., Vidic, R.D., Stout, J.E., McCartney, C.A., Yu, V.L., 1998, Inactivation of *Mycobacterium avium* by copper and silver ions, *Water research*, 32 (7), 1997-2000.
- Lin, E.Y., Vidic, R.D., Stout, J.E., Yu, V.L., 2002, Negative effect of high pH on biocidal efficacy of copper and silver ions in controlling *Legionella pneumophila*, *Applied and environmental microbiology*, 68 (6), 2711-2715.
- Little, B., Wagner, P., Hart, K., Ray, R., Lavoie, D., Nealson, K., Aguilar, C., 1998, The role of biomineralization in microbiologically influenced corrosion, *Biodegradation*, 9 (1), 1-10.
- Lu, R.H., Liu, Q., Zhang, Y.H., Xiao, C.S., 1989, Studies on harmful microbes in recirculating cooling tower water system of oil refinery, *Wei sheng wu hsueh pao*, 29 (3), 204-215.
- Ludensky, M., 2003, Control and monitoring of biofilms in industrial applications, *International biodeterioration and biodegradation*, 51, 255-263.
- Luna-Pabello, V.M., Ríos, M.M., Jiménez, B. and orta de Velasquez M.T., 2009, Effectiveness of the use of Ag, Cu and PAA to disinfect municipal wastewater, *Environmental technology*, 30 (2), 129 - 139.

- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951, Protein measurement with the folin phenol reagent, *The Journal of biological chemistry*, 193 (1) 265-275.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., 2005, *Brock biology of microorganisms*, 11<sup>th</sup> ed., Prentice Hall, London, 0-13-144329-1.
- Majumdar, I., D'Souza, F., Bhosle, N.B., 1999, Microbial exopolysaccharides: effect on corrosion and partial chemical characterization, *Journal of the indian institute of science*, 79, 539-550.
- Martinez, S.S., Gallegos, A.A., Martinez, E., 2004, Electrolytically generated silver and copper ions to treat cooling water: an environmentally friendly novel alternative, *International journal of hydrogen energy*, 29, 921-932.
- Minnoş, B., Sungur, E., Çotuk, A., Doğruöz-Güngör, N., Cansever, N., 2013, The corrosion behaviour of galvanized steel in cooling tower water containing a biocide and a corrosion inhibitor, *Biofouling*, 29 (3), 223-235.
- Minnoş, B., 2008, *Soğutma Kulesinde Sülfat İndirgeyen Bakterilerin Galvanizliçelik Üzerine Korozif Etkisinin İncelenmesi*, Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Miranda, E., Bethencourt, M., Botana, F.J., Cano, M.J., Sanchez-Amaya, J.M., Corzo, A., Garcia de Lomas, J., Fardeau, M.L., Ollivier, B., 2006, Biocorrosion of carbon steel alloys by an hydrogenotrophic sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio capillatus* isolated from a Mexican oil field separator, *Corrosion science*, 48, 2417-2431.
- Mittelman, M.W., 1998, Structure and functional characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operations, *Journal of dairy science*, 81, 2760-2764.
- Morrison, F., 2015, Saving water with cooling towers, *ASHRAE*, 57 (8), 20-33.
- Nga, D.P., Camha, D.T., Hien, L.T., Stan-lotter, H., 1996, *Desulfovibrio vietnamensis* sp. nov., a halophilic sulfate-reducing bacterium from vietnamese oil fields, *Anaerobe*, 2, 385-392.
- Oliver, J. D., 2005, The viable but nonculturable state in bacteria, *Journal of microbiology*, 43, 93-100.
- Olson, R.E., 1993, Influence of pH on bacterial gene expression, *Molecular biology*, 8 (1), 5-14.
- Pal, A., Paul, A.K., 2008, Microbial extracellular polymeric substances: central elements in heavy metal bioremediation, *Indian Journal of Microbiology*, 48, 49-64.
- Parbery, D.G., 1968, The soil as a natural source of *Cladosporium resinae*, *Biodeterioration of materials*, 371-80.
- Park, H.G., Kim, T.W., Chae, M.Y., Yoo, I.K., 2007, Activated carbon-containing alginate adsorbent for the simultaneous removal of heavy metals and toxic organics. *Process biochemistry*, 42, 1371- 1377.

