

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**AEROBİK BAKTERİLERİN NİKEL ALAŞIMLARININ KOROZYONUNA
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

NALAN OYA SAN

TEMEL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA


2012

Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ danışmanlığında ve Yrd. Doç. Dr. Hasan NAZIR eş danışmanlığında Nalan Oya SAN tarafından hazırlanan bu çalışma 5/11/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Zümriye AKSU

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Ülkü MEHMETOĞLU

İmza : 


Üye : Prof. Dr. Abbas AKSÜT

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Sümer ARAS

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

İmza : 

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Aykut ÖZKUL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

Aerobik Bakterilerin Nikel Alaşımalarının Korozyonuna Etkisinin Araştırılması

Nalan Oya SAN

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

Danışman: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Eş Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan NAZIR

Bu çalışmada, Ankara İvedik Su Arıtım Tesisinde korozyon gözlemlenmiş boru sistemlerinden alınan kazıntı ve su örneklerinden izole edilen aerobik bakterilerinin Nikel alaşımlarının korozyonuna etkisi incelenmiştir. Elde edilen izolatların morfolojik ve 16S rRNA filogenetik analizleri ile karakterizasyonu yapılmıştır. *Aeromonas eucrenophila* ve *Delftia acidovorans* olarak tanımlanan bu izolatların yanısıra laboratuvar kültür koleksiyonunda bulunan ve biyofilm/korozyon çalışmalarında sıklıkla araştırılan *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin Nikel alaşımlarının korozyonuna etkisi ilk olarak Kuartz Kristal Mikrobalans kütle kaybı yöntemiyle belirlenmiştir. Sonrasında, üç bakterinin korozyon etkisi açık devre potansiyeli, polarizasyon çalışmaları ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi gibi elektrokimyasal yöntemler kullanarak incelenmiştir. Elektrokimyasal çalışmalar sonucunda genellikle bakterilerin etkisi ile E_{kor} (korozyon potansiyeli) değerlerinin daha anodik potansiyellere kaydığı ve I_{kor} (korozyon akım yoğunluğu) değerlerinin oldukça arttığı görülmektedir. Nikel alaşımları ile kaplanmış disklerde biyofilm oluşumu ve korozyon hasarı, taramalı elektron mikroskobu (SEM) incelemeleri ve enerji dağıtıcı X ışını analizleri (EDS) ile belirlenmiştir. Bakterilerin etkisi ile yüzey değişime uğramış ve yüzeyde etkili çukurcuk ve çatlaklar görülmüştür. Bu duruma ilaveten bakterinin etkisi ile yüzeyde sürekli bir oksijen hücresi oluşmuştur. Bakterilerin ortamın pH değerini asidik değerlere indirmesi sonucu korozyona sebep oldukları düşünülmektedir.

2012, 164 sayfa

Anahtar kelimeler: *Aeromonas eucrenophila*, *Delftia acidovorans*, Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi, Kuartz Kristal Mikrobalans, Mikrobiyolojik Korozyon Etkisi, Nikel Alaşımları, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

PhD Thesis

Investigation of the effects of aerobic bacteria on the Nickel alloys corrosion

Nalan Oya SAN

Ankara University Biotechnology Institute

Supervisor: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Co-supervisor: Assist. Prof. Dr. Hasan NAZIR

In this study corrosion behavior of Nickel alloys, in the presence of aerobic bacteria which was isolated from scrap and water samples taken from Ankara İvedik Water Treatment pipe system, was investigated. The isolated bacteria were characterized according to morphological and on the basis of 16S rRNA sequences is *Aeromonas eucrenophila* and *Delftia acidovorans*. In addition of two bacteria *Pseudomonas aeruginosa* which is found in our laboratory culture collection and investigated frequently in biofilm/corrosion experiments were also used. The microbially influenced corrosion of Nickel alloy coatings were evaluated by quartz crystal microbalance firstly. After that, open circuit potential, polarization experiments and electrochemical impedance spectroscopy were used for explanation effect of bacteria. With electrochemical methods, generally after inoculation, corrosion potential (E_{cor}) values shifted towards more anodic potentials and corrosion current density (I_{cor}) values considerably increased. The Nickel alloy coated discs's surface morphologies and the corrosion products were determined using scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectra (EDAX) analysis. Intense pitting and crevice corrosion has been seen due to bacterial adhesion. Furthermore, oxygen cell was formed by effect of bacteria. As a result, pH values decreased to acidic side and caused corrosion.

2012, 164 pages

Keywords: *Aeromonas eucrenophila*, *Delftia acidovorans*, Electrochemical impedance spectroscopy, Microbially Influenced Corrosion, Nickel alloy, *Pseudomonas aeruginosa*, Quartz Crystal Microbalance.

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinden çalışmaların tamamlanmasına kadar her aşamada teşvik ve yönlendirmelerini esirgemeyen, bilim insanı olma yolunda her zaman örnek aldığım danışman hocam Prof. Dr. Gönül Dönmez'e teşekkür ederim.

Korozyon alanında bilgi birikimi ve tecrübesini en başından beri yılmadan benimle paylaştan ve öğreten, bu çalışmanın doktora tezi olarak gerçekleşmesinde her zaman destek ve yardımlarını gördüğüm, eş danışmanım Yrd. Doç. Dr. Hasan Nazır'a teşekkür ederim.

Doktora tezim süresince beni destekleyen TÜBİTAK-Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB)'e

Her altı ayda bir yapılan değerlendirmelerle çalışmanın şekillenmesinde desteklerini gördüğüm Tez İzleme Komitesi'nin değerli üyeleri Sayın Prof. Dr. Abbas AKSÜT (Ankara Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı) ile Sayın Prof. Dr. Sümer ARAS'a (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı)

Çalışmalarım süresince dostluklarını ve desteklerini esirgemeyen, zevkle çalıştığım laboratuvar arkadaşlarım Dr. Nur Koçberber Kılıç, Dr. Sevgi Ertuğrul Karatay ve Burcu Ertit Taştan'a

Hem bilimsel konularda hem de hayata dair paylaşımlarda bulunduğum dostlarım Dr. Gizem Göklü ve Dr. Meral Yüce'ye

Mikroorganizmaların filogenetik analizlerinin tamamlanmasında yardımlarını esirgemeyen Uzman Emre Keskin'e teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca desteklerini esirgemeyerek her türlü fedakârlığı gösteren babam; Nail SAN, annem; Fatma Nur SAN, ablam Hülya SAN ŞENER, abim Onur SAN ve ailelerine teşekkürü bir borç bilirim.

Nalan Oya SAN

ANKARA 2012

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-------------|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | ii |
| TEŞEKKÜR | iii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | ix |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xv |
| SİMGELER DİZİNİ | xvii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. KURAMSAL TEMELLER | 3 |
| 2.1. Elektrokimya ve Kullanım Alanları..... | 3 |
| 2.2. Elektrokimyasal Hücreler..... | 3 |
| 2.3. Elektrokimyada Kullanılan Elektrotlar..... | 4 |
| 2.3.1. Referans elektrotlar..... | 5 |
| 2.3.2. Yardımcı/karşıt elektrotlar..... | 6 |
| 2.4. Kaplama..... | 7 |
| 2.4.1. Metal kaplama..... | 9 |
| 2.4.2. Alaşım kaplama..... | 10 |
| 2.4.3. Kronoamperometrik kaplama (CA)..... | 11 |
| 2.5. Nikel Alaşımları ve Uygulama Alanları..... | 12 |
| 2.6. Korozyon ve Tarihçesi..... | 12 |
| 2.7. Korozyon Hücresinde Yürüyen Olaylar..... | 13 |
| 2.8. Standart Elektrot Potansiyelleri..... | 15 |
| 2.9. Potansiyel-pH Diyagramları..... | 17 |
| 2.10. Korozyon Çeşitleri..... | 18 |
| 2.10.1. Genel korozyon..... | 18 |
| 2.10.2. Çukur korozyonu..... | 19 |
| 2.10.3. Galvanik korozyon ya da metal çifti korozyonu..... | 20 |
| 2.10.4. Aralık korozyonu..... | 20 |
| 2.10.5. Seçimli korozyon..... | 21 |

| | |
|---|----|
| 2.10.6. Filiform korozyon..... | 21 |
| 2.10.7. Erozyonlu korozyon..... | 22 |
| 2.11. Korozyonun Önlenmesinde Genel Yöntemler..... | 22 |
| 2.11.1. Korozyonun önlenmesinde inhibitör kullanımı..... | 23 |
| 2.11.2. Mikrobiyolojik korozyonun önlenmesi veya kontrol altına alınması..... | 24 |
| 2.12. Korozyon Hızının Belirlenmesi..... | 26 |
| 2.12.1. Mikroskopi..... | 27 |
| 2.12.2. Spektroskopi..... | 27 |
| 2.12.3. Kütle kaybı yöntemi..... | 27 |
| 2.12.4. Elektrokimyasal yöntemler..... | 30 |
| 2.13. Mikrobiyolojik Korozyon Etkisi (MIC)..... | 37 |
| 2.14. Korozyona Yol Açan Mikroorganizmaların Sınıflandırılması..... | 39 |
| 2.14.1. Mikroorganizmaların Genel Özellikleri..... | 39 |
| 2.14.2. Mikrobiyolojik üreme ve zaman arasındaki ilişki..... | 41 |
| 2.15. Mikroorganizmaların Korozyondaki Rollerini..... | 42 |
| 2.16. Mikrobiyolojik olarak desteklenen korozyonun oluşum mekanizması..... | 43 |
| 2.16.1. Biyofilm tabakasının tanımı..... | 43 |
| 2.16.2. Mikrobiyal yapışma..... | 45 |
| 2.17. Korozyon mekanizmasında aerobik oluşumlar..... | 47 |
| 2.17.1. Kükürt Okside Eden Bakterilerin Rolü..... | 47 |
| 2.17.2. Demir ve Mangan Bakterilerinin Rolü..... | 47 |
| 2.17.3. Diğer Aerobik Bakterilerin Rolü..... | 48 |
| 2.17.4. Funguslar..... | 48 |
| 2.18. Anaerobik Oluşumlar..... | 48 |
| 2.18.1. Metanojenik Bakterilerin Rolü..... | 51 |
| 2.18.2. Demir Redükleyen Bakterilerin Rolü..... | 52 |
| 2.19. Mikrobiyolojik Korozyon İle İlgili Yapılmış Bazı Çalışmalar..... | 52 |

| | |
|--|-----------|
| çalışmalar..... | 67 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI..... | 68 |
| 4.1. Bakterilerin İzolasyonu..... | 68 |
| 4.2. İzolatların Karakterizasyonu ve 16S rRNA Filogenetik Analizleri..... | 68 |
| 4.3. Kullanılan Mikrobiyolojik Materyaller..... | 70 |
| 4.4. Bakterilerin Gelişim Eğrilerinin Takip Edilmesi..... | 70 |
| 4.5. Nikel Alaşımlarına <i>Aeromonas eucrenophila</i> Bakterisinin Neden Olduğu Mikrobiyal Korozyonun Elektrokimyasal Yöntemler, SEM-EDS Analizi ve pH Değerindeki Değişimle Belirlenmesi..... | 72 |
| 4.5.1. Ni-Zn alaşımına <i>Aeromonas eucrenophila</i> bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi..... | 72 |
| 4.5.2. Ni-Cu alaşımına <i>Aeromonas eucrenophila</i> bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin elektrokimyasal yöntemlerle belirlenmesi..... | 80 |
| 4.5.3. Ni-Co alaşımına <i>Aeromonas eucrenophila</i> bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi..... | 85 |
| 4.6. Nikel Alaşımlarına <i>Delftia acidovorans</i> Bakterisinin Neden Olduğu Mikrobiyal Korozyonun Elektrokimyasal Yöntemler, SEM-EDS Analizi ve pH Değerindeki Değişimle Belirlenmesi..... | 91 |
| 4.6.1. Ni-Zn alaşımına <i>Delftia acidovorans</i> Bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi..... | 91 |
| 4.6.2. Ni-Cu alaşımına <i>Delftia acidovorans</i> bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi..... | 96 |
| 4.6.3. Ni-Co alaşımına <i>Delftia acidovorans</i> bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi..... | 102 |
| 4.7. Nikel Alaşımlarına <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Bakterisinin Neden Olduğu Mikrobiyal Korozyonun Elektrokimyasal Yöntemler, SEM-EDS Analizi ve pH Değerindeki Değişimle Belirlenmesi..... | 108 |
| 4.7.1. Ni-Zn alaşımına <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi..... | 108 |
| 4.7.2. Ni-Cu alaşımına <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi..... | 114 |

| | |
|--|------------|
| 4.7.3. Ni-Co alaşımına <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi..... | 120 |
| 5. TARTIşMA VE SONUÇLAR..... | 127 |
| 5.1. Nikel alaşımlarına <i>Aeromonas eucrenophila</i> bakterisinin korozyon etkisi çalışmalardan elde edilen sonuçların değerlendirilmesi..... | 130 |
| 5.2. Nikel alaşımlarına <i>Delftia acidovorans</i> bakterisinin korozyon etkisi çalışmalardan elde edilen sonuçların değerlendirilmesi..... | 131 |
| 5.3. Nikel alaşımlarına <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisinin korozyon etkisi çalışmalardan elde edilen sonuçların değerlendirilmesi..... | 133 |
| KAYNAKLAR..... | 136 |
| ÖZGEMIş..... | 145 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 2.1 Basit bir elektrokimyasal hücrenin şematik gösterimi..... | 4 |
| Şekil 2.2 Gümüş- gümüş klorür referans elektrot..... | 6 |
| Şekil 2.3 Karşıt elektrot örneği; Platin elektrot..... | 6 |
| Şekil 2.4 Kronoamperometride (a) potansiyel–zaman ve (b) akım-zaman ilişkisi..... | 11 |
| Şekil 2.5 Korozyon olayının şematik gösterimi..... | 13 |
| Şekil 2.6 Demir için Pourbaix diyagramı..... | 17 |
| Şekil 2.7 Korozyon çeşitlerinin şematik çizimi..... | 18 |
| Şekil 2.8 QCM deneylerinde kullanılan altın ve diğer çeşit elektrotlar..... | 29 |
| Şekil 2.9 Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle korozyon akımı (i_{kor}) ve korozyon potansiyelinin (E_{kor}) bulunuşu..... | 32 |
| Şekil 2.10 Doğrusal bir sistemde sinüzoidal akım cevabı..... | 33 |
| Şekil 2.11 Empedans vektörüne sahip Nyquist grafiği..... | 34 |
| Şekil 2.12 Örnek Bode grafiği..... | 35 |
| Şekil 2.13 Fiziksel elektrokimya ve eşdeğer devre elemanları..... | 36 |
| Şekil 2.14 Randles hücrenin eşdeğer devresi..... | 37 |
| Şekil 2.15 Kesikli bir sistemde mikroorganizma sayısının zamanla değişimi..... | 41 |
| Şekil 2.16 Yüzeylerde biyofilm oluşumunu gösteren şematik diyagram..... | 45 |
| Şekil 3.1 (a) İvedik Su Arıtma Tesisi (b) su ve kazıntı örneklerin alındığı sistem (c) sistemde yer alan borular..... | 59 |
| Şekil 3.2 Filogenetik analiz için ham sekans verilerinin işlenmesinde kullanılan program Chromas (http://www.technelysium.com.au/chromas.html)..... | 63 |

| | |
|---|----|
| Şekil 4.1 <i>Aeromonas eucrenophila</i> bakterisinin Gen Bankası veri tabanı görüntüsü..... | 69 |
| Şekil 4.2 <i>Delftia acidovorans</i> bakterisinin Gen Bankası veri tabanı görüntüsü..... | 69 |
| Şekil 4.3 <i>Aeromonas eucrenophila</i> bakterisinin 14 günlük gelişim eğrisi..... | 71 |
| Şekil 4.4 <i>Delftia acidovorans</i> bakterisinin 14 günlük gelişim eğrisi..... | 71 |
| Şekil 4.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisinin 4 günlük gelişim eğrisi..... | 72 |
| Şekil 4.6 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında saniye süreyle kütle kaybı..... | 73 |
| Şekil 4.7 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim..... | 73 |
| Şekil 4.8 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında polarizasyon eğrileri..... | 74 |
| Şekil 4.9 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri..... | 75 |
| Şekil 4.10 Korozyon olayının gerçekleştiği alaşım yüzeyinin şematik gösterimi ve elektronik devre eşdeğeri..... | 76 |
| Şekil 4.11 Steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Zn alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografi, d, e, EDS spektrumu..... | 78 |
| Şekil 4.12 Ni-Zn alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi..... | 79 |
| Şekil 4.13 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı..... | 80 |
| Şekil 4.14 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim..... | 80 |
| Şekil 4.15 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> noküle edilmiş besiyeri ortamında polarizasyon eğrileri..... | 81 |

| | |
|---|----|
| Şekil 4.16 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri..... | 82 |
| Şekil 4.17 Steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Cu alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu..... | 84 |
| Şekil 4.18 Ni-Cu alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi..... | 85 |
| Şekil 4.19 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı..... | 86 |
| Şekil 4.20 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim..... | 86 |
| Şekil 4.21 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında polarizasyon eğrileri..... | 87 |
| Şekil 4.22 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri..... | 88 |
| Şekil 4.23 Steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Co alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu..... | 89 |
| Şekil 4.24 Ni-Co alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi..... | 90 |
| Şekil 4.25 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı..... | 91 |
| Şekil 4.26 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim..... | 92 |
| Şekil 4.27 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının 5 saat süresince polarizasyon eğrileri..... | 92 |

| | |
|--|-----|
| Şekil 4.28 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri..... | 94 |
| Şekil 4.29 Steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Zn alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu..... | 95 |
| Şekil 4.30 Ni-Zn alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi..... | 96 |
| Şekil 4.31 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı..... | 97 |
| Şekil 4.32 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim..... | 97 |
| Şekil 4.33 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının 5 saat süresince polarizasyon eğrileri..... | 98 |
| Şekil 4.34 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri..... | 99 |
| Şekil 4.35 Steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Cu alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu..... | 101 |
| Şekil 4.36 Ni-Cu alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi..... | 102 |
| Şekil 4.37 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı..... | 103 |
| Şekil 4.38 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim..... | 103 |
| Şekil 4.39 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının 5 saat süresince polarizasyon eğrileri..... | 104 |

| | |
|--|-----|
| Şekil 4.40. Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri..... | 105 |
| Şekil 4.41 Steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Co alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu..... | 107 |
| Şekil 4.42 Ni-Co alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi..... | 108 |
| Şekil 4.43 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı..... | 109 |
| Şekil 4.44 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim..... | 109 |
| Şekil 4.45 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının 5 saat süresince polarizasyon eğrileri..... | 110 |
| Şekil 4.46 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri..... | 111 |
| Şekil 4.47 Steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Zn alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu..... | 113 |
| Şekil 4.48 Ni-Zn alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi..... | 114 |
| Şekil 4.49 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı..... | 115 |
| Şekil 4.50 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim..... | 115 |
| Şekil 4.51 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının 5 saat süresince polarizasyon eğrileri..... | 116 |

| | |
|---|-----|
| Şekil 4.52 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri..... | 117 |
| Şekil 4.53 Steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Cu alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu..... | 119 |
| Şekil 4.54 Ni-Cu alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamının 5 saat süre ile pH takibi..... | 120 |
| Şekil 4.55 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı..... | 121 |
| Şekil 4.56 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim..... | 121 |
| Şekil 4.57 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında polarizasyon eğrileri..... | 122 |
| Şekil 4.58 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri..... | 123 |
| Şekil 4.59 Steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Co alaşımı kaplı disklerin a.b.c. SEM mikrografı, d.e. EDS spektrumu..... | 125 |
| Şekil 4.60 Ni-Co alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi..... | 126 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | | |
|-------------|--|----|
| Çizelge 2.1 | Çeşitli metallerin kullanım amaçlarına göre sınıflandırılması..... | 8 |
| Çizelge 2.2 | Çeşitli metallerin kullanıldığı sektörler..... | 9 |
| Çizelge 2.3 | Standart elektrot potansiyel serisi..... | 16 |
| Çizelge 2.4 | Endüstriyel su sistemlerinde kullanılan biyositler, özellikleri ve genel kullanım derişimleri..... | 25 |
| Çizelge 2.5 | MIC'den etkilendiği bilinen bazı sanayi dalları ve sorunlu alanlar..... | 39 |
| Çizelge 2.6 | Farklı mikroorganizmaların korozyona neden olan metabolik ürünleri..... | 42 |
| Çizelge 3.1 | Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler..... | 57 |
| Çizelge 3.2 | Çalışmalar süresince kullanılan cihaz ve kullanım amaçları..... | 58 |
| Çizelge 4.1 | İçerisinde metal diskler bulunan besiyerinde gelişen izolatlar..... | 68 |
| Çizelge 4.2 | Çalışmada kullanılan mikrobiyal türlerin bilimsel sınıflandırılmaları..... | 70 |
| Çizelge 4.3 | Ni-Zn alaşımı için Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenen Ekor ve Ikor değerleri..... | 74 |
| Çizelge 4.4 | Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş -besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri..... | 77 |
| Çizelge 4.5 | Ni-Cu alaşımı için Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenen Ekor ve Ikor değerleri..... | 81 |
| Çizelge 4.6 | Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri..... | 82 |
| Çizelge 4.7 | Ni-Co alaşımı için Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenen Ekor ve Ikor değerleri..... | 87 |
| Çizelge 4.8 | Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>A. eucrenophila</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri..... | 88 |

| | |
|---|-----|
| Çizelge 4.9 Steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının polarizasyon eğrilerinden hesaplanmış korozyon parametreleri..... | 93 |
| Çizelge 5.0 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri..... | 94 |
| Çizelge 5.1 Steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının polarizasyon eğrilerinden hesaplanmış korozyon parametreleri..... | 98 |
| Çizelge 5.2 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri..... | 100 |
| Çizelge 5.3 Steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının polarizasyon eğrilerinden hesaplanmış korozyon parametreleri..... | 104 |
| Çizelge 5.4 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>D. acidovorans</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri..... | 105 |
| Çizelge 5.5 Steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının polarizasyon eğrilerinden hesaplanmış korozyon parametreleri..... | 110 |
| Çizelge 5.6 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri..... | 111 |
| Çizelge 5.7 Steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının polarizasyon eğrilerinden hesaplanmış korozyon parametreleri..... | 116 |
| Çizelge 5.8 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri..... | 118 |
| Çizelge 5.9 Ni-Co alaşımı için Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenen Ekor ve Ikor değerleri..... | 122 |
| Çizelge 5.10 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve <i>P. aeruginosa</i> inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri..... | 123 |

SİMGELER DİZİNİ

| | |
|-----------------|-----------------|
| Au | Altın |
| CH ₄ | Metan |
| Fe | Demir |
| FeS | Demir sülfür |
| H ₂ | Hidrojen |
| KCl | Potasyum klorür |
| mV | Mikrovolt |
| O ₂ | Oksijen |
| S ²⁻ | Sülfür |
| μM | Mikromolar |

KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|-------------------|---|
| Ag/AgCl elektrotu | Gümüş/Gümüş Klorür Elektrot |
| β_a | Volt/decade anodik Beta katsayısı |
| β_c | Volt/decade katodik Beta katsayısı |
| BNS | β -brom- β -nitrositiren |
| CA | Kronoamperometrik kaplama |
| C _{dl} | Çift katman kapasitansı |
| CHX | Klorheksidin |
| CPE | Sabit faz elemanı |
| CV | Döngüsel voltametri |
| DBNDP | Di-bromonitropropanamid |
| DC | Doğru akım |
| EDL | Elektriksel çift tabaka |
| EDS | Enerji dispersif X-ışını spektroskopisi |
| E _{kor} | Korozyon potansiyeli |
| EIS | Elektrokimyasal empedans spektroskopisi |
| i _{kor} | Korozyon akımı |

| | |
|----------|--|
| LSV | Lineer taramalı voltametri |
| MBT | Bis(triklorometil) sülfon, metiletilenbistiyosiyanat |
| MIC | Mikrobiyolojik Korozyon Etkisi |
| NA | Nutrient agar |
| NB | Nutrient broth |
| Ni-Zn | Nikel-Çinko |
| Ni-Cu | Nikel-Bakır |
| Ni-Co | Nikel-Kobalt |
| OCP | Açık Devre Potansiyeli |
| OD | Optik yoğunluk |
| PHA | Polihidroksialkanoat |
| R_p | Polarizasyon direnci |
| R_{ct} | Yük transfer direnci |
| SEM | Taramalı elektron mikroskobu |
| SHE | Standart Hidrojen Elektrot |
| SRB | Sülfat indirgeyen bakteriler |

1. GİRİŞ

Her yıl milyarlarca dolar kayba yol açan, ciddi sorunlardan biri olarak bilinen korozyon; malzemelerin özellikle metal ve alaşımların çevreleri ile kimyasal ve elektrokimyasal tepkimeye girmeleri sonucunda aşınmaları olarak ifade edilir (Shreir vd 2000). Tez çalışması kapsamında araştırılmak istenen Mikrobiyolojik Korozyon Etkisi (MIC) ya da biyokorozyon ise; mikrobiyal aktivite sonucu metal veya alaşımlarının bozulması olayıdır ve son yıllarda giderek önem kazanmaktadır. Metalik malzemelerde oluşan tüm korozyon zararının yaklaşık % 20'sini MIC'in oluşturduğunu ileri sürülmektedir (Javaherdashti 2008). Mikroorganizmaların genellikle 1 mikrometreden (μm) daha küçük olmaları, her yerde bulunabilmeleri, geniş aralıktaki sıcaklık, basınç, pH ve oksijen değişimlerine dayanıklı olmaları, hızla üremeleri, birçok kimyasal maddeye dayanıklı olmaları, asetik asit, sülfürik asit ve formik asit gibi çok farklı asitleri üretebilmeleri ve metalleri yükseltgeyebilme veya indirgeyebilme özellikleri mikrobiyal korozyon çeşitliliğinin ve sınırlarının pratikçe bütün sistemlerin olduğunu göstermektedir. Özellikle su sistemleri (Zhou 2010, Cole ve Marney 2012), ilaç endüstrisi (Videla 2003, Wang vd 2008), besin endüstrisi (Beech ve Sunner 2004, Durmoo vd 2008) petrol, gaz, gemcilik ve inşaat gibi birçok endüstriyel sektörde, sağlık ve güvenlik riski ile birlikte büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Ekonomik kayıplara: hasarın giderilmesi için geçen sürede tesisin devre dışı kalması, depo, boru vs. delindiğinde ürünün dışarı akması örnek olarak verilebilir. Ayrıca, korozyona sebep olan mikroorganizmaların, üretilen ürünü karbon ve enerji kaynağı olarak kullanıp kalitesini düşürmesi, çözünebilir korozyon ürünlerinin üretilen malzemeye karışması, korozyonu önlemek için pahalı ve daha kalın malzeme ve kaplamaların kullanımı, katodik koruma yapılması, mikroorganizma sayılarının belli değerler altında tutulması için biyositlerin kullanımı ise maliyeti arttırmaktadır.

MIC araştırmaların büyük bir çoğunluğu anaerobik korozyon (Sülfat indirgeyici bakteriler (SRB)) çalışmaları oluşturmakta iken aerobik korozyon mekanizması üzerine mikroorganizmaların etkisi hakkında sınırlı ölçüde bilgi bulunmaktadır. Bu nedenle dünya genelinde ve ülkemizde endüstride sağlamlık ve hava değişimlerinden etkilenmeme özellikleri nedeniyle hem kendi başına hem de alaşımları halinde kullanılan Nikel alaşımlarının (Yuan ve Pehkonen 2007) (Nikel-Çinko (Ni-Zn), Nikel-Bakır (Ni-Cu) ve Nikel-Kobalt (Ni-Co)) aerobik bakterilerin korozyon etkisi araştırılmıştır.

Planlanan doktora tezinin ilk aşamasında, Ankara İvedik Su Arıtım Tesisinde, MIC gözlemlenmiş boru sistemlerden alınan örneklerinden mikroorganizmalar izole edilmiştir. Elde edilen saf kültürlerin 16S rRNA filogenetik analizleri yapılarak, tür düzeyinde tanımlanmıştır.

İkinci kısımda; bakterilerin korozyon etkilerinin araştırılması için Açık Devre Potansiyeli (OCP), Lineer Taramalı Voltametri (LSV) ve Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS) teknikleri ile korozyon verilerine ulaşılmıştır. Ayrıca, Kuartz Kristal Mikrobals (QCM) tekniği ile kütle kaybı verileri elde edilmiştir.

Tez çalışmasının üçüncü kısmında, korozyon deneyleri sonrasında yüzey morfolojisindeki değişimin incelenmesi için taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve yüzeyde oluşan korozyon ürünleri ve değişen iyon konsantrasyonları için ise enerji dağılımlı X-ışınları analizi (EDS) yapılmıştır.

Özetle, tez çalışması, su ile bağlantılı tesislerde önemli ekonomik kayıplara yol açan aerobik bakterilerin tür düzeyinde teşhislerini, Nikel alaşımlarının korozyonuna etkisini ve korozyon hızının belirlenmesini amaçlamaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Elektrokimya ve Kullanım Alanları

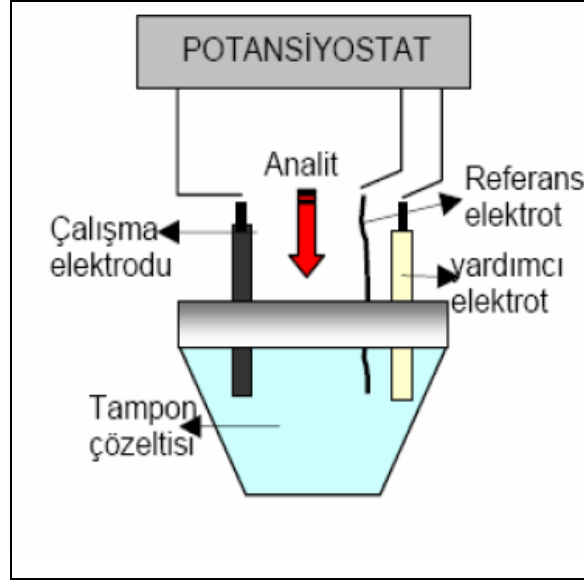
Genel anlamda elektrokimya redoks (indirgenme/yükseltgenme) reaksiyonlarını inceler. Maddelerin elektrokimyasal özelliklerini analiz amacıyla kullanılan yöntemlere de elektroanalitik yöntemler denir. Bir elektrokimyasal olay mutlaka bir redoks reaksiyonudur. Elektrokimya pratikte büyük öneme sahip bir konudur. Piller ve akümülatörler, kimyasal enerjiyi elektrik enerjisine dönüştüren düzeneklerdir ve günlük hayatımızda çok çeşitli amaçlar için elektrik enerjisi kaynağı olarak kullanılmaktadırlar. Doğada çok sık karşılaşılan ve gerçekleşmesi istenilmeyen bir olay olan korozyon da elektrokimyasal bir süreçtir (Schweitzer 1996, Beech 2004).

2.2. Elektrokimyasal Hücreler

Bir doğru akım (DC) elektrokimyasal hücre her biri uygun bir elektrolit çözeltisine daldırılmış, elektrot olarak isimlendirilen iki elektriksel iletken oluşmaktadır. Bir hücrede bir akım oluşabilmesi için,

- Elektrotların bir metal iletkenle dış bağlantılarının sağlanması
- Çözeltiler arasında birinden diğerine iyon geçişine imkân verecek bir temas olması
- Her iki elektrotun her birinde bir elektron aktarım reaksiyonunun meydana gelmesi gereklidir.

İndirgenme reaksiyonu katotta olurken, yükseltgenme reaksiyonu anot kısmında olur. Çözelti içerisinde indirgenecek ve yükseltgenecek başka bir madde bulunmadığında katotta H_2 anotta ise O_2 oluşur (Berger 1990). Bir elektrokimyasal hücrenin basit şematik şekli Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1 Basit bir elektrokimyasal hücrenin şematik gösterimi

Elektroanalitik yöntemler, diğer yöntemlere göre bazı üstünlüklere sahiptir. Örneğin, elektrokimyasal ölçümlerle belirlenen değerler çoğu kez bir elementin bir yükseltgenme basamağı için spesifiktir. Ayrıca elektrokimyasal yöntemlerde kullanılan cihazlar diğer yöntemlerdekilere göre daha ucuzdur. Elektrokimyasal yöntemler, kimyasal türlerin derişimlerinden çok aktiflikleri hakkında bilgi verir (Berger 1990, Üneri 1998).

2.3. Elektrokimyada Kullanılan Elektrotlar

Tanım olarak, elektrokimyasal bir hücrenin katodu indirgemenin olduğu elektrottur, anot ise yükseltgenmenin olduğu elektrottur. Bu tanımlamalar hem galvanik hem de elektrolitik hücreler için geçerlidir. Elektrotlar 3 tiptir; referans elektrotları, çalışma elektrotları ve karşıt (yardımcı) elektrotlar. Elektrokimyasal yöntemlerde kullanılan elektrot sistemine ikili veya üçlü elektrot sistemi adı verilir. İkili elektrot sistemi bir çalışma ve bir referans elektrottan oluşurken, üçlü elektrot sistemlerinde ilave olarak bir yardımcı elektrot mevcuttur (Koehler 1944, Felloni vd 1987).

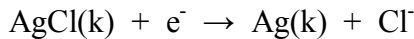
2.3.1. Referans elektrotlar

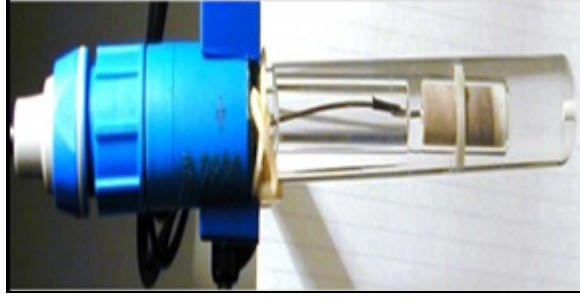
Referans elektrotlar; elektrokimyasal uygulamalar sırasında potansiyeli dış ortamdan etkilenmeyen, sabit kalan ve çalışılan çözeltinin bileşiminden etkilenmeyen elektrotlardır. Bir referans elektrot kolayca hazırlanabilmeli, potansiyelinin sıcaklıkla değişim katsayısı çok düşük olmalı, belli bir akım aralığında tersinir davranmalı yani içinden küçük akımlar geçtiğinde dahi gerilimi sabit kalmalıdır (Gilbert vd 1995, Schweitzer 1996). Bu koşullar dikkate alındığında, Standart Hidrojen elektrotu, Gümüş/Gümüş Klorür elektrotu (Ag/AgCl) ve Kalomel Elektrot referans elektrot olarak kullanılabilirdiği görülmüştür.

Standart Hidrojen Elektrot (SHE), potansiyeli bilinmeyen herhangi bir elektrodun standart potansiyelini saptamak için kullanılır. Standart hidrojen elektrodunun potansiyeli her sıcaklıkta sıfır kabul edilir. Hazırlanması zor bir elektrot olduğundan fazla kullanışlı değildir (Üneri 1998).

Kalomel elektrot, referans elektrodu olarak çok kullanılan elektrotlardan bir tanesidir. Elektrotta, $\text{Hg}_2\text{Cl}_2 + 2\text{e}^- \leftrightarrow 2\text{Hg} + 2\text{Cl}$ reaksiyonu meydana gelmektedir. Böyle bir reaksiyonun potansiyeli ortamdaki klor iyonu konsantrasyonuna bağlıdır. Sıcaklıkla potansiyeli çok değişmesine rağmen akım alınmalarına karşı çok dayanıklıdır. Böyle bir elektrot laboratuvarında kolaylıkla hazırlanabilir. Yalnız dengeye gelmesi için yapıldıktan sonra birkaç gün bekletilmelidir (Gilbert vd 1995).

Gümüş- gümüş klorür referans elektrot (Ag/AgCl): Gümüş bir telin, elektrolitik yoldan Gümüş klorür (AgCl) ile kaplanarak klor iyonu içeren bir çözeltiye daldırılmasıyla elde edilen bir elektrotur (Şekil 2.2). Bu elektrotun yarı tepkimesi aşağıda verildiği gibidir.





Şekil 2.2 Gümüş- gümüş klorür referans elektrot

Doygun potasyum klorür (KCl) çözeltisi kullanıldığı zaman, bu elektrotun standart hidrojen elektrotuna göre potansiyeli, +0,222 V'dur.

2.3.2. Yardımcı/karşıt elektrotlar

Yardımcı elektrotun görevi; çalışma elektrotu ile referans elektrotu arasına uygulanan gerilim farkının güvenceye alınmasıdır. Potansiyel, referans ve çalışma elektrotları arasına uygulanmakta ve yardımcı elektrotun varlığı ile sabit kalmaktadır. Akım, çalışma elektrotundan yardımcı elektroda doğru akmaktadır (Gilbert vd 1995, Stott 2010).

Yardımcı elektrot helezon şeklinde kıvrılmış platin bir tel veya bir cıva havuzu şeklinde olan ve elektriğin çözelti içinden çalışma elektrotuna aktarılmasını sağlayan karşıt elektrottur (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Karşıt elektrot örneği; Platin elektrot

2.4. Kaplama

Malzemelerin yüzey özelliklerini değiştirerek; yeni mühendislik özellikleri kazandırmak ya da dekoratif açıdan çekici kılmak, insanoğlunun eski çağlardan beri süregelen amaçlarından birisi olmuştur (Shreir vd 2000). Teknolojinin hızla ilerlemesiyle birlikte malzemelerin birçok özelliği bir arada bulundurması istenmektedir. Ancak yüksek aşınma, korozyon dayanımı ve iyi şekillendirebilme gibi özellikleri sağlayabilmek yüksek üretim maliyetini de beraberinde getirmektedir. Kaplama teknolojileri, diğer üretim tekniklerine kıyasla düşük maliyetleri nedeniyle son yıllarda özellikle korozyondan koruma çalışmalarında araştırmacıların ilgi odağı olmuşlardır (Çetinkaya 2006).

Yüzey üzerine yapılan her tür işleme yüzey işlem denir. Yapıştırmadan, boyamaya, ısıtma işleminden, kaplamaya kadar son derece geniş bir uygulama alanına sahiptirler. Bu tür işlemler ara işlem olabildiği gibi son işlem olarak da uygulanabilir. Bazen hem ara işlem hem de son işlem olarak birkaç aşamada da uygulanabilir (Gamburg vd 2001). Yüzey kaplama; performans artışı, maliyet düşüşü, korozyon ya da dış etkenlerden korumak, dekoratif görünüm kazandırmak, mühendislik, fonksiyonellikte iyileşme, mühendislik problemlerine çözüm getirme, nadir malzeme kaynaklarının dönüşümü, güç tüketiminde düşüş ve verim artışı amaçları için uygulanmaktadır (Gilbert vd 1995, Jones 1996). Çizelge 2.1'de çeşitli metallerin kullanım amaçları ve Çizelge 2.2'de bu metallerin sıklıkla kullanıldıkları sektörler verilmiştir.

Çizelge 2.1 Çeşitli metallerin kullanım amaçlarına göre sınıflandırılması (Yalçın ve Koç 1991)

| Metal adı | Kullanım amacı |
|------------------|--------------------------------|
| Çinko | Koruma, dekoratif |
| Nikel | Koruma, dekoratif, mühendislik |
| Bakır | Dekoratif, mühendislik |
| Krom | Dekoratif, mühendislik |
| Kalay | Koruma, dekoratif |
| Gümüş | Dekoratif, koruma, mühendislik |
| Rodyum | Dekoratif, mühendislik |
| Paladyum | Dekoratif, mühendislik |
| Rutenyum | Dekoratif, mühendislik |
| Platin | Mühendislik |

Çizelge 2.2 Çeşitli metallerin kullanıldığı sektörler (Yalçın ve Koç 1991)

| Metal Adı | Makine | İnşaat | Otomotiv | Silah | Havacılık | Promosyon | Elektronik |
|------------------|---------------|---------------|-----------------|--------------|------------------|------------------|-------------------|
| Çinko | + | + | + | | + | + | + |
| Nikel | + | + | + | + | + | + | |
| Bakır | + | + | + | + | | + | + |
| Krom | + | + | + | + | + | + | + |
| Kalay | + | | | | | | + |
| Altın | | | | + | | + | + |
| Gümüş | + | | | + | | + | + |
| Rodyum | + | | | | | + | + |

2.4.1. Metal kaplama

Galvani; 18. yüzyılda elektrik akımı ile iyonların hareket ettiğini bulmuş ve bu yolla metal iyonlarını iki elektrot arasında transfer ettirmiştir. Bu nedenle metal kaplamanın temelini bulduğu kabul edilmiş ve birçok yerde kullanılan ‘galvaniz’ kelimesi bu bilim adamının soyadından gelmiştir. Daha sonra bu konuda birçok bilim adamı çalışmış ancak temel teoriyi Faraday keşfetmiştir. Faraday uygulanan akım değeri ile transfer edilen iyonlar arasındaki bağıntıları formüle etmiştir. Kendi adıyla anılan bu kanunlar ile artık tüm kaplama işlemleri günümüzde teorik olarak hesaplanabilmektedir. Ancak metal kaplama işleminin kullanılmaya başlanması sanayi devriminden sonra 20. yy’da başlamıştır. Fakat 20. yüzyılın üçüncü çeyreğinde ve özellikle de son çeyreğinde çok hızlı bir gelişim sağlanmış ve hala üzerinde çok yoğun bir biçimde çalışılmaktadır (Jones 1996, Yuan ve Pehkonen 2007).

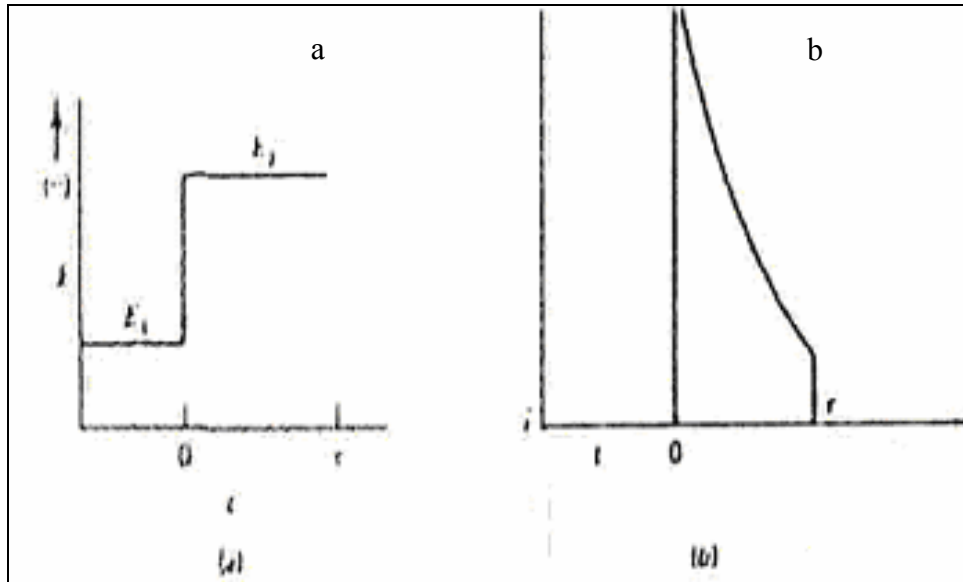
Metallerin elektrokimyasal birikim ve çözünmesi, çok sayıda metal işleme yöntemlerinde kullanılır. Bunlardan en yaygın kullanım alanını oluşturan ve en iyi bilineni; elektrolitik kaplamadır. İletken bir yüzey tabakası sağlanmak koşuluyla, kaplanan yüzey metal ya da metal olmayan bir maddedir (Saraç 1995). Elektrolitik metal kaplama, genel olarak bir elektrolit içindeki metal iyonları indirgenerek katot üzerine çöktürülmesidir. Çöktürülen metal iyonları, anot olarak kullanılan metal plakadan yükseltgenerek elektrolite geçebilir ya da elektrolit içine dışarıdan bu metalin tuzu olarak ilave edilirler. Bir metal kaplama banyosunun çözücüsü sudur. Elektrolit içinde kaplanacak metal iyonları, iletkenlik sağlayan tuzlar ve kaplanacak metal ile kompleks yapan tuzlar içerir. Bazen iletkenliği sağlayan tuzlar aynı zamanda metal ile kompleks de yapabilirler. Bunun yanında bazı ek araçlara da gereksinim duyulur. Bunlar elektrolitin karıştırılması ve saflaştırılması için gerekli olan ve herhangi bir otomatik kontrol için gerekli olan araçlardır. Elektriksel araçlar ise ana güç kaynağından gerekli düşük gerilim sağlamak amacıyla bir azaltıcı dönüştürücü ve rektifiye edici araçlardır. Bazı hallerde motor jeneratörler de kullanılmaktadır. Bu arada kaplama hücrelerine gerekli gücün istenen oranda verilmesini sağlayacak kontrol sistemlerine gereksinim duyulabilir (Koehler 1944).

2.4.2. Alaşım kaplama

Elektrot potansiyelleri birbirinden farklı iki veya daha fazla metal iyonunun, elektrot potansiyellerinden daha negatif bir potansiyelde, birlikte indirgenmelerine alaşım kaplama denir. Ancak metallerin standart elektrot potansiyelleri onların birlikte katodik indirgenmeleri hakkında bilgi vermez (Saraç 1995). Elektrot potansiyelleri yalnızca metal ve iyonlarının denge durumunu ve termodinamik açıdan hangi metal iyonunun öncelikle indirgenebileceği hakkında bilgi verir. Kaplama sırasında ise kaplama potansiyeli, polarizasyondan dolayı denge potansiyelinden daha negatiftir. Metal çözeltilerindeki kompleks iyonların denge potansiyelleri de yine daha negatiftir. Çünkü bu metal iyonları kompleks yapısından daha kararlıdır ve bu kararlılığı bozmak için gerekli enerji daha fazladır. Bazı metallerin elektrot potansiyelleri hidrojene göre daha negatif olduğundan sulu çözeltilerden iyonlarının indirgeme ile kazanılmaları yine termodinamik açıdan mümkün değildir. Fakat bu metallerin yüzeyinden hidrojenin açığa çıkması için gerekli enerji yüksek ise hidrojenden önce metal iyonu indirgenmesi mümkün olmaktadır (örneğin çinkonun indirgenmesi gibi). Bu olaya hidrojen voltajı denir (Akgün 1984).

2.4.3. Kronoamperometrik kaplama (CA)

Bu teknik, çözeltiliye daldırılmış olan çalışma elektrotu potansiyelinin ani olarak değiştirilmesi ile durgun ortamda akım-zaman ilişkisinin gözlenmesine dayanır. Başlangıçta çözeltide O maddesinin olduğu ve $O + ne^- \rightarrow R$ reaksiyonunun gerçekleştiği durumda, öncelikle çalışma elektrotuna herhangi bir redoks reaksiyonunun olmadığı E1 potansiyeli uygulanır (Parbery 1968). Sonra aniden elektrotun potansiyeli E2'ye değiştirilir. Döngüsel voltamogramının (CV) pik potansiyelinin ötesinde bir potansiyelde E2 potansiyeli seçilir. Potansiyel E2 de sabit tutulur. Bu potansiyelde oluşan akımın zamanla değişimine bakılır (Şekil 2.4). Oluşan akım Cottrell eşitliği ile verilir.