- Park, S.K., Kim, Y.K., Oh, Y.S. and Choi, C.S., 2015, Growth kinetics and chlorine resistance of heterotrophic bacteria isolated from young biofilms formed on a model drinking water distribution system, *The Korean Journal of Microbiology*, 51 (4), 355-363.
- 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.
- Popova, B.N., Kumaraguru, S.P., 2005, *Cathodic protection of pipelines*, Handbook of environmental degradation of materials, 503-521.
- Postgate, J.R., 1984, *The sulphate reducing bacteria*, 2<sup>nd</sup> ed., Cambridge University Press, Cambridge, ISBN: 0521257913.
- Puckorius, P.R., 1999, Water corrosion mechanism, *ASHRAE*, 41 (5), 57-61.
- Raman, V., Tamilselvi, S., and Rajendran, N., 2008, Evaluation of effective biocides for control microbiologically influenced corrosion, *Materials and Corrosion*, 59,4, 329-334.
- Rao, T.S., Sairam, T.N., Viswanathan, B., Nair, K.V.K., 2000, Carbon steel corrosion by iron oxidising and sulphate reducing bacteria in a freshwater cooling system, *Corrosion Science*, 42 (8), 1417-1431.
- Rao, T.S., Aruna, J.K., Anupkumar, B., Narasimhan, S.V., Feser, R., 2005, Pitting corrosion of titanium by a freshwater strain of sulfate reducing bacteria (*Desulfovibrio vulgaris*), *Corrosion Science*, 47, 1071-1084.
- Rao, T.S., Kora, A.J., Chandramohan, P., Panigrahi, B.S., Narasimhan, S.V., 2009, Biofouling and microbial corrosion problem in the thermo-fluid heat exchanger and cooling water system of a nuclear test reactor, *Biofouling*, 25 (7), 581-591.
- 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.
- Rozsak D. B., Grimes D.J., Colwell R.R., 1984, Viable but nonrecoverable stage of *Salmonella enteritidis* in aquatic systems, *Journal of Microbiology*, 30,334-338.
- Pereira, M.O., Vieira, M.J., Melo, L.F., 2000, The effect of clay particles on the efficacy of a biocide, *Water Science and Technology*, 41, 4-5, 61-64.
- Richards, C.L., Broadaway, S.C., Eggers, J.M., Doyle, J., Pyle, H.B., Camper, K.A., Ford, T.E., 2015, Detection of pathogenic and non-pathogenic bacteria in drinking water and associated biofilms on the Crow Reservation, *Microbial Ecology*, 1, 1-12.
- Roberts, D.J., Nica, D., Zuo, G., Davis, L., 2002, Quantifying microbially induced deterioration of concrete: initial studies. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 49, 227-234.

- Rohr, U., Senger, M., Selenka, F., Turley, R., Wilhelm, M., 1999, Four years of experience with silver-copper ionization for control of *Legionella* in a german university hospital hot water plumbing system, *Clinical infectious disease*, 29 (6), 1507-11.
- Romero, M., 2005, The mechanism of SRB Action in MIC, based on sulfide corrosion and iron sulfide *Biodeterioration & biodegradation*, 53 (3), 177-183.
- Sani, R.K., Peyton, B.M., Brown, L.T., 2001, Copper-induced inhibition of growth of *Desulfovibrio desulfuricans* G20: assessment of its toxicity and correlation with those of zinc and lead, *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10), 4765-4772
- Sarkisova, S., Patrauchan, M.A, Berglund, D., Nivens, D.E, Franklin, M.J., 2005, Calcium-induced virulence factors associated with the extracellular matrix of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* biofilms, *Journal of bacteriology*, 187, 4327-4337.
- Seth, A.D., Edyvean, R.G.J., 2006, The function of sulfate reducing bacteria in corrosion of potable water mains, *International biodeterioration and biodegradation*, 58, 108-111.
- Sheng, X., Ting, Y.P., Pehkonen, S.O., 2007, The influence of sulphate-reducing bacteria biofilm on the corrosion of stainless steel AISI 316, *Corrosion Science*, 49 (5), 2159-2176.
- Shreir, L.L., 1976, *Zinc coatings, corrosion, corrosion control*, 2<sup>nd</sup> Edition, Newnes-Butterworths.
- Silvestry-Rodriguez, N., Sicairos-Ruelas, E., Gerba, C.P., Bright, K.R., 2007, Silver as a disinfectant, *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 191, 23-45.
- Silvestry-Rodriguez, N., Bright, K.R., Slack, D.C., Uhlmann, D.R., Gerba, C.P., 2008, Silver as a residual disinfectant to prevent biofilm formation in water distribution systems, *Applied and environmental microbiology*, 74, 1639-1641.
- Simoës, M., Simoës, L.C., Vieira, M.J., 2010, A review of current and emergent biofilm control strategies, *Food science and technology*, 43, 573-583.
- Spoering, A.L., Lewis, K., 2001, Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials, *Journal of bacteriology*, 183 (23), 6746-6751.
- Stewart, P.S., Franklin, M.J., 2008, Physiological heterogeneity in biofilms, *Natural review of microbiology*, 6 (3), 199-210.
- Stoodley, P., Dirckx, P., 2003, *Biofilm formation*, Centre of Biofilm Engineering (CBE) <http://www.biofilm.montana.edu/multimedia.html>, [Ziyaret tarihi:01/11/2016].

- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J.W., 2002, Biofilms as complex differentiated communities, *Annual Review of Microbiology*, 56, 187-209.
- Stott, J.F.D., 1988, Assessment and control of microbially induced corrosion, *Metals and materials*, 224-229.
- Suban, M., Cvelbar, R., Bundara, B., 2010, The impact of stagnant water on the corrosion processes in a pipeline, *MTAEC9*, 44 (6), 379-383.
- Sutherland, I.W., 2001, Biofilm exopolysaccharides: A strong and sticky framework, *Microbiology*, 147, 3-9.
- Teitzel, G.M., Parsek, M.R., 2003, Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*, *Applied and environmental microbiology*, 69 (4), 2313-2320.
- Temizkan, G., Arda, N., 2007, *Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler*, 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, ISBN: 9789754205831.
- Thierry, D., Sand, W., 2002, *Microbially influenced corrosion, corrosion mechanism in theory and practice*, ed: Marcus, P., Oudar, J., New York, 563-605.
- Thurman, R.B., Gerba, ChP., 1989, The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses, *Critical reviews in environment control*, 18 (4), 295-315.
- Tosun, A., 1995, *Soğutma suyu inhibitörlerinin incelenmesi*, Tez (Yüksek Lisans), Gazi Üniversitesi.
- Tote, K., Horemans, T., Vanden Berghe, D., Maes, L., Cos, P., 2010, Inhibitory effect of biocides on the viable masses and matrices of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms, *Applied Environmental Microbiology*, 76, 10, 3135-3142.
- Tsuneda, S., Aikawa, H., Hayashi, H., Yuasa, A., Hirata, A., 2003, Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesion onto solid surface, *Fems microbiology letters*, 227 (2), 287-92.
- Tüccar, T., 2011, *Güneydoğu anadolu bölgesi petrol sahalarından alınan petrol örneklerinde sülfat indirgeyen bakterilerin araştırılması*, (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Üniversitesi.
- Türetgen, İ., 2005, *Su sistemlerinde mikrobiyal biyofilm oluşumunun incelenmesi*, (Doktora Tezi), İstanbul Üniversitesi.
- Türetgen, İ., Çotuk, A., 2005, Formation of bacterial biofilms in model recirculating water systems, *Environmental micropaleontology, microbiology and meiobenthology*, 2, 136-142.

- Utgikar, V.P., Tabak, H.H., Haines, J.R., Govind, R., 2003, Quantification of toxic and inhibitory impact of copper and zinc on mixed cultures of sulfate-reducing bacteria, *Biotechnology and bioengineering*, 82 (3), 306–312.
- Üneri, S., 2011, *Korozyon ve önlenmesi*, Türkiye Korozyon Derneği, Ankara.
- Ünsal, T., 2010, *Tuz gölü'den izole edilen aerobik mezofilik mikroorganizmaların paslanmaz çelikteki korozyon aktiviteleri*, Yüksek Lisans Tezi, Şehit Ömer Halisdemir Üniversitesi.
- Ünsal, T., İlhan-Sungur, E., Cansever, N., 2016, Effect of Ag-Cu ions on the microbial corrosion of 316L stainless steel in the presence of *Desulfovibrio* sp., *Bioelectrochemistry*, 110, 91-99.
- Velasquez, M.T., Yanez, N.I., Jimenez-Cisneros B., Luna Pabello, V.M., 2008, Adding silver and copper to hydrogen peroxide and peracetic acid in the disinfection of an advanced primary treatment effluent, *Environmental technology*, 29 (11), 1209-17.
- Videla, H.A., 1996, *Manual of biocorrosion*, CRC Press, UK, ISBN: 9780873717267.
- Videla, H.A., Herrera, L.K., 2009, Microbiologically influenced corrosion: Looking to the future, *International microbiology*, 8 (3), 169-180.
- Von Wolzogen Kühr, C.A.H., Van Der Vlugt, L.S., 1934, The graphitization of cast iron as an electrochemical process in anaerobic soils, *Water*, 18, 147-165.
- Wen, J., Zhao, K., Gu, T., Raad, I., 2010, Chelators enhanced biocide inhibition of planktonic sulfate-reducing bacterial growth, *World journal of microbiology and biotechnology*, 26, 1053-1057.
- White, D., Jack, R., and Dowling, N., 1990, The microbiology of mic, microbially influenced corrosion and biodeterioration, *Duke power inco alloys international tennessee eastman*, 1, 10.
- Wiatr, C.L., 2006, Bacterial Resistance to biocides in recirculating cooling water systems, *CTI journal*, 27, 46-58.
- Widdel, F., Pfennig, N., 1984, *Dissimilatory sulfate reducing bacteria*, *Systematic Bacteriology*, In: Noel, R.K. (ed.), 663-679, Williams&Wilkins, Baltimore, USA, ISBN: 0-683-04108-8.
- Wilsey, C.A., 1997, Alternative water treatment for cooling towers, *ASHRAE*, 44-46.
- Wingender, J., Flemming, H.C., 2011, Biofilms in drinking water and their role as reservoir for pathogens, *International journal of hygiene environmental health*, 214 (6), 417-23.
- Wolfaardt, G.M., 1990, *Technologies for studying biofouling and aspects influencing biofouling in industrial water systems*, Thesis (M.Sc.), University of Pretoria.