Şekil 2.4 Kronoamperometride (a) potansiyel-zaman ve (b) akım-zaman ilişkisi

Kronoamperometri tekniği kullanılarak; bir maddenin difüzyon katsayısı bulunabilir, elektron aktarım reaksiyonunun hız sabiti hesaplanabilir, elektrot reaksiyonunun mekanizması belirlenebilir ve elektron aktarım basamağına eşlik eden bir kimyasal reaksiyonun hız sabiti de bulunabilir (Gamburg vd 2001).

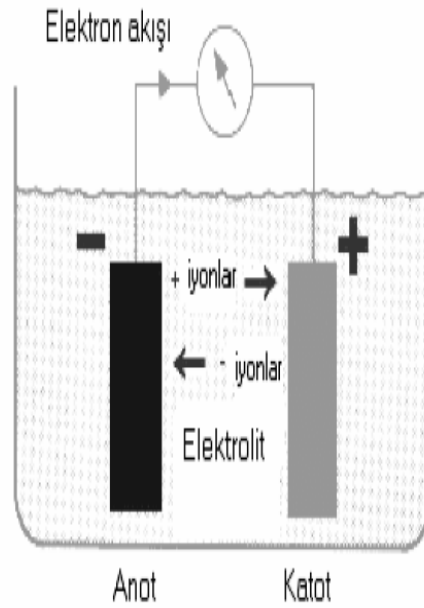
2.5. Nikel Alaşımları ve Uygulama Alanları

Çelik malzeme ile alüminyum, pirinç gibi demir dışı metallerin korozyon dayanımlarını artırabilmek ve dekoratif görünüm kazandırmak amacıyla farklı türde metal kaplama uygulamaları sanayide yaygın biçimde kullanılmaktadır. Bu metal kaplamalar arasında ikinci en yaygın olanı nikel ve nikel alaşımları kaplamalarıdır. Nikel alaşımları birçok uygulamada dayanıklılığı, sert yapısı ve korozyona dirençliliği nedeni ile sıklıkla kullanılmaktadır. Nikel alaşımlarından Ni-Zn alaşımının özellikle tuzlu ortamlarda diğer alaşımlar içinde en yüksek korozyon direncine sahip olduğu bilinmektedir (Felloni vd 1987). Ni-Zn alaşımı çinko (Zn) kaplamanın alternatifi olarak mekanik özelliklerin artırılması ve yüksek korozyon direncinden dolayı kullanılmaktadır (Short vd 1996, Ramanauskas 1999). Tez çalışmasında kullanılan bir diğer Nikel alaşımı olan Ni-Cu alaşımı ise, özellikle gemilerde, boru sistemlerinde, elektrik santrallerinde, ısı dönüştürücüleri gibi tuz içeren su ortamları ile ilişkili uygulamalarda kullanılmaktadır (Gilbert vd 1995, Jones 1996). Ni-Cu alaşımı özellikle işlenebilme, sıcaklık geçirgenliği ve anti-fouling gibi özelliğe sahiptir. Son 50 yıldır özellikle deniz suyunun taşınmasında kullanılan boru sistemleri ve çok çeşitli marin uygulamalarda tercih edilmektedir. Ni-Cu alaşımı çukurcuk korozyonu ve erozyon korozyona dirençli bir materyaldir. Tez çalışmasında kullanılan bir diğer nikel alaşımı olan Ni-Co alaşımı ise manyetik uygulamalar özellikle sensör ve erişim düzenekleri gibi mikro-sistemlerde kullanılmaktadır (Gomez vd 2005, Wang vd 2005).

2.6. Korozyon ve Tarihçesi

Korozyon genel anlamda malzemenin bulunduğu ortamda özelliklerini kaybederek parçalanması ve kullanılmaz hale gelmesidir. Korozyon kavramını, daha çok metal ve alaşımlarının çevreleri ile kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyonları sonucu bozulmalarını tanımlamak için kullanırız (Berger 1990). Elektrokimyasal korozyon, sıfır değerlilikte bir metalden harici bir elektron alıcıya elektron transferini kapsayan bir kimyasal tepkimedir. Bu tepkime sonucunda ortamda metal iyonları açığa çıkar ve metal aşınmaya uğrar. Şekil 2.5'de korozyon olayının şematik gösterimine göre bu süreç bir seri yükseltgenme (anodik) ve indirgenme (katodik) tepkimesinden meydana gelir (Gilbert vd 1995). Havalandırılmış çözeltilerde katodik tepkime, oksijenin indirgenmesi ve hidrojenin açığa çıkmasıdır.

Anodik tepkime (metalın çözünmesi) hızı, yükseltgenme (oksidasyon) ürünlerinin (korozyon ürünleri) koruyucu bir tabaka olarak yüzeye yapışması sebebiyle zamanla azalır. Bu tabakanın kararlılığı, kimyasal ve morfolojik yapılarına bağlı olup, genel olarak metalın korozyona dayanıklılığını belirler. Metal yüzeyinde oluşan biyofilm içindeki mikrobiyal aktivite, katodik ve/veya anodik tepkimenin kinetiğini de etkilemekte ve ayrıca korozyonun hızlanması veya inhibisyona sebep olacak şekilde, koruyucu tabaka içerisindeki kimyasal yapıda da önemli ölçüde değişikliğe yol açabilmektedir (Beech ve Sunner 2004).



Şekil 2.5 Korozyon olayının şematik gösterimi

2.7. Korozyon Hücrelerinde Yürüyen Olaylar

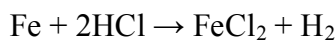
Metal ve alaşımların korozyona uğradıkları sulu ortamlar, asit, baz ve tuz çözeltileri gibi iletkenliği yüksek olan ve çeşitli iyonları içeren elektrolitler olabildiği gibi musluk suyu, deniz suyu hatta damıtık su bile olabilir (Marcus 2002). Korozyon, metal/alaşım'ın çevresi ile oksit veya başka bir bileşimini oluşturmak üzere tepkimeye girmesidir (Berger 1990). Metal ve alaşımların korozyonu sırasında gelişen olaylar bir pilde meydana gelen olaylara benzemektedir. Korozyon hücresinden de görüleceği üzere korozyonun meydana gelebilmesi için üç ana bileşenin bir arada bulunması gereklidir: Anot ve katot bölgeleri,

anot ve katot arasında potansiyel farkı ve anot ve katodu birleştiren iletken bir yol (Schweitzer 1996).

Anot ve katot elektriksel olarak iletken olan bir elektrolit içine daldırılmış olmalıdır. Suyun H^+ ve OH^- iyonlarına ayrışması bile bu koşulu yerine getirebilir. Bu sebeple bir metal yüzeyinde yoğunlaşan su bile elektrolit görevini görür. Bir boru hattının çevresindeki nemli toprak ya da deniz suyu bir elektrolit gibi davranır (Koehler 1944).

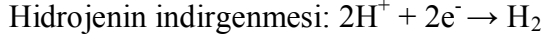
Korozyon hücrelerinin anot bölgesi, metal atomlarının yükseltgenmesi ile metal korozyona uğrar. Korozyonun sürmesi bu hücrenin çalışmasına bağlıdır. Korozyon hücrelerinin çalışabilmesi, ancak anot ve katot bölgeleri arasında bir potansiyel farkının oluşması ile mümkündür. Metal/alaşım yüzeyinde bölgesel korozyon hücrelerinin oluşmasına sebep olan potansiyel farklarını meydana getiren etkenler çok değişiktir. Örnek olarak, metal yüzeyinin her tarafının aynı olmaması, her türlü heterojeni, yüzeyde kusurlu bölgelerin bulunması, metal içindeki safsızlıklar, bölgesel gerginlikler, ortamdaki değişiklikler, aktif iyonlar, metal/alaşıma yapılan farklı işlemler, çizikler, çentikler, diğer yüzey pürüzlülükleri ve alaşım içindeki metallerin birbirine göre farklılıkları verilebilir (Marcus 2002).

Sonuç olarak korozyon olayı, özde elektrokimyasal bir olaydır. Korozyon tepkimeleri ile bir pilde yürüyen tepkimeler ile temelde aynıdır. Korozyon esnasında metal elektrokimyasal pile benzer biçimde, oluşan korozyon hücrelerinin anodunu oluşturur ve yükseltgenerek metal iyonları halinde elektrolite geçer. Bu katyonlar ortamda bulunan anyonlara ve ortam şartlarına bağlı olarak katı, sıvı veya gaz bileşikler oluşturabilirler. Korozyon hücrelerinin katodunda ise herhangi bir maddenin indirgenmesi ile anot bölgesinden iletilen elektronlar harcanır. Katotta, ortam şartlarına bağlı olarak hidrojen iyonu, oksijen, herhangi bir soy metal iyonu ya da herhangi bir madde veya iyon indirgenebilir (Hadley 1948). Bir demir levhanın hidroklorik asit çözeltisine daldırılması sırasında yürüyen tepkime aşağıdaki gibi gösterilebilir.

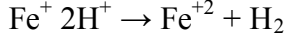


Bu toplam tepkime iki yarı tepkimeye ayrılabilir:





Bu iki yarı tepkimenin toplamı, oluşan elektrokimyasal hücrede yürüyen korozyon tepkimesini verir.



Ortamda bulunan Cl^- iyonları herhangi bir değişikliğe uğramadan kaldığından tepkime denklemlerinde gösterilmezler.

2.8. Standart Elektrot Potansiyelleri

Metallerin denge potansiyelleri ya da çözünme potansiyelleri tersinir bir referans elektrot aracılığıyla ölçülebilir. Bu aynı zamanda korozyon potansiyelidir (Üneri 1998). Genel olarak yükseltgenme potansiyelleri hidrojenin yükseltgenme potansiyelinden büyük olan metaller sulu çözeltilerde hidrojen çıkışıyla çözünürler. Metalin yükseltgenme potansiyeli hidrojenden ne denli büyükse korozyon da o denli büyük olur. Bunlara örnek olarak kurşun, kalay, nikel, kobalt, kadmiyum, demir, krom, çinko, manganez, alüminyum, sodyum, seryum, potasyum, stronsiyum, berilyum ve lityum verilebilir (Felloni vd 1987). Yükseltgenme potansiyelleri hidrojenin yükseltgenme potansiyellerinden küçük olan metaller hidrojen çıkışı ile korozyona uğramazlar fakat oksijen içeren çözeltiler içinde korozyona uğrayabilirler. Bu metaller antimon, bizmut, bakır ve gümüşdür. Yükseltgenme potansiyeli oksijenin çözünme yükseltgenme küçük olan metaller, örneğin altın genel olarak sulu çözeltilerde korozyona uğramazlar. Standart elektrot gerilimi ne kadar pozitifse aktiflik o denli söz konusudur. Çizelge 2.3'de elde edilen değerler, 1 M madde miktarının 1 atm basınç altında Platin (Pt) gibi soy metal referans alınarak ölçülmüştür (Üneri 1998).

Çizelge 2.3 Standart elektrot potansiyel serisi

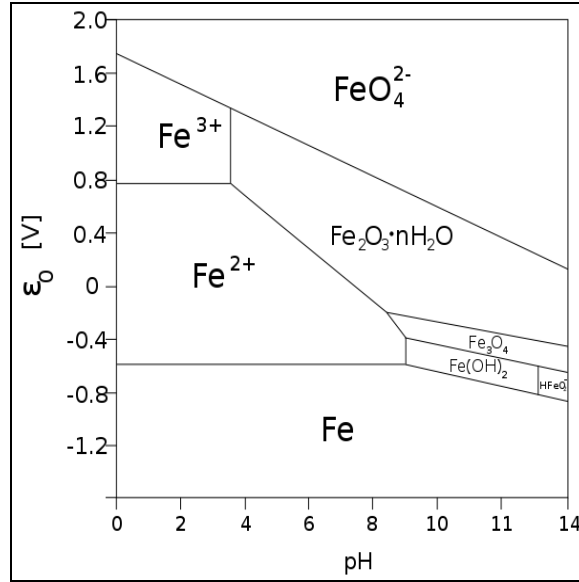
| Elektrot | Elektrot Reaksiyonu | Standart Elektrot Potansiyeli Volt |
|----------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| Au/Au ⁺³ | $Au \rightarrow Au^{+3} + 3e^{-}$ | -1,500 |
| Ag/Ag ⁺² | $Ag \rightarrow Ag^{+2} + 2e^{-}$ | -0,799 |
| Hg/Hg ⁺² | $Hg \rightarrow Hg^{+2} + 2e^{-}$ | -0,780 |
| Cu/Cu ⁺² | $Cu \rightarrow Cu^{+2} + 2e^{-}$ | -0,337 |
| Pt/H ₂ /H | $H^2 \rightarrow H^{+2} + 2e^{-}$ | 0,000 |
| Fe/Fe ⁺² | $Fe \rightarrow Fe^{+2} + 2e^{-}$ | +0,440 |
| Zn/Zn ⁺² | $Zn \rightarrow Zn^{+2} + 2e^{-}$ | +0,763 |
| Al/Al ⁺³ | $Al \rightarrow Al^{+3} + 3e^{-}$ | +1,662 |
| Mn/Mn ⁺² | $Mn \rightarrow Mn^{+2} + 2e^{-}$ | +1,180 |
| Mg/Mg ⁺² | $Mg \rightarrow Mg^{+2} + 2e^{-}$ | +2,363 |
| Na/Na ⁺ | $Na \rightarrow Na^{+} + e^{-}$ | +2, 14 |

Bir metal, elektrolit bir çözeltiye daldırıldığı anda yüksüzdür. Yani metalle elektrolit arasındaki potansiyel farkı ve elektriksel alan sıfırdır. Bu durum ara yüzeyin elektrokimyasal olarak dengede olduğunu göstermez. Bir süre sonra metal yüzeyinde denge potansiyeli oluşur. Bu potansiyel tersinir bir referans elektrot vasıtasıyla ölçülebilir. Yukarıda bazı elementlerin potansiyeli verilmiştir (Crawford 1978).

Metalin yükseltgenme potansiyeli hidrojen denli büyükse korozyon da o denli büyük olur. Çizelge 2.3 incelendiğinde aktif metal diye adlandırdığımız Li, Na ve Mg gibi elementlerin standart elektrot potansiyelleri diğerlerine nazaran daha yüksektir.

2.9. Potansiyel–pH Diyagramları

Pourbaix ve arkadaşları tarafından termodinamik ve elektrokimyasal termodinamikten yararlanarak metaller (ve diğer elementler) için potansiyel–pH diyagramları çizilmiştir. Bu diyagramlar, Pourbaix diyagramları olarak da adlandırılmaktadır (Şekil 2.6).

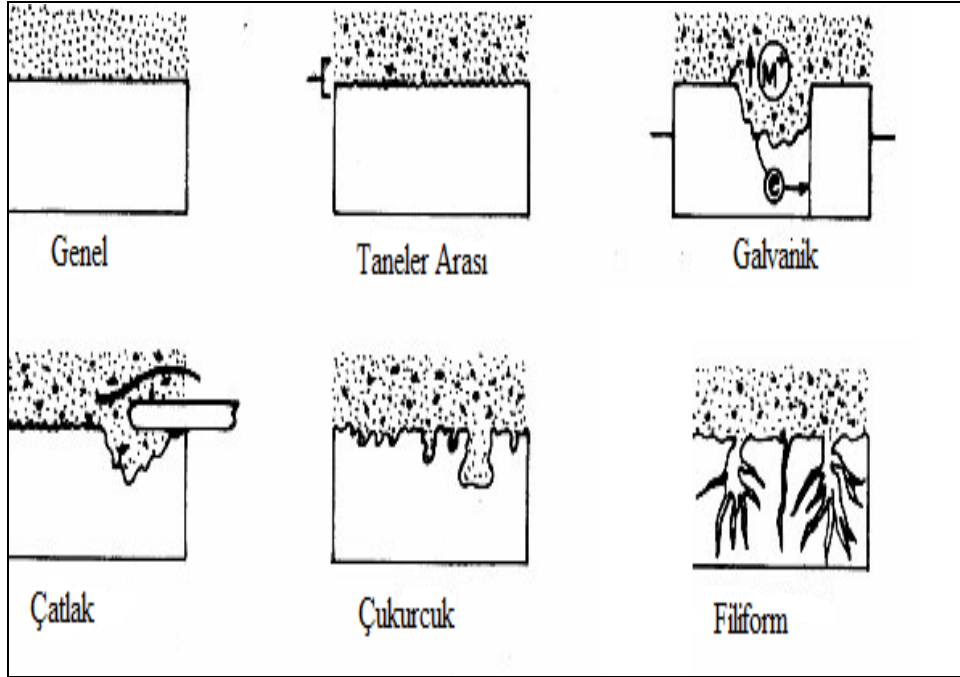


Şekil 2.6 Demir için Pourbaix diyagramı

Sulu ortamlarda ölçülen potansiyel ve pH değerleri Şekil 2.6’da yer alan korozyon bölgelerine düşüyorsa sistemde metal korozyona uğruyor demektir. Eğer sudaki çözünürlüğü az olan (Fe_2O_3 ve Fe_3O_4) korozyon ürünleri yüzeyi örtüyorsa metalin korozyonu azalabilir. Metallerin hidroksit ya da oksitleriyle kaplanarak korunmaları pasiflik olarak tanımlanır. Şekil 2.6’da demirin metalik durumunun korunabildiği alan içinde demirin korozyon eğilimi yoktur. Demirin sulu ortamda ölçülen potansiyeli bu alan içine düşürülürse demir korozyona karşı korunur. Korozyonla mücadelede metallere katodik koruma uygulanması bu prensibe dayanmaktadır. Fe-H₂O sistemi için Pourbaix diyagramı metallerin sulu ortamda potansiyellerini ve ortamın pH değerini ölçmek kolaydır. Ölçülen bu büyüklükler bağımsızlık bölgesine düşerse metalin korozyona uğramadığı anlaşılır, pasiflik bölgesine düşerse metalin örtücü bir filmle korunduğu ortaya çıkar. Eğer bu film yüzeye yapışık, yüzeye sıkı tutunuyor ve az çözünüyor ise metal iyi korunuyor demektir, ama yüzeye sıkı tutunmayan gözenekli olan filmler metal yüzeyini yeterince koruyamazlar (Gürü ve Yalçın 2004).

2.10. Korozyon Çeşitleri

Değişik metaller ve alaşımlar, içinde buldukları ortamın özelliklerine göre çeşitli şekillerde korozyona uğrarlar. Bu korozyon türleri birbirlerinden pratik olarak ayırt edilebilmektedir. En en çok korozyonların oluş sebepleri ve karakteristik özellikleri Şekil 2.7'de verilmiştir.



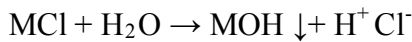
Şekil 2.7 Korozyon çeşitlerinin şematik çizimi (Schweitzer 1996)

2.10.1. Genel korozyon

Geniş bir yüzey ya da bütün yüzeyin her yanında kimyasal ya da elektrokimyasal tepkimenin aynı ölçüde yürümesi ile metal yüzeyinde her tarafta eşdeğer ölçüde oluşan korozyon çeşididir (Jones 1996, Schweitzer 1996). Korozyon sonucunda metalin kalınlığı yüzeyin her noktasında aynı miktarda azalır. Metal giderek incelir ve zamanla kullanılamaz hale gelir. Atmosfere bırakılan metal genel olarak üniform korozyona uğrar. Mekanik açıdan en az zararlı olan korozyon çeşididir. Metal delinmeden ve kırılmadan uzun süre işletmede kalabilir. Koruma için boyama, ortama inhibitör ilavesi, kaplama ve katodik koruma uygulanabilir.

2.10.2. Çukur korozyonu

Korozyon olayının çok lokal ve dar bölgeler üzerinde yoğunlaşması sonucu ortaya çıkan korozyon türüdür. Metal yüzeyinde çok sayıda çukur oluşur. Çukurların apı, derinliği, sıklığı, kullanılan malzeme ve ortama bağlı olarak değişir. Çukur korozyonu, küçük bir bölgede olması ve çoğu kez bir anda ortaya çıkması sebebiyle en tehlikeli korozyon türüdür (Jayaraman 1999). Çukurların oluşması için genellikle uzun bir süre gereklidir. Fakat bu süreç başladıktan sonra hızla bir Şekilde ilerler. Metalde mukavemet kaybına ve birden oluşan kırılma ile de malzemenin tamamen kullanılmaz hale gelmesine sebep olur. Çukur korozyonu daha ziyade durgun zelteler içerisinde meydana gelmektedir. Genellikle tank tabanlarında, borularda ve akış hızının azaldığı bölgelerde grlmektedir. Çukur korozyonu, birçok metal ve alaşımda görülür. Özellikle kullanım alanı geniş ve endüstriyel açıdan önemi büyük paslanmaz çelikler ve alüminyum alaşımları için söz konusudur (Gilbert vd 1995, Jones 1996). Çukur korozyonu öncelikle pasifleşen metallerde meydana gelir. Çukur içinde metal hızla çözünürken metal yüzeyinde oksijen indirgenir. Aktifleşen nokta anot, pasif metal yüzeyi katot gibi davranır. Metal aktif duruma geçen noktalarda hızla çözünür ve çukurlar içindeki ortam metal iyonları bakımından zenginleşir. Ancak korozyon olayının her aşamasında ortamın elektrik yükleri bakımından dengelenmesi gerekir. Bu koşul metal iyonlarının taşıdığı elektrik yüküne eşdeğer miktarda klor iyonlarının çukurlar içine yayılması ile sağlanır. Böylece oluşan metal klorrlr aşağıda verilen tepkimeye göre hidrolize uğrayarak hidrojen iyonlarının büyük miktarda ortaya çıkmasına sebep olurlar.



Hidrojen ve klor iyonları birçok metal ve alaşımın çözünmesini hızlandırdığından çukur korozyonu hızla ilerler. Anodik olay yani oksidasyon tepkimesi metalin oksijenle temas edebilen kısımlarında oluşmaya devam eder ve çukur diplerine doğru yoğunlaşır. Çukur korozyonunu önlemek için birçok yöntem uygulanmaktadır. Bu yöntemler, malzemenin hangi ortam ve koşullarda kullanılacağı göz önüne alınarak uygulanır. En etkin yöntem, malzemenin önceden iyi seçilmesidir. Malzemelerin kullanıldıkları ortamda çukur korozyonuna karşı alınabilecek başlıca önlemleri korozif ortama inhibitör eklemek, katodik koruma yapmak, anodik koruma yapmak, klorürlü ortamın oksijen değişimini azaltmak,

malzemeyi korozyona dayanıklı maddelerle (boya vb.) kaplamak, oksijen ve oksitleyici maddelerin ortamda düzenli dağılımını sağlamak olarak sıralayabiliriz (Schweitzer 1996).

2.10.3. Galvanik korozyon ya da metal çifti korozyonu

Farklı malzeme kullanımından kaynaklanan korozyon; farklı potansiyelde iki metalin birbiriyle temas halinde iken aralarında bir galvanik pil oluşturması ve aktif olan metalin anot, soy metalin ise katot görevi görerek aktif metalde korozyona sebep olması ile oluşmaktadır. Korozyon hızı, anot ve katot bölgeleri arasındaki potansiyel farkına ve devrenin toplam direncine bağlıdır. Örneğin bakır ile çeliğin birlikte kullanıldığı durumlarda, her iki metalin temas etmesi ile bakırdan dolayı çelik korozyona uğrayacaktır. Galvanik korozyonun pratikte etkili olması için; metallerin içinde bulunduğu çevre ne derece korozif özellikte ise galvanik etki daha şiddetle kendini göstermekte, iki metalin birbirine bağlandığı noktada en şiddetli halini almaktadır. Ayrıca, büyük bir katot ile küçük bir anottan oluşan bir galvanik hücrede anot kısa sürede yıpranır, katot/anot oranının büyük oluşu anot akım yoğunluğunun büyümesine ve küçük bir bölgeden fazla miktarda madde kaybına neden olmaktadır (Shreir vd 2000).

Galvanik korozyonu engellemek için galvanik dizide birbirine yakın metaller seçilir. Küçük anot, büyük katot etkisinden kaçınılmalı, ortamın korozifliğini azaltmak için ortama inhibitör eklenebilir, her iki metale karşı anodik davranan üçüncü bir metal kullanılabilir ve anodik parçalar kolay değiştirilebilecek biçimde tasarlanır ya da daha uzun dayanması için daha kalın yapılabilir (Gürü ve Yalçın 2004).

2.10.4. Aralık korozyonu

Çoğu zaman korozif ortamda metal yüzeyindeki yarıklar, çatlaklar, aralıklar içinde ya da metal yüzeyinde şiddetli bölgesel korozyon olur. Bu tip korozyon, genellikle dar bölgelerdeki durgun çözeltiler ile conta yüzeyleri, yüzeydeki birikintiler, cıvata ve perçin başlarının altındaki aralıklar ile ilgilidir. Bu tip korozyonlara aralık korozyonu, bazen da birikinti korozyonu ya da conta korozyonu denir. Metal yüzeyinde bulunan çatlak, aralık veya cep gibi çözeltilerin durgun halde kaldığı bölgelere oksijen transferi güç olmaktadır.

Bunun sonucu bu bölgeler anot, çatlağın çevresindeki bölgeler ise katot olur (Koehler 1944). Korozyonun en etkili olduğu bölge çatlağın katot bölgesine en yakın olan kısmıdır. Milimetrik bir çatlak bile korozyonun başlaması için yeterli olmaktadır. Aralık korozyonunu önlemek veya azaltmak amacıyla; civata ile bağlantılar yerine lehimleme yöntemi kullanılmalı, tam boşaltma yapılabilecek kaplar tasarlanmalı, keskin köşeler ve durgun bölgelerden kaçınılmalı, donanımlar sık sık kontrol edilip oluşabilecek tortu ve birikintiler uzaklaştırılmalı ve mümkün olduğu kadar absorplama özelliği olmayan contalar seçilmelidir (Schweitzer 1996).

2.10.5. Seçimli korozyon

Bir alaşım içinde bulunan elementlerden birinin korozyona uğrayarak uzaklaşması sonucu oluşan korozyon çeşididir. Bu tür korozyona en iyi örnek pirinç alaşımı olup, çinko bakırdan önce yükseltgenerek korozyona uğrar ve uzaklaşır. Benzer olay diğer alaşımlarda da gözlenmektedir. Alaşımlardan seçimli olarak alüminyum, demir, kobalt, krom ya da diğer elementler uzaklaşır (Videla 1996, Gürü ve Yalçın 2004).

2.10.6. Filiform korozyon

Metal yüzeyinde bulunan boya veya kaplama tabakası altında yürüyen korozyon olayıdır. Bu korozyon türünde kabuk altı korozyonu da denilmektedir. Filiform korozyonun mekanizması çatlak korozyonun oluşum mekanizmasına benzemektedir (Shreir vd 2000). Korozyon kaplamanın zayıf bir noktasından başlar ve bu noktada kabuk altına atmosferden oksijen ve su girişi olur. Kaplama su geçirmediği durumda korozyon olayı olmaz. Korozyonun başladığı noktada oksijen konsantrasyonu maksimum olup, korozyonun yürüdüğü yönde giderek azalır. Korozyon olayı sonunda metal hidroksiti ve hidrojen iyonları oluşur. Böylece uç kısımda korozyonun devamı için uygun bir ortam sağlanmış olur (Jones 1996).

2.10.7. Erozyonlu korozyon

Bir metal ya da alaşım ile korozif ortam arasındaki hareket nedeniyle metal ya da alaşımın aşınması sonucu erozyon korozyonu meydana gelir. Korozif çözeltilerin metal yüzeyinden hızla akması halinde, korozyon olayı yanında erozyon da meydana gelir. Bu durum korozyon hızının da artmasına neden olur. Bunun nedeni, oluşan korozyon ürünlerinin akışkan tarafından sürüklenerek götürülmesi olarak söylenebilir. Özellikle boru sistemlerinde ve limanlarda çok rastlanan bu tür korozyonda metal/alaşım ile korozif ortam arasındaki bağıl hareket nedeniyle metalin aşınma hızı artmaktadır. Erozyonlu korozyon genellikle birçok metalde görünmekle birlikte, bu korozyona en duyarlı metal bakır ve bakır alaşımlarıdır (Videla 1996, Gürü ve Yalçın 2004).

Erozyon korozyonu önlemek için; tasarım iyi yapılmalı, daha dayanıklı malzemeler kullanılmalı, korozif ortam değiştirilmeli, malzeme kaplanmalı ve katodik koruma yapılabilir.

2.11. Korozyonun Önlenmesinde Genel Yöntemler

Korozyonun teknik ve ekonomik açıdan en düşük düzeye indirilmesi veya zorunlu hallerde tamamen önlenmesi için kullanılan yöntemler çok çeşitlidir. Endüstride en çok kullanılan korozyon önleme yöntemleri aşağıda sıralanmıştır:

- Dayanıklı malzeme kullanmak: korozif ortamda kullanacak malzeme seçilirken, ortamın özelliği iyi bilinmeli ve bu ortama direnç gösterecek özellikteki metal ve/veya alaşımlar seçilmelidir (Yalçın 1991).
- Ortamın korozif etkisini giderecek önlemler almak: korozyon hızını azaltmanın en etkin yollarından biri, ortam şartlarını kontrol etmektir. Korozif ortamın sıcaklığı, derişimi, akış hızı, içerdiği oksijen ve oksitleyicilerin miktarı gözlem altında tutularak korozyon hızı belirli düzeyde tutulabilir. Korozif etkiyi gidermenin bir diğer yolu da, aktif ortama inhibitör ya da pasifleştirici ilave etmektir (Zhou 2010).

- Metal yüzeyini kaplama: kaplamaların görevi, metal yüzeyi ile korozif ortam arasında bir engel oluşturarak metali korumaktır. Genellikle kaplamalar çok korozif ortamlarda kullanılmazlar. Ancak atmosfer, toprak, su gibi doğal ortamlarda kullanılırlar (Üneri 1998).
- Katodik koruma yapmak: katodik korumanın temel ilkesi elektrokimyasal korozyon teorisine dayanır. Bu teoriye göre bir elektrokimyasal hücreden net bir akım geçtiğinde anotta oksidasyon (yükseltgenme) tepkimesi, katotta ise buna eşdeğer indirgenme tepkimesi yürür. Böyle bir sistem içinde katot bölgesinde hiçbir şekilde korozyon olayı meydana gelmez. Bu teoriye dayanarak bir metalin yüzeyindeki anodik bölgeler, katot haline dönüştürülerek korozyon olayı kesin şekilde önlenir (Short vd 1996).
- Anodik koruma yapmak: aynen katodik korumada olduğu gibi metale dıştan bir akım uygulanarak koruma sağlanır. Anodik koruma bir pasifleştirme işlemi olarak kabul edilebilir. Bu sebeple bu yöntem ancak pasifleşme özelliği olan metallere uygulanabilir. Eğer sistemde bir arıza meydana gelirse, korunan metal kısa sürede korozyona uğrayabilir (Schweitzer 1996).

2.11.1. Korozyonun önlenmesinde inhibitör kullanımı

Ortama az miktarda katıldığında korozyon hızını azaltan maddelere inhibitör denir. Bazı durumlarda korozyona karşı dayanıklı fakat pahalı olan bir malzeme kullanmak yerine, ortama inhibitör ilave edilerek daha ucuz malzemelerin kullanılması yoluna gidilir. İnhibitör kullanımı çukur tipi korozyona karşı en ekonomik çözüm yoludur. İnhibitörler, tek bir madde olabildiği gibi belirli bir bileşime göre hazırlanmış kimyasal karışımlar da olabilir. Karışımlar içinde korozif ortamın türüne göre seçilmiş etkin maddeler bulunmaktadır. Önemli olan karışım içindeki etkin maddenin türü ve derişimidir. Etkin madde derişimi, metalin kullanıldığı ortam şartları göz önünde bulundurularak ve denenerek seçilir. Herhangi bir maddenin inhibitör etkisi, kendi kimyasal yapısının yanı sıra, metalin türüne ve ortamın derişimine bağlıdır (Marcus 2002).

İnhibitörler etki ettikleri tepkimeye göre anodik, katodik ve karma inhibitörler olmak üzere üç sınıfa, kimyasal yapılarına göre organik ve inorganik inhibitörler olmak üzere iki sınıfa, etkileme şekline göre ise pasifleştirici, çöktürücü ve adsorplayıcı inhibitörler olmak üzere üç sınıfa ayrılabilir (Sastri 1998).

İnhibitör, metalin anodik çözünme tepkimesini yavaşlatıyorsa “anodik inhibitör” olarak adlandırılır. Anodik inhibitörler sınıfında ortofosfat, silikat, nitrit ve kromat gibi birçok inorganik inhibitör ve benzoat vardır. Katodik inhibitörler; katodik tepkime üzerine etki yaparak korozyon hızını yavaşlatan inhibitörlerdir. Katodik inhibitörler, genellikle kasyonlardır (Gilbert 1995, Sastri 1998).

Karma inhibitörler; hem anodik, hem de katodik tepkime üzerine etki ederek, korozyonu yavaşlatırlar. Bu sebeple etkileri korozyon potansiyeli ölçülerek belirlenemez. Karma inhibitörler, genellikle asidik ortamlarda kullanılırlar.

2.11.2. Mikrobiyolojik korozyonun önlenmesi veya kontrol altına alınması

Mikrobiyolojik korozyonun önlenmesi amacıyla sürekli olarak bakteri sayımı yapılmalı ve bakteri miktarının kontrol altına alınması için çalışma şartları öncelikle bakterinin çoğalmasını önleyecek şekilde seçilmelidir. Eğer çalışma şartlarının değiştirilmesi mümkün değil ise, o takdirde biyosit uygulamalarına başlanabilir. Her bakterinin çoğalmasını yavaşlatan veya onu tamamen yok eden bir biyosit vardır. Uygun kültür çalışmaları yapılarak bu biyositler denenmeli ve tesisin durgun bölgelerinde kullanılmalıdır. Bakteriler belirli bir süre sonra biyositlere karşı bağışıklık kazanmaktadırlar. Bu sebeple sürekli kültür çalışmaları ile yeni ve daha etkili biyositler bulunmalıdır (Videla ve Herrera 2005, Javaherdashti 2008).

Biyositler, yükseltgen ve yükseltgen olmayan diye iki ana grupta toplanabilir. Klor, ozon ve brom yükseltgen biyositlerdir. 6,5-7,5 pH değerlerinde çok etkili bir biyosit olan klor, mikroorganizmaların kontrolünde en çok kullanılan biyositir ve sisteme gaz olarak ilave edilir (Jack 2002). Yükseltgen olmayan biyositler, mikroorganizmanın metabolizmasına etki ederler. Böylece elektron alışverişi kontrol altına alınarak mikroorganizmaların

çoğalması yavaşlatılır. Bu tip biyositler organokalay, bis(triklorometil) sülfon, metiletilenbistiyosiyanat (MBT), β -brom- β -nitrositiren (BNS), dodesilguanidin tuzları, di-bromonitropropanamide (DBNDP), glutaraldehitler, aminler, karbonatlar ve karternar amonyum tuzlarıdır.

Endüstriyel su sistemlerinde biyokorozyonu kontrol etmek için en çok kullanılan kimyasal yöntem biyosit kullanımındır. Endüstriyel su sistemlerinde kullanılan biyositler, özellikleri ve genel kullanım derişimleri Çizelge 2.4’de verilmiştir.

Çizelge 2.4 Endüstriyel su sistemlerinde kullanılan biyositler, özellikleri ve genel kullanım derişimleri (Videla 2002, Videla ve Herrera 2005)

| Biyosit | Özellikler | Kullanım derişimi (mg/L) |
|-------------------------------|--|---------------------------------|
| Klor | Bakteri ve algelere karşı etkili, yükseltgen, pH’ya bağımlı | 0,1-0,2 |
| Klor dioksit | Bakterilere karşı etkili, fungi ve algelere karşı daha az etkili, yükseltgen pH’dan bağımsız | 0,1-0,2 |
| Brom | Bakteri ve algelere karşı etkili, yükseltgen, geniş pH aralığı | 0,05-0,1 |
| Ozon | Bakteri ve biyofilmlere karşı etkili, yükseltgen, pH’ya bağımlı | 0,2-0,5 |
| İzotiyazolon | Bakteri ve algelere ve biyofilmlere karşı etkili, yükseltgen değil, pH’ya bağımlısız | 0,9-10 |
| Kuaterner amonyum bileşikleri | Bakteri ve algelere karşı etkili, yükseltgen değil, pH’dan bağımsız | 8-35 |
| Glutaraldehit | Bakteri ve algelere, fungi ve biyofilmlere karşı etkili, yükseltgen değil, geniş pH aralığı | 10-70 |

Glutaraldehit, hem aerobik hem de anaerobik ortamlarda hızla faaliyet gösterebilen kuvvetli bir antimikrobiyal madde olması sebebiyle, çeşitli endüstri tesislerinde açığa çıkan sulardaki mikroorganizma miktarını kontrol altında tutmak amacıyla kullanılmaktadır. Glutaraldehit, SRB’yi de kapsayan çok sayıda bakteri, alg ve funguslara karşı

kullanılabilir. Ayrıca, geniş sıcaklık ve pH spektrumunda aktif olarak kalabilir (Fang vd 2002).

2.12. Korozyon Hızının Belirlenmesi

Korozyon, elektrokimyasal bir olay olduğu için, elektrokimyasal yöntemlerle ölçülmesi mümkündür. Korozyon hızının elektrokimyasal olarak ölçülmesi sırasında karşılaşılan en büyük sorunlardan biri, korozyon potansiyelindeki akımın ölçülmesidir. Bunun sebebi, bu potansiyelde dışarıdan bir ölçüm cihazı tarafından kaydedilebilecek herhangi bir akım olmaz. Sonuç olarak, korozyon akımını (i_{kor}) ölçmek için yapılan herhangi bir elektrokimyasal yöntem, korozyon potansiyeli dışındaki potansiyellerdeki akımları ölçerek gerçekleştirilir. Korozyon akımının belirlenmesinde, korozyon potansiyeli ve akım-potansiyel eğrileri kullanılır. Akım-potansiyel eğrileri, akım veya potansiyelden herhangi birinin kontrollü olarak değiştirilmesine karşılık, diğerinin aldığı değerlere göre elde edilebilir (Üneri 1998, Marcus 2002).

Bu eğrilerin elde edilmesi amacı ile kullanılan galvanostatik yöntemde, kontrol edilen değişken akım yoğunluğudur. Fakat bu yöntem eğrinin lineer olduğu bölgelerde daha doğru sonuç verirken, pasifleşme incelemeleri için yetersiz kalmaktadır.

Potansiyostatik yöntemde ise kontrol edilen değişken, elektrot potansiyelidir. Bu yöntemde, aktif pasif dönüşümünün yer aldığı, kritik potansiyelde gözlemlenen süreksizlik dışındaki, elektrot potansiyelinin her bir değerine karşılık sürekli bir akım bulmak mümkündür (Marcus 2002).

Korozyon hızı kısaca bir malzemenin birim zamandaki çözünme hızı olarak ifade edilebilir. Metal ve alaşımların korozyona karşı dirençlerini birbirleriyle karşılaştırabilmek için her birinin korozyon hızı sayısal olarak verilebilmelidir (Jones 1996). Bölgesel korozyonun olduğu sistemlerde ise korozyon hızı oluşan çukurun derinliği olarak verilebilir. Korozyon potansiyelini (E_{kor}) ölçmek için kullanılan en kolay yöntem elektrokimyasal deneylerdir (Obuekwe 1981). Korozif ortamda bulunan bir malzemenin korozyon hızının bilinmesi, korozyona karşı alınabilecek önlemler bakımından önem

taşımaktadır. Korozyon hızı belirleme yöntemlerini, mikroskopi, spektroskopi, kütle kaybı yöntemi ve elektrokimyasal yöntemler olmak üzere başlıca dört grup altında toplayabiliriz.

2.12.1. Mikroskopi

Direkt mikroskopik inceleme ve membran-filtre teknikleri, mikrobiyolojik etkili korozyonla ilişkili mikroorganizmaların tespit edilmesinde kullanışlı yöntemler olarak bilimektedir (Üneri 1998).

2.12.2. Spektroskopi

Korozyon analizinde Mössbauer spektroskopisi kullanılabilir.

2.12.3. Kütle kaybı yöntemi

Bu yöntemde, kütle kaybı deneyleri için hazırlanmış ve yüzeyi temizlenmiş örnek tartıldıktan sonra, korozif ortamda belirli bir süre bekletilir. Korozyon ürünleri temizlendikten sonra yeniden tartılan numunenin kütle kaybının gram, miligram veya yüzde kütle azalması olarak ifadesi korozyon hızını belirler. Kütle azalması, örneğin korozyon ortamında kalma süresine bağlıdır. Kütle kaybı, birim zamanda birim yüzey başına kütle azalması olarak verilir. Kütle kaybı yönteminin basit ve uygulamada bazı kolaylıklara sahip olmasına karşın, birçok dezavantajı da vardır. Deney süreleri genellikle uzundur ve korozyon hızının yüksek olduğu durumlarda güvenilir sonuçlara ulaşmak zordur. Çünkü korozyon hızı değerleri o andaki korozyon hızını değil, başlangıçtan itibaren geçen uzun bir sürenin ortalamasını vermektedir. Kütle kaybı yöntemi ile korozyon hızı belirlenirken, çözünmenin homojen olması, korozyon sonucu oluşan ürünün ya tamamen çözünmesi ya da uygun bir çözücüde çözülerek metal yüzeyinden uzaklaştırılması gerekir (O'Sullivan ve Guilbault 1999, Ludensky 2003).

Kütle kaybının ölçüldüğü bir diğer yöntem Kuartz Kristal Mikrobalans (QCM) yöntemidir. Bu yöntem son yıllarda kullanılmaya başlamış, yeni ve güvenilir bir tekniktir. QCM bir piezoelektrik kütle-algılama cihazıdır.

Piezoelektrik etki ilk defa 1880 yılında Jaques ve Pierre Curie tarafından Rochelle tuzunda keşfedilmiştir (Guilbault ve Luong 1988). Temel olarak piezoelektrik etki, mekanik basınç altında bırakılan bazı yalıtkan kristallerin bir yüzünde pozitif, karşı yüzünde ise negatif elektrik yüklerinin ortaya çıkması şeklinde tanımlanmaktadır. Piezoelektrik bir kristalin yüzeyine fiziksel bir kuvvet uygulandığında yüzeyler arasında bir elektriksel potansiyel farkı oluştuğu gözlenmektedir. Oluşan elektriksel potansiyelin şiddetinin, uygulanan fiziksel kuvvet ile doğru orantılı olduğu bu etkiye "Piezoelektrik Etki" adı verilmektedir (He vd 2005). Bu durumun tersi de mümkündür, yani bir kristalin iki yüzüne bir potansiyel farkı uygulanması sonucunda kristalde mekanik biçim değişikliği görülmektedir. Dolayısıyla, piezoelektrik kristalin yüzeyi üzerine yerleştirilen herhangi bir yabancı maddenin kütlesi ile rezonans frekansının değişmesi, piezoelektrik düzeneğinin çok yüksek bir hassasiyetle kütle ölçümünde kullanılabilmesi mümkün olmaktadır. Piezoelektrik kristal olarak genellikle kuvarsın kullanılması nedeniyle bu tür kimyasal sensörler Kuartz Kristal Mikrobalans Sistemleri olarak anılmaktadır (O'Sullivan ve Guilbault 1999).

Bir QCM cihazı altın kaplı bir kuartz kristalin (Şekil 2.8) içerisinde bazı rezonant frekanslarında titreşime neden olan elektriksel bir sinyal yollayarak çalışmaktadır. QCM çalışmalarında en yaygın kullanılan elektrotlar altın elektrotlarıdır. Çünkü altın hava içerisinde okside olmaz. Bununla birlikte, Cu, Ni, Pt ve diğer metaller de kullanılmaktadır.



Şekil 2.8 QCM deneylerinde kullanılan altın elektrotlar

QCM kristal içerisindeki salınımın frekansını ölçer. Korozyon deneylerinde kullanıldığında, QCM kristalin yüzeyindeki kütle değişimlerinden dolayı kristalin frekansındaki değişimleri ortaya çıkarmaktadır. Dolayısıyla, piezoelektrik kristalin yüzeyi üzerinde yerleştirilen/oluşan (biyofilm gibi) herhangi bir yabancı maddenin kütlesi ile rezonans frekansının değişmesi, piezoelektrik düzeneğinin çok yüksek bir hassasiyetle kütle ölçümünde kullanılabilmesi mümkün olmaktadır. QCM sisteminde kullanılan elektrotlar genellikle 1,000 Å miktarında %99,99 saf altından (Au) yapılmaktadır. Uygun koşullar altında, tipik bir QCM 0,1-1 ng/cm²'lik bir kütle değişimini ölçebilir (He 2005).

Temel olarak QCM üç ana kısımdan oluşmaktadır;

- quartz resonatörü,
- bir akış sistemi ve
- değişen frekansı kontrol eden osilatör.

Frekanstaki değişim ve frekanstaki değişim ile kütle yükü arasındaki ilişki Sauerbrey denklemleri ile açıklanmış ve tanımlanmıştır. QCM'de kuartz elektrotun yüzeyine materyalin tutunması ile meydana gelen kütle artışı, " f " ile gösterilen rezonant frekansının azalmasına yol açar. Bu ilişki "Sauerbrey eşitliği" ile gösterilebilir:

$$\Delta f = \frac{-2\Delta m f_0^2}{A\sqrt{\rho_q\mu_q}} = -\frac{2f_0^2}{A\rho_q v_q} \Delta m$$

ya da basit bir şekilde ifade edersek;

frekansdaki değişim(f)= $(-2,26 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1} \text{ s})$ (başlangıç frekans) 2 (kütledeki değişim)

Burada, f_0 kristalin rezonant frekansı, A kristalin elektrotlar arasındaki hareketli alanı, ρ_q kuartzın yoğunluğu, μ_q kayma genliği(katsayısı), v_q kuartzdaki kayma dalga hızıdır.

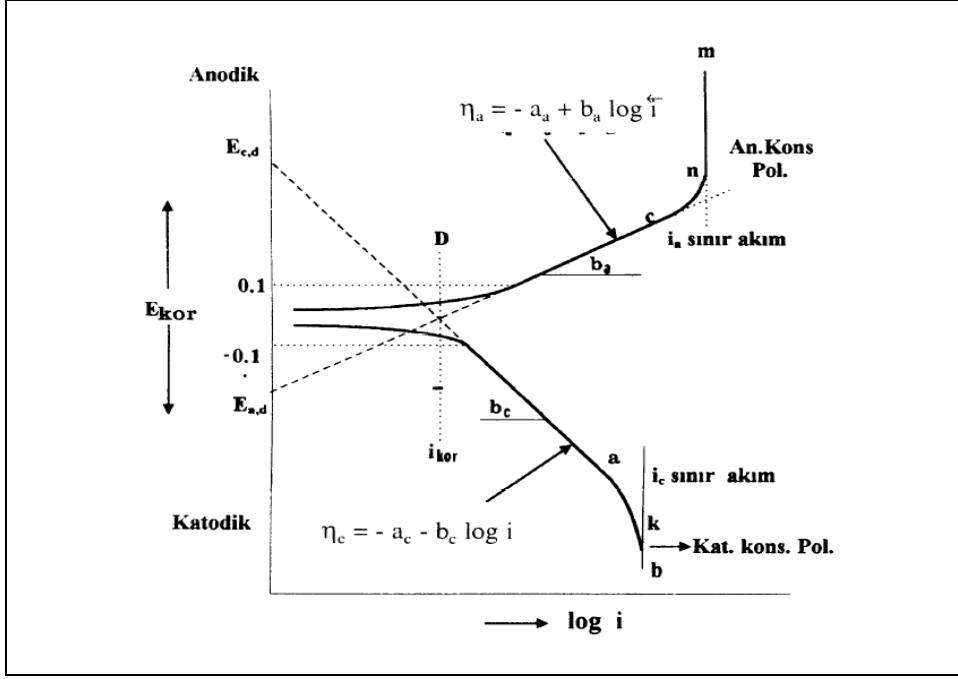
QCM tekniğinin Biyoteknoloji alanında uygulamaları: DNA ve RNA'nın tamamlayıcı iplikleri arasındaki etkileşimler, protein ligandlarının immobilize reseptörler tarafından özgül tanınması, immunolojik reaksiyonlar, virüs kapsitlerinin, bakterilerin, memeli hücrelerinin ortaya çıkartılması, hücrelerin, liposomların ve proteinlerin adezyonu, yüzeylerin biyo-uyumluluğu ve biyofilmlerin oluşturulması ya da oluşumunun engellenmesi çalışmalarında kullanılmaktadır (Jones 1996, Kakalis 2011).

2.12.4. Elektrokimyasal yöntemler

Günümüzde korozyon hızını belirlemek için elektrokimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Korozyon olayında anot ve katot arasında geçen akım, elektrot potansiyelinde bir değişiklik meydana getirir. Değişime bağlı olarak denge potansiyeli, yani korozyon potansiyeli ve korozyon akım yoğunluğu ölçülebilir (Popova 2008). Son zamanlarda elektrokimyasal tekniklerin gelişmesi ile birlikte korozyon hızının belirlenmesinde polarizasyon eğrileri kullanılmaya başlanmıştır. Galvanostatik veya potansiyostatik ölçümlerle elde edilen polarizasyon eğrileri değerlendirilerek Tafel ekstrapolasyonu veya lineer polarizasyon yöntemleri kullanılarak korozyon hızları çok kısa sürede belirlenebilmektedir. Korozyon akımının belirlenmesi için korozyon potansiyeli ve akım-potansiyel eğrilerinin bilinmesi gerekir (Berger 1990, Jones 1996, Beech 2004). Akım-potansiyel eğrileri akım veya potansiyelden birinin kontrollü olarak değiştirilmesine karşın diğerinin aldığı değerlerin grafiğe geçirilmesi ile elde edilir. Bu eğrilerin yardımı ile korozyon hızının belirlenmesinde kullanılan en yaygın yöntemler aşağıda verilmiştir.

Açık Devre Potansiyeli yöntemi (OCP): OCP tekniğinde devreden akım geçmezken potansiyel fark değeri okunur. OCP tekniğinde potansiyel-zaman grafiği elde edilir. Elektrot ve elektrolitin birbirine temas ettiği noktada elektrottan elektrolite veya elektrolitten elektrota elektron geçişi gerçekleşir. Elektrot ve elektrolit birbirine temas ettiği noktada elektron geçişi olur ve yüklerin ayrımı gerçekleşir. Belli bir süre sonra elektrot ve elektrolit dengeye gelir. Elektrot veya elektrolitin boş bandında ortaya çıkan potansiyel fark açık devre potansiyelidir. İndirgenme ve yükseltgenme reaksiyonları aynı anda meydana gelir. Reaksiyon dengededir ve aynı zamanda elde edilen potansiyel fark denge potansiyelidir. Denge potansiyeli korozyonun başladığı potansiyeldir (Gilbert vd 1995).

Tafel ekstrapolasyonu yöntemi: kullanımı diğer yöntemlere göre daha kolaydır. Bu yüzden sanayide kullanılan en yaygın yöntemdir. Korozyon potansiyelinden başlayarak potansiyostatik ve galvanostatik yöntemle anodik ve katodik yönde çizilen yarı logaritmik akım yoğunluğu potansiyel eğrilerinin çizgisel bölgelerinin korozyon potansiyeline ekstrapole edilmesiyle korozyon hızı, yani korozyon akımı belirlenir (Şekil 2.9). Korozyon potansiyeli ise katodik akım uygulanmadan önce çalışma elektrotunun karşılaştırma elektrotuna karşı voltmetrede ölçülen potansiyelidir. Bu yöntem hızlı sonuç verir. Anodik ve katodik Tafel bölgeleri bir arada elde edilemediği zaman, bölgelerden birinin korozyon potansiyeline ekstrapole edilmesiyle de korozyon hızı bulunabilir (Üneri 1998).



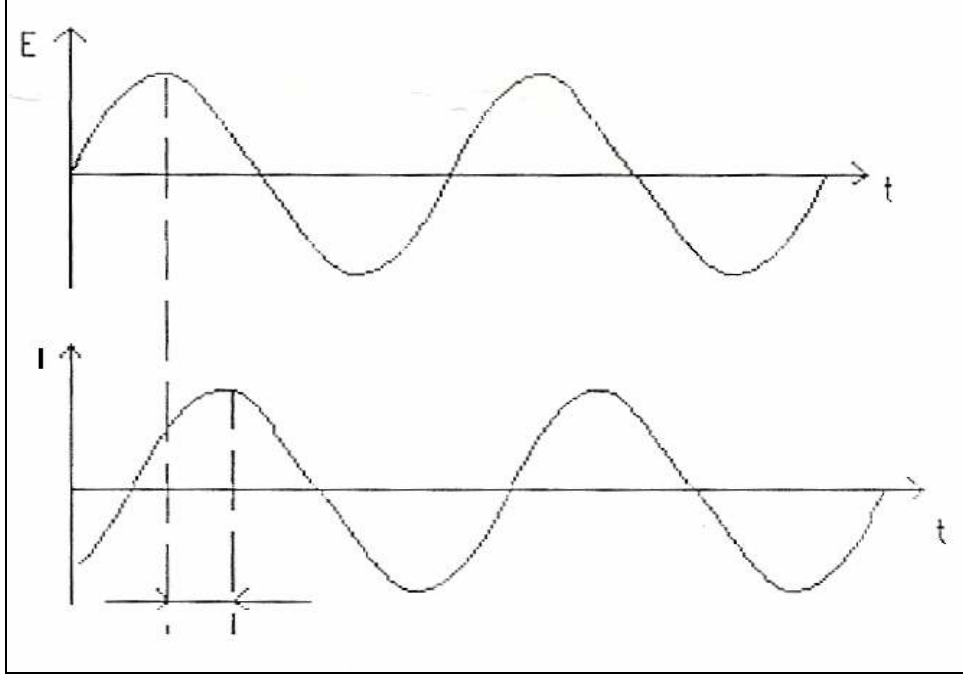
Şekil 2.9 Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle korozyon akımı (i_{kor}) ve korozyon potansiyelinin (E_{kor}) bulunuşu

Tafel polarizasyon yönteminin avantajlarını aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- İdeal koşulların altında, Tafel polarizasyon yöntemiyle elde edilen değerlerin doğruluğu, geleneksel kütle kaybı metoduyla elde edilen değerlere eşit veya daha fazladır.
- Çok düşük korozyon hızlarının tespitinde dahi, başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.
- Tafel eğrileri ile korozyon akımı ve korozyon hızı kolayca ve kısa zaman içerisinde bulunabilmektedir (Popova 2008).

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) yöntemi: EIS normalde küçük bir uyarım sinyali ile ölçülür. Bu durumun sebebi hücrenin cevabının doğrusal gibi görünmesini sağlamaktır. Bir doğrusal (veya doğrusal gibi görünen) sistemde, faz kayması ile beraber

sinüzoid potansiyeline karşı oluşan cevap aynı frekanstaki bir sinüzoid olacaktır (Yuan et al. 2002) (Şekil 2.10).

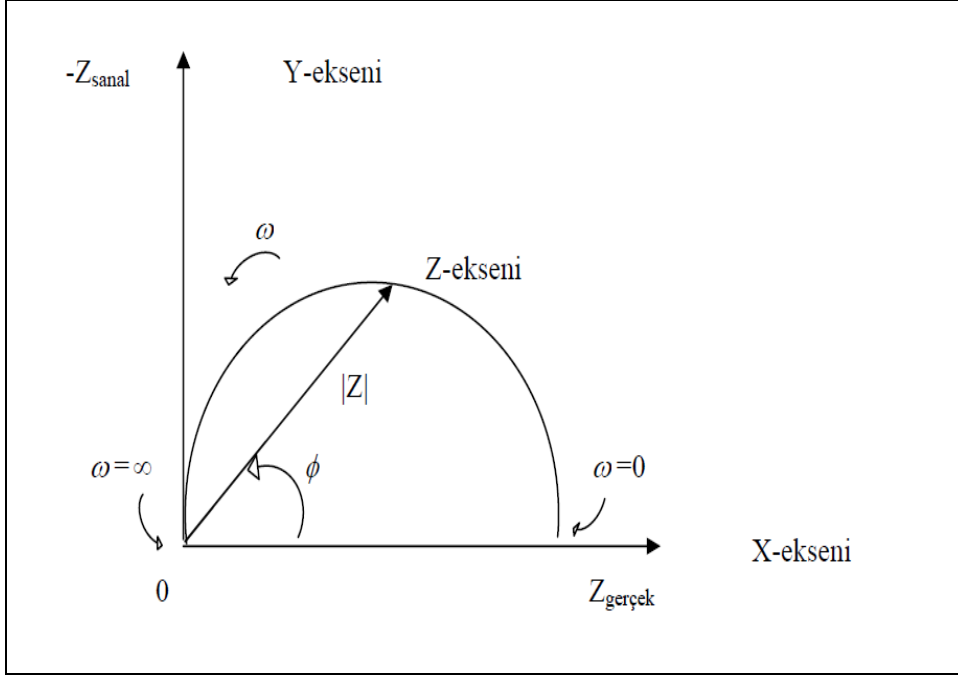


Şekil 2.10 Doğrusal bir sistemde sinüzoidal akım cevabı

Empedans aşağıda verilen denklemle karmaşık sayı olarak ifade edilmiş olur.

$$Z = \frac{E}{I} = Z_0 \exp(j\theta) = Z_0(\cos\theta + j\sin\theta)$$

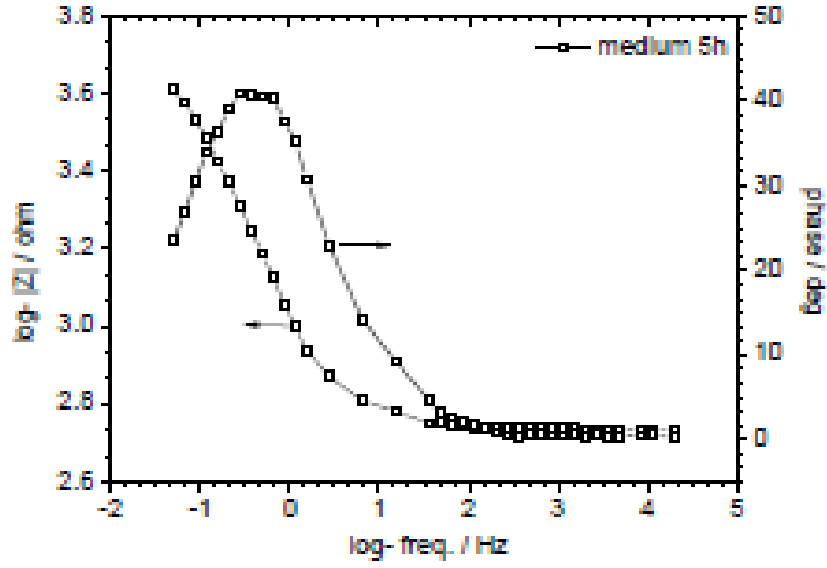
$Z(w)$ ifadesi bir gerçekte ve bir sanal kısımdan oluşmaktadır. Eğer gerçekte kısım grafiğinin Z ekseninde ve sanal kısmı Y ekseninde çizilirse, bir “Nyquist grafiği” elde edilir (Şekil 2.11). Bu çizimde y -kseninin eksi olduğuna ve Nyquist grafiğindeki her noktanın bir frekanstaki empedans değeri olduğuna dikkat edilmelidir (Borenstein 1994, Beale vd 2012).



Şekil 2.11 Empedans vektörüne sahip Nyquist grafiği

Şekil 2.11 düşük frekanslı verilerin grafiğin sağ tarafında ve daha yüksek frekanslıların da solda olduğunu gösterecek şekilde işaretlenmiştir. Bu frekans arttıkça empedansın genelde düştüğü EIS verileri için doğrudur (her devre için doğru olmayabilir) (http://www.gamry.com/App_Notes/EIS_Primer/EIS_Primer.htm, 2012).

Diğer popüler gösterim metodu da Bode grafiği'dir. Empedans log frekansı ile x-ekseni üzerine ve hem empedansın mutlak değeri ($|Z|=Z_0$) ve hem de faz kayması y-ekseni üzerine çizilir.



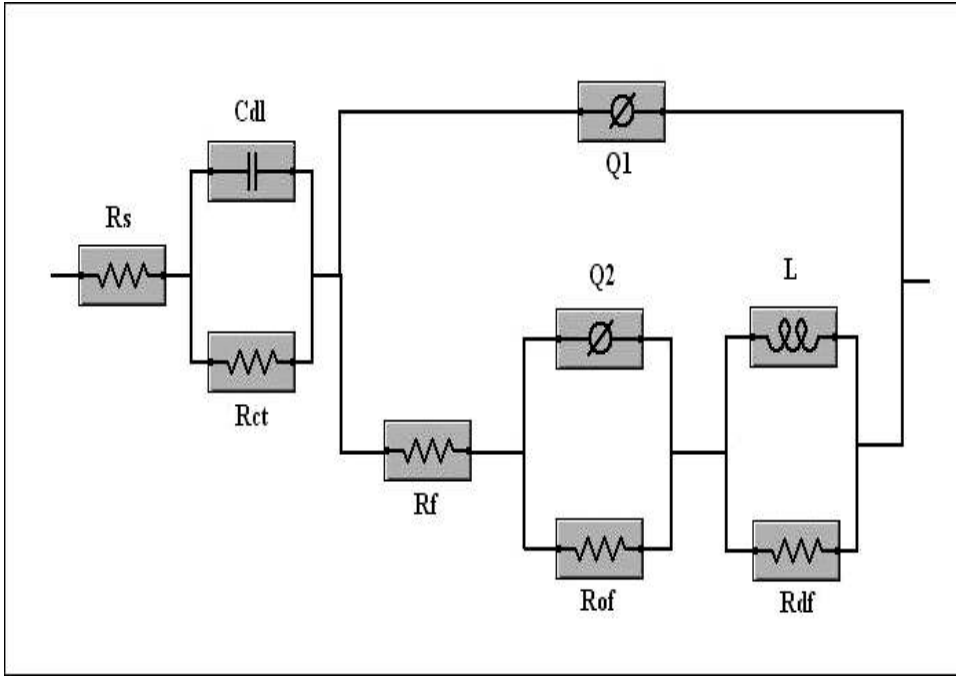
Şekil 2.12 Örnek Bode grafiği (San vd, 2012)

Bode grafiği Şekil 2.12’de gösterilmiştir. Nyquist grafiğinin tersine, Bode grafiği frekans bilgisini açık olarak göstermektedir.

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi, elektrokimyasal reaksiyon mekanizmalarını incelemek için çok kullanışlı bir tekniktir. Alternatif akım elektrokimyasal empedans spektroskopisi yöntemi, özellikle kaplama yapılmış elektrokimyasal korozyon sistemlerinin kinetiğini aydınlatmada kullanılan bir yöntemdir. EIS yönteminden, metal ile elektrolit ara fazının karakterizasyonunu belirlemede, korozyon mekanizmasının tahmin edilmesinde ve korozyon hızının tespitinde yararlanılmaktadır (Crombie 1984, He 2005).

EIS verileri çoğunlukla bir eşdeğer elektrik devre modeline uygulanarak analiz edilmektedir. Modeldeki devre elemanlarının çoğu rezistanslar, kondansatörler, indüktörler gibi ortak devre elemanlarıdır. Kullanışlı olması amacıyla modeldeki elemanlar sistemin fiziksel elektrokimyasında bir karşılığının olması gerekmektedir. Örnek olarak, çoğu model hücrenin çözelti direncini modelleyen bir direnç içermektedir. Çok az elektrokimyasal hücre tek bir eşdeğer devre elemanı ile modellenmektedir. Bunun yerine, EIS modelleri birbirine bağlı birden fazla elemandan oluşmaktadır. Elemanların hem seri hem de paralel kombinasyonu bulunmaktadır. Seri ve paralel kombinasyonlardaki

devre elemanlarının empedansını tanımlayan basit formüller bulunması bizler için avantaj sağlamaktadır (Iverson 1987) (Şekil 2.13).



Şekil 2.13 Fiziksel elektrokimya ve eşdeğer devre elemanları

Çözelti direnci (R_s); genelde bir elektrokimyasal hücredeki empedansla ilgili olan belirgin bir etkendir.

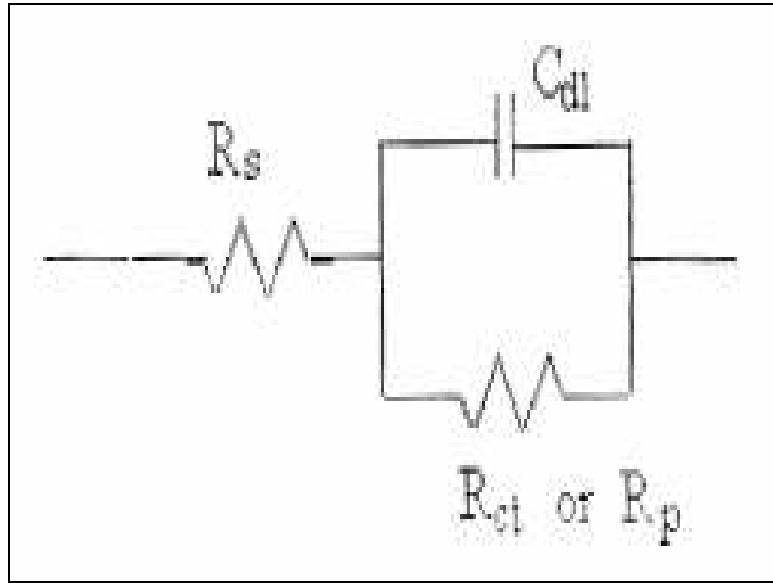
Bir elektriksel çift katman (C_{dl}) bir elektrot ile onu çevreleyen elektrolit arasındaki ara yüzeyde bulunur. Bu çift katman çözeltideki iyonlar elektrot yüzeyine yapışıkça oluşmaktadır (Yuan ve Pehkonen 2007).

R_p : ne zaman bir elektrotun potansiyeli açık devredeki değerinden uzaklaştırılırsa, bundan elektrotu polarize etmek olarak bahsedilebilir. Elektrot polarize edildiğinde, bu elektrot yüzeyinde oluşan elektrokimyasal reaksiyonlar yoluyla, akımın geçmesine neden olabilir. Geçen akımın miktarını, reaksiyonların kinetiği ve reaksiyona katılan maddelerin elektrolite doğru veya ondan uzağa doğru olan difüzyonu tarafından kontrol edilebilir. Hücrelerde açık devrede, bir elektrotun düzgün (düzgün dağılımlı) aşınmaya uğradığı kabul edilirse, açık devre potansiyeli iki farklı elektrokimyasal reaksiyonun arasındaki denge ile kontrol edilebilir (Videla 2003). Reaksiyonlardan biri katodik akım diğeri de

anodik akım üretir. Açık devre potansiyeli katodik ve anodik akımların eşit olduğu potansiyelde son bulur. Her iki reaksiyonun akım değeri, korozyon akımı olarak bilinir.

EIS deneylerindeki kapasitörler genelde ideal bir şekilde davranmazlar. Gerçek hücreler üzerindeki çift katman kapasitörü, kapasitör gibi davranmak yerine bir sabit faz elemanı (CPE) olarak davranır.

Çalışmalarda sıklıkla kullanılan modellerden bir tanesi Randles hücresidir. Randles hücresi, en basit ve en çok bilinen hücre modellerinden biridir. Bir çözelti direnci, bir çift katman kapasitörü ve bir yük transfer veya polarizasyon direnci içerir. Kendi açısından kullanışlı olmasının yanı sıra Randles hücre modeli, diğer daha karmaşık modeller için genellikle bir başlangıç noktasıdır. Randles hücrenin eşdeğer devresi Şekil 2.14'de gösterilmiştir. Bir Randles hücresi için Nyquist grafiği her zaman bir yarım dairedir (Beech ve Gaylarde 1999, Chang 2009).



Şekil 2.14 Randles hücrenin eşdeğer devresi.

2.13. Mikrobiyolojik Korozyon Etkisi (MIC)

MIC, mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu hem doğrudan hem de dolaylı olarak meydana gelen korozyon olayı ile metalin bozulmasıdır (Hadley 1948). MIC ayrıca

biyolojik korozyon, biyolojik olarak desteklenen korozyon ve biyokorozyon olarak da adlandırılmaktadır (Borenstein 1994).

Bakterilerin korozyondan sorumlu olabileceğini ilk kez 1910 yılında Gaines (1910) ileri sürmüştür. Fakat korozyonun mekanizması üzerine esas yorumlar 1960'lı yılların başından itibaren başlamıştır. Bununla birlikte Von Wolzogen Kühr ve Van der Vlugt'un (1934) gerçekleştirmiş oldukları ilk öncü çalışma, elektrokimyasal olarak mikrobiyolojik korozyonu yorumlamaktadır.

Flemming (1996), metalik malzemelerde oluşan tüm korozyon zararının yaklaşık olarak % 20'sini MIC'in oluşturduğunu ileri sürmektedir. Booth (1964) yaptığı çalışmada, İngiltere'de borularda oluşan korozyonun % 50'sinin MIC'den kaynaklandığını belirtmiş ve bu zararın yılda yaklaşık olarak 300-500 milyon sterlin olduğu hesap edilmiştir. Klasik korozyon mekanizması gibi MIC'de elektrokimyasaldır. Bununla birlikte mikroorganizmaların bu olaydaki işlevini değerlendirmek güçtür. Birkaç olası reaksiyon içeren korozyon işlemleri neredeyse daima karmaşık olduğundan, birçok alan çalışmasında MIC'in net olarak teşhisi ile ilişkili zorluklar vardır (Felloni vd 1987).

MIC, özellikle enerji ve petrol sanayinde, mikrobiyolojik korozyondan kaynaklanan yangın problemleri gibi zaman zaman ciddi hasarlarla sonuçlanan birçok soruna yol açmaktadır. Çizelge 2.5'de MIC'den en çok etkilenen tipik sanayi alanları verilmiştir.

Mikrobiyolojik korozyonda mikroorganizmaların gelişmesi sonucu asitler ve sülfürler gibi bazı bileşenler ortaya çıkar. Bu bileşenler de korozyon hızını artırıcı rol oynarlar. Bazı durumlarda mikroorganizmalar doğrudan doğruya elektrokimyasal tepkimelere de katılabilir.

Çizelge 2.5 MIC'den etkilendiği bilinen bazı sanayi dalları ve sorunlu alanlar

| Sanayi | Sorunlu Alanlar |
|---|---|
| Kimyasal işlemler | Paslanmaz çelik tanklar, boru hatları ve flanjlı bağlantılar. |
| Nükleer enerji üretimi | Karbon ve paslanmaz çelik borular ve tanklar, bakır, nikel, pirinç, alüminyum, bronz soğutma suyu boruları. |
| Su arıtımı | Isı değıştiriciler ve boru sistemleri |
| Kanalizasyon atıklarının taşınması ve işlem görmesi | Beton ve takviyeli beton yapıları |
| Otoyol bakımı | Drenaj boru sistemi |
| Havacılık | Alüminyum kanat tankları ve yakıt depolama tankları |
| Metal işleme | Makine işleme yağları ve emülsiyonlarının bozulmasından kaynaklanan aşınma |

2.14. Korozyona Yol Açan Mikroorganizmaların Sınıflandırılması

2.14.1. Mikroorganizmaların genel özellikleri

MIC ile ilgili mikroorganizmaların genel özellikleri aşağıda verilmiştir (Tunail 2009) :

- Genellikle bir mikrometreden (μm) daha küçüktürler.
- Her yerde bulunabilirler.

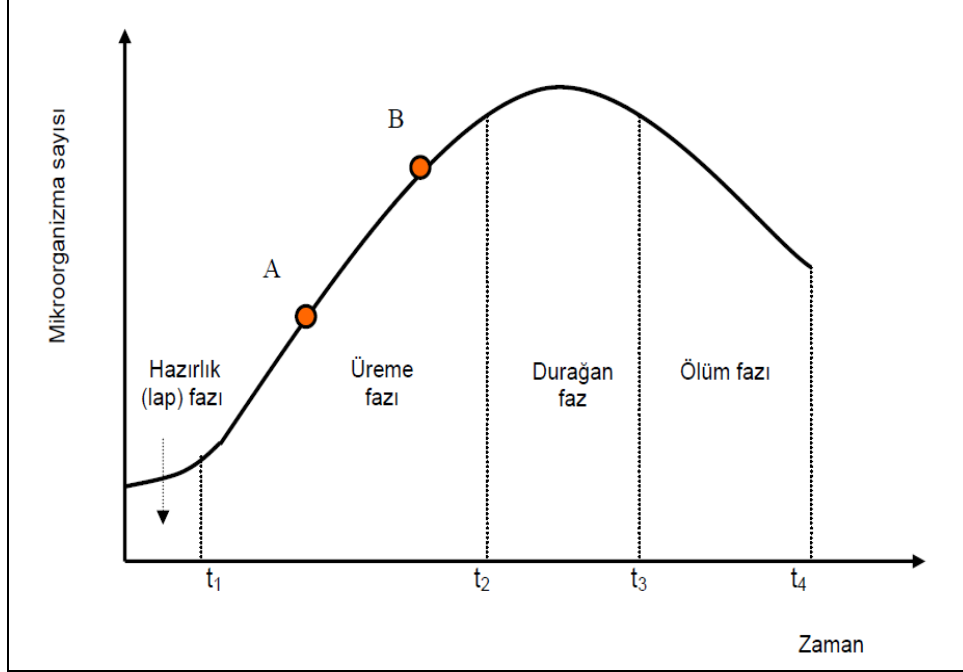
- Geniş bir aralıktaki sıcaklık, basınç, pH ve oksijen derişimlerine dayanıklıdırlar veya değişimlere kolayca adapte olabilirler.
- Karışık koloniler içerisinde çoğalırlar. Birçok organizmanın tek başına iken yaşayamadığı bir yaşama ortamını oluşturabilirler.
- Belirli şartlar altında hızla ürerler.
- Birçok kimyasal maddeye dayanıklıdırlar.
- Asetik asit, sülfürik asit ve formik asit gibi çok farklı asitleri üretebilirler.
- Metalleri veya metalik iyonları yükseltgeyebilir veya indirgeyebilirler.

Korozyona sebep olan mikroorganizmaların sınıflandırılmasındaki ilk ölçüt, oksijene olan toleranslarıdır. Genel anlamda, mikroorganizmalar oksijen ihtiyaçlarına göre aşağıda belirtildiği gibi sınıflandırılabilir (Madigan vd 2002):

- Anaerob mikroorganizmalar: Oksijenin bulunduğu ortamda fonksiyon gösteremeyen mikroorganizmalardır.
- Aerob mikroorganizmalar: Metabolik faaliyetleri için oksijene ihtiyaç duyan mikroorganizmalardır.
- Fakültatif mikroorganizmalar: Hem oksijenin bulunduğu ortamda hem de bulunmadığı ortamda faaliyetlerini sürdürebilen mikroorganizmalardır.
- Mikroaerofil mikroorganizmalar: Fonksiyonlarını devam ettirebilmeleri amacıyla oksijene ihtiyaç duyan ancak, oksijenin düşük seviyelerde olmasını tercih eden mikroorganizmalardır. Bu organizmalar aerotolerant olarak da adlandırılır.

2.14.2. Mikrobiyolojik üreme ve zaman arasındaki ilişki

Kesikli bir sistemde mikroorganizma sayısının zamanla değişimini gösteren grafik Şekil 2.15’de verilmiştir.



Şekil 2.15 Kesikli bir sistemde mikroorganizma sayısının zamanla değişimi (Tunail 2009)

Şekil 2.15 ile ilgili açıklamalar:

A: Mikroorganizma belirli bir süre sonra kullanılacaksa en uygun zaman noktası.

B: Mikroorganizma hemen kullanılacaksa en uygun zaman noktası.

Hazırlık Fazı: Mikroorganizmanın aktif hale geçebilmesi için gerekli çoğalma süresi.

Üreme Fazı: Logaritmik üreme zamanı.

Durağan Faz: Mikroorganizmanın üreme hızı ve ölüm hızının hemen hemen birbirine eşit olduğu faz.

Ölüm Fazı: Besin maddesinin yetersiz hale geldiği faz.

2.15. Mikroorganizmaların Korozyondaki Rollerini

Mikroorganizmalar fizyolojik özelliklerine bağlı olarak aşağıda bahsedilen faktörlerin biri veya daha fazlası ile korozyona neden olabilmektedirler (Videla 1996). Çizelge 2.6'da farklı mikroorganizma türlerinin korozyon özellikteki metabolik ürünleri görülmektedir.

Çizelge 2.6 Farklı mikroorganizmaların korozyona neden olan metabolik ürünleri (Videla 1996)

| Mikroorganizma | Korozif Metabolit | Korozyona uğrayan metal cinsi | pH aralığı |
|------------------------------------|--------------------------------|---|------------|
| <i>Thiobacillus thiooxidans</i> | Sülfürik asit | Demir, çelikler | 0,5–4 |
| <i>Desulfovibrio desulfuricans</i> | Sülfidler, H ₂ S | Demir, yumuşak çelik, paslanmaz çelikler | 5,5–9,0 |
| <i>Hormoconis resinæ</i> | Organik asitler | Alüminyum ve alaşımları | 2,5–7,0 |
| <i>Lactobacillus delbrückii</i> | Organik asitler | Paslanmaz çelikler | - |

Mikroorganizmaların metabolizmalarının son ürünü olarak korozyon özellikte organik ve inorganik asitlerin üretimi, metabolik aktiviteler ile redoks potansiyelinin artırılması, aerobik mikroorganizmalar tarafından oksijenin tüketimi sonucu farklı oksijen konsantrasyon farklılığıyla elektrokimyasal hücre oluşumu sayılabilir. Bu olay bölgesel korozyon olarak da tanımlanabilir. Eğer durum mikrobiyal koloni üzerinde açıklanırsa, mikroorganizmaların aktif çoğalmaları esnasında koloninin altındaki oksijen konsantrasyonunu düşürmeleri sonucunda elektrokimyasal farklı havalandırma hücresi oluşmaktadır. Hâlbuki koloniyi çevreleyen alandaki oksijen konsantrasyonu değişmeden kalmaktadır. Bu durumda bir elektrokimyasal hücre oluşmakta ve koloninin altındaki anaerobik bölge bir anod gibi davranırken daha yüksek oksijen konsantrasyonuna sahip

bölge ise bir katot alanı gibi davranmaktadır. Bu mekanizma mikrobiyal aktivite ile korozyonun en önemli nedenlerinden biri olarak düşünülebilir. Bunun yanında, korozyon inhibitörlerinin mikroorganizmalar tarafından kullanımı (örneğin; alüminyum korozyon inhibitörü olan nitratin benzin/su sistemlerindeki *Hormoconis resiniae* türü fungus tarafından kullanılması), metal yüzeyler üzerindeki koruyucu kaplamanın mikroorganizmalar tarafından bozulması, metal yüzeyi üzerindeki koruyucu filmlerin bozulması, inorganik filmin koruyucu özelliğini azaltan veya yok eden metabolitlerin üretimi örnek olarak verilebilir (Videla 1996).

2.16. Mikrobiyolojik Korozyonun Oluşum Mekanizması

Korozyon hızı ve korozyonun mekanizması mikroorganizmalar tarafından oluşturulan ve gelişen biyofilmin farklı tiplerine göre değişmektedir. Suyun akış dinamiği ve kimyası, biyofilmin gelişmesini etkilemektedir. Tartışılabilir üç biyofilm sistemi vardır (Videla 2002, Stott 2010):

1. Tamamen aerobik biyofilm; sıvıda oksijen vardır ve tüm biyofilmin içine nüfuz etmektedir.
2. Tamamen anaerobik biyofilm; hem sıvı hem de biyofilmde oksijen yoktur.
3. Aerobik/anaerobik biyofilm; sıvıda oksijen vardır ve biyofilmin içinde anaerobik mikronişler ve/veya anaerobik bir tabaka mevcuttur.

2.16.1. Biyofilm tabakasının tanımı

Biyofilm tabakası “canlı veya cansız bir yüzeye yapışık olarak kendi ürettikleri polimerik matriks içinde yaşayan bakteri hücrelerinin oluşturduğu topluluk”, “yoğun bir ekzopolimer matriks içinde, mikroorganizmalar tarafından organize olmuş fonksiyonel ortaklık” ya da “bir yüzeye tutunmuş, organik polimer matrikse gömülü mikrobiyal birlik” olarak değişik tarzlarda tanımlanmıştır (Dunne 2002). Biyofilm tabakası mikroorganizma, yüzey ve

matriks olarak üç temel bileşenden oluşmaktadır. Eğer bu temel bileşenlerden biri olmazsa biyofilm tabakasından söz edilemez. Sözü edilen matriks, yani EPS, terminolojide “hücre dışı polimerik maddeler”, “ekzopolisakkaritler” ya da “ekzopolimerler” terimlerinin karşılığı olarak kullanılmaktadır. EPS, biyofilm tabakasındaki bakterilerin hücre dışına salgıladıkları maddelerdir (Zang vd 1999). EPS'nin üstünlüğü, aracısız olarak tüm katı yüzeylere tutunmayı sağlamasıdır.

Bakteriler, suda serbest dolaşmak yerine bir yüzeye tutunmayı tercih eder (Beveridge vd 1999). Bunun durumun sebebi, tutunduğu yüzeyin besin kaynağı olması, suyun akışıyla tutunduğu yere besin maddesi taşınması ya da su akışı sayesinde bol oksijen bulunması olabilir (Melo ve Bott 1997). Biyofilm tabakasının oluşumunda yüzeye ilk tutunan ve çoğalan bakterinin türü de önemlidir. Yerleşik bir biyofilm tabakasının varlığı yeni bakteri türlerinin girişini engellemektedir. Çünkü yerleşik mikroorganizmalar elektrik yükü farklılığı, besin rekabeti ya da saldırdığı kimyasal maddeler ile diğer mikroorganizmaları uzaklaştırabilir (Pompermayer ve Gaylarde 2000).

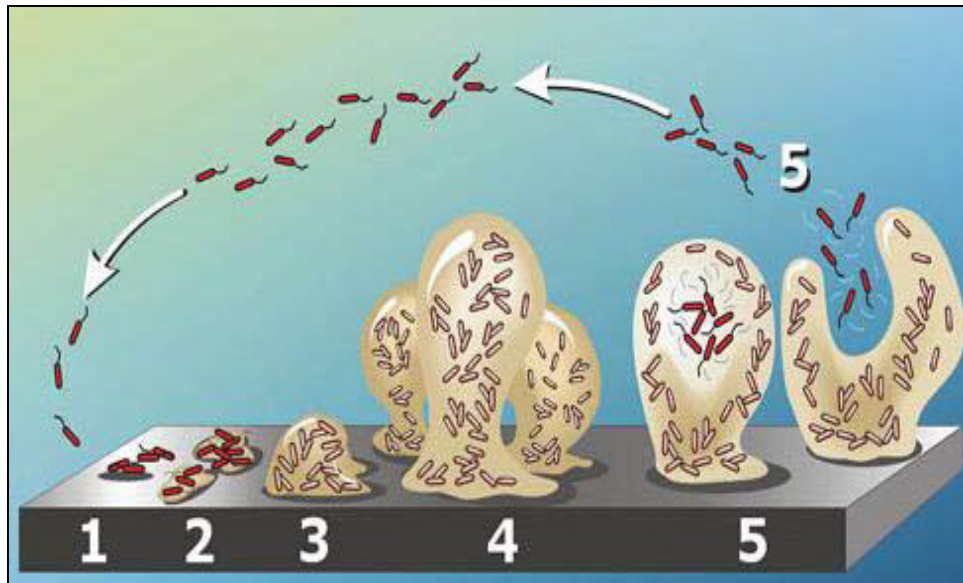
Mikroorganizmaların bazıları yüzeylere tutunurken, bazıları da su içinde serbest halde dağılmış olarak bulunurlar. Serbest formdaki mikroorganizmalar hareketlerini yavaşlatarak yüzeye yaklaşırlar, yüzeye veya yüzeye daha önceden tutunmuş olan organik maddelerle ya da diğer mikroorganizmalarla geçici bir ilişki kurarlar. Bu geçici ilişki, bakterilere yüzeyde kendilerine uygun bir yer bulma olanağı sağlar. Yüzeye tutunan bakteriler, hücre dışına salgıladığı polimerlerle diğer mikroorganizmaların da o bölgeye yapışmasını sağlayarak biyofilm tabakasını oluşturmaya başlar. EPS matriks bakterileri sarar. Onları antimikrobiyal ajanlardan, besinsizlikten, pH dalgalanmalarından, oksijen radikallerinden, toksinlerden, bakteriyofajlardan ve protozoonlardan korur, hücreleri bir arada tutar, iz miktardaki organik molekülleri, iyonları ve besin maddelerini biriktirir (Cloete ve Brözel, 1992, Schwartz vd 1998, Codony vd 2002, Fang 2002, Chapman 2003, Flemming 2003). Ayrıca tabaka, zengin gen havuzu sayesinde kolay gen transferi, mekanik destek sağlama, kanallar yardımıyla hızlı madde transferi, hücre dışı enzimlerin alıkonması gibi avantajlar sağlar. EPS tabakası negatif yüklü olup, bir iyon değişim maddesi gibi davranarak büyük miktarlarda besin moleküllerini kendilerine bağlar (Anwar 1992). EPS tamamen geçirimsiz bir tabaka değildir, ancak kimyasal ajanların difüzyonunu yavaşlatır ve konsantrasyonlarını düşürür (Mah ve O'toole 2001). EPS birikmesi, su ile temasta bulunan yüzeylerde kirliliğin

en önemli basamağıdır. Olgun biyofilm tabakasında mikrobiyal çoğalma hiçbir zaman durmaz. Özellikle suyun akış gücü ile kopan hücre ya da hücre birliklerinin yeri hemen doldurulur. Özellikle besinin bol bulunduğu sularda biyofilm tabakası çok hızlı gelişirken, düşük düzeyde besin bulunan sularda bu süreç yavaştır, çünkü düşük düzeyde besin maddesinin bulunduğu ortamda bakteri üremekten çok hücre canlılığının devamı için mücadele eder.

Biyofilm tabakası ısı değiştiricilerde, su ve yakıt ileten borularda, gemi karinalarında, dış ünitelerinde, bina duvarlarında, su arıtma, depolama, işleme ve dağıtım tesislerinde biyofouling olarak da adlandırılan istenmeyen tortu ve tabakalaşmalara yol açarak önemli derecede ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Gomez vd 2002, Cloete 2003, Ludensky 2003, Beech 2004, Türetgen 2004, Kemmling vd 2004). Biyofilm tabakası katı-sıvı, gaz-katı, gaz-sıvı, sıvı-sıvı, katı-katı gibi farklı ara yüzlerde oluşabilir. Yapılan çalışmalara dayanarak, yüzeylerde biyofilm tabakasının oluşumunun engellenmesinin neredeyse imkansız olduğu söylenebilir. Ancak doğru malzeme seçimi, düzenli temizlik ve dezenfeksiyon ile biyofilm oluşumu azaltılabilir.

2.16.2. Mikrobiyal yapışma

Şekil 2.16'da biyofilm tabakasının oluşumu gösterilmektedir.



Şekil 2.16 Yüzeylerde biyofilm oluşumunu gösteren şematik diyagram (Biyofilm Mühendisliği Bölümü, Bozeman USA)

İlk basamak mikroorganizmanın yüzeye yaklaşmasıdır. Ancak bunun öncesinde yüzeyin yapışmaya uygun hale gelmesi gerekmektedir. Bu aşamada sudaki cansız parçacıklar, elementler, organik ve/veya inorganik moleküller yüzeye yapışır ve ince bir film tabakası oluşturarak mikrobiyal biyofilm oluşumu için yüzeyi hazır hale getirir. Bu film tabakası malzemenin yüzey özelliklerini değiştirerek mikrobiyal tutunmayı kolaylaştırır. Mikroorganizmalar difüzyon, Brown hareketi, aktif hareket ya da su akışı ile tutunacağı yüzeye yaklaşır. Bakteri yüzeye yakınsa proton ve sinyal moleküller yüzeye çarpıp geri döner ve bakteri ile yüzey arasında bu moleküllerin konsantrasyonları artar (Melo and Bott 1997). Yüzeye kritik uzaklıkta olduğu anda, bakteri itici ve çekici güçlerin etkisiyle ya yüzeye yapışır ya da itilir. Bu itici ve çekici güçler, elektrostatik ve hidrofobik etkileşimler, hidrojen ve Van der Waals bağlarının kuvveti, asit-baz etkileşimi, sterik etkileşimler ve hidrodinamik güçler olarak tanımlanmaktadır. Bu etkileşimler, non-spesifik bağlanmada işlev görürler. Elektrostatik etkileşimler daha çok itici güçlerdir. Çünkü bakteriler ve katı yüzeyler negatif yüklüdür. Bakterilerin negatif yükü genellikle sahip oldukları mikrobiyal polisakkaritlerden ileri gelmektedir (Christensen 1989). Bakterilerin, kendileri gibi negatif yüklü çoğu doğal veya yapay yüzeylere yaklaşabilmesi için hidrofobik etkileşim ya da Van der Waals güçlerinin elektrostatik etkileşimden daha kuvvetli olması gerekir. Bu nedenle ortamın pH ve iyonik güç parametreleri yapışmada önemlidir (Ludensky 2003, Reipa vd 2006).

Mikroorganizmaların yapışma yeteneklerinin logaritmik üreme fazında daha yüksek olduğu tespit edilmiş, bunun nedeninin de hücre duvarının üreme fazında artan hidrofobik özelliğinden ileri geldiği açıklanmıştır (Loosdrecht vd 1990). Biyofilm oluşum sürecinde dört önemli aşama bulunur. Bu aşamalar: geri dönüşümlü yapışma, geri dönüşümsüz yapışma, olgunlaşma ve kopmadır. Bu aşamaların sonuncusunda biyofilm gelişim döngüsünde planktonik faza geçişi sağlar. Bu süreç, bütünsel bir yaklaşımla ele alındığında, sessil ve planktonik fenotiplerin prokaryotik yaşamla bütünleşmiş bileşenler olduğu görülmektedir.

Yüzeye tutunan bakteri çoğalarak önce mikrokolonileri, bunlar da büyüyüp yatay planda genişleyerek biyofilm tabakasını oluşturmaktadır (Şekil 2.16). Tutunma gerçekleşince bakteri bir takım adaptasyon evreleri geçirir. Bunlar içinde EPS üretimi ve antimikrobiyal ajanlara direnç gelişimi en önemli olanlarıdır. Biyofilm ile ilgili yapılmış çalışmalarda en

iyi incelenmiş tür olan *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri, hücre-hücre haberleşmesiyle (quorum-sensing) üremelerini durdurma özelliğine sahiptir (Kjelleberg Molin 2002).

Quorum sensing, biofilm içi bakterilerin birbirleriyle haberleşerek virulans faktörleri üretim özelliklerinin düzenlenmesini sağlayan bir 'çoğunluğu algılama' yeteneğidir. Asil Homoserin Lakton (AHL) sistemi bir grup Gram negatif bakteride, otoindükleyici-2 sistemi Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde, peptid bağlantılı sistem ise Gram pozitif bakterilerde hücre-hücre arası iletişimde kullanılmaktadır (Kjelleberg ve Molin 2002).

2.17. Korozyon Mekanizmasında Aerobik Oluşumlar

Aerobik korozyon oluşumlarında oksijen, hidroksitleri oluşturmak için katodik bölgelerde elektron alıcısı gibi davranır. Aerobik korozyon mekanizması üzerine mikroorganizmaların etkisi hakkında sınırlı ölçüde bilgi bulunmaktadır.

2.17.1. Kükürt okside eden bakterilerin rolü

Kükürt okside eden bakterilerden Thiobacillus cinsi bakteriler, karbondioksit fiksasyonu için enerjilerini sülfür (S^{-2}), H_2S veya diğer redüklenmiş kükürt bileşiklerinin sülfürik asite (H_2SO_4) oksidasyonundan elde etmektedirler (Prescott 1990). Thiobacillus cinsi bakteriler tarafından oluşturulan güçlü korozyon bir madde olan H_2SO_4 , özellikle çeliğin bulunduğu beton yapıları korozyona uğratmaktadır (Roberts vd 2002).

2.17.2. Demir ve mangan bakterilerinin rolü

Gallionella, Crenothrix, Sphaerotilus, Leptothrix ve Clonothrix cinsi bakteriler, Fe ve Mn gibi metallerin biyolojik oksidasyonuna katılmaktadırlar. Demir bakterileri Fe^{+2} 'yi, özellikle paslanmaz çeliklerde Fe^{+3} 'e okside etmektedirler. Ayrıca bu bakteriler mangan iyonlarını manganik iyonlara (Mn^{+4}) okside ederek metal yüzeylerde mangan dioksit (MnO_2) oluşumuna sebep olurlar. Bakteriler tarafından oluşturulan maddeler, paslanmaz çelik gibi metallerin yüzeylerinde oluşan pasif oksit filmin kararlılığını bozmakta ve

oksijen konsantrasyon hücrelerinin oluşumu ile korozyon reaksiyonlarını arttırmaktadırlar (Gounot 1994, Little 1997, Roberts vd 2002).

2.17.3. Diğer aerobik bakterilerin rolü

Açıklanan bakterilerin yanı sıra, *Pseudomonas* cinsi mikroorganizmaların da korozyona yol açtığı çalışmalarla gösterilmiştir. Bazı *Pseudomonas* türleri Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeyerek, koruyucu Fe^{+3} tabakasının çözünmesine ve çözünür özellikte olan Fe^{+2} bileşiklerinin oluşumuna yol açarlar (Iverson 1987). *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Aerobacter* ve *Bacillus* cinsi mikroorganizmalar metal yüzey üzerinde kolonize olarak yapışkan bir tabaka oluştururlar ve ortamdaki oksijeni tüketirler. Yapışkan tabaka oksijenin alt kısımlara ulaşmasını engellediği için, korozyona yol açan oksijen konsantrasyon hücresi oluşmaktadır. Ayrıca oksijensiz ortam ve mikrobiyal korozyon olayında önemli rol oynayan anaerobik SRB'nin çoğalmasına da olanak sağlamaktadır.