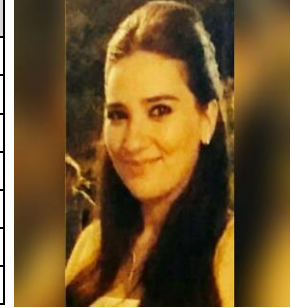


- Xu, P., Xu, Z., Wang, J., Zhang, Y., Zhang, L., 2012, MIC in circulating cooling water system, *Journal of water resource and protection*, 4, 203-206.
- Yadav, A.P., Katayama, H., Noda, K., Masuda, H., Nishikata, A., Tsuru, T., 2007, Effect of Fe–Zn alloy layer on the corrosion resistance of galvanized steel in chloride containing environments, *Corrosion science*, 49, 3716–3731.
- Yahya, M.T., Landeen, L.K., Messina, M.C., Kutz, S.M., Gerba, C.P., 1990, Disinfection of bacteria in water systems by using electrolytically generated copper: silver and reduced levels of free chlorine, *Canadian Journal of Microbiology*, 36(2), 109-116.
- Yahya, M.T., Gerba, C.P., 1992, Water disinfection system and method, *Chemical abstract service*, 118:87342.
- Yuan, S.J., Pehkonen, S.O., 2009, AFM study of microbial colonization and its deleterious effect on 304 stainless steel by *Pseudomonas* NCIMB 2021 and *Desulfovibrio desulfuricans* in simulated seawater, *Corrosion science*, 51, 1372-1385.
- Yun Shih, H., and Lin, Y.E., 2010, Efficacy of copper-silver ionization in controlling biofilm- and plankton-associated waterborne pathogens, *Applied environmental microbiology*, 76 (6), 2032–2035.
- Zacheus, O. M., Iivanainen, E. K., Nissinen, T. K., Lehtola, M. J., and Martikainen, P. J., 2000, Bacterial biofilm formation on polyvinyl chloride, polyethylene and stainless steel exposed to ozonated water, *Water research*, 34, 63–70.
- Zhang, X.G., 1996, *Corrosion and electrochemistry of zinc*, Plenum Press, New York.
- 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, L.P., 2003, Biodegradability of biofilm extracellular polymeric substances, *Chemosphere*, 50 (1), 63-69.
- Zhu, J., Riskowski, G.L., Mackie, R.I., 1999, A study on the potential of metal corrosion by sulfate-reducing bacteria in animal buildings, *Transactions of the ASAE*, 42 (3), 777-782.
- Zhu, Y., Huang, Y., Zheng, C., Yu, Q., 2007, The hydrogen permeation investigation of API X56 steel in sea mud, *Materials and corrosion*, 58 (6), 447-452.
- Zuo, R., 2007, Biofilms: strategies for metal corrosion inhibition employing microorganisms, *Applied microbiology and biotechnology*, 76 (6), 1245–1253.