2.17.4. Funguslar

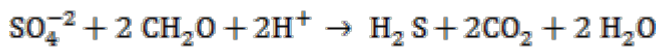
Funguslar, metabolik aktiviteleri sonucu ürettikleri organik asitler ile ortamın pH değerini düşürerek korozyona neden olabilmektedirler. *Hormoconis resiniae* ve *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* cinsi fungusların bazı türleri, benzindeki hidrokarbonları kullanarak organik asit üreterek, alüminyum uçak benzin depolarında ve benzin saklama tanklarında korozyona yol açtıkları rapor edilmiştir (Parbery 1968, Bento ve Gaylarde 1996).

2.18. Anaerobik Oluşumlar

Sülfat indirgeyici bakteriler, anaerobik korozyon ile ilişkili olan en önemli ve en yaygın mikroorganizma grubu olarak kabul edilmektedirler (Hamilton 1985, Booth 1964, Videla 1996). Sülfat indirgeyen bakteriler küresel, spiral, düz veya kıvrık çomak gibi farklı şekillerde görülebilmektedirler. Çapları 0,4-3 μm 'dir. Tek veya kümeler halinde bulunurlar. SRB çoğunlukla Gram negatif olmakla birlikte, filamentli ve spor oluşturan türleri Gram pozitif olabilir. Çok az bir kısmı, gaz vakuolü içermektedir. Hareketli veya

hareketsiz olabilirler. Hareketleri, taşıdıkları flagelladan kaynaklanmaktadır. Flagella, polar veya peritrik konumlu olabilir. Filamentli formlarında hareket kayma şeklindedir (Jack 2002). Demir (Fe) indikatörü içeren besiyerlerinde SRB'nin kolonileri, demir sülfür (FeS) çökeltisinden dolayı siyah renktedir. SRB, zorunlu anaerobik bakteriler olarak bilinmektedirler. Sülfat (H₂SO₄), sülfid (H₂SO₃), tiyosülfat (S₂O₃) veya diğer kükürt bileşiklerini elektron alıcısı olarak kullanarak, bunları H₂S'e indirgemektedirler. H₂, laktat, yağ asitleri, etanol ve di-karboksilik asitler, SRB türleri tarafından kullanılan elektron vericileridir. Çoğu türlerinin, substratları tamamen okside edemedikleri bilinmektedir. Bazı türleri ise, organik maddeleri tamamen, yani karbondioksit (CO₂) kadar oksitlemektedirler. Hücreler, b veya c tipi sitokrom içermektedirler. Sülfat redüksiyonu yapan çoğu tür, desulfoviridin (sülfid redüktaz), P582 veya desulforubidin içermektedir (Moreno ve Ibars 1992, Lee vd 1995).

SRB, çok farklı habitatlardan izole edilmektedirler. Bu durum onların doğada oldukça yaygın olduklarını göstermektedir. Deniz, nehir veya göl sedimentleri, bu bakterilerin tipik habitatlarıdır. Ayrıca petrol yatakları, çeltik tarlaları ve soğutma kuleleri gibi tarımsal ve endüstriyel su sistemlerinde de yaşayabildikleri belirtilmiştir (De Bruyn 1992). Bunların dışında, yüksek ve aşağı organizasyonlu hayvanlar ile insanların bağırsaklarından da izole edilmektedirler. SRB, kükürt bileşiklerini son elektron alıcısı olarak kullanarak bunları asidik bir ürün olan H₂S'e indirgemektedirler.



Oluşan H₂S, metalleri ciddi bir şekilde korozyona uğratmaktadır (Angell ve Urbanic 2000). Ayrıca H₂S'in toksik etkisi çalışanların sağlığı ve güvenliği açısından da büyük bir tehlike oluşturmaktadır (Iverson 2001).

SRB, ihtiyaç duydukları enerjiyi organik besin maddelerinden elde ederler ve genellikle anaerobik bakteriler olup, oksijene alternatif olarak sülfatı kullanırlar ve sonuç olarak sülfürleri oluştururlar. Bu tür bakteriler, toprak ve her türlü suda yaşayabilirler. En çok tercih ettikleri yerler, uzun süre kapalı kalan boru içleri gibi, suyun durgun olduğu bölgelerdir. Mikrobiyolojik korozyonda en çok karşılaşılan SRB türü bakteriler; *Desulfovibrio*, *Desulfobacter* ve *Desulfoformaculum* bakterileridir.

SRB'ler, sülfatı sülfüre dönüştürmek için korozyon ortamındaki hidrojen iyonunu kullanırlar ve böylece yüzeyin katodik depolarizasyonuna da sebep olurlar. Serbest kalan sülfür iyonu hidrojenle hidrojen sülfür, demir ile demir sülfür bileşiklerini oluşturur. Bunun sonucunda meydana gelen alkali ortamda bulunan herhangi bir metalin korozyona uğraması kaçınılmaz olmaktadır.

SRB etkisi ile çelikte meydana gelen korozyonu açıklamak amacıyla önerilen çeşitli modeller verilmiştir (Beech vd 1999). Bu modellerden en eski olanı Von Wolzogen Kuhr ve Van der Vlugt adlı iki bilim adamı tarafından ortaya konulan katodik depolarizasyon teorisi veya literatürde bilinen adı ile klasik teoridir (Borenstein 1994). Klasik teori ortaya atıldığı tarihten günümüze kadar geçen zaman içerisinde değişikliklere uğramış, bu değişiklikler alternatif teoriler olarak bilinmektedir.

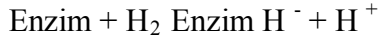
Klasik teori (katodik depolarizasyon) teorisi: Kuhr ve Vlugt adlarındaki iki bilim adamı tarafından açıklanan bu teoriye göre bakteri, sülfatın indirgenmesi için, hidrojenaz enzimi ile katodik hidrojeni kullanır (Borenstein 1994).

Klasik teoriye göre tepkime denklemleri aşağıda verilmiştir:

- Anodik tepkime: $4\text{Fe} \rightarrow 4\text{Fe}^{+2} + 8\text{e}^-$
- Suyun ayrışması: $8\text{H}_2\text{O} \rightarrow 8\text{H}^+ + 8\text{e}^-$
- Katodik tepkime: $8\text{H}^+ + 8\text{e}^- \rightarrow 8\text{H}$
- Katodik depolarizasyon (SRB etkisiyle): $\text{SO}_4^{-2} + 8\text{H}^+ \rightarrow \text{S}^{-2} + 4\text{H}_2\text{O}$
- Korozyon ürünü: $\text{Fe}^{+2} + \text{S}^{-2} \rightarrow \text{FeS}$
- Korozyon ürünü: $3\text{Fe}^{+2} + 6\text{OH}^- \rightarrow 3\text{Fe}(\text{OH})_2$

- Toplam tepkime: $4\text{Fe} + \text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{Fe}(\text{OH})_2 + \text{FeS} + 2\text{OH}^-$

Araştırmacılar, SRB bakterisinin korozyona uğrayan metal üzerindeki en büyük etkisinin hidrojenaz enzimi nedeni ile metal yüzeyinden hidrojen iyonunu uzaklaştırması olduğunu kabul etmektedir.



Klasik teoriye alternatif olarak, ortamda sülfür (S^{2-}) iyonlarının bulunması, demir yüzeyinde meydana gelen anodik ve katodik tepkimelerin her ikisini de etkiler. S^{2-} iyonları, katodik tepkimede yavaşlatıcı, anodik tepkimede ise hızlandırıcı etkiye yol açar. Ayrıca, katodun depolarizasyon şekline SRB'nin ve sülfür iyonunun muhtemel etkisi, katı demir sülfür (FeS) tarafından engellenmiş olabilir (Borenstein 1994).

Genel korozyon, tüm yüzeyi etkilemekte iken MIC, oldukça bölgeseldir. MIC, bir yumru ve bu yumrunun altında bir çukur oluşturur. Bakteriler bu yumrular içerisinde tek başlarına veya farklı tür ve gruplardan oluşan karışık halde yaşayabilirler.

Aerobik bir ortamda anaerobik bakteriler genellikle engellenir ancak, topluluk içerisindeki aerobik bakteriler, sudaki oksijeni tüketerek yumruya nüfuz eder. Bu sebeple, yumrunun iç kısmındaki oksijen seviyesi, anaerobik bakterilerin yaşamasını sağlayacak seviyelere düşmüş olur.

2.18.1. Metanojenik bakterilerin rolü

Metanojenik bakteriler, anaerobik koşullarda H_2 'i elektron vericisi, CO_2 'yi ise elektron alıcısı olarak kullanarak metanı (CH_4) oluştururlar. Genellikle metanojenik bakteriler SRB'ye yakın yerlerde bulunurlar ve biyokorozyonda rol oynarlar (Madigan vd 2002, Javaherdashti 2008).

2.18.2. Demir redükleyen bakterilerin rolü

Demir redükleyen bakteriler Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgemektedirler. Fe^{+3} , düşük pH değerleri haricinde çözünmez formdadır ve Fe^{+3} tuzları metal yüzeyini kimyasal aktivite yüzünden daha ileri korozyondan korumaktadır. Fe^{+2} tuzları çoğunlukla çözülebilir özelliktedir ve bu nedenle Fe^{+3} tuzlarının redüksiyonu metal yüzey üzerindeki koruyucu Fe_2O_3 filminin ortadan kalkması ile sonuçlanmaktadır. Böylece demir redükleyen *Pseudomonas* ve *Shewanella* cinsi bakteriler dolaylı olarak korozyonun ilerlemesine yardımcı olmaktadır (Madigan vd 2002).

2.19. Mikrobiyolojik Korozyon İle İlgili Yapılmış Bazı Çalışmalar

Mikrobiyolojik korozyon ve aerobik bakterilerle ilgili olarak son yıllarda yapılmış çalışmalardan bir kısmı aşağıda özet olarak verilmiştir.

Wagner vd (1997), bakır içme suyu borularında mikrobiyolojik korozyonu araştırmışlardır. Biyofilm olarak *Xanthomonas campestris*'ten elde edilen biyopolimeryapıdaki ksantan kullanılmıştır. Elektrotların biyofilmle kaplanması için 2 farklı ortam kullanılmıştır: a) % 0,3 ksantan / % 0,1 agar / % 0,05 aljinat, b) % 0,3 ksantan / % 0,1 agar. pH 4,0-6,5 arasında temas açısı yaklaşık 800, pH 6,0'nın üstünde ise temas açısı 400 olarak bulunmuştur. Bu değişimlerin, karboksil grupların adsorbsiyonundan kaynaklı olabileceğini düşünmüşlerdir. Döngüsel voltamogramlarda klorür iyonlarının biyopolimer tabakayı geçemediği, biyopolimer kaplamanın anodik bölgede gözle görülür bir etki yapmazken oksijen için difüzyon bariyeri oluşturarak geçirgen birtabaka olmadığı ve kaplama altındaki pH'nın çözelti pH'sından daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bakteri bulunan ortamda yüzeyin biyopolimerle kaplanması sonucumetalin bölgesel katot olarak davrandığı görülmüştür.

Jayaraman vd (1999), aerob ve SRB bakterilerinin geliştiği modifiye edilmiş Baar'sortamında, elektrokimyasal impedans spektroskopisi ölçümlerini kullanarak, bakırmetalinin ve 2024 alüminyum alaşımının korozyon davranışını incelemişlerdir. *Pseudomonas fragi* K içeren ortama 10-50 $\mu\text{g/mL}$, *Bacillus brevis* içeren ortama ise 10 $\mu\text{g/mL}$ kanamisin eklenirken, steril grupların sterilitesinden emin olmak için ortama 50

$\mu\text{g/mL}$ kanamisin eklenmiştir. Steril Baar's çözeltilisine 10 gün daldırılan metallerin dirençlerindeki düşüş, bakterilerin bakır ve alüminyum yüzeylerinde biyofilm oluşturarak ve yüzeyden oksijeni uzaklaştırarak korozyonu yavaşlattığına bağlanmıştır. *B. brevis* 18 ve *P. fragi* K ortamlarına SRB (*Desulfovibrio vulgaris*) eklendiğinde, empedans ölçümleri sterilkoşullardaki ölçümlere benzemektedir. SRB'nin ürettiği hidrojen sülfid sonucu metallerkorozyona uğramıştır. Ortama ampisilin ekleyerek SRB'nin biyofilmde gelişimi durdurulabileceği ve bu sayede korozyonun yavaşlatılabileceği bildirilmiştir.

Choi vd (2002), ağır metal içerikli inhibitörler son yıllarda aktif olarak korozyon inhibitörü olarak araştırılmaktadır. Fakat çevreye olumsuz etkileri sebebiyle yeni ve zararsız kimyasallar araştırılmaktadır. Çalışmada su soğutma sistemlerinde mikrobiyal korozyonun engellenmesi için inhibitör denemesi yapılmıştır. Çalışmada denenen inhibitörler sitrik asit, fosfonat, akrilat kopolimer ve izothiazolondan oluşturulmuştur. Bu çalışma sonucunda yeni inhibitör karışımı korozyonu azaltmıştır. Bunun sonucunda sistem büyük ölçekte denenmiş ve mikrobiyal gelişim bu koşullar altında araştırılmıştır. Polarizasyon eğrilerinde inhibitör anodik inhibitör olarak görev yapmakta ve metal çözünmesine sebep olmaktadır. Çalışmada yüzeyde oluşan koruyucu tabaka SEM analizi ile gösterilmiştir.

Valcarce vd (2005), pH'sı 7,6 olan yapay çeşme suyunda geliştirdikleri *Pseudomonas fluorescens*'in, bakır ve 70/30 bakır-çinko alaşımında çukurcuk korozyonu oluşturma yeteneğini ve oksit tabakanın oluşumunu araştırmışlardır. Döngüsel voltamogramda bakırın -0,33 V olduğu potansiyelde yüzeyde oksitleri oluşmaya başladığı görülmüştür. -0,2 V'ta anodik pikler gözlenmiş ve 0,005 V potansiyelde de lokalize korozyon başlamıştır. Bu piklerin Cu(I) oluşumuna katkı sağladığı belirtilmiştir. -0,11 V potansiyelindeki katodik pikler ise Cu(II) redüksiyonunu göstermektedir. Çinko metalinde -0,80 V'ta anodik pikler, 0,005 V'ta lokalize korozyon gözlenmiştir. 550 nm ve 380 nm dalga boyunda ölçülen absorbans grafiğinde pikler görülmüş ve bunların Cu_2O 'ten, 260 nm'de görülen piklerin ise Zn (II)'den kaynaklandığı belirtilmiştir. Kütle kaybı testlerinde, bakır metalinde çukurlar yalnız bakterili ortamda görülürken, çinko metalinde steril ve bakteri inoküle edilmiş ATW ortamının her ikisinde de çukurlar görülmüştür. Çinkoya oranla bakırda daha fazla kütle kaybı meydana gelmiştir. Bakırda, oksit tabakanın bakır oksitten oluştuğu ve bakteri varlığının, yüzeyde herhangi bir film oluşumunu etkilemediği görülmüştür. Elektrokimyasal ölçümler, çinko yüzeyinde bakteri bulunduğunda, çukurcuk

potansiyelinin daha pozitif değerlere kaydığını ve ortama bakteri eklendiğinde korozyon gelişiminin daha yüksek ve akım yoğunluğunun daha az olduğu bulunmuştur.

Yuan vd (2007), aerobik deniz bakterisi olan *Pseudomonas*'ın 70/30 Cu-Ni alaşımının korozyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. Steril ortamda akım yoğunlukları deney süresine bağlı olarak düşmüştür. Bu da, yüzeyde koruyucu oksit tabakanın oluştuğunu ve bunun da korozyonu yavaşlattığını göstermiştir. *Pseudomonas* inoküle edilmiş ortamda ise akım yoğunluğu 42. günden sonra $20 \mu\text{A cm}^{-2}$ 'den fazla olmuştur. Steril ortamda ölçülen empedans değerlerinin arttığı görülmüş, bunun koruyucu oksit filminden kaynaklı direncin artmasına bağlanmıştır. Kontrol ortamında ölçülen yüktransfer dirençleri R_{ct} , zamanla artarak korozyonun yavaşladığını göstermiştir.

Pseudomonas'lı ortamda ise bakteri kolonizasyonun artmasıyla R_{ct} değerinin düşmesi, bakterilerin korozyonu hızlandırdığını göstermiştir. Bakteriler yüzeyde gelişerek koruyucu oksit filmin oluşumunu engellemişler ya da oksit filmin dağılmasını kolaylaştırmışlardır. SEM analizlerinde steril ortamdaki örneklerde 7. günde heterojen porlu bir görüntü elde edilirken, 42. günde dış tabakada kuprik oksite bağlı olarak porlar ve iç tabakada da Cu_2O kaynaklı çatlaklar gözlenmiştir. *Pseudomonas* ortamında ise bakterinin yüzeye yapışmasından sonra salgıladığı EPS nedeniyle çukurcukların oluştuğu saptanmıştır.

Starosvetsky (2007) yılında yaptıkları çalışmada endüstriyel alanlarda kullanılan donanımlarda meydana gelen mikrobiyal korozyonun tanımlanmasını amaçlamaktadırlar. Bu donanımlar karbon alaşımları içeren boru sistemleri ve boru birleşme kısımlarıdır. Su ısıtma ve soğutma sistemlerinde genellikle demir okside edici bakteriler bulunmaktadır. MIC'in etkisinin tanımlanması için magnezyum alüminyum alaşımında 3 hafta çalışılmıştır. Bu simülasyon testi ile mikroorganizmaların etkisi ve korozyon atak mekanizmalarının çözünmesine yararı olacağı düşünülmüştür.

Chang vd (2009) yılında yaptıkları çalışmada Fe_3Al alaşımına mikroorganizmaların korozyon etkisi, kütle kaybı tekniği, elektrokimyasal teknikler ve SEM analizi ile araştırılmıştır. Polarizasyon eğrileri keskin akım piklerini göstermiştir. Bu durumda çukurcuk korozyonuna sebep olmuş ve korozyon potansiyeli 15 günlük deney sonucunda -

790 mV değerine ulaşılmıştır. EIS alışmaları ve elektriksel devre parametrelerine göre korozyon ürünleri iki tabaka oluşturmuş ve iç tabakada mikroorganizma çukurcuk ve erozyon korozyonuna sebep olmuştur.

Yin vd (2009) elektrokimyasal teknikler, polarizasyon eğrileri ve SEM analizi ile 303 paslanmaz eliğine *Vibrio natriegens* bakterisinin mikrobiyal korozyon etkisi dört farklı besiyeri ortamında çalışmışlardır. Azot fiksasyonunun korozyonu arttırdığı fakat korozyon ürünü olarak açığa çıkan NH₃'n etkisi açıklanamamıştır. Sonuç olarak elektron transferi ya da nitrojenaz etkisinin korozyon prosesini arttırabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Giacobone vd (2011) nükleer tesislerde kullanılan %99 saflıkta alüminyum içeren alaşıma karşı mikrobiyal korozyon etkisini test etmişlerdir. Sistemde standart metodlar kullanılmış ve 16S rRNA sekanslaması ile on sekiz mikroorganizma tanımlanmıştır. Sistemde *Bacillus cereus* RE 10 baskın tür olarak bulunmuş ve biyofilm oluşturma sürecinde korozyon etkisi test edilmiştir. Çevresel koşulların taklit edilmesi için besiyeri yüksek oranda diluye edilmiştir. 20 gün sonra alaşım yüzeyinde büyük çukurcuklar gözlemlenmeye başlamışlardır.

Yaro vd 2011 yılında bakteri varlığında bakır-çinko ve tuzlu su sisteminde katodik koruma olayını incelemişlerdir. Bakterinin varlığında ve yokluğunda tuzlu su taşıyan bakır boruların korozyon olayı çinko ilavesi ile katodik koruma şeklinde kütle kaybı çalışması ile incelenmiştir. Bundan nceki çalışmalarda sıvının akış hızı, sıcaklık, zaman ve tuz konsantrasyonları değiştirilerek korozyona etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada ise çinko ilavesinin etkisi değerlendirilmiştir. Bakterinin varlığı ile çinkonun tüketimi artmıştır. Optimum inko tüketimi 20 C'de %3,5aCl konsantrasyonunda 50 dakika sonunda ulaşılmıştır. Bu alışma ileride tuzlu su taşıyan su istemlerinde mikrobiyal korozyon etkisine yeni bir çözüm ya da iyileştirme sağlayabileceğini belirtmişlerdir.

Beale vd (2012) mikrobiyal korozyon gözlemlenmiş bakır boru sistemlerinden aldıkları su örneklerini metabolomik teknikler kullanarak tanımlamaya çalışmışlardır. Bir nceki çalışmalarında boru sisteminden aldıkları biyofilm tabakasının ekstraselluler metabolit olduğunu göstermişler. Bu alışma ile metabolik markerlar taşıyan su örneklerinden kemometrik istatistiksel analizlerin başarı ile yapılabileceğini göstermişlerdir. Bu analiz aynı

zamanda su ile temasta olan bakterinin karboksilik asit redüksiyonu ile mikrobiyal korozyona sebep olduğunu göstermektedir.

Stadler vd (2012) mikrobiyal ekstrasellular polimerik maddenin (EPS) metal yüzeyleri korozyondan korumak için kullanabileceğini bulmuşlardır. Bakteri tarafından salgılanan EPS'nin korozyon inhibisyonunda koruyucu etkisinin gözlemlenmesi için sistemde MIC indüklenmiştir. Sonrasında bu ortamda SRB ve *Pseudomonas* cinsi bakteriler kültüre edilmiş ve oluşturdukları EPS alınmıştır. Çalışmada kilit nokta metal yüzeye bakterinin adezyonun önlenmesini oluşturmaktadır. Bu uygulamaya örnek olarak boyar madde kullanılması verilebilir. Bu çalışma ile *Desulfovibrio alaskensis*-EPS korozyon inhibisyonunda biyopolimer kullanımında başarılı olabileceği gösterilmiştir. Fakat EPS her zaman koruyucu özellikte olmayabilir. Bu sebeple EPS'nin direkt yüzeye iletişimde olmaması gerekmektedir.

Bairi vd 2012 yılında D9-paslanmaz çelik alaşımı üzerine *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. bakterilerini yer altı sularında kültüre etmiş ve korozyon etkisini incelemişlerdir. Toplam canlı sayısı ve epifloresans mikroskop sonuçları bu bakterilerin alaşım yüzeyine iyi bir şekilde tutunduğunu göstermektedir. Potansiyodinamik polarizasyon deneyleri korozyon potansiyeli ve yüksek akım yoğunluğunun oluşan biyofilm tabakasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi çalışmasında ise biyofilm tabakasının altında oluşan pasif tabakanın zayıfladığı gösterilmiştir. Bakterilerin korozyon etkisi karşılaştırıldığında ise *Pseudomonas* sp.'nin *Bacillus* sp.'ye göre etkisinin fazla olduğu yönündedir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmalar süresince kullanılan tüm kimyasal maddeler ve kullanım amaçları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

| Kullanılan madde | Kullanım amacı |
|-------------------------|---|
| Agar | Stok besiyeri ortamlarına katılaştırma amacıyla eklenmiştir. |
| Amonyum klorür | Kaplama banyosunda kullanılmıştır. |
| Bakır sülfat | Kaplama banyosunda kullanılmıştır. |
| Borik asit | Kaplama banyosunda kullanılmıştır. |
| Çinko klorür | Kaplama banyosunda kullanılmıştır. |
| Kobalt sülfat | Kaplama banyosunda kullanılmıştır. |
| Etanol | Bazı sterilizasyon işlemlerinde kullanılmıştır. |
| HCl | pH ayarlamalarında kullanılmıştır. |
| Nikel klorür | Kaplama banyosunda kullanılmıştır. |
| Nikel sülfat | Kaplama banyosunda kullanılmıştır. |
| Nutrient broth | Bakteri üretiminde ana besiyeri olarak kullanılmıştır. |
| Potasyum hidroksit | pH ayarlamalarında kullanılmıştır. |
| Potasyum klorür | Referans elektrodun hazırlanması/muhafazası sırasında kullanılmıştır. |
| Sodyum hidroksit | pH ayarlamalarında kullanılmıştır. |
| Boyama kiti | Gram boyamada kullanılmıştır. |

3.1.2. Kullanılan cihazlar ve teçhizatlar

Çalışmalar süresince kullanılan tüm cihaz/teçhizatlar ve kullanım amaçları Çizelge 3.2.'de verildiği gibidir.

Çizelge 3.2 Çalışmalar süresince kullanılan cihaz ve kullanım amaçları

| Cihaz/Teçhizat | Marka | Kullanım amacı |
|----------------------------|--------------|--|
| Ag/AgCl referans elektrot | CHI | Elektrokimyasal çalışmalarda referans elektrot olarak (doygun KCl) kullanılmıştır. |
| AT-kesimli altın elektrot | CHI125A | QCM çalışmalarında çalışma elektrotu olarak kullanılmıştır. |
| Buzdolabı | Arçelik | Çözeltilerin ve mikroorganizmaların muhafazasında kullanılmıştır. |
| Fırın | Nüve FN400 | Cam malzemelerin sterilizasyon işlemlerinde kullanılmıştır. |
| İnkübatör (Çalkalamalı) | Innova 4230 | Mikroorganizma üretimlerinde kullanılmıştır. |
| Kuartz Kristal Mikrobalans | CHI400A | Kütle kaybı çalışmalarında kullanılmıştır. |
| ST-42 çelik disk | - | Temel çalışma elektrotu olarak kullanılmıştır. |
| Otoklav | ALP | Sterilizasyon işlemlerinde kullanılmıştır. |
| PH metre | Consort p500 | Besiyeri pH'sının ayarlanmasında kullanılmıştır. |
| Platin tel | CHI | Karşı elektrot olarak kullanılmıştır. |
| Potansiyostat | İvium | Elektrokimyasal ölçümlerin yapılmasında kullanılmıştır. |
| SEM-EDS | JEOL JSM | Yüzey değişimlerinin gözlenmesinde ve elemental analizde kullanılmıştır. |
| Soğutmalı santrifüj | MPW 351R | Biyokütle eldesi için kullanılmıştır. |
| Spektrofotometre | Shimadzu | Mikroorganizma gelişiminin belirlenmesinde kullanılmıştır. |
| Terazi | Metler | Bazı kimyasalların ve mikroorganizmaların tartımında kullanılmıştır. |
| Distile su cihazı | GFL | Çeşme suyunun distile edilmesinde kullanılmıştır. |

3.1.3. Kullanılan hücre ve elektrotlar

Elektrokimyasal çalışmalarda 4 mL kapasiteli klasik 3 elektrotlu hücre kullanılmıştır. OCP, LSV ve EIS çalışmalarında çalışma elektrotu olarak 0,204 cm² yüzey alanına sahip ST-42 karbon çelik disk kullanılmıştır. Kütle kaybı analizi için kullanılan QCM çalışmalarında ise çalışma elektrotu olarak 0,204 cm² yüzey alanına sahip, 7,995 MHz nominal rezonans frekanslı AT kesimli altın elektrot (CHI125A) kullanılmıştır. Ag/AgCl (doygun KCl) referans elektrot (CHI) ve platin tel (CHI) ile hazırlanan platin elektrot karşıt elektrot olarak kullanılmıştır.

3.1.4. Örnek alımı

Mikrobiyal korozyon çalışmaları için korozyon etkisi incelenecek aerobik bakteriler Türkiye'nin en büyük içme suyu arıtma tesisi olan Ankara İvedik Su Arıtma Tesisinin boru sistemlerinden alınan kazıntı ve su örneklerinden izole edilmiştir (Şekil 3.1a-c).





(b)



(c)

Şekil 3.1 (a) İvedik Su Arıtma Tesisi (b) su ve kazıntı örneklerin alındığı sistem (c) sistemde yer alan borular

3.1.5. Besiyeri hazırlanması ve izolasyon öncesi ön aşama

Hem izolasyon deneylerinde hem de elektrokimyasal deneylerde besiyeri olarak Nutrient broth ve izolasyon çalışmasında saf koloni elde edilmesi için Nutrient agar besiyeri de kullanılmıştır. Kullanılan besiyerlerinin içerikleri aşağıda belirtilmiştir:

Nutrient broth besiyeri içeriği; g/L; pepton (et kaynaklı) 5 g, et özütü 3 g.

Nutrient agar besiyeri içeriği; g/L; pepton (et kaynaklı) 5 g, et özütü 3 g ve agar-agar 12 g.

Dehidre besiyeri, 8,0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde eritilir ve amaca uygun kaplara (tüp, erlen vs.) dağıtılır ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilir. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsı kahve renkli olup, 25 °C'de pH'sı 7,0±0,2'dir. Alınan su ve kazıntı örnekleri steril koşullarda hazırlanan ve içerisinde metal diskler bulunan besiyerlerine ekilmiş ve 30 °C'de 1 hafta inkübe edilmiştir.

3.1.6. İzolasyon

İzolasyon için NB besiyerine ekim yapılmış ve üreme gözlemlendikçe örnekler NA'lı petrilere aktararak inkübasyona bırakılmıştır. Agarlı sistemlerde üreyen koloniler içerisinde farklı koloni özellikleri gösterenler seçilerek NA besiyerlerine tek koloni düşürme yöntemi ile inoküle edilmiştir. Tek koloni düşürme yöntemi istenilen kolonilerin saf olarak elde edilmesini sağlamıştır. İşlem birkaç defa daha tekrar edilerek kültürlerin sağlığı sağlanmaya çalışılmıştır. Saf olarak elde edilen koloniler arasından farklı koloni morfolojisine sahip, renk bakımından farklı koloniler seçilerek gram özelliklerinin belirlenmesi için gram boyama yapılmıştır. Gram boyamada elde edilen ayırım bakterilerin tanımlanmasında önemli bir aşamadır.

Gram boyama için saf olan koloniler temiz bir lam üzerine alınmış, üzerlerine bir damla su konmuş ve ince bir film tabakası şeklinde yayılmış ve sonrasında alevden geçirilerek fiske edilmiştir. Preparat kristal violet ile kaplanmış ve 1 dk beklenmiş, sonrasında bol su ile yıkanmış ve üzerine lugol (gram iyot çözeltisi) konarak, 1 dk beklenmiştir. Lügol akıtılarak

üzerine %'96lık etil alkol yayılmış 10-15 sn bekletildikten sonra hemen su ile yıkanmıştır. En son aşamada karşıt boya olan bazik fuksin veya safranin ile kaplanarak 10-30 sn beklenmiş ve bol su ile yıkanarak havada ya da kurutma kâğıdında kurutulmuştur.

Boyanmış örnekler ışık mikroskobunda immersiyon objektifinde incelenmiştir. Gram negatif veya pozitif olarak ayrımları yapılarak mikroskobik özelliklerine bakılmıştır. Saflaştırılan bakteriler yatık NA besiyelerine alınarak, 3 ayda bir yenilenmek üzere + 4 °C'de stoğa aktarılmıştır.

İki adet izole edilen mikroorganizmaların dışında, çalışmaların yapıldığı laboratuvar kültür koleksiyonunda bulunan ve bakteri türü olan *P. aeruginosa* suşu mikrobiyal korozyon özelliklerinin incelenmesinde kullanılmıştır.

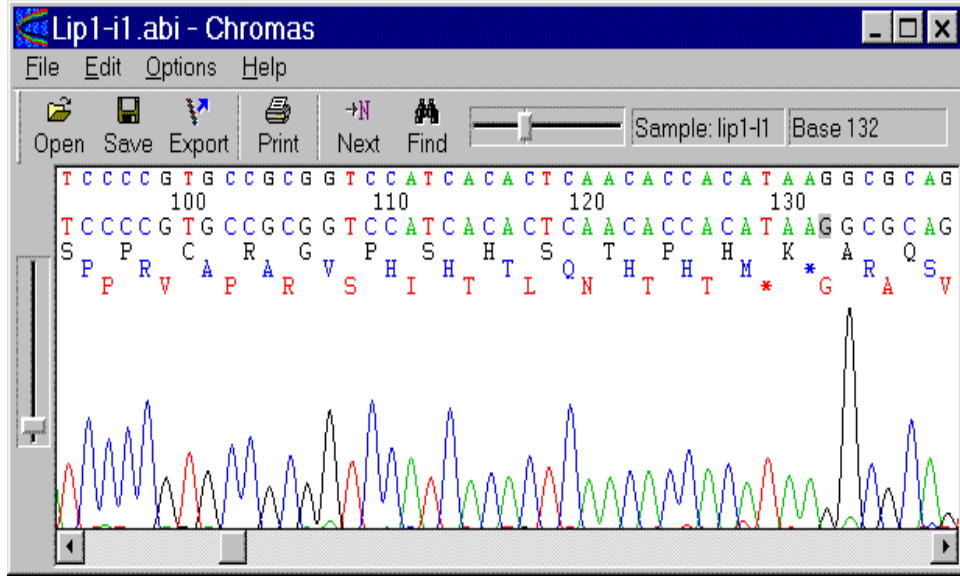
Stok olarak kullanılan NB besiyerinden alınan örnekler 100 mL NB besiyeri içeren (pH: 7) 250 mL'lik erlenlerde 30 °C' de ve 100 rpm hızla çalışan inkübatörde üç gün süreyle geliştirilerek canlandırma işlemi tamamlanmıştır.

3.1.7. İzolatların karakterizasyonu

Saflaştırılan bakterilerden farklı koloni özellikleri gösteren iki tanesi tür düzeyinde teşhis edilmesi için firmaya gönderilmek üzere seçilmiştir.

İzolatların tür düzeyinde teşhis edilmesi için ön hazırlık olarak örnekler 24 saat boyunca NB besiyerinde aktive edilmiş ve sonrasında 16S rRNA filogenetik analizlerinin yapılması için firmaya gönderilmiştir.

Analiz sonucunda gönderilen ham sekans verileri Chromas 2.33 analiz programı ile işlenmiştir (Şekil 3.2). Forward ve revers sekans dizileri Gen Bankasında bulunan referans diziler ile karşılaştırılmış (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Karşılaştırma sonrasında tür düzeyinde belirlenen izolatlar gen bankası veri tabanına kayıt ettirilmiştir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).



Şekil 3.2 Filogenetik analiz için ham sekans verilerinin işlenmesinde kullanılan program Chromas (<http://www.technelysium.com.au/chromas.html>)

3.2. Yöntem

3.2.1. Kaplama banyolarının hazırlanması

3.2.1.1. Nikel Çinko kaplama banyosu

Öncelikle Nikel ve Çinko kaplama banyoları teker teker hazırlanıp, belli oranlarda karıştırılmıştır.

Nikel Kaplama Banyosu: 1 M $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 5,6 g $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 20 mL distile suyla tamamlanmış ve 5 mL banyo çözeltisinin içine karıştırılmıştır. 0,1 M $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0,61 g tartılarak 20 mL distile suda çözünerek, 1 mL banyo çözeltisinin içine karıştırılmıştır. 0,5 M H_3BO_3 : 0,49 g tartılarak 2,5 mL'si banyo çözeltisinin içine karıştırılmıştır.

Zn Kaplama Kaplama Banyosu: ZnCl_2 : 1,5 g tartılarak 20 mL distile su içerisinde çözülmüştür. NH_4Cl : 3,6 g tartılarak 20 mL distile su içerisinde çözülmüştür. Her iki kaplama banyo hazırlandıktan sonra Ni-Zn kaplama için 1:1 v/v oranında karıştırılmıştır.

3.2.1.2. Nikel Bakır Kaplama Banyosu

1 M NiSO₄.7H₂O; 5,6 g, 0,04 M NiCl₂.6H₂O; 0,19 g NiCl₂.6H₂O/20mL; 10 mL, 0,185 M H₃BO₃; 0,23 g H₃BO₃/20mL; 15 mL, 0,05 M CuSO₄.5H₂O; 0,25 g CuSO₄.5H₂O/20mL; 20 mL alınarak, ayrı ayrı hazırlanan tüm solüsyonlar karıştırılarak Ni-Cu kaplama banyosu hazırlanmıştır.

3.2.1.3. Nikel Kobalt Kaplama Banyosu

1 M NiSO₄.7H₂O; 5,6 g NiSO₄.7H₂O/20 mL, 0,2 M NiCl₂.6H₂O; 0,95 g NiCl₂.6H₂O/20mL H₂O; 1 mL, 0,6 M H₃BO₃; 0,75 g H₃BO₃/20mL H₂O; 2,5 mL, 0,05 M CoSO₄; 0,281 g/20ml H₂O; 5 ml alınarak, ayrı ayrı hazırlanan tüm solüsyonlar karıştırılarak Ni-Co kaplama banyosu hazırlanmıştır.

3.2.2. Kronoamperometrik kaplama

OCP, LSV ve EIS gibi elektrokimyasal analizlerde, çalışma elektrodu olarak ST-42 karbon çelik disklerin yüzeyi kaplanmıştır. QCM çalışmalarında ise AT kesimli altın elektrotun yüzeyi Nikel alaşımları ile kaplanmıştır.

Kaplama çalışmalarında önce 1200 grit zımpara kâğıdı ile ST-42 çelik disklerin yüzeyi iyice temizlenmiş ve saf sudan geçirilerek kurumaya bırakılmıştır. Bir diğer çalışma elektrotu olan AT kesimli altın elektrot yüzeyi ise asit temizleyici ile temizlenmiş ve saf sudan geçirilerek kaplama işlemi için hazırlanmıştır.

Temizlenerek hazırlanmış çalışma elektrotları, içeriği 3.2.1 bölümünde verilmiş banyo bileşimi içine kaplanacak disk/elektrot konularak Ni-Zn alaşım kaplaması 100 sn boyunca -1,2 V, Ni-Cu alaşım kaplaması 150 sn boyunca -0,9 V ve Ni-Co alaşım kaplaması için 150 sn -1,2 V uygulanarak kronoamperometrik olarak kaplanmıştır.

3.2.3. Bakterilerin gelişim eğrilerinin takip edilmesi

Mikrobiyolojik korozyon çalışmalarında, MIC etkisi araştırılan mikroorganizmalar gelişim eğrilerinde maksimum gelişme gösterdikleri eksponansiyel fazdan alınıp, deneylerde kullanılmıştır. Deneylerin tekrarlanabilirliğinin sağlanması için tüm çalışmalarda aynı fazdan alınan mikroorganizmalar kullanılmalıdır. Bu sebeple gelişim eğrilerinin araştırılması önemlidir. Üç adet bakterinin gelişim eğrileri her biri ölüm fazına ulaşana kadar takip edilmiş ve gelişme eğrileri çıkarılmıştır.

3.2.4. Mikroorganizmaların mikrobiyal korozyon deneyleri için hazırlanması

Mikroorganizmaların gelişim eğrilerinin takip edilmesi ile tüm bakterilerin eksponansiyel faza ulaşım süreleri belirlenmiştir. Belirlenen eksponansiyel fazlara ulaşana kadar bakteriler NB besiyerine ekilmiş ve 30 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Üç bakteri için bilinen eksponansiyel faz zamanlarında erlenlerden örnekler santrifüj tüplerine alınmış ve 4000 rpm’de 10 dakika santrifüjden edildikten sonra süpernatant kısmı dökülmüş ve bu işlem yeteri kadar bakteri biyomasının santrifüj tüpünde toplanması için tekrarlanmıştır. Yeteri kadar toplanmış biyomaslar korozyon hücrelerinde elektrolit olarak kullanılan NB besiyerine ekim yapılarak korozyon deneylerine başlanmıştır.

3.2.5. Bakterilerin alaşımla kaplanmış diskleri içeren besiyeri ortamlarının pH’ı üzerine etkisinin belirlenmesi

Bakterilerin pH üzerine etkisinin incelenmesi amacı ile Nikel alaşımları ile kaplanmış diskler sadece besiyeri ve bakterileri inoküle edilmiş besiyerlerinde elektrokimyasal deney süreleri olan 5 saat boyunca pH değerlerindeki değişim takip edilmiştir.

3.2.6. Analiz yöntemleri

3.2.6.1. Mikroorganizmaların gelişim eğrilerinin belirlenmesi

Belirtilen koşullarda inkübe edilen üç bakterinin geliştiği erlenlerden inkübasyon süresi boyunca her gün örnek alınarak, spektrofotometrik yöntemle 600 nm dalga boyunda

ölçümler yapılarak OD takip edilmiştir. Alınan örnekler 5.000 rpm'de santrifüjlendikten sonra süpernatant kısım atılmış, kalan pellet kısmı fizyolojik tuzlu su ile tamamlanıp vorteks cihazında karıştırılarak ve gerektiği durumda seyreltilerek ölçümü gerçekleştirilmiştir.

3.2.6.2. Bakterilerin alaşım ile kaplanmış diskleri içeren besiyeri ortamlarının pH'ı üzerine etkisinin belirlenmesi

Bakterilerin pH üzerine etkisinin incelenmesi amacı ile öncelikle elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan ST-42 çelik diskler nikel alaşımı kaplama banyolarında kronoamperometrik olarak kaplanmıştır. Sonrasında nikel alaşımları ile kaplanmış diskler steril besiyeri (kontrol amaçlı) ve bakteri inoküle edilmiş besiyerlerinde elektrokimyasal deney süreleri olan 5 saat boyunca pH değerlerindeki değişim pH metre ile takip edilmiştir.

3.2.6.3. Elektrokimyasal korozyon ölçümleri

Elektrokimyasal ölçümler Ivium CompactStat Potansiyostat (IviumStat, Hollanda) kullanılarak yapılmıştır. OCP, LSV ve EIS deneylerinde 3 elektrotlu standart hücre kullanılmıştır.

Çalışma elektrodu olarak nikel alaşımları kaplanmış ST-42 karbon çelik elektrot, referans elektrot olarak Ag/AgCl ve karşıt elektrot olarak Pt tel kullanılmıştır. Her deneyden önce çelik yüzeyi 1200 gritlik zımpara kâğıdı ile zımparalanmış ve bi-distile su ile yıkanmıştır. Mikrobiyal korozyon etkisi araştırılan her üç bakteri içinde temel hazırlık basamakları, kullanılan elektrokimyasal hücre ve elektrotlar eşit koşullardadır.

Potansiyel tarama hızı 1 mV s^{-1} olarak seçilmiştir. Potansiyeller Ag/AgCl'ye karşı ölçülmüştür. Tüm deneyler oda sıcaklığında yapılmıştır. OCP deneyi 5 saat süre ile takip edilmiş ve denge potansiyeli erişildikten sonra LSV deneylerinde denge potansiyelinden 200 mV anodik yönde ve katodik yönde tarama yapılmıştır. EIS deneyleri 20 kHz-50mHz frekans aralığında 5 mV (RMS) voltaj uygulanarak çalışılmıştır.

3.2.6.4. İzolatların neden olduğu korozyonun kuartz kristal mikrobalsans yöntemi ile kütle kaybının belirlenmesi

QCM çalışmalarında Model 400A kuartz kristal mikrobalsans (CH Instrument, USA) cihazı ile CHI400A analiz programına sahip bilgisayar sistemi ile çalışılmıştır. QCM çalışmalarında çalışma elektrotu olarak kullanılan AT-kesimli altın elektrot korozyon çalışmalarından önce nikel alaşımları ile kaplanmıştır. Sonrasında aktifleştirilmiş bakteriler belirli oranlarda korozyon hücresinde elektrolit olarak kullanılan NB besiyerine ekilmiş ve elektrokimyasal deney süreleri olan 5 saat boyunca kütle kaybı takip edilmiştir.

3.2.6.5. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan çalışmalar

Taramalı elektron mikroskobu katı yüzeyler hakkında morfolojik ve topografik bilgi sağlayan, yüzeylerin davranışlarının anlaşılmasını kolaylaştıran bir yöntemdir. Elektrokimyasal bulguları desteklemek amacıyla, element analiz cihazı ile kombine edilmiş SEM cihazı kullanılarak, *Aeromonas eucrenophila* ve *Delftia acidovorans* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin Nikel alaşımlarının korozyonuna etkisi hakkında bilgiler sağlanmıştır. Mikrobiyal korozyona bağlı olarak yüzeyde değişen maddeler elementel analiz ile tayin edilmiş ve büyüklükleri x100 ile x35,000 arasında değişen mikrograflar elde edilmiştir. SEM-EDS analizleri için öncelikle elektrokimyasal deneylerde olduğu gibi ST-42 çelik diskler nikel alaşımları ile kaplanmıştır. Mikroorganizmanın etkisinin gösterilme amacıyla öncelikle deneylerde kullanılan steril elektrolit çözeltisi içeren ortamlarda, 5 saatlik deney süresince bekletilmiş ve yıkanarak analizleri yapılana kadar cam petrielerde muhafaza edilmişlerdir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bakterilerin İzolasyonu

Ankara İvedik Su Arıtım Tesisinden, mikrobiyal korozyon gözlemlenen boru sistemlerinden kazıntı ve su örnekleri steril ortamlara alınarak laboratuvara getirilmiştir. Sonrasında bakteri kültürlerinin zenginleştirilmesi amacıyla hazırlanan, içerisinde metal diskler bulunan sıvı besiyerlerine ekim yapılmıştır. İzolasyon çalışmaları sonucunda gelişebilen izolatlar korozyon deneylerinde kullanılmak üzere saflaştırılarak stoğa alınmıştır. İzolatların özellikleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 İçerisinde metal diskler bulunan besiyerinde gelişen izolatlar

| No | Işık Mikroskobu Görüntüsü | Spor | Koloni Morfolojisi | | | Gram Reaksiyon |
|-----|---------------------------|------|--------------------|-----------|--------------|----------------|
| | Morfoloji | | Kenar | Yükseklik | Renk | |
| BB1 | Basil | - | dalgalı | kabarık | Krem Rengi | - |
| CC1 | Basil | - | dalgalı | göbekli | Parlak beyaz | - |

4.2. İzolatların Karakterizasyonu ve 16S rRNA Filogenetik Analizleri

Mikrobiyal korozyon gözlemlenmiş bölgelerden alınan ve metal disk içeren besiyerlerinde gelişme gösteren iki izolatın karakterizasyonu ve tür düzeyinde tanımlanması için öncelikle hücre morfolojisi, Gram reaksiyon ve sporulasyon gibi özellikleri incelenmiştir.

İkinci aşamada izolatlar 24 saat boyunca N. Broth besiyerinde aktifleştirilmiş ve 16S rRNA filogenetik analizlerinin yapılması için firmaya gönderilmiştir. Analiz sonucunda gönderilen ham sekans verileri Chromas 2.33 bilgisayar programı ile işlenmiştir. Forward ve revers sekans dizileri Gen Bankasında bulunan referans diziler ile karşılaştırılmış. Karşılaştırma sonrasında tür düzeyinde belirlenen izolatlar gen bankası veri tabanına kayıt

ettirilmiştir. İzole edilen bu bakterilerden ilki *Aeromonas eucrenophila* (Şekil 4.1) diğeri ise *Delftia acidovorans* (Şekil 4.2) olduğu bulunmuştur.

Aeromonas eucrenophila strain BB 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 GenBank: GQ466170.1
 FASTA Graphics
 Go to: []
 LOCUS GQ466170 830 bp DNA linear BCT 27-APR-2011
 DEFINITION Aeromonas eucrenophila strain BB 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.
 ACCESSION GQ466170
 VERSION GQ466170.1 GI:258618726
 KEYWORDS .
 SOURCE Aeromonas eucrenophila
 ORGANISM Aeromonas eucrenophila
 Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Aeromonadales; Aeromonadaceae; Aeromonas.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 830)
 AUTHORS San,N.O., Nazir,H. and Dommez,G.
 TITLE Microbial corrosion of Ni-Cu alloys by Aeromonas eucrenophila bacterium
 JOURNAL Corros Sci 53 (6), 2216-2221 (2011)
 REFERENCE 2 (bases 1 to 830)
 AUTHORS San,N.O., Dommez,G. and Nazir,H.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (06-APR-2009) Biology Department, Ankara University Biotechnology Institute, Beşevler, Ankara 06500, Turkey
 FEATURES source 1..830 /organism="Aeromonas eucrenophila" /mol_type="genomic DNA" /strain="BB" /isolation_source="wastewater pipe" /db_xref="taxon:639" <1..7930 /product="16S ribosomal RNA"
 rRNA
 ORIGIN 1 tctagaacggg gggtagaatt ccaaggtctag cgggtgaaat gggtagagat tctgagaa
 61 tcaagtgagg agggggctt cctctgaca aagactgag ctcaggctgg aagcgtggg
 121 gagaacaag gattacata cctggatgc acgtcttaa acgatttga atttgaagc
 181 tctgtccttg agactggct ttcaggagt aagcgttaa atcagacgca tggggagac
 241 tggggcagc tcaactaca acgacttga cggggggcc ccaagctgt gggatctga
 301 gtttaatttg atcaacgca aagaactta cctggcctt acattctgt aatctctgag
 361 agatgggga gtgcctctg gaatcagac aagcgtctg catggcttc gtaactctg
 421 gttgagat ctgggttaa gttgcagac gaggcaaac cttctcttt atgcaaga
 481 cttatctgt gaaactcaa gtagactgc gttctaac cggaggaag tgggatgac
 541 ctcaactat ctagggctc agggagcgc ctcaacagt gtaacatg cgtgtcaga
 601 gggctcagc ctaggatag tgggggact ccaaaaagc gttgtagt cggatcagc
 661 tctgactc gactctgt gttggaa gtttaac gtaactga gtaactctg
 721 gaaatcttc cgggcttt tacaatcgc cctcaaac atggagtg atgcaacg
 781 aagtagatg ctacacttg gaggggctt accactagc tttctctc

Şekil 4.1 *Aeromonas eucrenophila* bakterisinin Gen Bankası veri tabanı görüntüsü

Delftia acidovorans strain CC 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 GenBank: GQ466172.1
 FASTA Graphics
 Go to: []
 LOCUS GQ466172 1446 bp DNA linear BCT 22-SEP-2009
 DEFINITION Delftia acidovorans strain CC 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.
 ACCESSION GQ466172
 VERSION GQ466172.1 GI:258618728
 KEYWORDS .
 SOURCE Delftia acidovorans
 ORGANISM Delftia acidovorans
 Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; Comamonadaceae; Delftia.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 1446)
 AUTHORS San,N.O., Dommez,G. and Nazir,H.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (06-APR-2009) Biology Department, Ankara University Biotechnology Institute, Beşevler, Ankara 06500, Turkey
 FEATURES source 1..1446 /organism="Delftia acidovorans" /mol_type="genomic DNA" /strain="CC" /isolation_source="wastewater pipe" /db_xref="taxon:50866" <1..71446 /product="16S ribosomal RNA"
 rRNA
 ORIGIN 1 gatggggtag cttaacaaac catgaaagt gaacgttaac aggtctttag gacgtggca
 61 gcaatgggag aagcgtcag caatacttg gaactgccc atgctgggg gataactact
 121 agaaagaaga gtaatacag cactagactt gaggatgaa cggggggcc tctgggcttc
 181 gcccagcttg agcggcagc ggcagattg gtagtttgg gataaaga ctacaagcc
 241 gacgactct agctgtctg agggagcac agcccaact gggactgag cagcggccag
 301 actctcagc gggcagc tgggaaatt tggcaatg cgaagact gatacaaga
 361 tggcggctg agatgagc cctctggct gaaactctg tttatgga agcaaaagc
 421 tttctaat ctagggacc catgagca cttgaagt aagcaaac taactctgt
 481 ccaagagcc gtttaatg taggtgca ggttaatg gaatactg ggttaagc
 541 tggaaagc cttaatg aagaatga aatcttgg ctcaactg gaactctg
 601 tgtgactga tggtagagt aggttagg ggtggaat tccgctga gactgaaat
 661 gtttagat cggaggaac accagtgcc aagcaatcc ctggactc tctgactct
 721 atgcaaga agctgggga caaaacagc ttgataacc gttatgca cgtctgac
 781 gatcaaac gttcttgg aattagttt tcaatgag aagctaacg gtaagttga
 841 cggctggg agctggcc caagttgca attcaaga atgagggg accgcaaa
 901 gggctgag atgtgttt attagatga accgaaaaa ccttaaccac cttgacatg
 961 gcaagaatt tcaagatg gattctgct caaaagaaa cttgcaaca gttctgcat
 1021 gttctgca gttctgct gggatgtg gtttaact cggaaagc gaaacctg
 1081 caattagtg ctcaactca tgggcaact caatgact gcccgtgca acccgagga
 1141 aggtggag gactgaag cctcaagccc cttaagtg ggttcaaca cgtctaca
 1201 tggctgtac agaggttgc caaccggca ggggagsta atccataaa accagtgtg
 1261 cggagatg agctgcaa ctgactgg tgaagtgga accgtgata atggggatc
 1321 agactcag gttgaatg tttcagctc ttgacaac agcgtctac aacctatga
 1381 ggggctctg ccaagaaga gttagctaa cgtttaag gaggggctt accagggg
 1441 ctctag

Şekil 4.2 *Delftia acidovorans* bakterisinin Gen Bankası veri tabanı görüntüsü

Aeromonas eucrenophila: GQ466170

Delftia acidovorans: GQ466172

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore> adresinden bakteriler hakkında bilgiye ulaşılabilir.

4.3. Kullanılan Mikrobiyolojik Materyaller

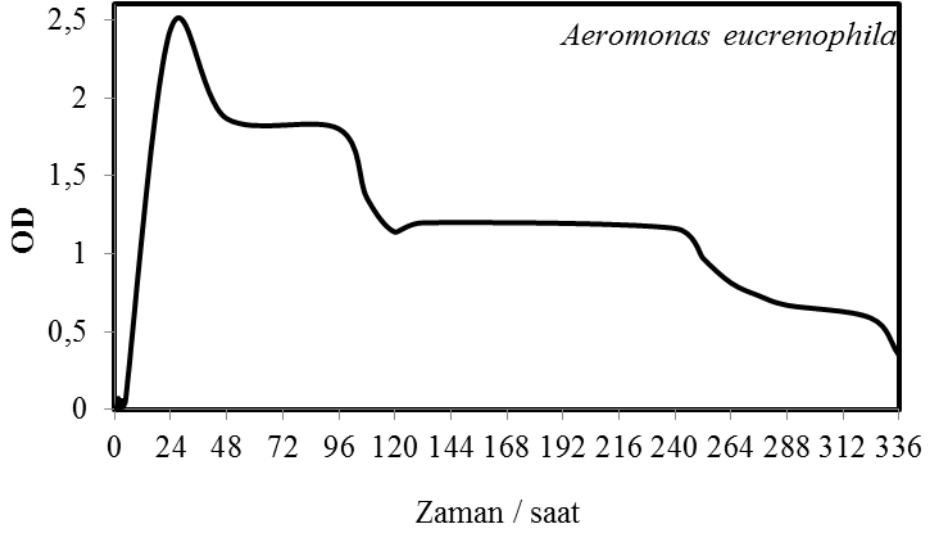
Çalışmada mikrobiyolojik materyal olarak kullanılan *Pseudomonas aeruginosa* isimli mikroorganizma Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarı Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan diğer iki bakteri; *Aeromonas eucrenophila* ve *Delftia acidovorans* türleri alınan örneklerden izole edilmiştir. Türlerle ait bilimsel sınıflandırma Çizelge 4.2' de verildiği gibidir.

Çizelge 4.2 Çalışmada kullanılan mikrobiyal türlerin bilimsel sınıflandırılmaları

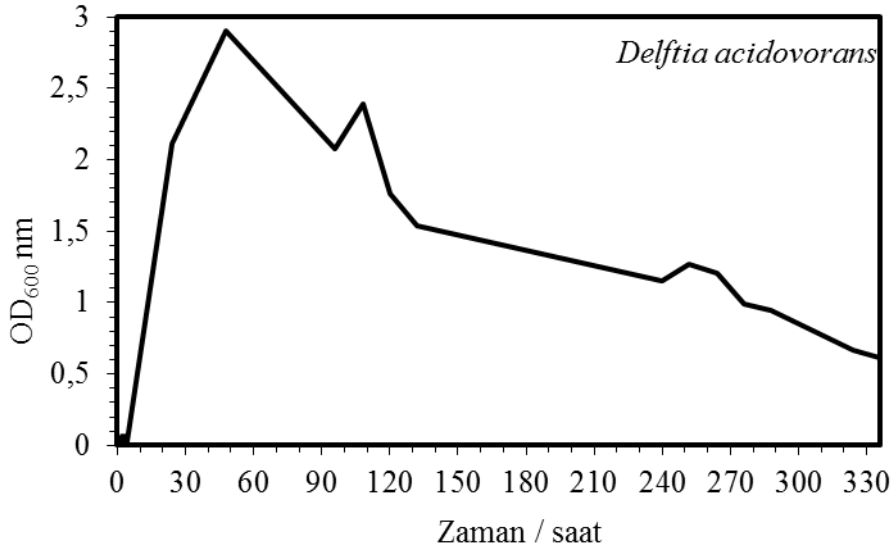
| | <i>Aeromonas eucrenophila</i> | <i>Delftia acidovorans</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
|----------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Alem | Bakteri | Bakteri | Bakteri |
| Filum | Proteobacteria | Proteobacteria | Proteobacteria |
| Sınıf | Gamma proteobacteria | Beta Proteobacteria | Gamma Proteobacteria |
| Takım | Vibrionales | Burkholderiales | Pseudomonadales |
| Familya | Vibrionaceae | Comamonadaceae | Pseudomonadaceae |
| Genus | Aeromonas | Delftia | Pseudomonas |

4.4 Bakterilerin Gelişim Eğrilerinin Takip Edilmesi

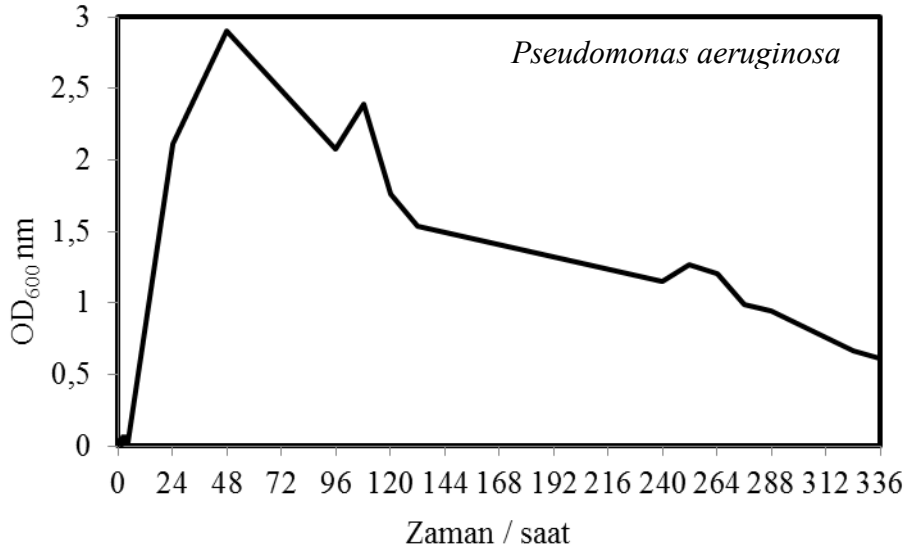
Mikrobiyal korozyon deneylerinde tekrarlanabilirliğin sağlanması için mikroorganizmalar gelişmelerinin en yüksek olduğu eksponansiyel fazdan alınıp mikrobiyal korozyon deneylerinde kullanılmıştır. Bu nedenle üç adet bakterinin gelişim eğrileri her biri ölüm fazına ulaşana kadar takip edilmiştir. Şekil 4.3 *Aeromonas eucrenophila*, Şekil 4.4 *Delftia acidovorans* ve Şekil 4.5 *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin gelişim eğrileridir.



Şekil 4.3 *Aeromonas eucrenophila* bakterisinin 14 günlük gelişim eğrisi



Şekil 4.4 *Delftia acidovorans* bakterisinin 14 günlük gelişim eğrisi



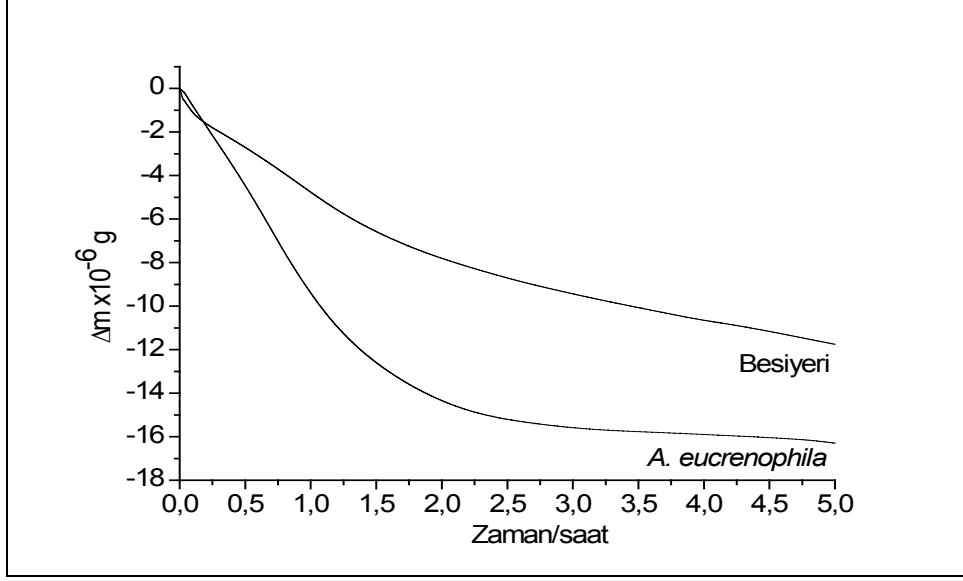
Şekil 4.5 *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin 4 günlük gelişim eğrisi

4.5. Nikel Alaşımlarına *Aeromonas eucrenophila* Bakterisinin Neden Olduğu Mikrobiyal Korozyonun Elektrokimyasal Yöntemler, SEM-EDS Analizi ve pH Değerindeki Değişimle Belirlenmesi

Elde edilen izolatların korozyon etkilerinin belirlenmesi amacıyla öncelikle QCM yöntemi ile kütle kayıpları bulunmuştur. Nikel alaşımları ile kaplanan altın elektrotlar bakterili ve bakterisiz ortamlarda 5 saat inkübasyon sonucunda elde edilen kütle kayıpları grafiklerde görülmektedir. Sonrasında 5 saat süresinde elektrokimyasal çalışmalar içerisinde OCP, LSV ve EIS çalışmaları yapılmıştır.

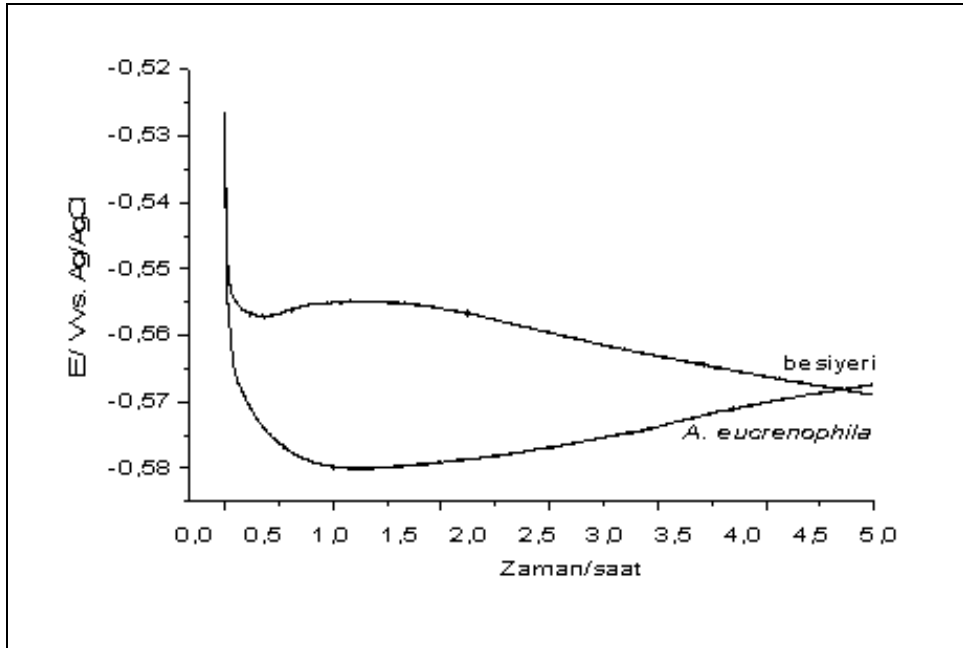
4.5.1. Ni-Zn alaşımına *Aeromonas eucrenophila* bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi

QCM çalışmaları ile elde edilen kütle kaybı değerleri Şekil 4.6'da verilmiştir. Şekil 4.6'da görüldüğü üzere Ni-Zn alaşımının steril besiyeri içinde kütle kaybı 12,12 µg iken *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyerinde kütle kaybı 16,82 µg bulunmuştur. Bakterinin etkisi ile gözlemlenen kütle kaybı farkı 4,7 µg olup, bu durumda bize bakterinin Ni-Zn alaşımına korozyon etkisinin kütle kaybı değerini göstermektedir.



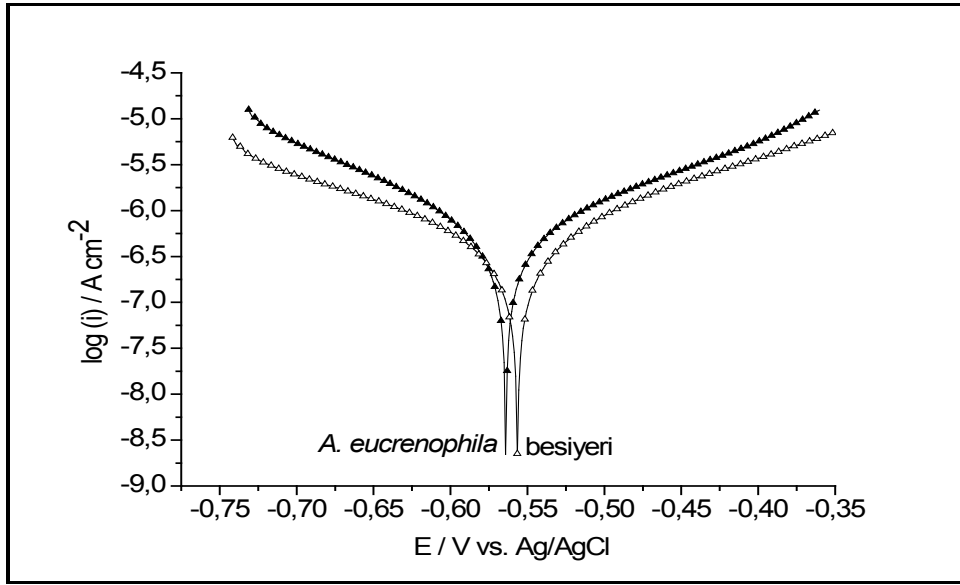
Şekil 4.6 Ni-Zn alaşımlarının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı

Kütle kaybı çalışmasından sonra bakterinin Ni-Zn alaşımına korozyon etkisinin belirlenmesi için steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyerlerinde OCP alınmıştır. Buna göre Şekil 4.7'de 5 saat sonunda steril besiyerinin E_{ocp} değeri -0,569 V iken bakteri inokülasyonundan sonra besiyeri ortamının E_{ocp} değeri -0,566 V olup 5 saat sonunda E_{ocp} grafiğinde benzer bir desen elde edilmiştir.



Şekil 4.7 Ni-Zn alaşımlarının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim

Nikel alaşımlarına izole edilen mikroorganizmaların korozyon etkisinin belirlenmesi amacıyla 5 saat süresince steril besiyeri ve bakteri içeren besiyeri ortamının korozyon potansiyeli (E_{kor}) ve korozyon akım yoğunluğu (I_{kor}) değerleri Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenmiştir (şekil 4.8). Korozyon akım yoğunluğu değerleri Tafel eğrisinin doğrusal kısımlarının korozyon potansiyeline ekstrapolasyonu ile bulunmuştur. Korozyon potansiyeli; E_{kor} korozyon akımı; i_{kor} , korozyon akım yoğunluğu; I_{kor} , anodik ve katodik Tafel eğri katsayıları hesaplanmış ve izelge 4.3’de gsterilmiştir.



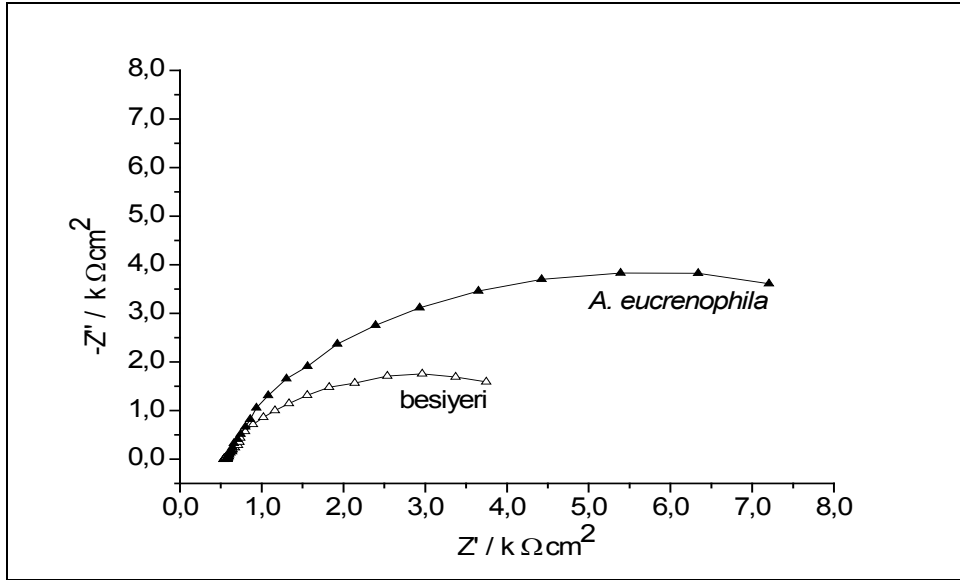
şekil 4.8 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında polarizasyon eğrileri

Çizelge 4.3 Ni-Zn alaşımı için Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---------------------------------------|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Zn | Ni-Zn+A. e |
| E_{kor} V (vs. Ag/AgCl) | -0,55 | -0,56 |
| i_{kor} μ A | 0,24 | 0,32 |
| I_{kor} (μ A/cm ²) | 1,19 | 1,60 |
| Anodik Tafel eğrisi β_a V/dec | 0,80 | 0,19 |
| Katodik Tafel eğrisi β_c V/dec | 0,21 | 0,16 |
| R_p Ω cm ² | 372400 | 244118 |

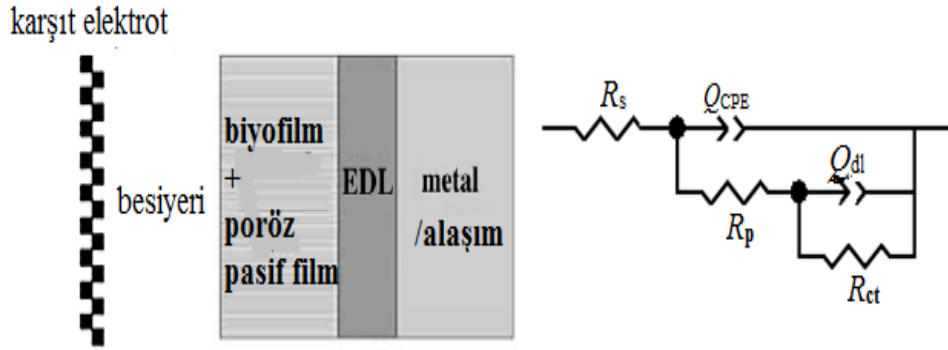
Ni-Zn alaşımında, steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyerinin E_{kor} ve I_{kor} gibi korozyon parametreleri incelendiğinde, steril besiyerinin E_{kor} değeri -0,55 V iken inkübasyon sonrasında değer daha negatif değere kaymış ve -0,56 V değerine ulaşmıştır. i_{kor} ve I_{kor} değerleri bakterinin inokülasyonu sonrasında artmış ve bu değerlerin artışı bakterinin korozyon etkisini göstermektedir.

şekil 4.9'da Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının Nyquist eğrileri görölmektedir. Buna göre kapasitif Nyquist yarımdairesinin çapı bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında, steril besiyeri ortamına göre daha fazladır. Bu durum yük transfer direncindeki oksit tabaka oluşumu ve bakteriyel tutunmadan kaynaklı artıştan kaynaklanmaktadır.



şekil 4.9 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri

şekil 4.10'da yüzeyde kaplamadan kaynaklı katman ve yüzey filminin fiziksel yapısı ve elektrik devre eşdeğeri verilmektedir. Elektrik devre eşdeğeri bir yüksek frekansta empedans verisine ki bu durum pasif oksit tabakası ve biyofilm tabakasından oluşan heterojen tabakadan kaynaklanmaktadır, birde düşük frekansta empedans verisine sahiptir ki bu durumda elektriksel çift tabaka (EDL)'den kaynaklanmaktadır.

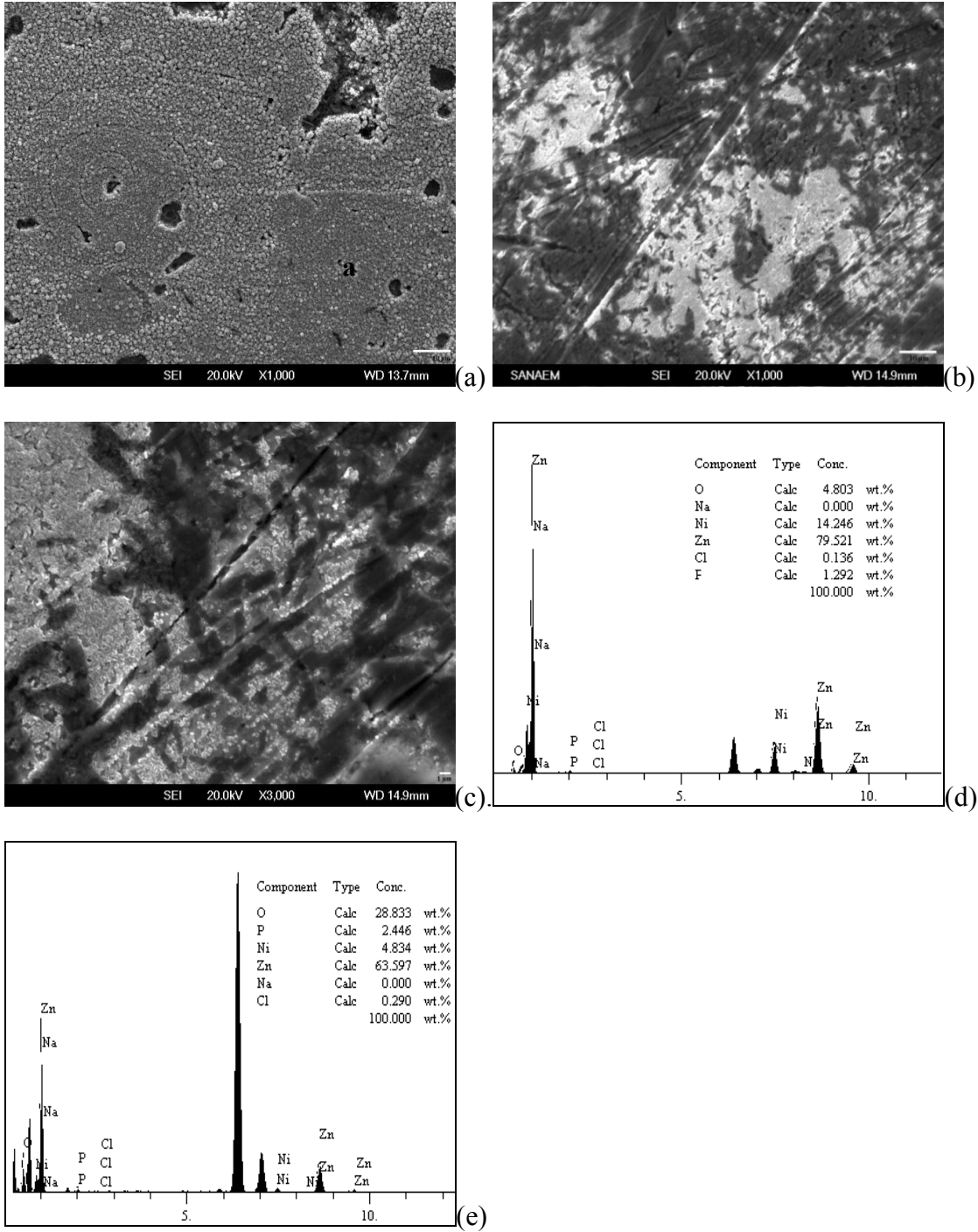


Şekil 4.10 Korozyon olayının gerçekleştiği alaşım yüzeyinin şematik gösterimi ve elektronik devre eşdeğeri

Empedansta elde edilen veriler elektrokimyasal empedans spektroskopisi model devresine tamamen uyum gösterilerek hesaplanmıştır. Hesaplanan değerler Çizelge 4.4’de verilmiştir. Buna göre R_s : besiyerinin direncini, R_p por direncini (pasif tabaka/biofilm), R_{ct} yük transfer direncini göstermektedir. CPE sabit faz elementi olup, Q_{CPE} ve Q_{dl} sırasıyla heterojen tabaka ve çift tabakayı belirtmektedir. CPE yüzeyde oluşan mikroskopik pürüzlükler için kullanılmaktadır (Chang et al. 2009). R_{ct} , korozyon değerini belirten önemli bir parametredir (Yuan et al. 2002). Çizelge değerlendirildiğinde açıkça bakteri içeren besiyeri ortamının R_{ct} değeri steril besiyeri ortamından daha büyüktür. Bu durumda bakterinin varlığında korozyon kinetiğinin arttığını göstermektedir. R_p değeri besiyerinde $12,59k \Omega \text{ cm}^2$ iken bakteri inokülasyonundan sonra değer $31,19k \Omega \text{ cm}^2$ olarak bulunmuştur. Belli bir zaman sonra R_p değerindeki artma belkide biyofilm tabakasının poröz yapısının artmasından kaynaklanabilmektedir. Yüzeyde bakteri inokülasyonu ile birlikte Q_{CPE} değerinin en düşük seviyeye ulaşması bize alaşım yüzeyindeki bozulmayı ve böylece alaşımın çözünmesinin arttığını göstermektedir (Yuan and Pehkonen 2007). Bu duruma ilaveten R_s değeri bize *A. eucrenophila* bakterisinin Ni-Zn yüzeyinden oluşan oksit tabakanın yapısını etkilediği ve böylece bu tabakanın daha koruyucu özelliğinin azaldığı ve R_s değerinin de arttığını göstermektedir.

Çizelge 4.4 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Zn | Ni-Zn+A.e |
| R_s, Ω | 542,2 | 578,8 |
| $R_p, k \Omega \text{ cm}^2$ | 12,59 | 31,19 |
| $R_{ct}, k \Omega \text{ cm}^2$ | 11,87 | 15,98 |
| $Q_{CPE} \times 10^{-4}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 15,46 | 7,19 |
| η | 0,77 | 0,87 |
| $Q_{dl} \times 10^{-4}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 2,78 | 10,68 |
| η | 0,92 | 0,9 |



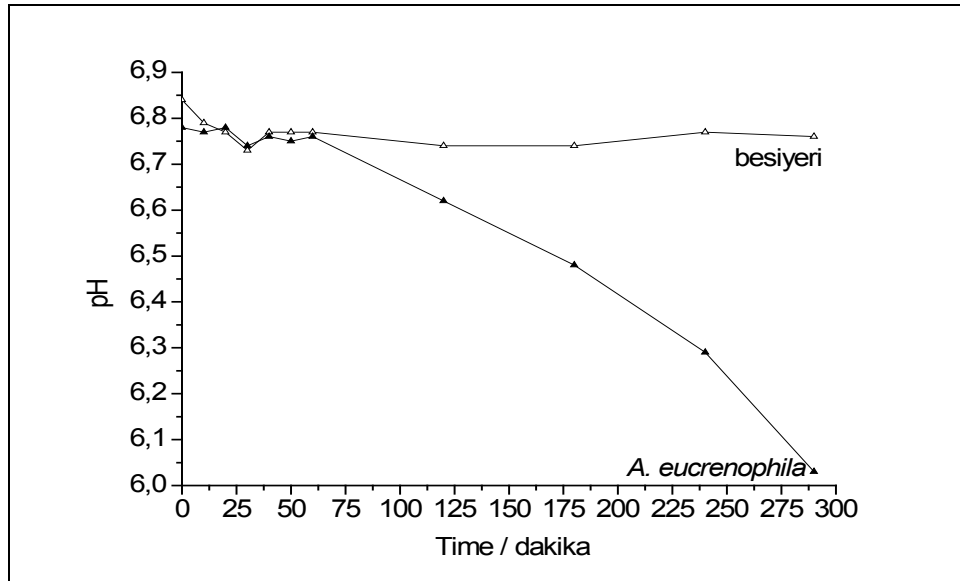
Şekil 4.11 Steril besiyeri ve *A. eucrenophila* içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Zn alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografi, d, e, EDS spektrumu

Şekil 4.11 (a)'da Ni-Zn alaşım ile kaplanmış diskin tüm yüzeyinde besiyerinden kaynaklı oluşan oksit tabakası görülmektedir. Bakteri inokülasyonundan sonra x1000 büyütmede alınan mikrograf Şekil 4.11 (b)'de görülmektedir. Mikrografta geniş bir alana yayılmış ve koyu olan bölgeler mikrobiyal korozyon gözlemlenen bölgelerdir. Bu alanlarda yoğun

çatlak ve çukurcuklar da görülmüştür. Şekil 4.11 (c)'de x3000'de alınan mikrografta ise çubuk şeklinde bakteri ve etkili çatlaklar daha rahat bir şekilde görülmektedir.

SEM çalışmasında EDS analizleri de yapılmıştır. Şekil 4.11 (d) steril besiyerinin (e) ise bakteri inokülasyonundan sonra yüzeydeki elementel değişim görülmektedir. Buna göre besiyerinde oksit oranı %4,8 iken bu oran bakteri inokülasyonundan sonra %28,8'e ulaşmıştır.

pH çalışması için Ni-Zn alaşımı ile kaplanmış diskler elektrokimyasal deneyler ile aynı şartlara sahip ön hazırlık safhasından geçerek, 5 saat boyunca içinde buldukları besiyerinin pH'ı takip edilerek yapılmıştır. Bu çalışmaya göre her iki ortamın başlangıçtaki pH değeri yaklaşık 6,8 iken bu değer steril besiyerinde 5 saat boyunca değişmeden kalmıştır. Hâlbuki bakteri içeren besiyeri ortamında 5 saat sonunda pH değeri 6 değerine kadar düşmüştür (Şekil 4.12).



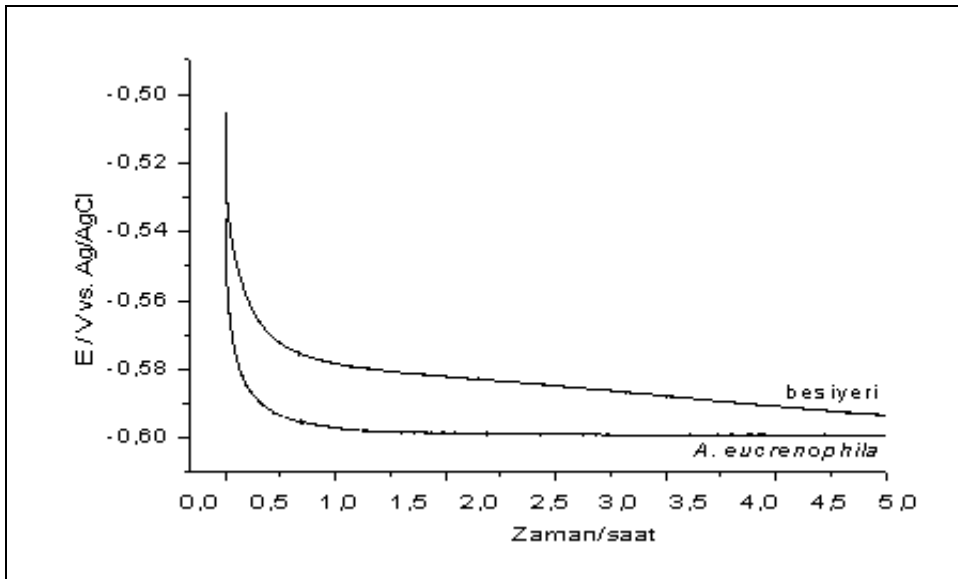
Şekil 4.12 Ni-Zn alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi

4.5.2. Ni-Cu alaşımına *Aeromonas eucrenophila* bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin elektrokimyasal yontemlerle belirlenmesi

Ni-Cu alaşımına *A. eucrenophila* bakterisinin neden olduğu ktle kaybının tespiti için öncelikle steril besiyeri içerisinde bulunan Ni-Cu alaşımının ktle kaybı 2,12 μg olarak bulunmuştur. Besiyerine bakteri inoküle edildikten sonra ise ktle kaybı 2,96 μg 'a ulaşmıştır (şekil 4.13).

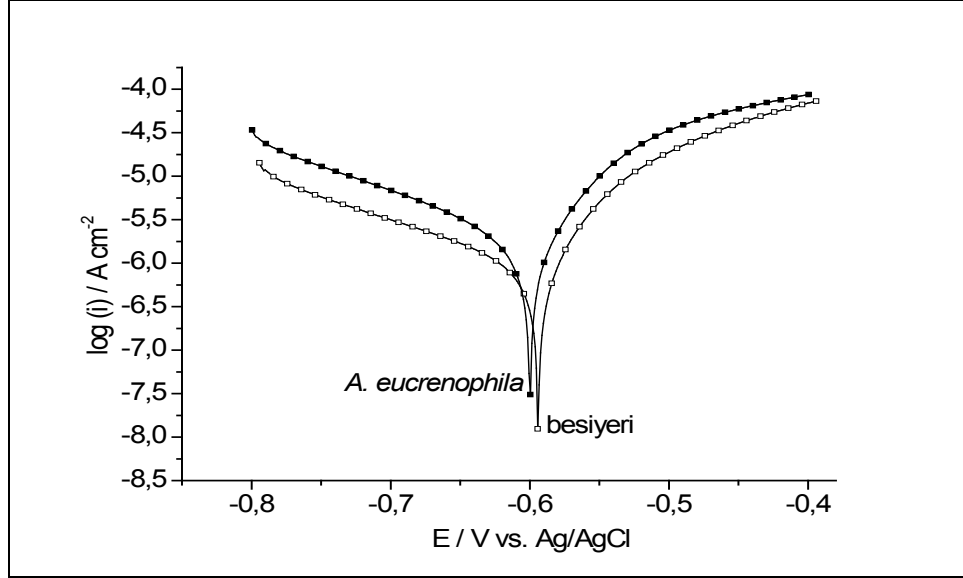


şekil 4.13 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle ktle kaybı



şekil 4.14 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim

Şekil 4.14'de Ni-Cu alaşımına *A. eucrenophila* bakterisinin E_{OCP} değeri verilmiştir. Buna göre açık devre potansiyeli steril besiyerinde -0,59 V iken bakteri inokülasyonundan sonra değer -0,60 V'a ulaşmıştır.



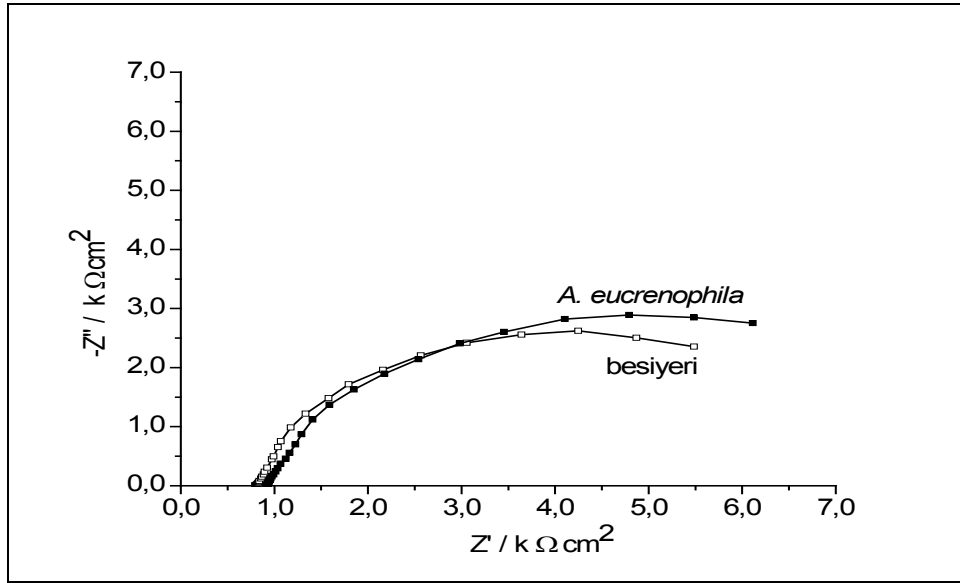
Şekil 4.15 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında polarizasyon eğrileri

Çizelge 4.5 Ni-Cu alaşımı için Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|--------------------------------------|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Cu | Ni-Cu+A.e |
| E_{kor} V (vs. Ag/AgCl) | -0,59 | -0,60 |
| i_{kor} μA | 0,59 | 0,77 |
| I_{kor} ($\mu A/cm^2$) | 2,89 | 3,77 |
| Anodik Tafel eğrisi β_a V/dec | 0,08 | 0,06 |
| Katodik Tafel eğrisi β_c V/dec | 0,27 | 0,17 |
| R_p Ωcm^2 | 93247 | 55615 |

Ni-Cu alaşımına *A. eucrenophila* bakterisinin korozyon etkisine bakıldığında öncelikle steril besiyerinin E_{kor} değeri -0,59 V iken bakteri inokülasyonundan sonra E_{kor} değerinin daha katodik tarafa doğru kaydığı gözlemlenmiştir; -0,60 V. E_{kor} değeri ile paralel olarak hem i_{kor} hem de I_{kor} değerlerinin de bakterinin etkisi ile arttığı görülmektedir. Akım ve

akım yoğunluğunun artması bakterinin etkisi ile korozyonun da arttığını göstermektedir (Çizelge 4.5, Şekil 4.15).



Şekil 4.16 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri

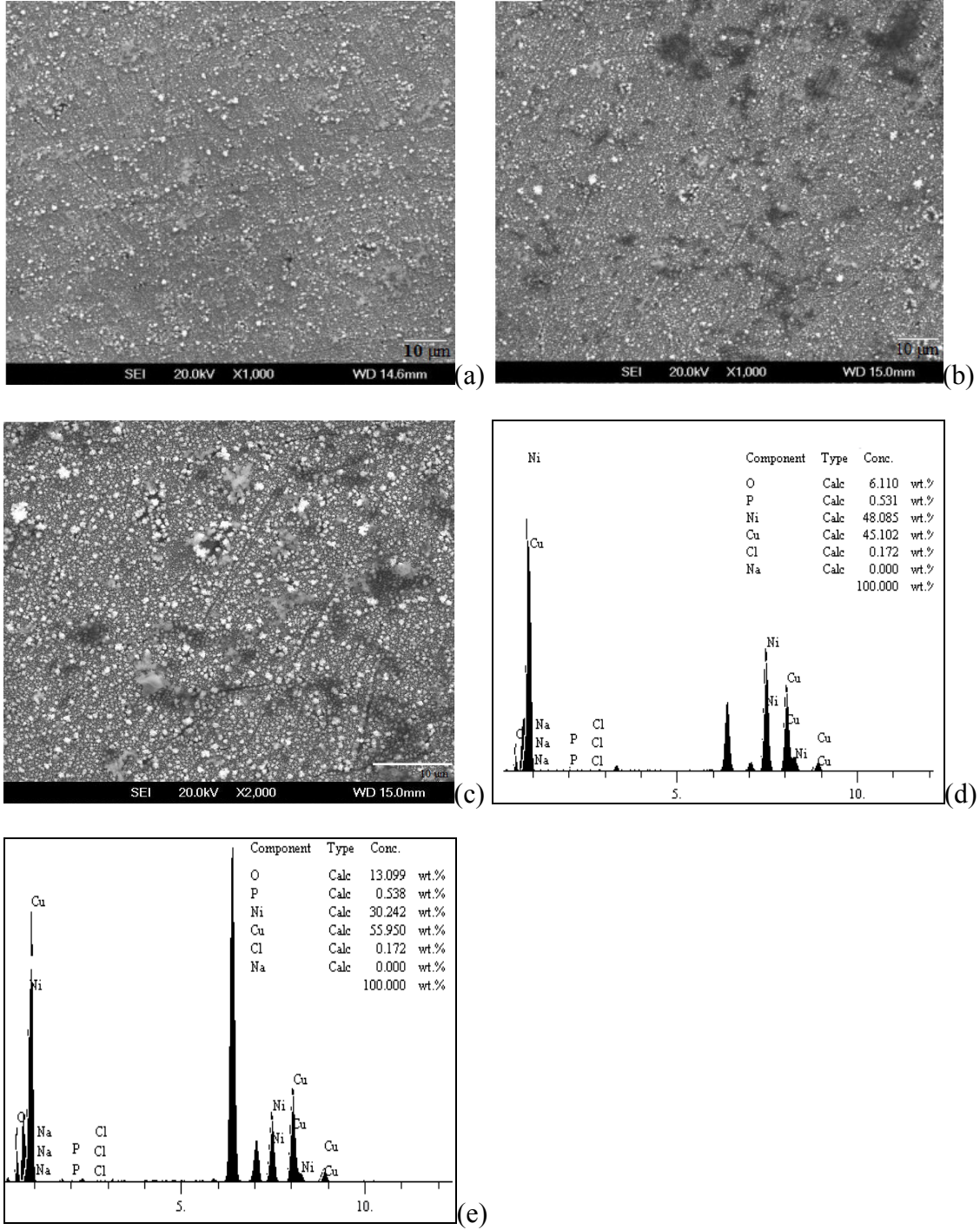
Şekil 4.16'da EIS çalışması ile elde edilen Nyquist eğrileri ve sonrasında elektronik devre eşdeğeri ile hesaplanan veriler de Çizelge 4.6'da verilmiştir. EIS çalışması ile elde edilen Nyquist eğrilerine göre ise R_p değeri yüzeyde oluşan biofilm tabakasının etkisini göstermektedir ki bu değer steril besiyerinde $0,34 \text{ k } \Omega \text{ cm}^2$ iken bakteri inokülasyonundan sonra bu değer $0,73 \text{ k } \Omega \text{ cm}^2$ 'ye yükselmiştir. Yük transfer direncinde bakterinin varlığında korozyon ürünlerin artmasından kaynaklı bir artış saptanmıştır. Bu duruma paralel olarak Q_{CPE} değerindeki azalma yüzeydeki bozulmayı işaret etmektedir.