**EKLER****EK 1.** Deney düzeneğinde suya dökülen biyofilm kalıntıları

## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Tuba ÜNSAL
Doğum Yeri	İstanbul
Doğum Tarihi	30.01.1986
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	0 535 820 58 05
E-Posta Adresi	tubaunsal34@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Niğde Üniversitesi
Fakülte	Fen-Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	2008

Yüksek Lisans	
Üniversite	Niğde Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji
Programı	Moleküler Biyoloji
Mezuniyet Tarihi	2010

Doktora	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programı
Mezuniyet Tarihi	2016

Makale ve Bildiriler	
<b>Makale Listesi:</b>	
<p>Unsal, T., Ilhan-Sungur, E., and Cansever, N., 2016, Effects of Ag and Cu ions on the microbial corrosion of 316L stainless steel in the presence of <i>Desulfovibrio</i> sp, <i>Bioelectrochemistry</i>, 110, 91-99.</p>	
<p>Ilhan-Sungur, E., Unsal-Istek, T., and Cansever, N., 2015, Microbiologically influenced corrosion of galvanized steel by <i>Desulfovibrio</i> sp. and <i>Desulfosporosinus</i> sp. in the presence of Ag-Cu ions, <i>Materials chemistry and physics</i>, 162, 839.</p>	

Unsal-Istek, T., Ilhan-Sungur, E., Arkan, S., Cansever, N., 2015, The microbial corrosion behavior of galvanized steel and 316L stainless steel, *Corrosion*, 2015, 21, 27.

Ozturk, A., Karaca, Z., Unsal, T., 2014, The activity of oxygenic photosynthetic microbial consortia on different granites, *Ecology*, 23, 90.

**Bildiri Listesi:**

Unsal, T., Ilhan-Sungur, E., and Cansever, N., 2016, Investigation of the biofilm formation-corrosion effect on the galvanized steel in the model water system by electrochemical impedance spectroscopy, Korseme\_14, Bayburt, 4-7 October.

Unsal, T., Ilhan-Sungur, E., and Cansever, N., 2016, Investigation of the effects of Ag and Cu ions on the mature biofilm by electrochemical impedance spectroscopy, Mewe-2016, Copenhagen, Denmark, 4-7 September.

Unsal, T., Ilhan-Sungur, E., ve Cansever, N., 2016, Comparison of microbiologically induced corrosion behavior of 316L stainless steel and galvanized steel as cooling tower materials, IMMC- Istanbul, Turkey, 4-10 October.

Arkan, S., Ilhan-Sungur, E., Cansever, N., Unsal-Istek, T., 2015, Investigation of the effect of Ag-Cu ions on microbial activity of sulphate reducing bacteria leading to corrosion, European Corrosion Congress-EUROCORR'2015, 6-10 September, Abstract Book, 516, Graz, Austria.

Unsal-Istek, T., Arkan, S., Ilhan-Sungur, E., Cansever, N., 2014, The microbial corrosion behavior of galvanized steel and 316L stainless steel, 13th International Conference on Corrosion, Abstract Book, 82, Elâzığ.

Arkan, S., Unsal-Istek, T., Ilhan-Sungur, E., and Cansever, N., 2014, The effects of Ag and Cu ions on the microbial corrosion of 316L stainless steel in the presence of *Desulfovibrio* sp. European Corrosion Congress-EUROCORR'2014, 6-10 September, Pisa, Italy.

Unsal, T., Ilhan-Sungur, E., ve Cansever, N., 2014, Investigation of Ag-Cu ionization system on the biofilm formed galvanized steel surface in the presence of *Desulfohalobium* sp. and *Desulfovibrio* sp. by EIS. 22<sup>th</sup> National Biology Congress, Abstract Book, 365, Eskişehir.

Unsal, T., Ilhan-Sungur, E., ve Cansever, N., Investigation of corrosion behavior of galvanized steel by *Desulfohalobium* sp. and *Desulfovibrio* sp. isolated from cooling tower water, European Corrosion Congress-EUROCORR'2012, Abstract Book, 310, 9-13 September. Istanbul, Turkey

Karaca, Z., Oztürk, A., Unsal, T., 2011, A Comparative study on the activity of oxygenic photosynthetic consortia on marble and granite, 2nd International Conference on Environmental Science and Technology, IPCBEE IACSIT Press, Singapore, 6, 447.

Unsal, T., Bayol, E., Oztürk, A., 2011, The corrosion effect of *Bacillus thuringiensis* on the copper in the salty broth medium, 9<sup>th</sup> International Electrochemistry Congress, İzmir, Çeşme.

Unsal, T., Bayol, E., Oztürk, A., 2010, The corrosion effects of aerobic mesophilic bacteria isolated from salt lake on the stainless steel at light and dark conditions, 13<sup>th</sup> International Conference on Corrosion, Abstract Book, Eskişehir.

Unsal, T., Bayol, E., Oztürk, A., 2010, The effects of aerobic mesophilic bacteria on the corrosion behavior of stainless steel isolated from salt lake, Turkish 24<sup>th</sup> National Chemistry Congress, Abstract Book, Zonguldak