Çizelge 4.6 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---|-----------------|---------------------|
| | Ni-Cu | Ni-Cu+A.e |
| R_s, Ω | 3921,2 | 4505.2 |
| $R_p, \text{ k } \Omega \text{ cm}^2$ | 0,34 | 0,73 |
| $R_{ct}, \text{ k } \Omega \text{ cm}^2$ | 0,18 | 40,6 |
| $Q_{CPE} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 58,5 | 46,8 |
| η | 0,73 | 0,71 |
| $Q_{dl} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 31 | 33,9 |
| η | 0,95 | 0,88 |

Ni-Cu alaşımı ile kaplanmış diskler, besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamlarında 5 saat bekletilmiş ve sonrasında SEM ile incelenen yüzeylerin mikrografları Şekil 4.17(a, b, c) gösterilmiştir. Şekil 4.17(a) steril besiyerinde 5 saat bekletilen Ni-Cu alaşımı disk yüzeyini göstermektedir. Yüzeyde NiO ve CuO bileşikleri görülmektedir. Şekil 4.17(b,c)'de ortama bakteri eklenmiş ve 5 saat sonunda yüzeyin görüntüsü çekilmiştir. Bu mikrografta bakterinin oluşturduğu biyofilm tabakasını görmekteyiz. Buna ek olarak bakterinin korozyon etkisi sebebi ile yüzeyde çukurcuk ve çok şiddetli çatlakların oluştuğu görülmektedir.

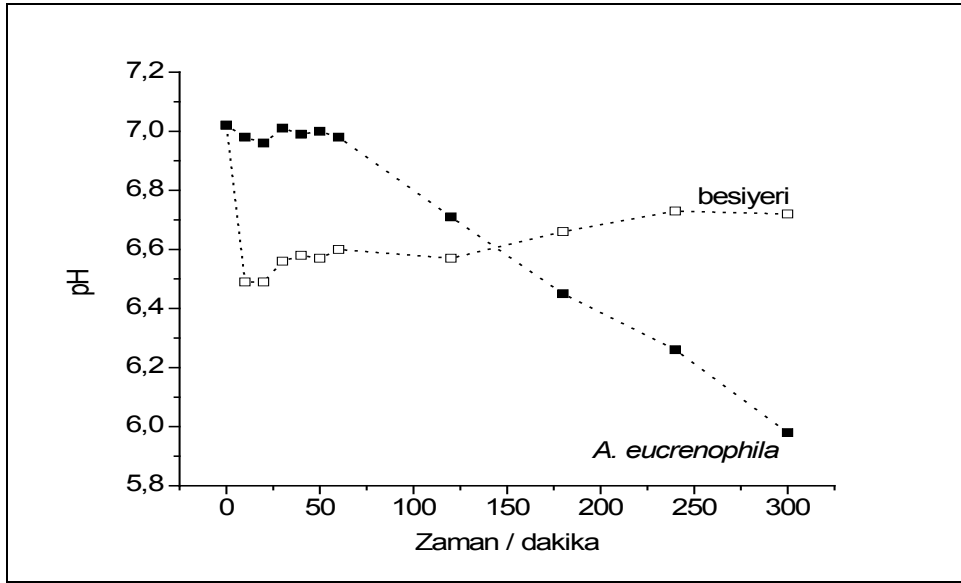
EDS analizine bakıldığında ise alaşım yüzeyinde mevcut oksit yüzdesi besiyeri içeren disk yüzeyinde %6,1 (Şekil 4.17d) iken yüzeyin bakteri ile temasından sonra bu oran %13,1 değerine (Şekil 4.17e) ulaşıldı. Sonuç olarak *A. eucrenophila*'nın aerobik solunum yapması sebebi ile oksit oranında artış gözlenmiştir.



Şekil 4.17 Steril besiyeri ve *A. eucrenophila* içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Cu alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrofotografı, d, e, EDS spektrumu

Şekil 4.18'de Ni-Cu alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamının 5 saat süre ile pH takibi verileri görülmektedir. Buna göre başlangıçta hem besiyeri hem de bakteri inoküle edilmiş besiyerinin pH değeri 7,02 iken

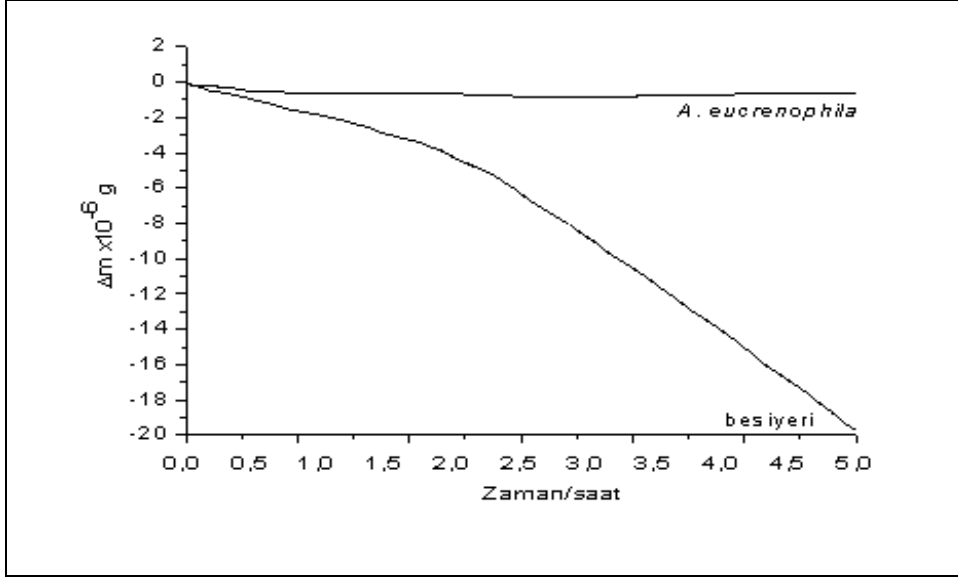
bu değer 5 saat boyunca değişmeden kalmış ve bakterili ortamın pH değeri 5,98 değerine kadar düşmüş olduğu görölmüşür.



Şekil 4.18 Ni-Cu alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi

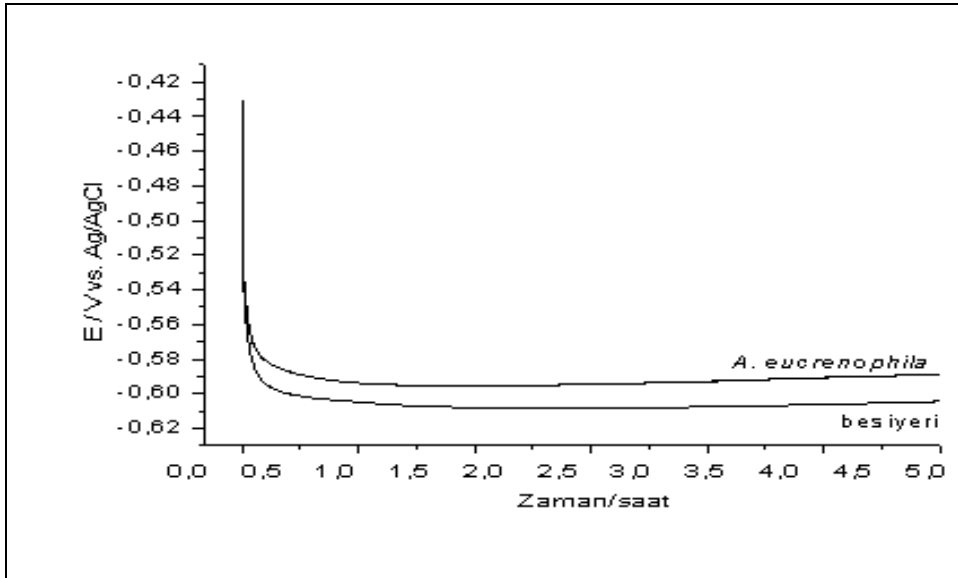
4.5.3. Ni-Co alaşımına *Aeromonas eucrenophila* bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi

A. eucrenophila bakterisinin Ni-Co alaşımında neden olduğu kütle kaybı verileri Şekil 4.19'da verilmiştir. Şekil 4.19'a göre Ni-Co alaşımının steril besiyerinde kütle kaybı 20,47 µg iken bakteri inokülasyonundan sonra kütle kaybının 0,63 µg olduğu görölmüşür.



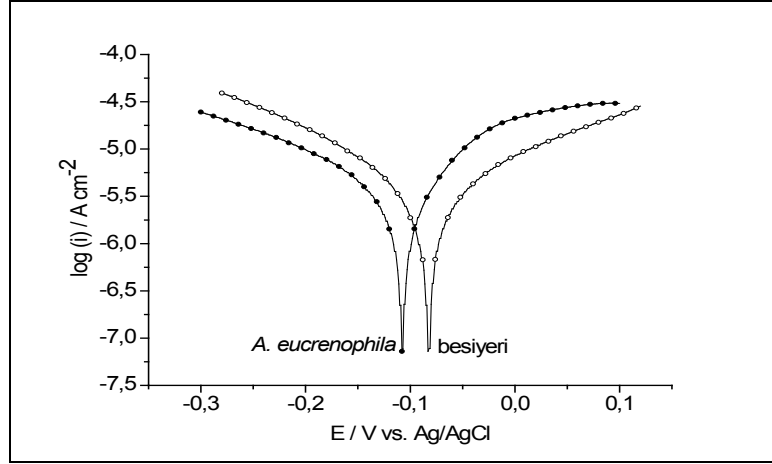
Şekil 4.19 Ni-Co alaşımasının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı

Ni-Co alaşımına korozyon etkisinin belirlenmesi için steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyerlerinde OCP alınmıştır. Buna göre Şekil 4.20'de 5 saat sonunda steril besiyerinin E_{ocp} değeri -0,60 V iken bakteri inokülasyonundan sonra besiyeri ortamının E_{ocp} değeri -0,58 V olup 5 saat sonunda E_{ocp} grafiğinde benzer bir desen elde edilmiştir.



Şekil 4.20 Ni-Co alaşımasının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim

Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında polarizasyon eğrileri incelendiğinde (şekil 4.21) Ni-Co alaşımının öncelikle steril besiyerindeki E_{kor} değerinin oldukça negatif değerde olduğu görölmektedir. *A. eucrenophila* inokülasyonundan sonra ise, E_{kor} değerinin daha pozitif değgerlere kaydığı gözlenmiştir. Bu duruma ilaveten bakterini inoküle edilmesiyle i_{kor} ve I_{kor} değerlerinde de azalma gözlenmiştir (Çizelge 4.7).



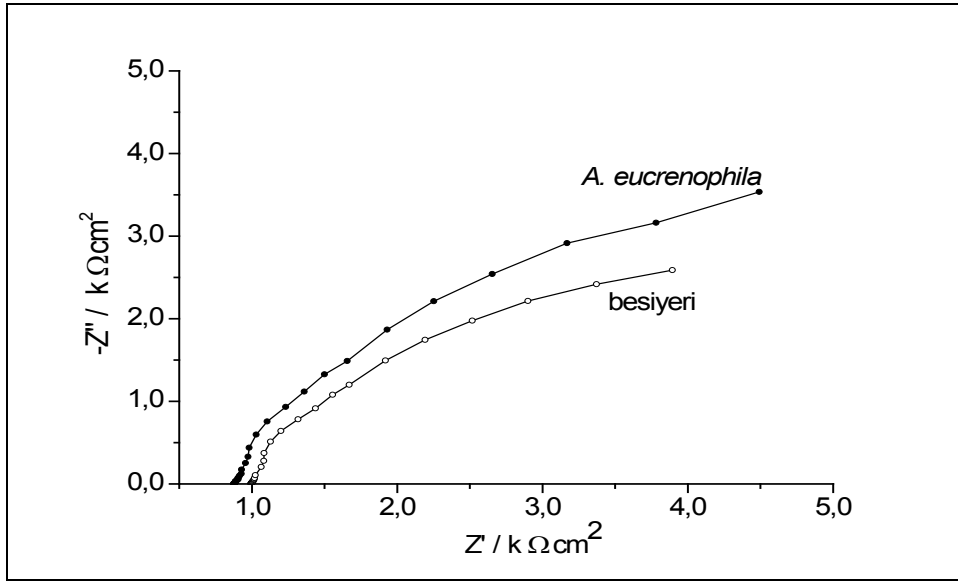
şekil 4.21 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında polarizasyon eğrileri

Çizelge 4.7 Ni-Co alaşımı için Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---------------------------------------|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Co | Ni-Co+A.e |
| E_{kor} V (vs. Ag/AgCl) | -0,08 | -0,11 |
| i_{kor} μ A | 6,4 | 5,3 |
| I_{kor} (μ A/cm ²) | 31,4 | 26,3 |
| Anodik Tafel eğrisi β_a V/dec | 0,40 | 0,44 |
| Katodik Tafel eğrisi β_c V/dec | 0,39 | 0,46 |
| R_p Ω cm ² | 28875,7 | 39121,6 |

EIS çalışmasında elde edilen Nyquist eğrisi şekil 4.22 ve elektronik devre eşdeğerine göre hesaplanan veriler Çizelge 4.8'de verilmiştir. Buna göre kapasitif Nyquist yarım dairesinin

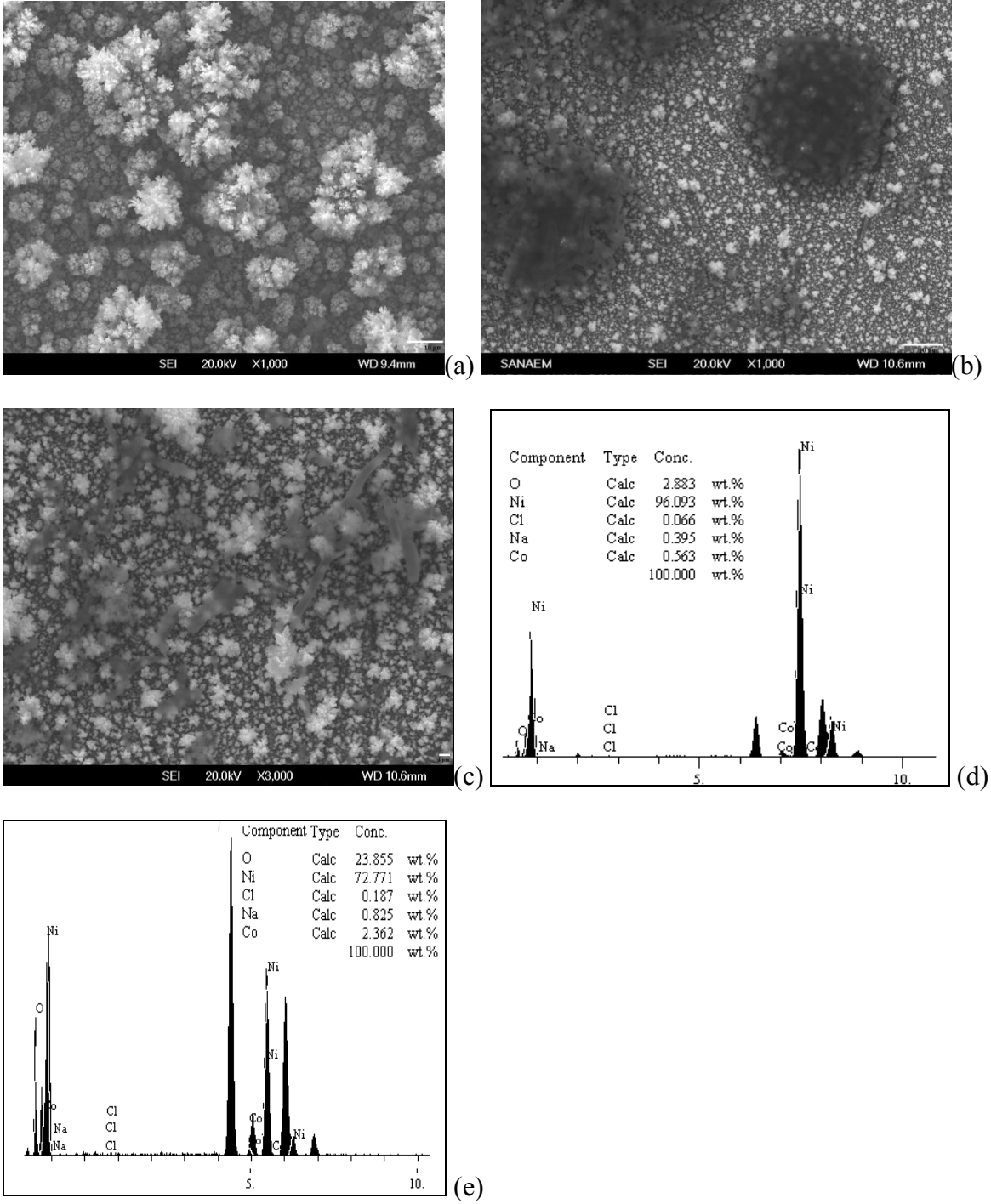
çapı steril besiyerine göre bakteri içeren ortamın kapasitif lupundan daha fazladır. Bakterinin R_p değerini arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 4.22 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri

Çizelge 4.8 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---|-----------------|---------------------|
| | Ni-Co | Ni-Co+A.e |
| R_s, Ω | 1021 | 838,5 |
| $R_p, k \Omega cm^2$ | 1,39 | 9,71 |
| $R_{ct}, k \Omega cm^2$ | 8,00 | 7,6 |
| $Q_{CPE} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} cm^{-2}$ | 25,59 | 3,90 |
| η | 0,79 | 0,68 |
| $Q_{dl} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} cm^{-2}$ | 39,77 | 1,45 |
| η | 0,87 | 0,90 |

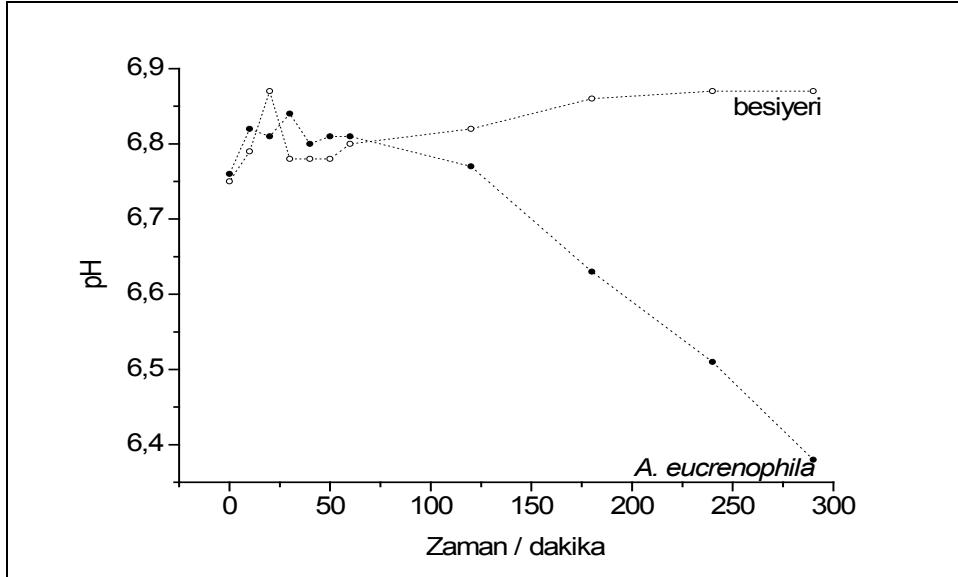


Şekil 4.23 Steril besiyeri ve *A. eucrenophila* içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Co alaşım ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu

Şekil 4.23’de Ni-Co alaşımına *A. eucrenophila* bakterisinin korozyon etkisi SEM analizi ile gösterilmiştir. Şekil 4.23(a)’da besiyerinin içeriğinde bulunan NaCl’den dolayı genel korozyon görülmektedir. Bakteri inoküle edildikten 5 saat sonra az miktarda yüzeye tutunmuş bakteri, yoğun olmayan çukurcuk ve çatlaklar gözlenmiştir (Şekil 4.23 b,c).

EDS analizine bakıldığında ise alaşım yüzeyinde mevcut oksit yüzdesi besiyeri içeren disk yüzeyinde %2,8 (Şekil 4.23d) iken yüzeyin bakteri ile temasından sonra bu oran %23,8 değerine (Şekil 4.23e) ulaşmıştır.

Şekil 4.24’de Ni-Co alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamının 5 saat süre ile pH takibi verileri görülmektedir. Buna göre başlangıçta hem besiyeri hem de bakteri inoküle edilmiş besiyerinin pH değeri yaklaşık 6,8 iken bu değer 5 saat boyunca değişmeden kalmış ve bakterili ortamın pH değeri 6,3 değerine kadar düşmüş olduğu görülmüştür.

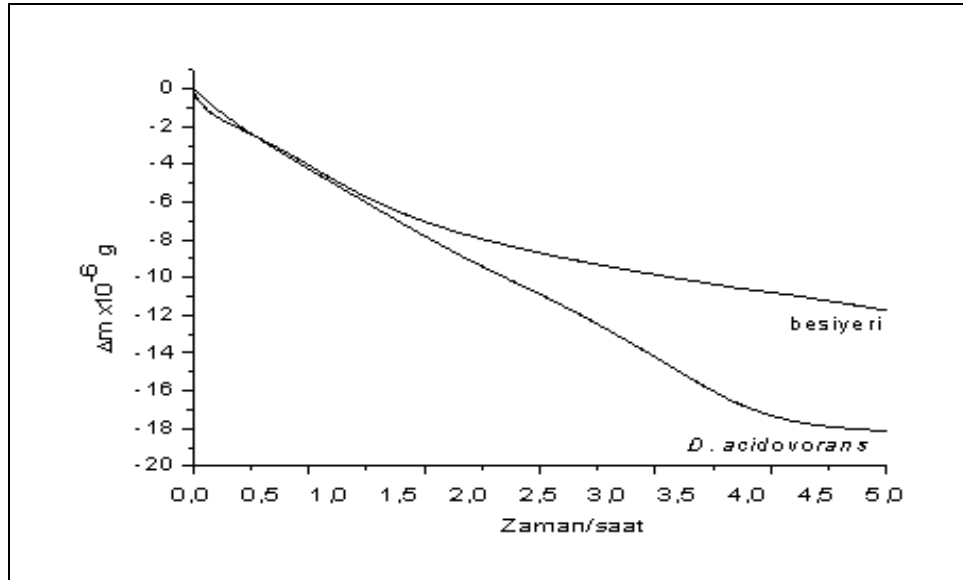


Şekil 4.24 Ni-Co alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi

4.6. Nikel Alaşımlarına *Delftia acidovorans* Bakterisinin Neden Olduğu Mikrobiyal Korozyonun Elektrokimyasal Yöntemler, SEM-EDS Analizi ve pH Değerindeki Değişimle Belirlenmesi

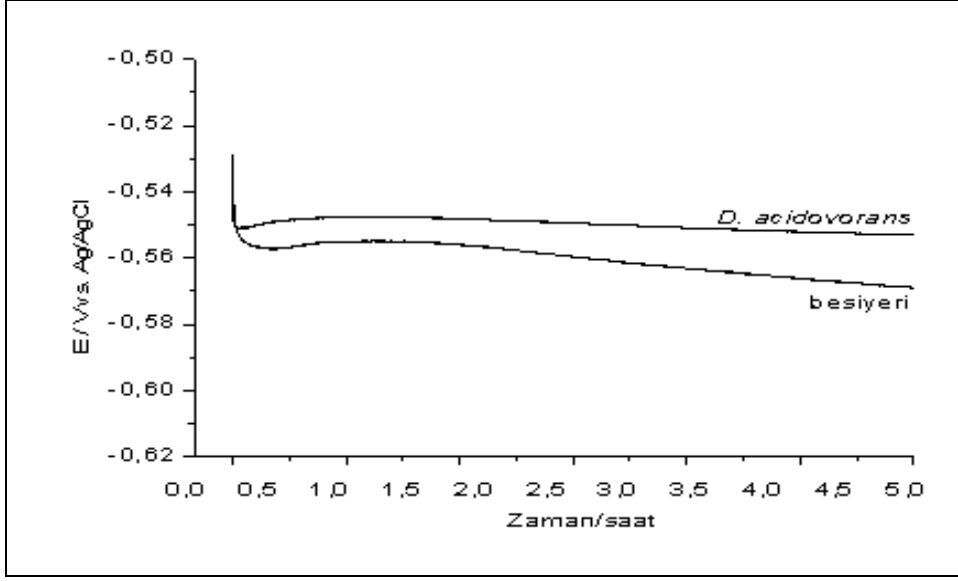
4.6.1. Ni-Zn alaşımına *Delftia acidovorans* Bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi

QCM ile alınan kütle kaybı verileri Şekil 4.25’de gösterilmiştir. Şekle göre steril besiyeri içeren ortamda kütle kaybı 12.9 µg iken *D. acidovorans* içeren besiyeri ortamının kütle kaybı 18.6 µg bulunmuştur.



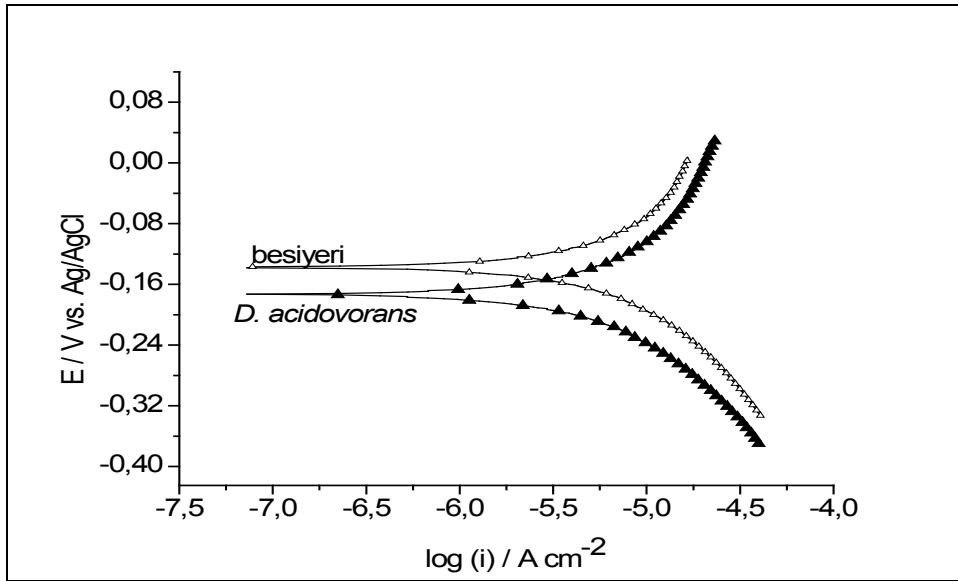
Şekil 4.25 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı

5 saat süre ile takip edilen OCP verileri Şekil 4.26’da görölmektedir. Besiyerinin 5 saatlik E_{ocp} değeri -0,57 V iken bakteri içeren besiyeri ortamının E_{ocp} değeri 5 saat sonunda pozitif doğru bir kayma gözlenmiş ve E_{ocp} değeri -0,55 V olmuştur.



Şekil 4.26 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim

Bakterinin Ni-Zn alaşımına korozyon etkisinin incelenmesi için steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyerinin korozyon potansiyel değerlerine bakıldığında; 5 saat sonunda bakteri E_{kor} değerini yaklaşık ~ 300 mV negatife kaydırmıştır (Çizelge 4.9). Beş saatlik deney sonunda korozyon akımı ve korozyon akım yoğunluğu verilerine bakıldığında ise besiyerine göre bakterinin hem I_{kor} hem de i_{kor} değerlerinin yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 4.27 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının 5 saat süresince polarizasyon eğrileri

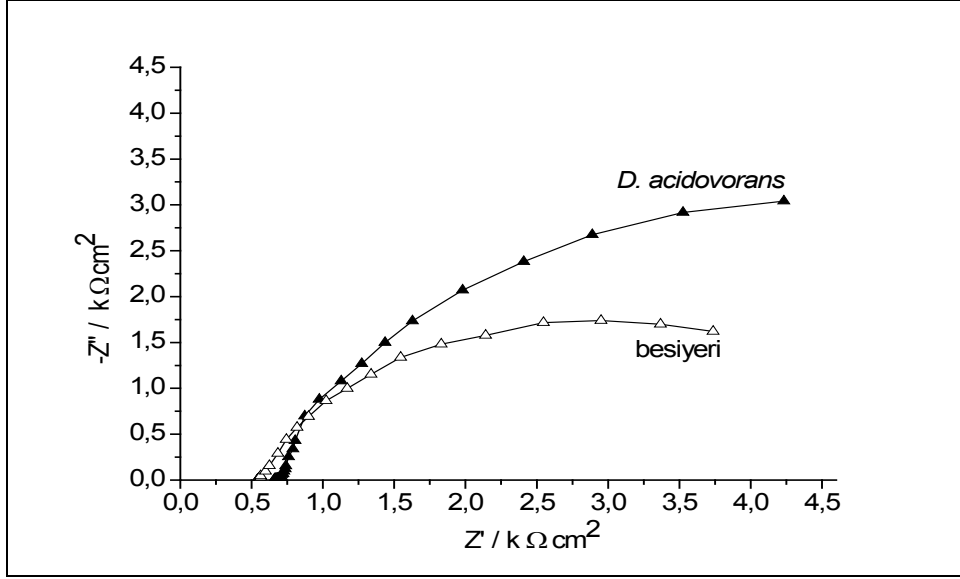
Çizelge 4.9 Steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının polarizasyon eğrilerinden hesaplanmış korozyon parametreleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---------------------------------------|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Zn | Ni-Zn+D.a |
| E_{kor} V (vs. Ag/AgCl) | -0,14 | -0,17 |
| i_{kor} μ A | 5,6 | 6,02 |
| I_{kor} (μ A/cm ²) | 27,5 | 30,4 |
| Anodik Tafel eğrisi β_a V/dec | 0,47 | 0,57 |
| Katodik Tafel eğrisi β_c V/dec | 0,31 | 0,37 |
| R_p Ω cm ² | 6307 | 33535 |

Şekil 4.28 Ni-Zn alaşımının besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamlarında EIS ve elektronik devre eşdeğerini göstermektedir. Verilere bakıldığında Ni-Zn alaşımının elektronik devre eşdeğerinin çift tabaka (double layer) özellik gösterdiği bulunmuştur. Devreye bakıldığında R_s solusyon direnci, R_p biyofilm direnci, R_{ct} yük transfer direnci Q_{CPE} ve Q_{dl} kapasitör parametreleridir ve Çizelge 5.0'de hesaplanan sayısal değerleri verilmiştir.

R_p değeri: steril besiyerine D. acidovorans inoküle edildikten 5 saat sonra biyofilm direncini göstermekte olup direkt mikrobiyal aktivite ile ilgilidir. Çizelge 5'e bakıldığında R_p değeri steril besiyerinde 0,3 k Ω cm² iken inokülasyondan sonra bu değer arttığı 5 saat sonunda 28,0 k Ω cm² değerine ulaştığı bulunmuştur.

Q_{CPE} değeri metal ya da alaşım yüzeyindeki bozulmayı göstermektedir ve yüzeyin homojenliğinin bozulmasından dolayı artış göstermektedir. Çalışmada bakteri inoküle edildikten 5 saat sonra elde edilen düşük Q_{CPE} değeri alaşım yüzeyinin bozulmaya başladığını ve alaşımın çözünerek korozyona uğradığını göstermektedir.



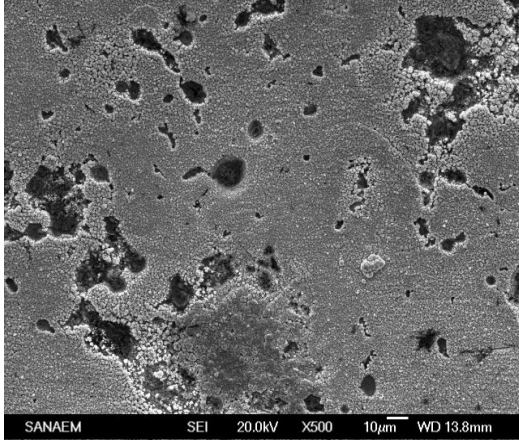
Şekil 4.28 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri

Çizelge 5 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri

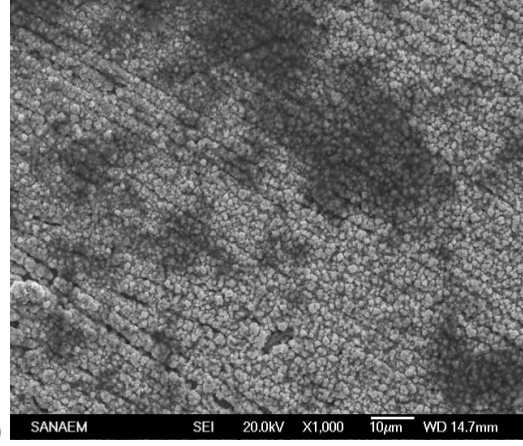
| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Zn | Ni-Zn+D.a |
| R_s, Ω | 2660,8 | 3362,7 |
| $R_p, k \Omega cm^2$ | 0,3 | 28,0 |
| $R_{ct}, k \Omega cm^2$ | 21,2 | 2,7 |
| $Q_{CPE} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} cm^{-2}$ | 14,6 | 124,8 |
| η | 0,75 | 0,85 |
| $Q_{dl} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} cm^{-2}$ | 16,8 | 245 |
| η | 0,8 | 0,85 |

Ni-Zn alaşımı ile kaplanmış besiyeri ve bakteri inkübe edilmiş besiyeri ortamlarında 5 saat bekletilmiş diskler taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiş ve Şekil 4.29 a, b, c'de mikrografları gösterilmiştir. Şekil 4.29a steril besiyerinde 5 saat bekletilen Ni-Zn disk yüzeyini göstermektedir. Yüzeyde besiyerinin içeriği sebebi ile küçük çukurcuklar ve hafif çatlaklar görülmüştür. Şekil 4.29b'de ortama bakteri eklenmiş ve 5 saat sonunda yüzeyin görüntüsü çekilmiştir. Bu mikrografta bakterinin etkisi ile oluşan yoğun çatlaklar ve çukurcuklar görülmektedir. Şekil 4.29c'de bakterinin yüzeye adezyonu ve oluşturmaya başladığı biyofilm parçaları görülmektedir.

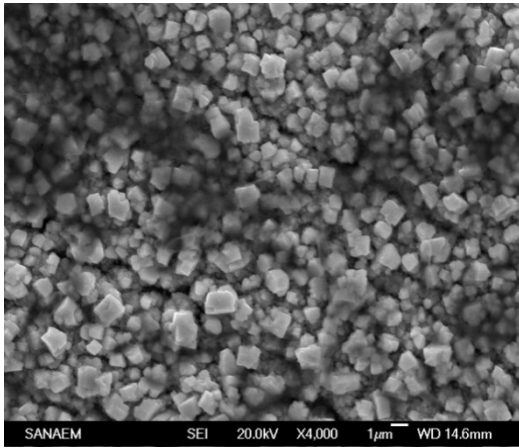
EDS analizine bakıldığında ise alaşım yüzeyinde mevcut oksit yüzdesi besiyeri içeren disk yüzeyinde %4,8 (Şekil 4.29d) iken yüzeyin bakterisi ile temasından sonra bu oran %6,8 değerine (Şekil 4.29e) ulaşmıştır.



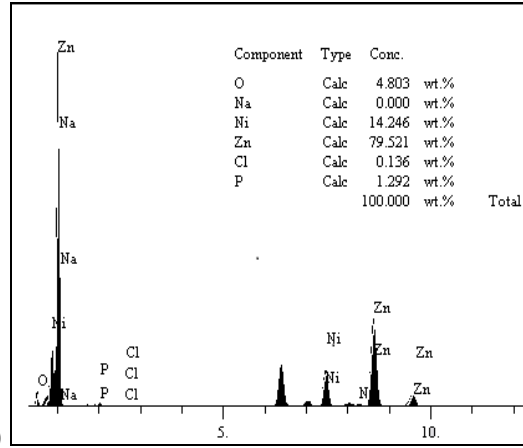
(a)



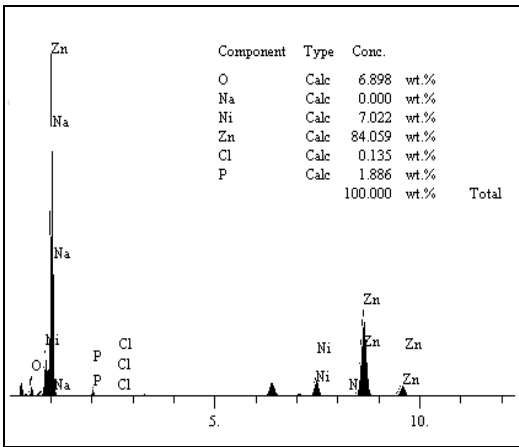
(b)



(c)



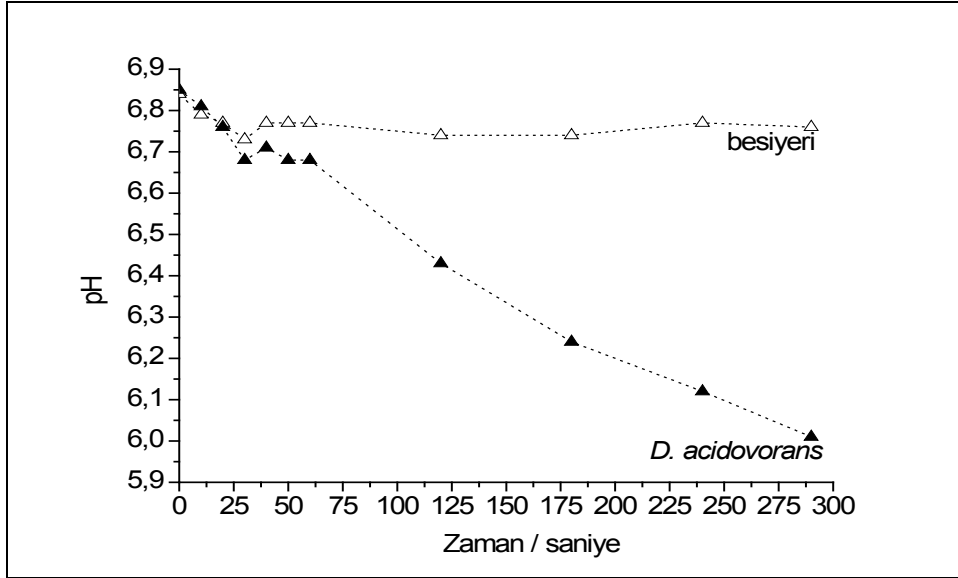
(d)



(e)

Şekil 4.29 Steril besiyeri ve *D. acidovorans* içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Zn alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu

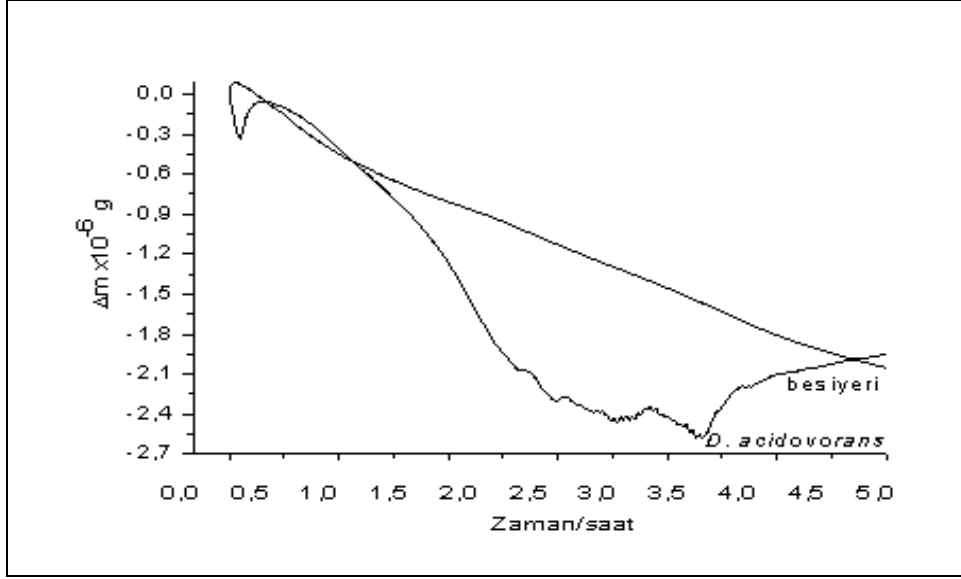
Şekil 4.30'da görüldüğü üzere başlangıçta besiyerinin pH değeri yaklaşık pH 6,84 iken bu değer 5 saat boyunca değişmeden kalmıştır. Fakat bakterili ortamın pH değeri deneyin başında pH 6,85 iken bu değer 5 saatin sonunda pH 6,03 değerine kadar düştüğü görülmüştür.



Şekil 4.30 Ni-Zn alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi

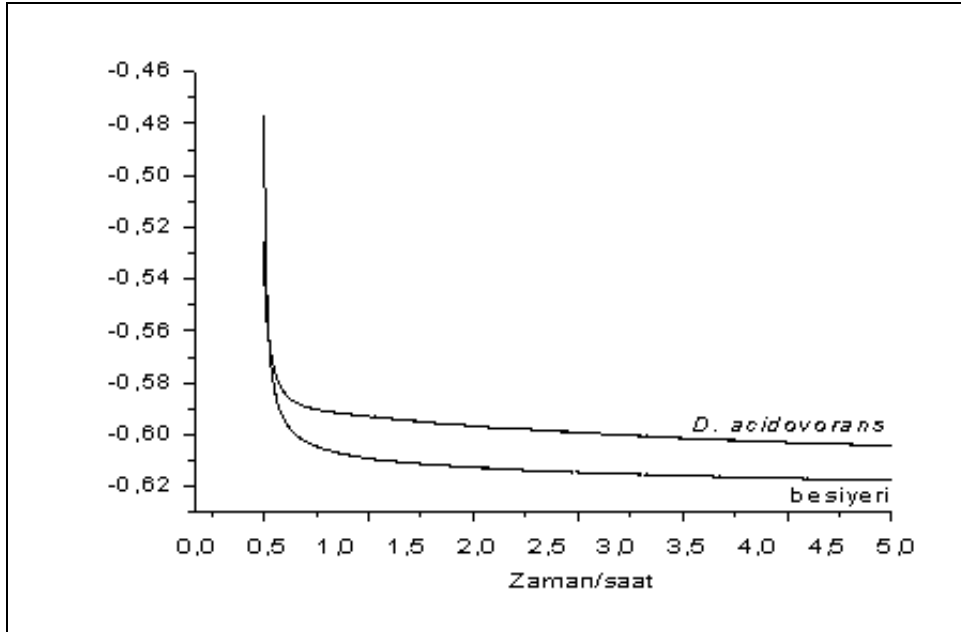
4.6.2. Ni-Cu alaşımına *Delftia acidovorans* bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi

Şekil 4.31, Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında kütle kaybını göstermektedir. 5 saat sonunda kütle kaybı sonuçlarına göre besiyeri içindeki Ni-Cu alaşımının kütle kaybı 2,12 μg 'dır. Bakteri inokülasyonundan sonra hızlı bir kütle kaybı görülmüş ve alaşımın çözünmesinden sonra kütle artmaya başlamış ve deneyin sonunda sabit faza ulaşmıştır (2,01 μg).



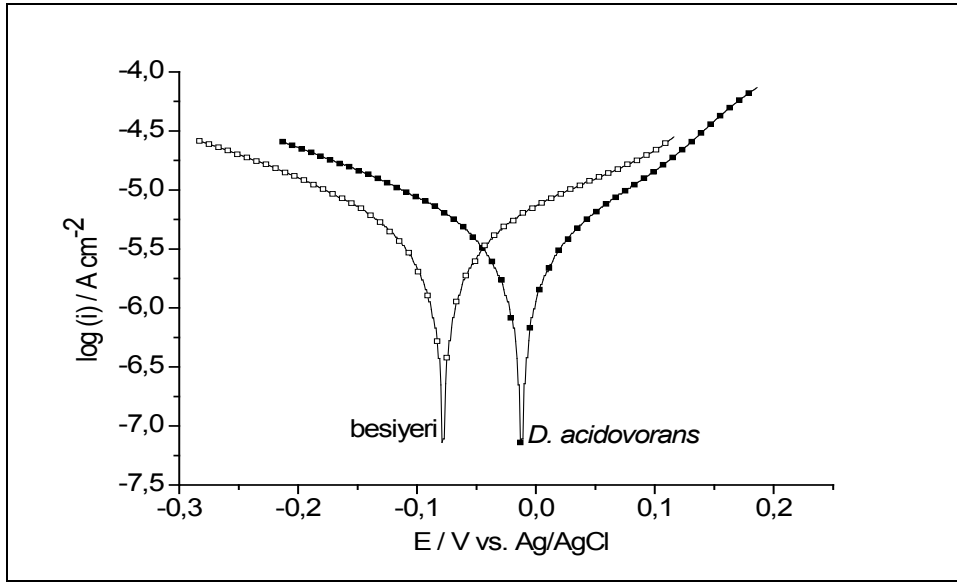
Şekil 4.31 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı

Ni-Cu alaşımına korozyon etkisinin belirlenmesi için steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyerlerinde OCP alınmıştır. Buna göre Şekil 4.32’de 5 saat sonunda steril besiyerinin E_{ocp} değeri -0,61 V iken bakteri inokülasyonundan sonra besiyeri ortamının E_{ocp} değeri -0,60 V olup 5 saat sonunda E_{ocp} grafiğinde benzer bir desen elde edilmiştir.



Şekil 4.32 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim

Şekil 4.33’de Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* içeren besiyeri ortamının polarizasyon eğrileri verilmiştir.



Şekil 4.33 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının 5 saat süresince polarizasyon eğrileri

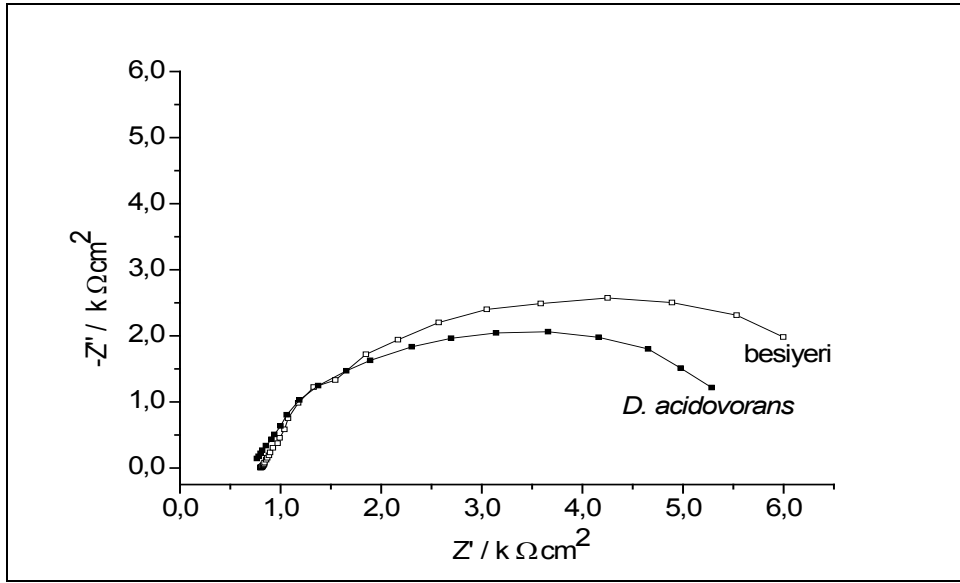
Buna göre besiyeri içindeki Ni-Cu alaşımının korozyon potansiyeli -0,08 V olarak gözlenmiştir. Buna ilaveten, bakteri inokülasyonundan sonra korozyon potansiyeli anodik tarafa doğru kaymıştır: -0,01 V. Elde edilen veriler Çizelge 5.1’de verilmiştir.

Çizelge 5.1 Steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının polarizasyon eğrilerinden hesaplanmış korozyon parametreleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---------------------------------------|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Cu | Ni-Cu+<i>D.a</i> |
| E_{kor} V (vs. Ag/AgCl) | -0,08 | -0,01 |
| i_{kor} μ A | 4,58 | 2,03 |
| I_{kor} (μ A/cm ²) | 22,4 | 14,1 |
| Anodik Tafel eğrisi β_a V/dec | 0,37 | 0,20 |
| Katodik Tafel eğrisi β_c V/dec | 0,44 | 0,25 |
| R_p Ω cm ² | 40684,7 | 51401 |

Bu çizelgeye göre bakteri inokülasyonundan sonra anodik ve katodik Tafel eğri katsayıları düşmüştür. Fakat korozyon akımı ve korozyon akım yoğunluğu bakteri inokülasyonundan azalmıştır.

Şekil 4.34 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *D. Acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrilerini ve Çizelge 5.2 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerlerini göstermektedir. Elektronik devre eşdeğeri R (Q[R (QR)] yapısındadır. Buna göre çift tabaka özellik göstermektedir. Çift tabakanın dış kısmında oksit tabaka/biyofilm tabakası ve iç kısımda kaplama tabakası yer almaktadır.



Şekil 4.34 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri

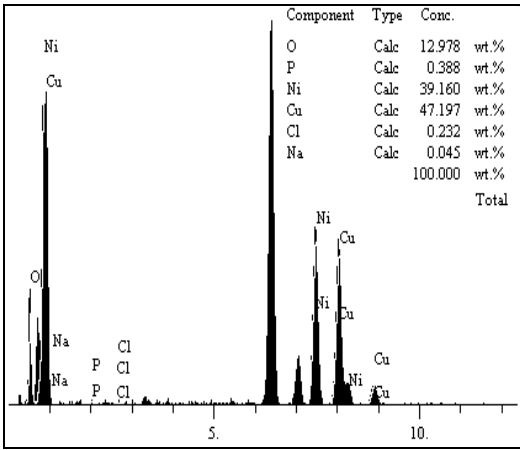
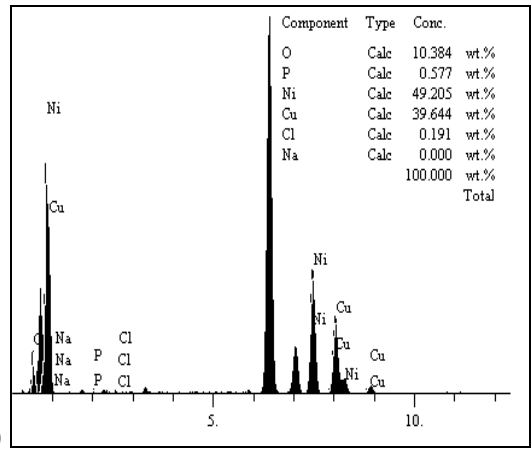
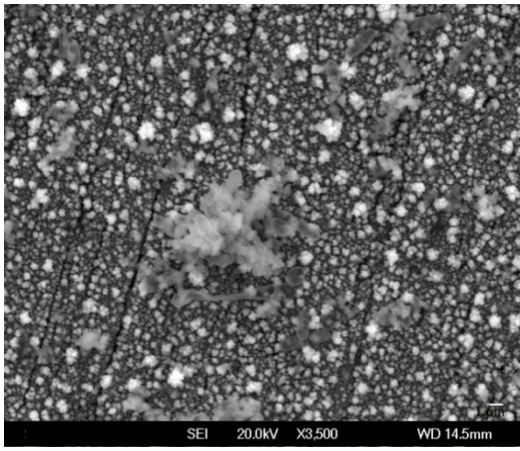
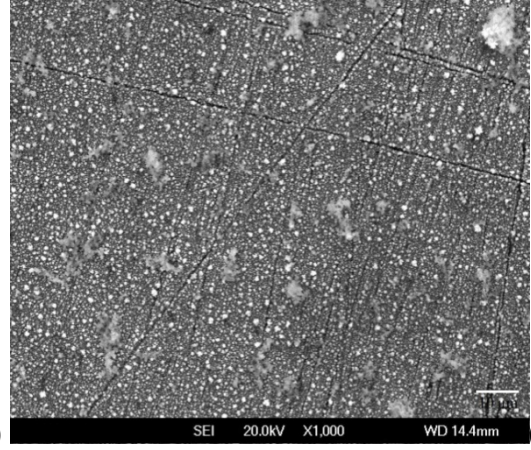
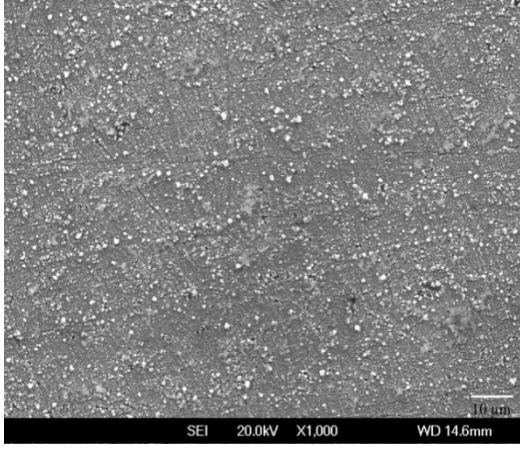
R_p değeri besiyerinde $0,07 \text{ k } \Omega \text{ cm}^2$ iken bakteri inokülasyonundan sonra az bir artış ile $1,03 \text{ k } \Omega \text{ cm}^2$ olmuştur. Çizelge 5.2'de besiyerinin yüksek η_{CPE} değeri yüzeyin bakteri inokülasyonuna kadar hemen hemen homojen kaldığını sonrasında bakteriden kaynaklı yüzeyin bozulması sebebiyle η_{CPE} değeri düşmüştür. Bakterinin etkisi ile düşük R_{ct} değeri de korozyon olayının bakteri kaynaklı olduğunu da göstermiştir.

Çizelge 5.2 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri

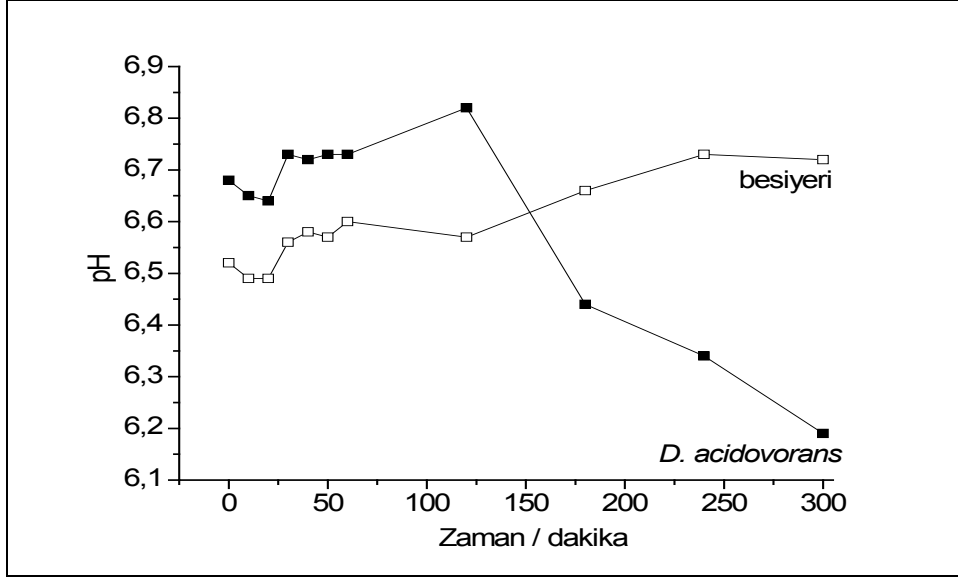
| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Cu | Ni-Cu+<i>D.a</i> |
| R_s, Ω | 797 | 697,5 |
| $R_p, k \Omega \text{ cm}^2$ | 0,07 | 1,03 |
| $R_{ct}, k \Omega \text{ cm}^2$ | 7,10 | 4,38 |
| $Q_{CPE} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 11,9 | 14,09 |
| η | 0,92 | 0,80 |
| $Q_{dl} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 17,78 | 22,2 |
| η | 0,94 | 0,92 |

Şekil 4.35 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve bakteri içeren besiyeri ortamında 5 saat sonunda SEM mikrograflarını içermektedir. Buna göre Şekil 4.35a steril besiyerinin mikrografi olup yüzeydeki oksit tabakası ve küçük çukurcuklar görölmektedir. *D. acidovorans* bakterisinin inokülasyonundan sonra bakteri yüzeye tutunmuş ve yüzeyde oldukça şiddetli çatlaklar oluşmasına sebep olmuştur. Bu mikrograflarda bakterinin oluşturduğu parçalı biyofilm yapısı görölmektedir (Şekil 4.35b,c).

SEM analizin sonunda yapılan EDS analizine göre ise steril besiyeri içindeki Ni-Cu alaşımının oksit yüzdesi %10,38 iken bu değer bakteri içeren besiyeri ortamında %12,9 değerine ulaşmıştır.



Şekil 4.35 Steril besiyeri ve *D. acidovorans* içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Cu alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrofrafı, d, e, EDS spektrumu

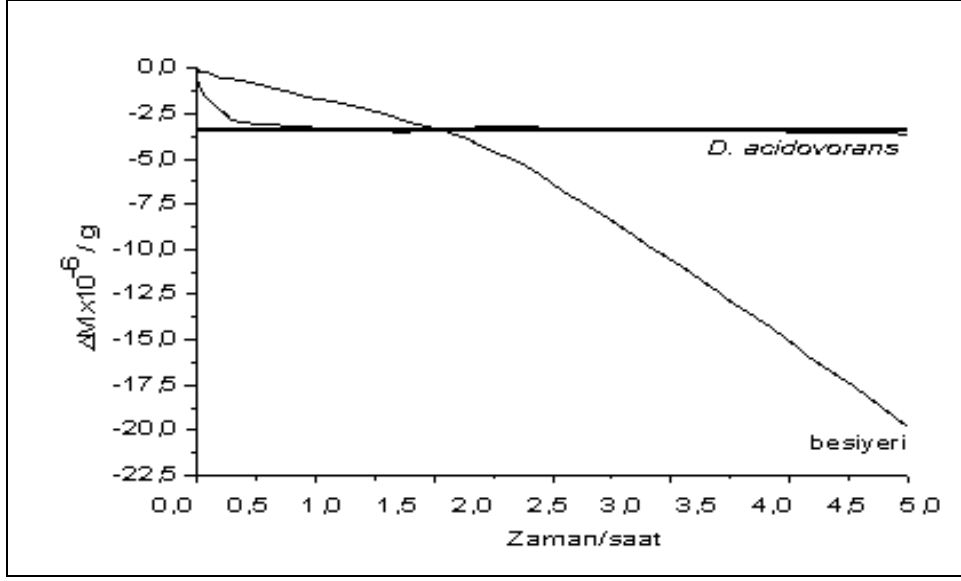


Şekil 4.36 Ni-Cu alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi

Şekil 4.36'da Ni-Cu alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamının 5 saat süre ile pH takibi verileri görülmektedir. Buna göre başlangıçta 6,5 pH değeri deneyin sonunda yaklaşık pH 6,7 değerine ulaşmıştır. Bakteri içeren besiyeri ortamının pH değeri yaklaşık pH 6,8 değerinden deneyin sonunda pH 6,19 değerine düşmüştür.

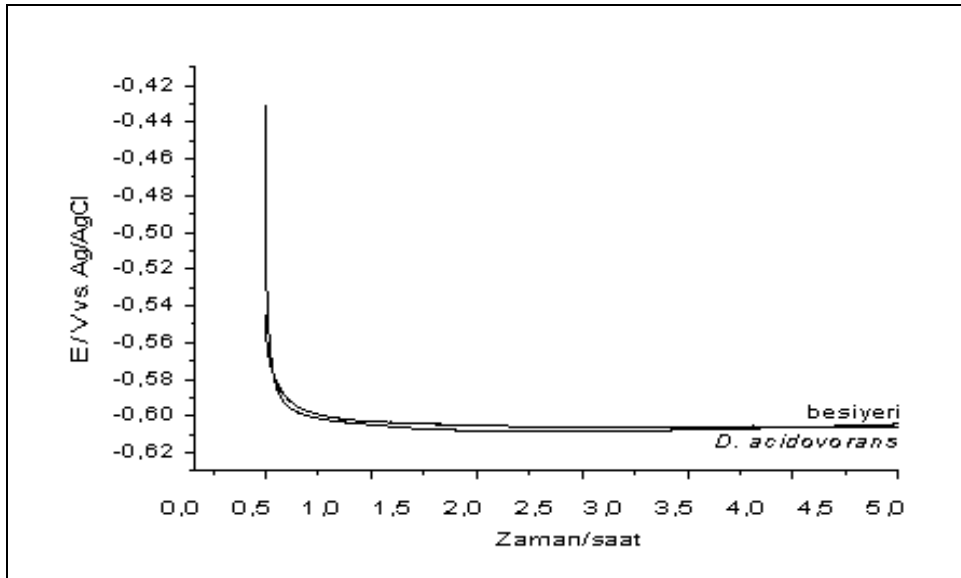
4.6.3. Ni-Co alaşımına *Delftia acidovorans* bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi

Şekil 4.37 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında kütle kaybını göstermektedir. 5 saat sonunda kütle kaybı sonuçlarına göre besiyeri içindeki Ni-Co alaşımının kütle kaybı 19,86 µg iken bakteri içeren besiyeri ortamında Ni-Co alaşımının kütle kaybı 3,61 µg olarak bulunmuştur.



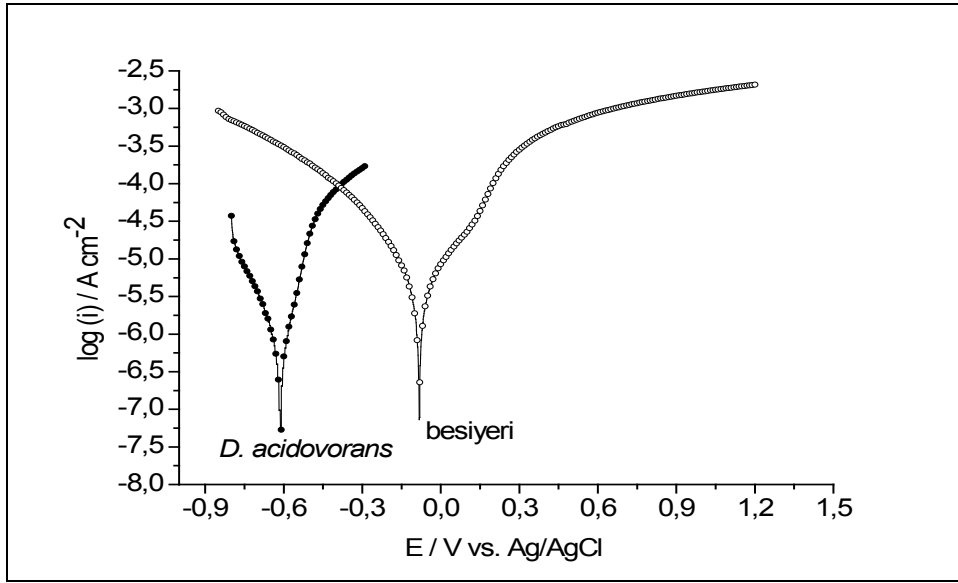
Şekil 4.37 Ni-Co alaşımmının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı

Ni-Cu alaşıma korozyon etkisinin belirlenmesi için steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyerlerinde OCP alınmıştır. Buna göre Şekil 4.38'de 5 saat sonunda steril besiyerinin E_{ocp} değeri -0,604 V iken bakteri inokülasyonundan sonra besiyeri ortamının E_{ocp} değeri -0,606 V olup 5 saat sonunda E_{ocp} grafiğinde benzer bir desen elde edilmiştir.



Şekil 4.38 Ni-Co alaşımmının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim

Şekil 4.39’da Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* içeren besiyeri ortamının polarizasyon eğrileri verilmiştir.



Şekil 4.39 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının 5 saat süresince polarizasyon eğrileri

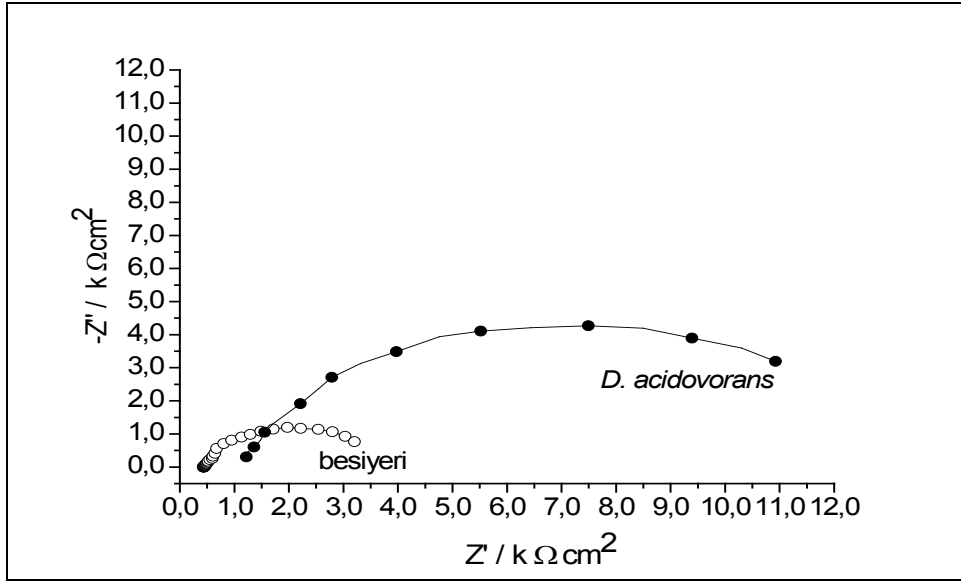
Elde edilen verilere göre steril besiyerinin korozyon potansiyeli -0,08 V iken bu değer bakteri inokülasyonundan sonra çok daha negatif değere -0,61 ulaşmıştır.

Çizelge 5.3 Steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının polarizasyon eğrilerinden hesaplanmış korozyon parametreleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---------------------------------------|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Co | Ni-Co+D.a |
| E_{kor} V (vs. Ag/AgCl) | -0,08 | -0,61 |
| i_{kor} μ A | 0,64 | 0,61 |
| I_{kor} (μ A/cm ²) | 3,14 | 3,01 |
| Anodik Tafel eğrisi β_a V/dec | 0,40 | 0,10 |
| Katodik Tafel eğrisi β_c V/dec | 0,39 | 0,22 |
| R_p Ω cm ² | 28875,7 | 110789 |

Şekil 4.40 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrilerini ve Çizelge 5.4 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *D.*

acidovorans inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerlerini göstermektedir.



Şekil 4.40 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri

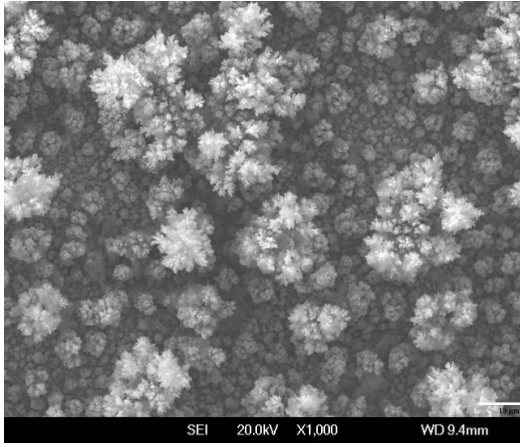
Her iki ortam için R_s değerleri yakın değerler olarak bulunmuştur. R_p değerinin inokülasyondan sonra steril besiyerine göre oldukça arttığı görülmektedir. Bu duruma ilaveten R_{ct} değerinin bakteri inokülasyonundan sonra azaldığı görülmüştür.

Çizelge 5.4 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *D. acidovorans* inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri

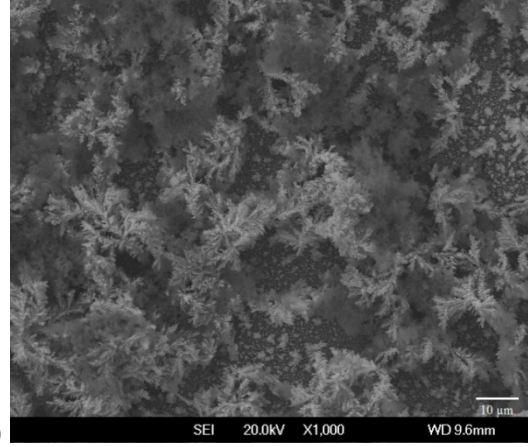
| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---|-----------------|---------------------|
| | Ni-Co | Ni-Co+ <i>D.a</i> |
| R_s, Ω | 1021 | 1144,2 |
| $R_p, k \Omega cm^2$ | 4,51 | 8,48 |
| $R_{ct}, k \Omega cm^2$ | 26,1 | 3,91 |
| $Q_{CPE} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} cm^{-2}$ | 3,91 | 6,15 |
| η | 0,78 | 0,84 |
| $Q_{dl} \times 10^{-4}, \Omega^{-1} cm^{-2}$ | 2,69 | 2,51 |
| η | 0.91 | 0.77 |

Şekil 4.41 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve bakteri içeren besiyeri ortamında 5 saat sonunda SEM mikrograflarını içermektedir. Buna göre Şekil 4.41a steril besiyerinin mikrografi olup yüzeydeki oksit tabakası görülmektedir. *D. acidovorans* bakterisinin inokülasyonundan sonra bakteri yüzeye tutunmuş ve yüzeyde bakterinin oluşturduğu yoğun biyofilm yapısı görülmektedir (Şekil 4.41 b,c).

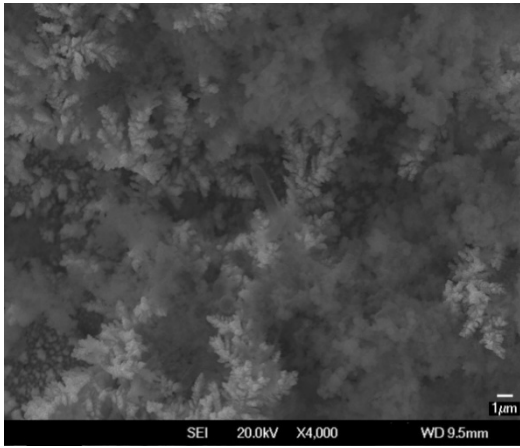
SEM analizin sonunda yapılan EDS analizine göre ise steril besiyeri içindeki Ni-Cu alaşımının oksit yüzdesi %2,88 iken bu değer bakteri içeren besiyeri ortamında %30,3 değerine ulaşmıştır.



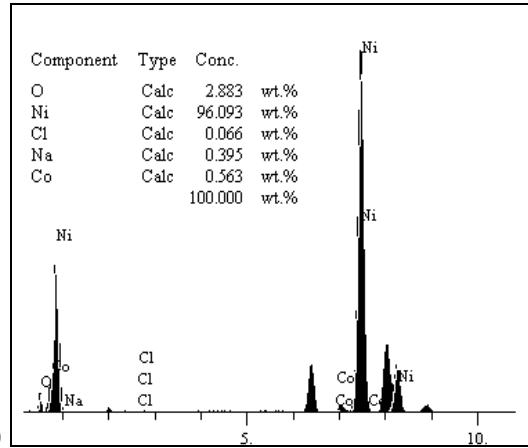
(a)



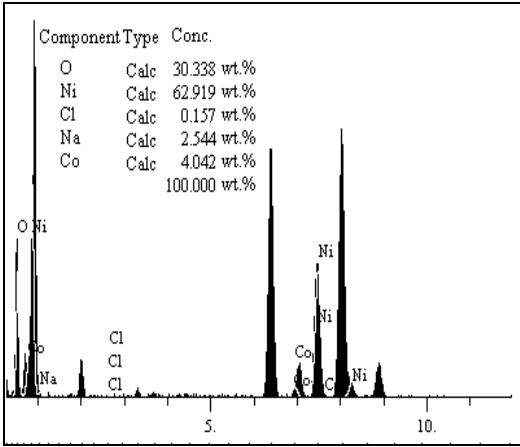
(b)



(c)

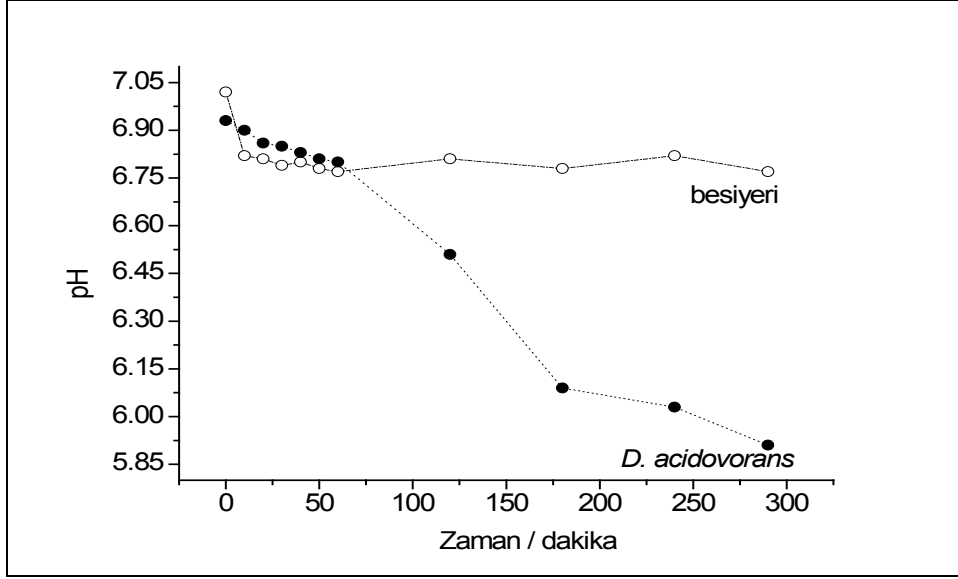


(d)



(e)

Şekil 4.41 Steril besiyeri ve *D. acidovorans* içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Co alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrosafı, d, e, EDS spektrumu



Şekil 4.42 Ni-Co alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi

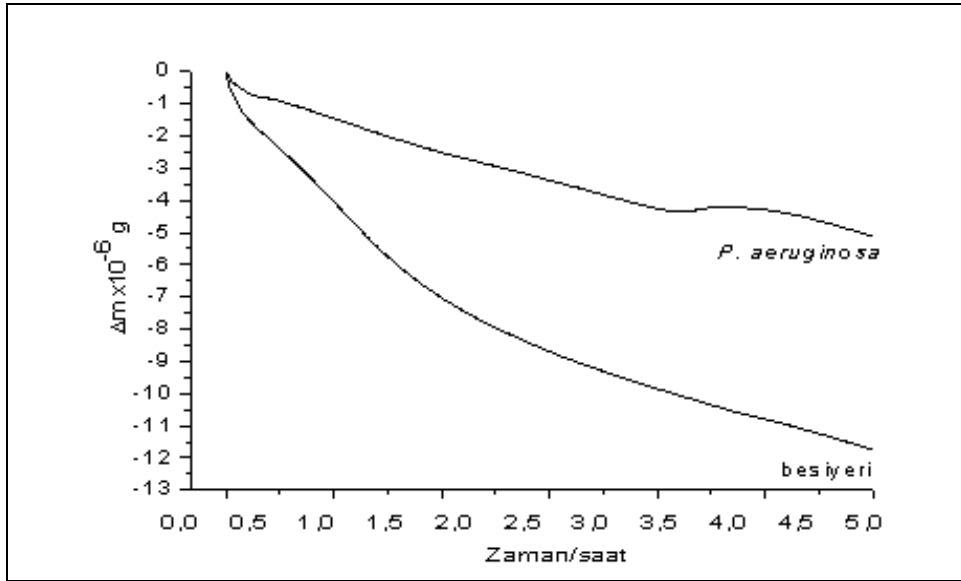
Şekil 4.42’de Ni-Co alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamının 5 saat süre ile pH takibiverileri görülmektedir. Buna göre steril besiyerinin pH değeri başlangıçta 7 pH değerinde iken deneyin sonunda yaklaşık pH 6,8 değerine ulaşmış ve sonuçta pH değerinde önemli bir değişim kaydedilmemiştir. Bakteri içeren besiyeri ortamının ise pH değeri yaklaşık pH 6,93 değerinden deneyin sonunda pH 5,91 değerine düşmüştür.

4.7. Nikel Alaşımlarına *Pseudomonas aeruginosa* Bakterisinin Neden Olduğu Mikrobiyal Korozyonun Elektrokimyasal Yöntemler, SEM-EDS Analizi ve pH Değerindeki Değişimle Belirlenmesi

4.7.1. Ni-Zn alaşımına *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi

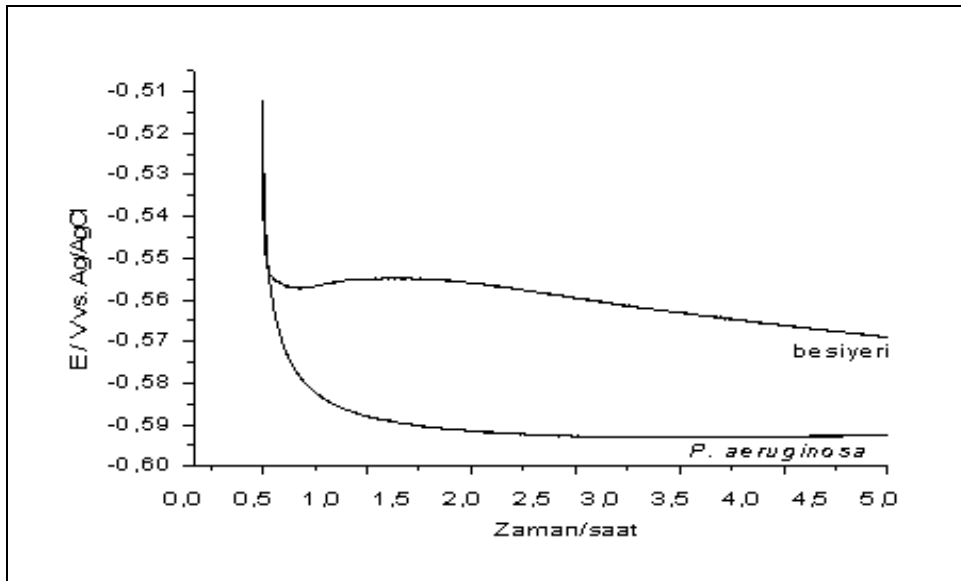
QCM çalışmaları ile elde edilen kütle kaybı değerleri Şekil 4.43’de verilmiştir. Şekil 4.43’de görüldüğü üzere Ni-Zn alaşımının steril besiyeri içinde kütle kaybı 12,12 µg iken *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyerinde kütle kaybı 12,10 µg bulunmuştur. Bakterinin

etkisi ile gözlemlenen kütle kaybı farkı 5,27 μg olup, bu durumda bize bakterinin Ni-Zn alaşımına korozyon etkisinin kütle kaybı değerini göstermektedir.



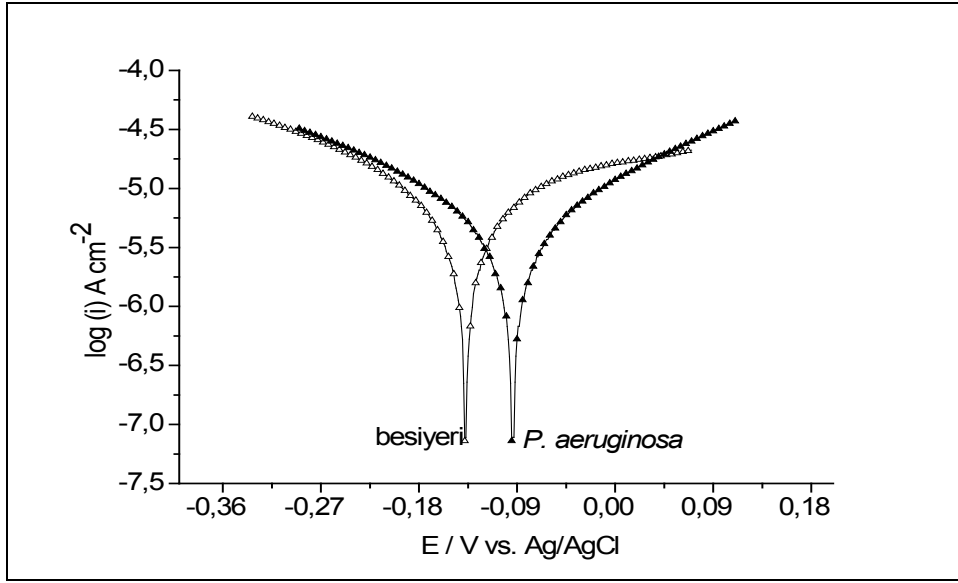
Şekil 4.43 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı

5 saat süre ile takip edilen OCP verileri Şekil 4.44'de görülmektedir. Besiyerinin 5 saatlik E_{ocp} değeri -0,56 V iken bakteri içeren besiyeri ortamının E_{ocp} değeri 5 saat sonunda negatifte doğru bir kayma gözlenmiş ve E_{ocp} değeri -0,59 V olmuştur.



Şekil 4.44 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim

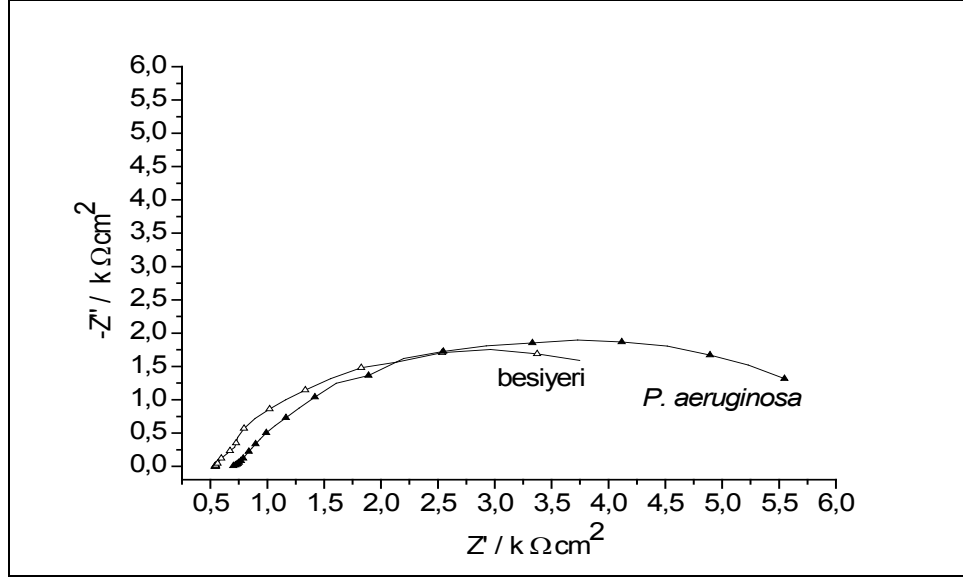
Bakterinin Ni-Zn alaşımına korozyon etkisinin incelenmesi için steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyerinin korozyon potansiyel değerlerine bakıldığında; 5 saat sonunda bakteri E_{kor} değerinin anodik tarafa doğru kaydırmiştır (izelge 5.5). Beş saatlik deney sonunda korozyon akımı ve korozyon akım yoğunluğu verilerine bakıldığında ise bakterili ortama gore besiyeri ortamının hem I_{kor} hem de i_{kor} değerlerinin daha negatif değerlere ulaştığı sonucu bulunmuştur. Bu durumda bakterinin korozyona sebep olmadığı düşünülebilir. Kesin sonuçtan önce EIS analizi ve SEM analiz sonuçları incelenmelidir.



şekil 4.45 Ni-Zn alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının 5 saat suresince polarizasyon eğrileri

Çizelge 5.5 Steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının polarizasyon eğrilerinden hesaplanmış korozyon parametreleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---------------------------------------|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Zn | Ni-Zn+<i>P.a</i> |
| E_{kor} V (vs. Ag/AgCl) | -0,13 | -0,09 |
| i_{kor} μ A | 4,86 | 3,71 |
| I_{kor} (μ A/cm ²) | 23,82 | 17,71 |
| Anodik Tafel eğrisi β_a V/dec | 0,33 | 0,32 |
| Katodik Tafel eğrisi β_c V/dec | 0,30 | 0,31 |
| R_p Ω cm ² | 30262,4 | 41076,7 |



Şekil 4.46 Ni-Zn alaşımasının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri

Çizelge 5.6 Ni-Zn alaşımasının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri

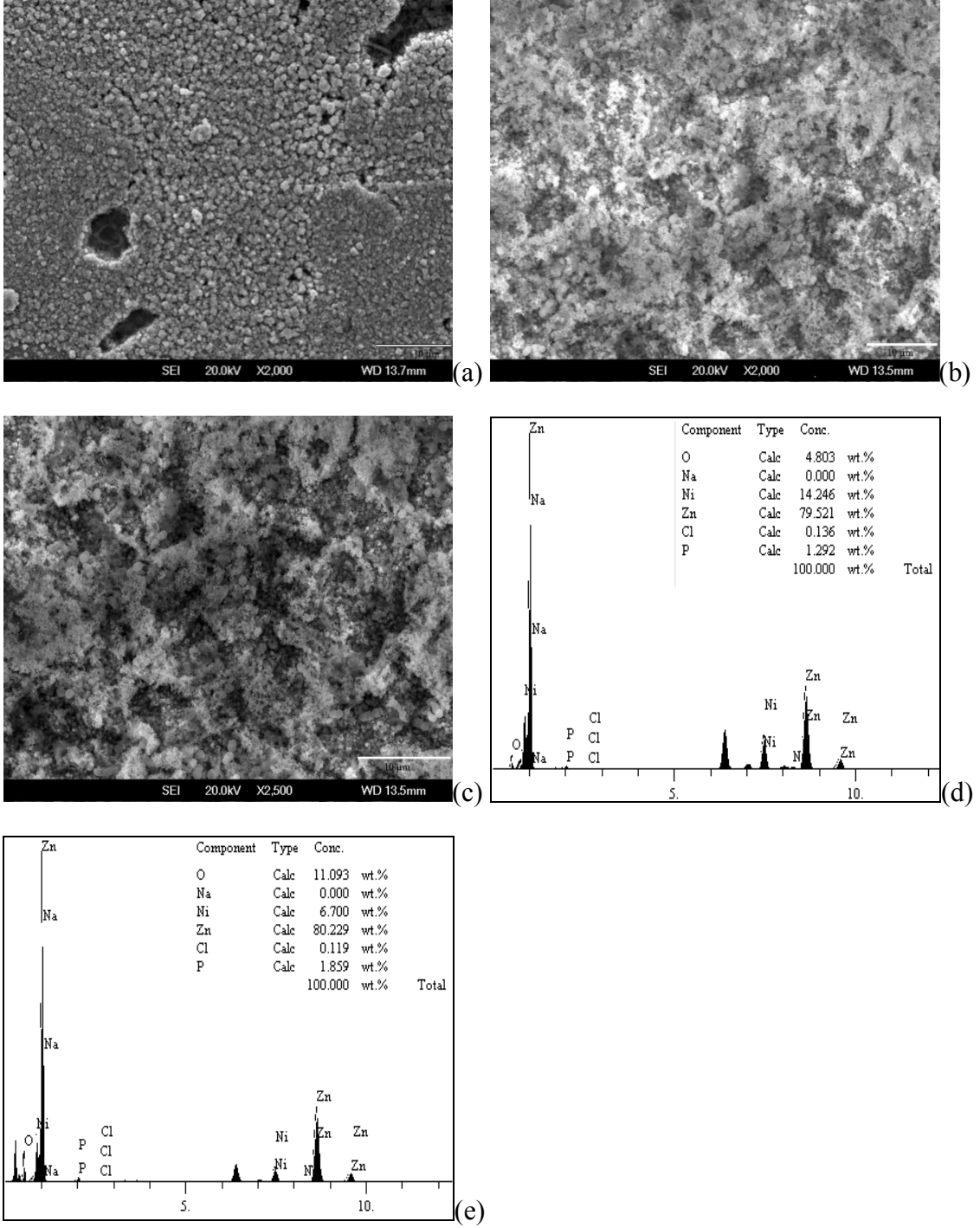
| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---|-----------------|---------------------|
| | Ni-Zn | Ni-Zn+ <i>P.a</i> |
| R_s, Ω | 542,2 | 723,9 |
| $R_p, k \Omega cm^2$ | 2,7 | 26,3 |
| $R_{ct}, k \Omega cm^2$ | 21,0 | 2,0 |
| $Q_{CPE} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} cm^{-2}$ | 12,98 | 6,46 |
| η | 0,77 | 0,73 |
| $Q_{dl} \times 10^{-4}, \Omega^{-1} cm^{-2}$ | 354,7 | 10,09 |
| η | 0,84 | 0,79 |

Çizelge 5.6'da EIS verileri değerlendirildiğinde, en önemli korozyon parametrelerinden biri olan R_{ct} değeri bakterinin etkisi ile besiyerine göre azalmış ve R_p değerinde biyofilm tabakasından kaynaklı bir artış gözlemlenmiştir.

Ni-Zn alaşımı ile kaplanmış besiyeri ve bakteri inkübe edilmiş besiyeri ortamlarında 5 saat bekletilmiş diskler taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiş ve Şekil 4.47 a, b, c'de mikrografları gösterilmiştir. Şekil 4.47a steril besiyerinde 5 saat bekletilen Ni-Zn disk yüzeyini göstermektedir. Yüzeyde besiyerinin içeriği sebebi ile küçük çukurcuklar

görülmüştür. Şekil 4.47b'de ortama bakteri eklenmiş ve 5 saat sonunda yüzeyin görüntüsü çekilmiştir. Bu mikrografta bakterinin etkisi ile oluşan yoğun çukurcuklar görülmektedir. *P. aeruginosa*'nın çok kısa sürede, etkili biyofilm oluşturduğu bilimektedir (Nercessian vd 2010). QCM ve Tafel verilerindeki çelişkiyi bakterinin oluşturduğu yoğun biyofilm tabakası açıklayabilir.

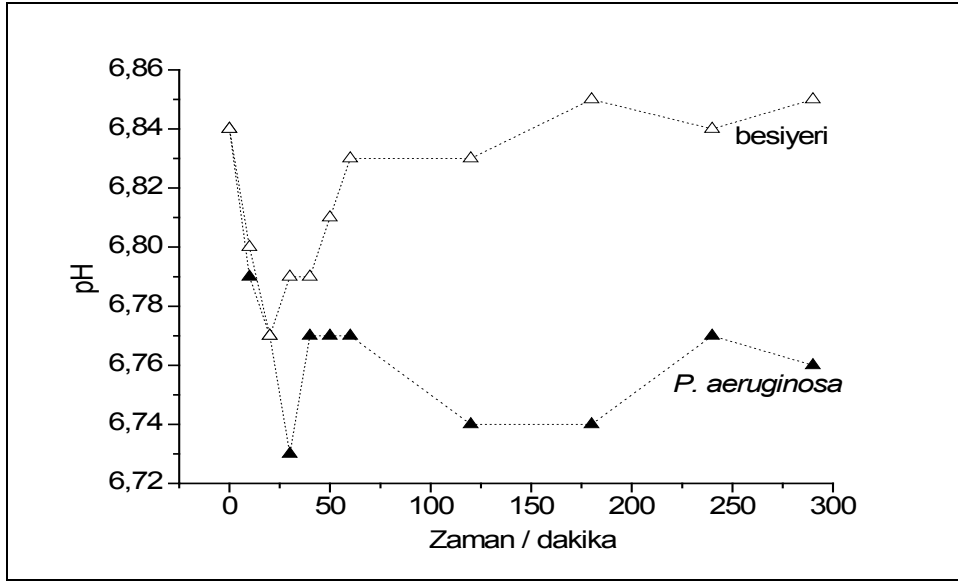
EDS analizine bakıldığında ise alaşım yüzeyinde mevcut oksit yüzdesi besiyeri içeren disk yüzeyinde %4,8 (Şekil 4.47d) iken yüzeyin bakteri ile temasından sonra bu oran %11,09 değerine (Şekil 4.47e) ulaşılmıştır.



Şekil 4.47 Steril besiyeri ve *P. aeruginosa* içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Zn alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu

Şekil 4.48’de Ni-Zn alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamının 5 saat süre ile pH takibiverileri görülmektedir. Buna göre steril besiyerinin başlangıçta 6,8 pH değeri deneyin başında azalma gözlemlense de deneyin

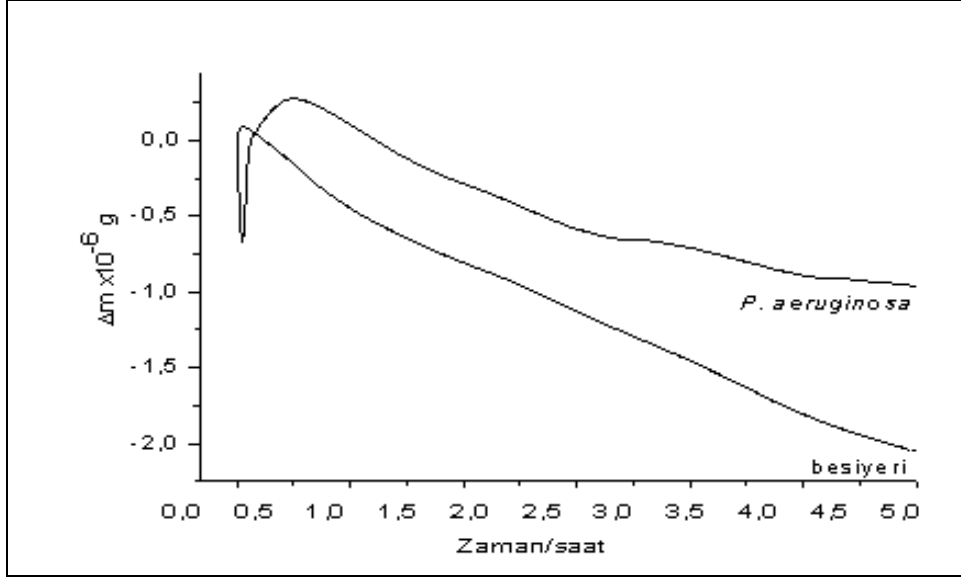
sonunda yaklaşık pH 6,85 değerine ulaşmıştır. Bakteri içeren besiyeri ortamının pH değeri yaklaşık pH 6,8 değerinden deneyin sonunda pH 6,76 değerine kadar düşmüştür.



Şekil 4.48 Ni-Zn alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi

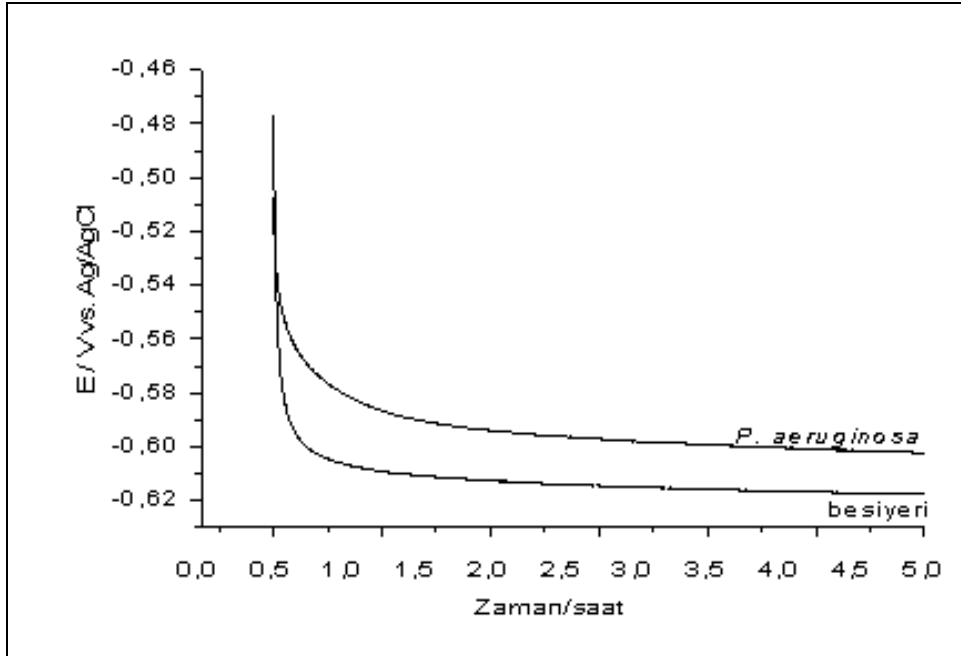
4.7.2. Ni-Cu alaşımına *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi

Şekil 4.49 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında kütle kaybını göstermektedir. 5 saat sonunda kütle kaybı sonuçlarına göre besiyeri içindeki Ni-Cu alaşımının kütle kaybı 2,0 µg'dır. Bakteri inokülasyonundan sonra kütle kaybı değeri 1,01 µg olarak bulunmuştur.



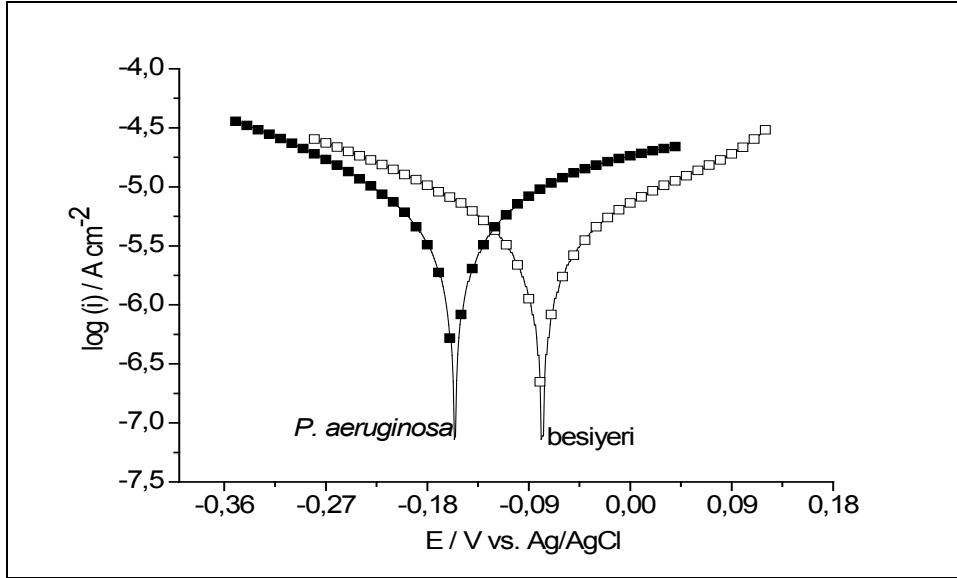
Şekil 4.49 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı

Ni-Cu alaşımına korozyon etkisinin belirlenmesi için steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyerlerinde OCP alınmıştır. Buna göre Şekil 4.50'de 5 saat sonunda steril besiyerinin E_{ocp} değeri -0,61 V iken bakteri inokülasyonundan sonra besiyeri ortamının E_{ocp} değeri -0,60 V olup 5 saat sonunda E_{ocp} grafiğinde benzer bir desen elde edilmiştir.



Şekil 4.50 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim

Ni-Cu alaşımının 5 saat sonunda steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında polarizasyon eğrileri Şekil 4.51’de verilmektedir. Buna gore besiyeri içindeki Ni-Cu alaşımının korozyon potansiyeli -0,08 V olarak gozlenmiştir. Buna ilaveten, bakteri inokulasyonundan sonra korozyon potansiyeli katodik tarafa doğru kaymıştır: -0,16 V. Elde edilen veriler izelge 5.7’de verilmiştir.



Şekil 4.51 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının 5 saat suresince polarizasyon eğrileri

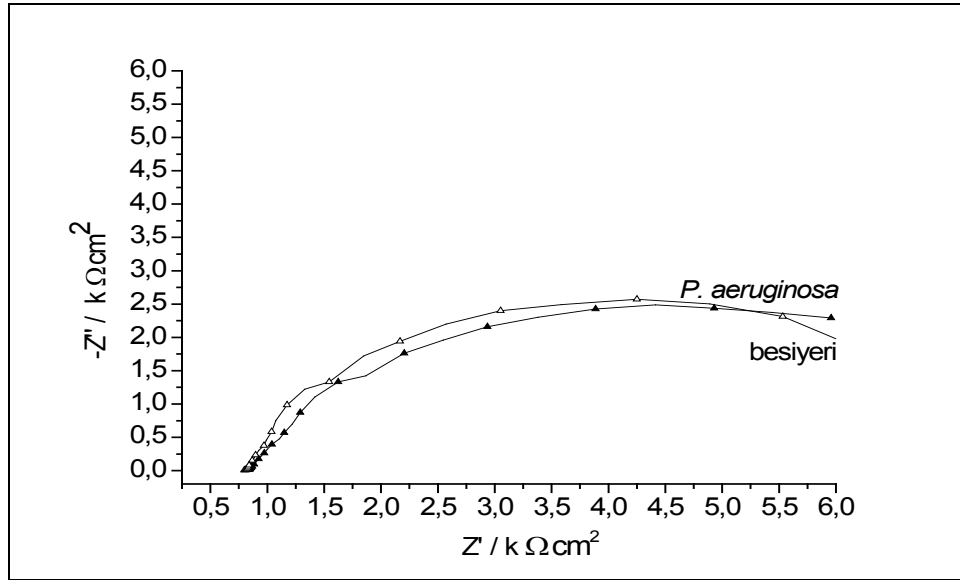
Çizelge 5.7 Steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamlarının polarizasyon eğrilerinden hesaplanmış korozyon parametreleri

| | Steril Besiyeri | İnokulasyon Sonrası |
|---------------------------------------|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Cu | Ni-Cu+<i>P.a</i> |
| E_{kor} V (vs. Ag/AgCl) | -0,08 | -0,16 |
| i_{kor} μ A | 3,72 | 6,18 |
| I_{kor} (μ A/cm ²) | 18,23 | 30,29 |
| Anodik Tafel eğrisi β_a V/dec | 0,46 | 0,67 |
| Katodik Tafel eğrisi β_c V/dec | 0,36 | 0,40 |
| R_p Ω cm ² | 51009 | 37935,8 |

Çizelgede verilen değerlere bakıldığında, bakterinin korozyon potansiyelinde artmaya paralel olarak korozyon akımı ve korozyon akım yoğunluğunda da artış gözlemlenmiştir. Bu veriler bakterinin etkisi ile korozyon hızında zamanla arttığını göstermektedir.

Şekil 4.52 Ni-Cu alaşımının besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamlarında EIS ve elektronik devre eşdeğerini göstermektedir. Verilere bakıldığında Ni-Zn alaşımının elektronik devre eşdeğerinin çift tabaka (double layer) özellik gösterdiği bulunmuştur. Devreye bakıldığında R_s solusyon direnci, R_p biyofilm direnci, R_{ct} yük transfer direnci Q_{CPE} ve Q_{dl} kapasitör parametreleridir ve Çizelge 5.8'de hesaplanan sayısal değerleri verilmiştir.

R_p değeri: steril besiyerine *P. aeruginosa* inoküle edildikten 5 saat sonra biyofilm direncini göstermekte olup direkt mikrobiyal aktivite ile ilgilidir. Çizelge 5.8'e bakıldığında R_p değeri steril besiyerinde $30,47 \text{ k } \Omega \text{ cm}^2$ iken inokülasyondan sonra bu değer azaldığı ve 5 saat sonunda $5,33 \text{ k } \Omega \text{ cm}^2$ değerine ulaştığı bulunmuştur.



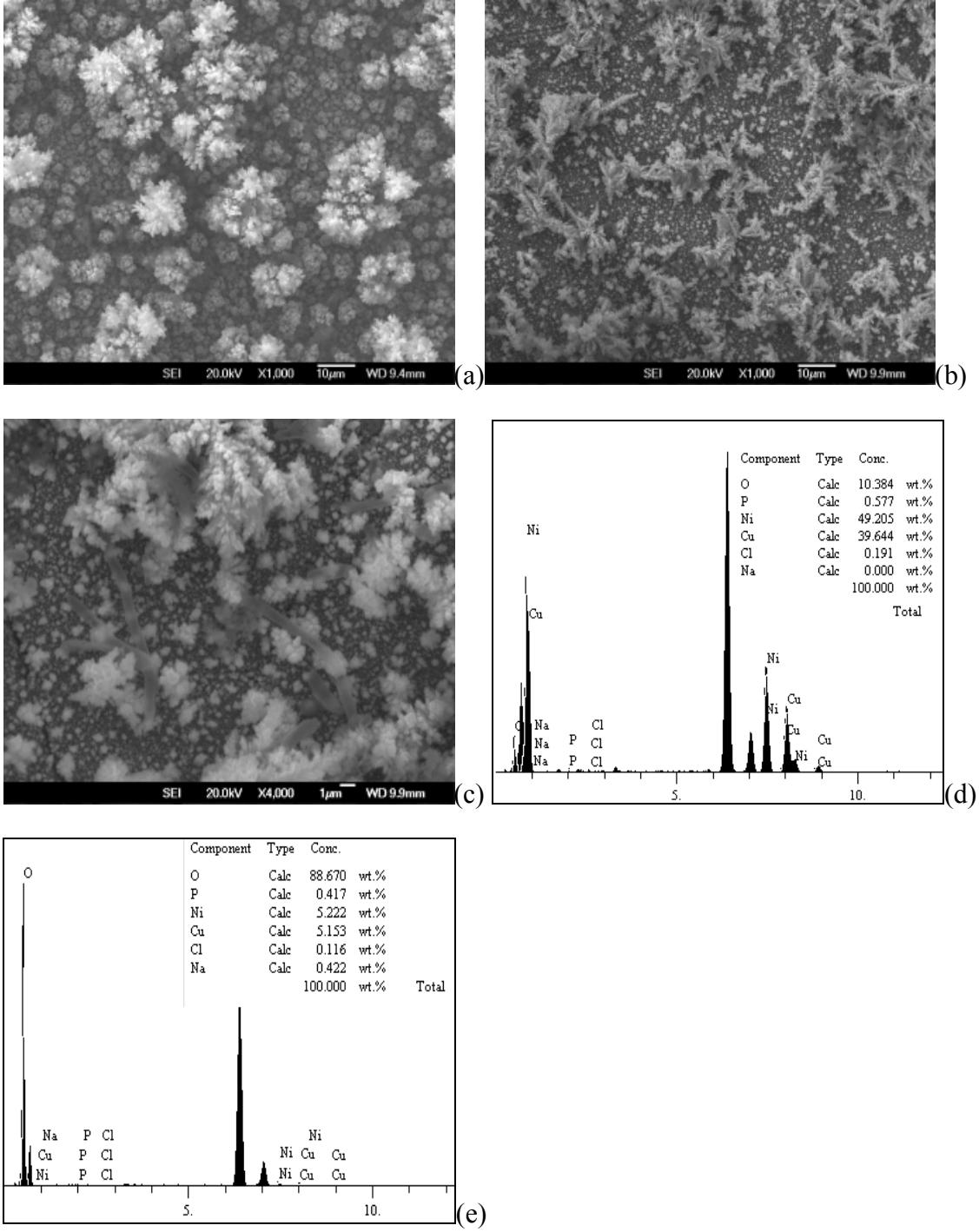
Şekil 4.52 Ni-Cu alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri

Çizelge 5.8 Ni-Cu alaşımlının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Cu | Ni-Cu+<i>P.a</i> |
| R_s, Ω | 814,4 | 832,6 |
| $R_p, k \Omega \text{ cm}^2$ | 30,47 | 5,33 |
| $R_{ct}, k \Omega \text{ cm}^2$ | 2,91 | 31,64 |
| $Q_{CPE} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 8,77 | 7,93 |
| η | 0,83 | 0,72 |
| $Q_{dl} \times 10^{-4}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 17,78 | 69,82 |
| η | 0,18 | 0,95 |

Ni-Cu alaşımı ile kaplanmış diskler, besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamlarında 5 saat bekletilmiş ve sonrasında SEM ile incelenen yüzeylerin mikrografları Şekil 4.53 (a, b, c) gösterilmiştir. Şekil 4.53(a) steril besiyerinde 5 saat bekletilen Ni-Cu alaşımı disk yüzeyini göstermektedir. Yüzeyde NiO ve CuO bileşikleri görülmektedir. Şekil 4.53(b,c)'de ortama bakteri eklenmiş ve 5 saat sonunda yüzeyin görüntüsü çekilmiştir. Bu mikrografta çubuk şeklinde bakterinin Ni-Cu alaşımı kaplama yüzeyine tutunduğunu görmekteyiz. Buna ek olarak bakterinin korozyon etkisi sebebi ile yüzeyde derin çatlakların oluştuğu görülmektedir.

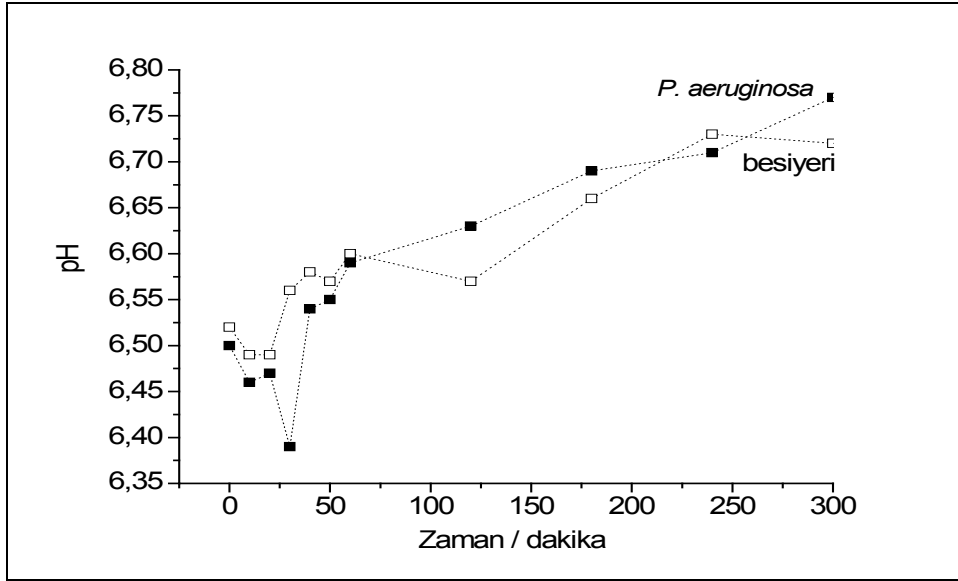
EDS analizine bakıldığında ise alaşım yüzeyinde mevcut oksit yüzdesi besiyeri içeren disk yüzeyinde %10,3 (Şekil 4.53d) iken yüzeyin bakteri ile temasından sonra bu oran %88,6 değerine (Şekil 4.53e) ulaşmıştır.



Şekil 4.53 Steril besiyeri ve *P. aeruginosa* içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Cu alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu

Şekil 4.54’de Ni-Cu alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamının 5 saat süre ile pH takibiverileri görülmektedir. Buna göre başlangıçta hem besiyeri hem de bakteri inoküle edilmiş besiyerinin pH değeri yaklaşık 6,5 iken bu değer 5 saat sonunda steril besiyerinde artış göstermiş ve pH 6,7 değerine

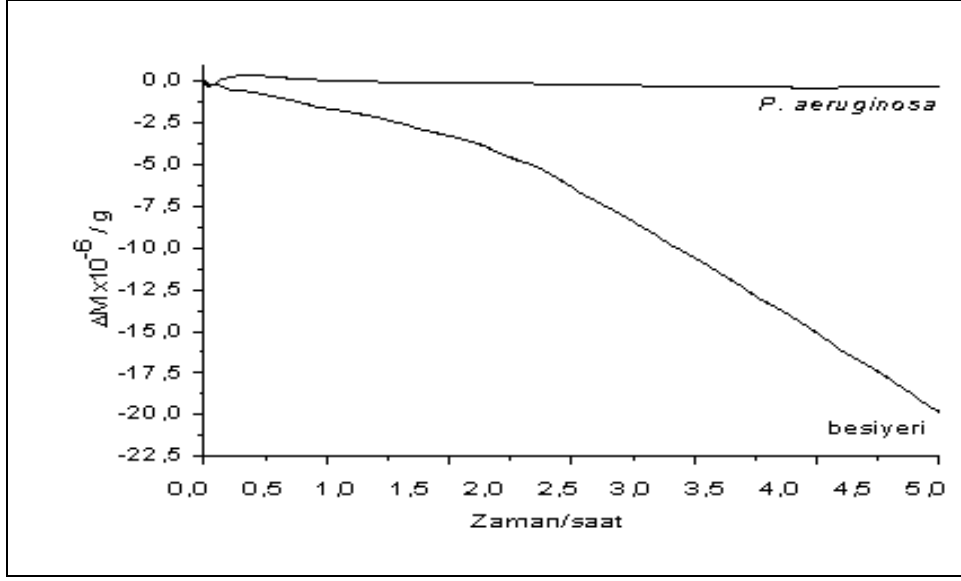
ulaşmışken bakterili ortamın pH değeri deney sonunda 6,75 pH değerine kadar yükselmiştir.



Şekil 4.54 Ni-Cu alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi

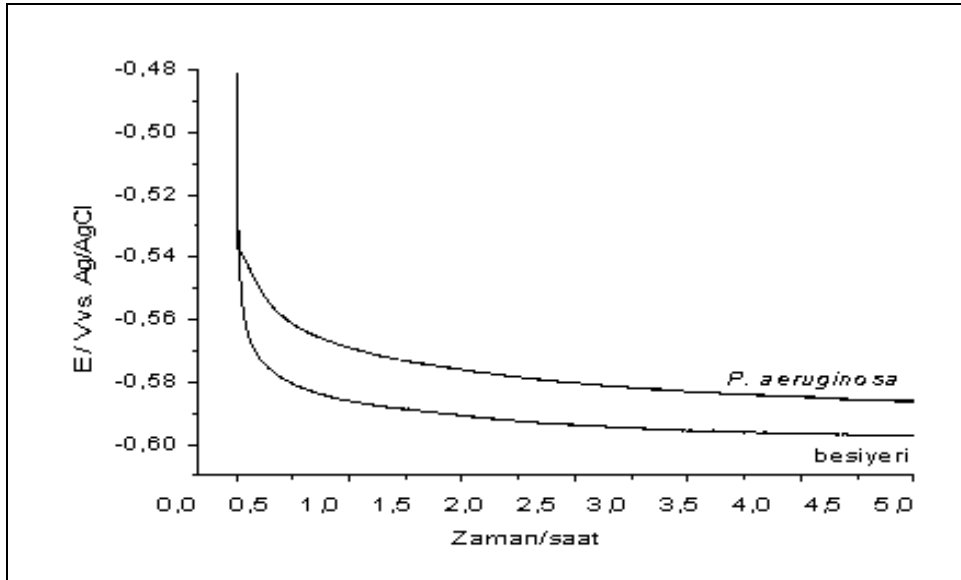
4.7.3. Ni-Co alaşımına *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin neden olduğu korozyon etkisinin belirlenmesi

Ni-Co alaşımına *P. aeruginosa* bakterisinin neden olduğu kütle kaybının tespiti için öncelikle steril besiyeri içerisinde bulunan Ni-Co alaşımının kütle kaybı 19,86 µg olarak bulunmuştur. Besiyerine bakteri inoküle edildikten sonra ise kütle kaybı 0,35 µg olarak bulunmuştur (Şekil 4.55).



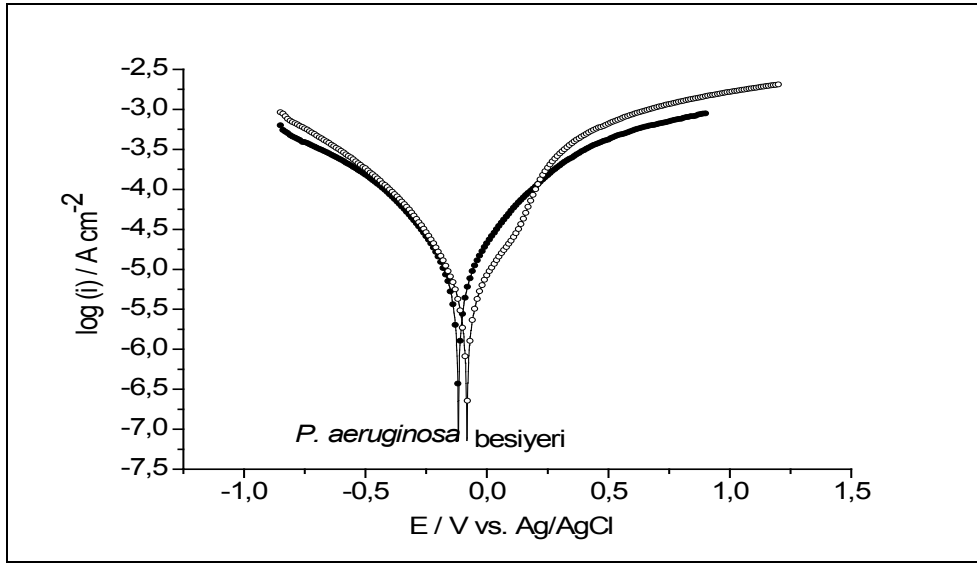
Şekil 4.55 Ni-Co alaşımlarının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süreyle kütle kaybı

Şekil 4.56'da Ni-Co alaşımına *P. aeruginosa* bakterisinin E_{OCP} değeri verilmiştir. Buna göre açık devre potansiyeli steril besiyerinde -0,59 V iken bakteri inokülasyonundan sonra E_{OCP} değeri değeri -0,58 V olarak bulunmuştur.



Şekil 4.56 Ni-Co alaşımlarının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süresince OCP değerlerindeki değişim

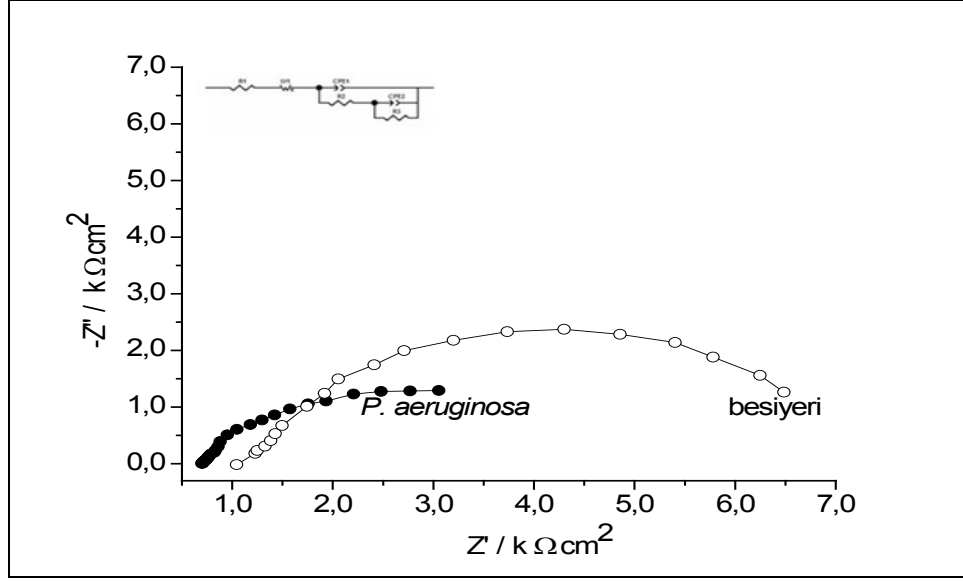
Şekil 4.57’de 5 saat süresinde Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında polarizasyon eğrileri gösterilmiştir. Bu eğrilere göre besiyeri içerisinde bulunan Ni-Co alaşımının korozyon potansiyeli -0,082 V olarak gözlenmiştir. Buna ilaveten, bakteri inokülasyonundan sonra korozyon potansiyeli katodik tarafa doğru kaymış ve -0,117 V değerine ulaşmıştır. Elde edilen veriler Çizelge 5.9’da verilmiştir. Çizelge 5.9’a göre i_{kor} ve I_{kor} değerlerinde korozyon potansiyeline paralel olarak bakterinin etkisi ile artma gözlemlenmiş ve korozyon tepkimesi hızlanmıştır.



Şekil 4.57 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında polarizasyon eğrileri

Çizelge 5.9 Ni-Co alaşımı için Tafel ekstrapolasyon yöntemiyle belirlenen E_{kor} ve I_{kor} değerleri

| | Steril Besiyeri | İnokülasyon Sonrası |
|---------------------------------------|------------------------|----------------------------|
| | Ni-Co | Ni-Co+<i>P.a</i> |
| E_{kor} V (vs. Ag/AgCl) | -0,082 | -0,117 |
| i_{kor} μ A | 2,55 | 4,79 |
| I_{kor} (μ A/cm ²) | 13,0 | 24,4 |
| Anodik Tafel eğrisi β_a V/dec | 0,23 | 0,31 |
| Katodik Tafel eğrisi β_c V/dec | 0,26 | 0,31 |
| R_p Ω cm ² | 9305 | 6108 |



Şekil 4.58 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında Nyquist eğrileri

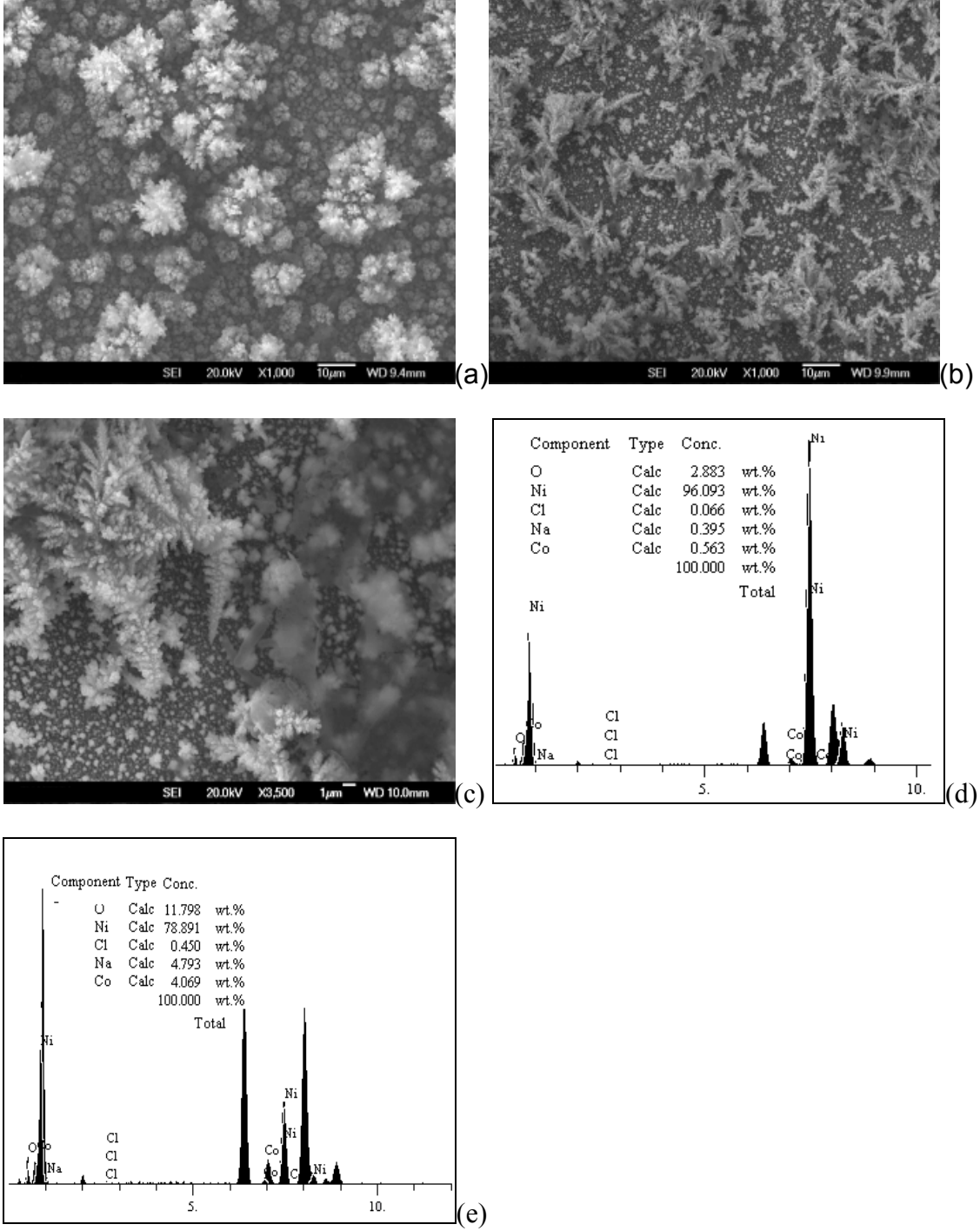
EIS çalışmasında elde edilen Nyquist eğrisi Şekil 4.58 ve elektronik devre eşdeğerine göre hesaplanan veriler Çizelge 5.10'da verilmiştir. Bu çalışmada farklı elektronik devre eşdeğeri kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılan elektronik devre eşdeğerine Warburg empedansı eklenmiştir. Warburg empedans elemanı devre içinde taşınma direncini göstermektedir. Buna göre kapasitif Nyquist yarım dairesinin çapı steril besiyerine göre bakteri içeren ortamın kapasitif lupundan daha fazladır. Bakterinin R_p değeri steril besiyerine göre artmış iken R_{ct} değerinin ise bakterinin etkisi ile korozyonun artmasına paralel olarak azaldığı görülmektedir.

Çizelge 5.10 Ni-Co alaşımının steril besiyeri ve *P. aeruginosa* inoküle edilmiş besiyeri ortamında elektrokimyasal model empedans değerleri

| | İnokülasyon Sonrası | |
|---|--------------------------|-------------------|
| | Steril Besiyeri Ni-Co | Ni-Co+ <i>P.a</i> |
| R_s, Ω | 90,2 | 832,6 |
| $W_s \Omega \text{ cm}^2$ | 145 | 448,2 |
| $R_p, k \Omega \text{ cm}^2$ | 0,3 | 5,33 |
| $R_{ct}, k \Omega \text{ cm}^2$ | 2,93 | 0,63 |
| $Q_{CPE} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 24,9 | 61,7 |
| η | 0,80 | 0,81 |
| $Q_{dl} \times 10^{-4}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 5,3 | 6,62 |
| η | 0,94 | 0,44 |

Şekil 4.59(a)'da Ni-Co alaşım ile kaplanmış diskin tüm yüzeyinde besiyerinden kaynaklı oluşan oksit tabakası görülmektedir. Bakteri inokülasyonundan sonra alınan mikrograf Şekil 4.59(b-c)'de görülmektedir. Mikrograflarda çubuk şeklinde bakterinin yüzeye tutunduğu ve parçalı yapıda biyofilm tabakası oluşturduğu görülmüştür.

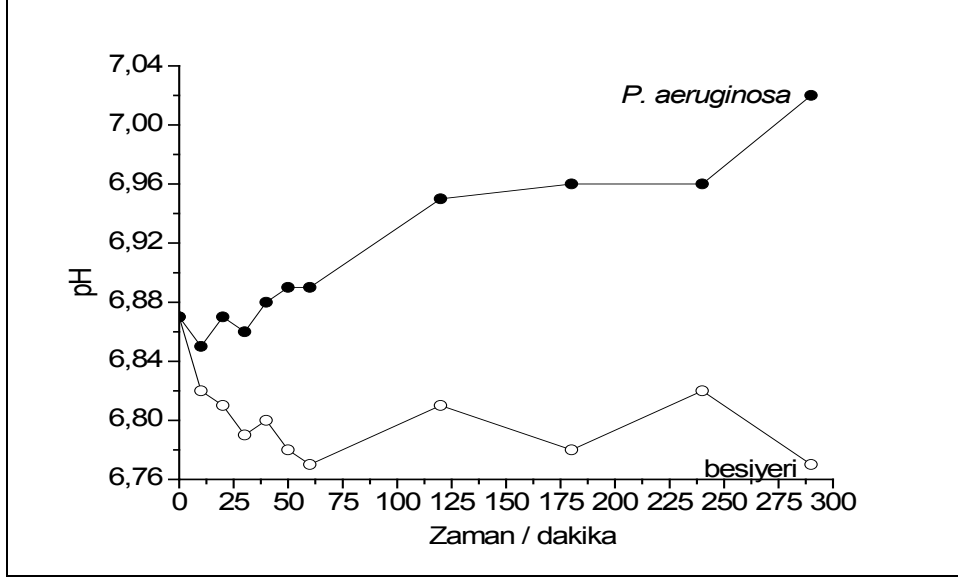
Şekil 4.59(d) steril besiyerinin 4.59(e)'de ise bakteri inokülasyonundan sonra yüzeydeki elemental değişim görülmektedir. Buna göre besiyerinde oksit oranı %2,8 iken bu oran bakteri inokülasyonundan sonra %11,7 değerine ulaşmıştır.



Şekil 4.59 Steril besiyeri ve *P. aeruginosa* içeren besiyeri ortamında 5 saat süre ile bekletilmiş Ni-Co alaşımı ile kaplı disklerin a, b, c, SEM mikrografı, d, e, EDS spektrumu

pH çalışması için Ni-Co alaşımı ile kaplanmış diskler elektrokimyasal deneyler ile aynı şartlara sahip ön hazırlık safhasından geçerek, 5 saat boyunca içinde buldukları besiyerinin pH'ı takip edilerek tamamlanmıştır. Bu çalışmaya göre her iki ortamın başlangıçtaki pH değeri yaklaşık 6.8 iken bu değer sterilbesiyerinde 5 saat sonunda pH

6,78 değerine düşmüştür. Hâlbuki bakteri içeren besiyeri ortamında 5 saat sonunda pH değeri 6,87 değerinden 7,02 değerine ulaşmıştır (Şekil 4.60).



Şekil 4.60 Ni-Co alaşımı kaplanmış diskleri içeren steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat süre ile pH takibi

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Tez çalışmasında Ankara İvedik Su Arıtım Tesisinden, mikrobiyal korozyon gözlemlenen boru sistemlerinden alınan kazıntı ve su örnekleri inokulum olarak kullanılarak içerisinde metal diskler bulunan sıvı besiyerlerinde zenginleştirilme yapılmıştır. İzolasyon çalışmaları sonucunda elde edilen izolatlar korozyon deneylerinde kullanılmak üzere saflaştırılarak stoğa alınmıştır.

Tez çalışmasının ilk aşamasında, izole edilen ve farklı morfolojik özelliklere sahip iki adet izolatın karakterizasyonu ve tür düzeyinde tanımlanması için öncelikle hücre morfolojisi, Gram reaksiyon ve sporulasyon gibi özellikleri incelenmiştir. Buna göre BB bakterisi Gram-, basil şeklinde, koloni morfolojisi olarak kenarı dalgalı, kabarık ve krem rengidir. CC bakterisi ise Gram-, basil şeklinde, koloni morfolojisi olarak ise kenarı dalgalı, göbekli ve parlak beyaz renktedir.

İkinci aşamada izolatlar 24 saat boyunca N.B besiyerinde aktifleştirilmiş ve 16S rRNA filogenetik analizlerinin yapılması için firmaya gönderilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen veriler forward ve revers sekans dizileri National Center for Biotechnological Information (NCBI) veri tabanında mevcut referans diziler ile karşılaştırılmış. Karşılaştırma sonrasında tür düzeyinde belirlenen izolatlardan BB: *Aeromonas eucrenophila* ve CC ise *Delftia acidovorans* olduğu bulunmuştur.

Aeromonas eucrenophila: Gram negatif, çubuk şeklinde, hareketli, fakültatif aerobik, oksidaz pozitif ve glukoz-fermantatif bakteridir. *Aeromonas* cinsi içinde bulunan bakteriler tatlı ve tuzlu sularda, kanalizasyon sularında ve atıksularda bulunur. Bu cinse ait 14 tür mevcuttur. Bunlardan sadece 5 tanesinin insanlarda patojen olduğu bilinmektedir (*A. hydrophila*, *A. veronii*, *A. caviae*, *A. jandaei*, and *A. schubertii*) (Örmen vd 2003, Pablos 2009).

Delftia acidovorans: Gram negatif, zorunlu aerob, düz çubuk veya burgulu çubuk şeklinde, hareketli, oksidaz ve katalaz pozitif, fermentatif olmayan, toprak ve suda bulunan bir bakteridir (Wen vd 1999). *Delftia acidovorans*'ın polihidroksialkanoatı (PHA) akümüle

ettiği bilinmektedir (Loo ve Sudesh 2007). Bu duruma ilaveten, bakteri etkili bir şekilde anilin (Xiao vd 2009) ve diüron'u (Bazot vd 2007) karbon, azot ve enerji kaynağı olarak kullanarak biyodegrade edebilmektedir. *D. acidovorans* sıklıkla antimikrobiyal ajanlara karşı direnç göstermektedir. Dynes vd (2007) yaptıkları çalışmada antimikrobiyal ajan olarak kullandıkları Klorheksidin (CHX) maddesinin bakterinin gelişimini ve dolayısıyla biyofilm oluşumunu etkilemediğini göstermişlerdir.

Tez çalışmasında kullanılan üçüncü bakteri laboratuvarımızın kültür koleksiyonunda yer alan ve hakkında biyofilm oluşumu ve EPS gibi önemli çalışmaların mevcut olduğu *Pseudomonas aeruginosa* isimli mikroorganizmadır.

Pseudomonas aeruginosa: denizsuyu ve endüstriyel atıksularda sıklıkla rastlanan, korozyon sürecinde önemli rol oynadığı bilinen ve biyofilm oluşum sürecinde öncü olarak da bilinen bakteridir (Borenstein 1996). Pedersen vd (1988) ve Videla'nın (1996) yaptığı çalışmalara göre *Pseudomonas* sp. organik asit açığa çıkarması sebebiyle metal yada alaşımlarda korozyonu arttırmaktadır. Beech vd (1991, 1999) çalışmasının sonuçlarına göre, bakterinin salgıladığı EPS yapısına metal katyonları bağlanmakta ve metal yüzeyinde iyonizasyonu arttırmaktadır. Bu durumda metal iyon konsantrasyon hücre oluşmasını ve metal yüzeyinin elektrokimyasal özelliklerinin değişmesine sebep olmaktadır.

Üçüncü aşama; izole edilen ve tür düzeyinde teşhis edilen bakterilerin NCBI gen bankası veri tabanına kayıt ettirilmesidir. Bu işlem ile tezin amacını da içeren mikrobiyal korozyon gözlemlenmiş ortamlardan izole edilen ve korozyon olayında önemli rol oynadığı düşünülen ve elektrokimyasal deneylerle araştırılan mikroorganizmalardan küçük çaplı bir veri tabanı oluşturulmasıdır.

İzolasyon ve bakterilerin tür düzeyinde teşhisinden sonra elektrokimyasal korozyon deneylerinde her seferinde tekrarlanabilirliğin sağlanması için mikroorganizmalar gelişmelerinin en yüksek olduğu eksponansiyel fazdan alınıp, kullanılmıştır. Bakteriler her seferinde belirlenen gelişim zamanında geliştirilmiş ve korozyon deneylerinde kullanılmıştır. Bu sebeple üç bakterinin gelişim eğrileri her biri ölüm fazına ulaşana kadar takip edilmiştir. Sonuçta elde edilen sonuçlara göre; *Aeromonas eucrenophila* bakterisi en

yüksek OD değerine OD: 2,4 değeri ile 24 saat sonunda ulaşmıştır. İkinci bakteri *Delftia acidovorans* ise OD: 2,9 değerine 48 saat sonunda ulaşmıştır. Üçüncü bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ise OD: 3,6 değerine 24 saat sonunda ulaşmıştır.

Tez çalışmasında aerobik bakterilerin Nikel alaşımları üzerine mikrobiyal korozyon etkisi araştırılmıştır. Alaşım olarak Nikel alaşımlarının seçilme sebebi, her türlü korozyon ortamında ve yüksek sıcaklıklarda mukavemetlerini kaybetmemeleri nedeni ile endüstride birçok alanda tercih edilmeleridir. Tokluğu ve sünekliği çok yüksek olan, çok iyi korozyon ve oksidasyon direncine sahip Nikel alaşımları tez çalışmasının bakteriler ile birlikte temel çıkış noktasını oluşturmaktadır.

İzolatların mikrobiyal korozyon mekanizmalarının açıklaması için bakterilerin korozyon hızına etkisi, kütle kaybı analizi ve elektrokimyasal analizler ile yapılmıştır. QCM çalışmasında, bazı deneylerde, kütle kaybı direkt gösterilirken bazılarında oluşan biyofilm tabakasının AT-kesimli altın elektrot üzerinde birikmesi ya da alaşımın bozulması ile açığa çıkan iyonların birikmesi sebebiyle frekans artmıştır. Bu durum kütle kaybının azaldığını göstermektedir. Fakat bu konuda yer alan literatürlerdeki sonuçlara bakıldığında, biyofilm tabakası altında korozyon olayının devam ettiği bilinmektedir (Reipa vd 2006, Kakalis ve Panayiotou 2011, San vd 2011).

Steril besiyeri ve bakteri inoküle edilmiş besiyeri ortamında 5 saat boyunca bekletilmiş korozyon disklerinin yüzeyi incelendiğinde; yüzeyin bakteri, korozyon ürünleri, ekzopolisakkarit ve diğer birikintilerden oluşan birbiyofilm tabakasıyla kaplandığı görülmüştür. Bu tabaka temizlenmeden SEM analizi ile incelenmiş ve ST-42 karbon çelik yüzeyinde kaplı Nikel alaşımlarına aerobik bakterilerin neden olduğu korozyon hasarı ortaya çıkmıştır. Yüzeyin genel olarak bozulduğu ve çok sayıda çukurcuğun ve derin çatlakların oluştuğu görülmüştür. Ayrıca aerobik izolatlarının biyokorozyon üzerindeki etki mekanizması hakkında fikir vermesi açısından SEM analizinden sonra EDS analizleri de yapılmıştır.

Elektrokimyasal deneylerin süresi 5 saat olarak belirlenmiştir. Ön çalışmalarda bakterilerin 5 saat sonunda yüzeye tutunarak biyofilm oluşturmaya başladıkları hem yüzey analizleri

hem de OCP deneylerinde E_{kor} değerlerinin 5 saat sonunda sabit faza ulaşması üzerine seçilmiştir.

5.1 Nikel alaşımlarına *Aeromonas eucrenophila* Bakterisinin Korozyon Etkisi Çalışmalardan Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

İzole edilen izolatların mikrobiyal korozyon mekanizmalarının belirlenebilmesi için öncelikle QCM yöntemiyle kütle kaybı çalışmaları yapılmıştır. Ni-Zn alaşımının steril besiyeri içinde kütle kaybı 12,12 μg iken *A. eucrenophila* inoküle edilmiş besiyerinde kütle kaybı 16,82 μg bulunmuştur. Bakterinin alaşım yüzeyinde kütle kaybı ile mikrobiyal korozyona neden olduğu görülmektedir. Bu çalışmanın yanında diğer elektrokimyasal çalışmalara bakıldığında steril besiyerinin E_{ocp} değeri daha negatif değere iken bakteri inokülasyonundan sonra E_{ocp} değeri daha pozitif bir değere kaymıştır. Tez çalışmasında OCP verilerinde benzer motifler elde edilmiştir. Bu duruma bakterilerin deneyin başından itibaren hızlı bir şekilde yüzeye tutunması ve biyofilm oluşturması sebebiyle yüzeyin yapısını değiştirmesi ve sanki bakteri alaşımı korozyondan koruyormuş (pseudo-korozyon) gibi düşünülmektedir. Polarizasyon verilerine bakıldığında ise i_{kor} ve I_{kor} değerlerinin bakteri etkisi ile arttığı, yüzeyden geçen akım ve akım yoğunluğunun artması sonucunda korozyona sebep olduğu bulunmuştur. Bu verileri destekler nitelikte yüzeyde bakterinin etkisi ile yoğun çatlak ve çukurcuklar da görülmüştür. Mikrograflarda ayrıca çubuk şeklinde bakterinin yüzeye tutunduğu da mikrograflarda görülmektedir. SEM çalışmasında yapılan EDS analizlerine göre ise steril besiyerinde 5 saat bekletilen yüzeyde oksit oranı %4,8 iken bu oran bakteri inokülasyonundan sonra %28,8'e ulaşmıştır ki bu durumda bakterinin oksijenli solunum yapması nedeniyle yüzeyde sürekli bir oksijen hücresi oluşmuştur. Bu duruma ilaveten bakterinin pH değerini asidik değerlere indirmesi sonucu korozyona sebep olduğu düşünülmektedir.

A. eucrenophila bakterisinin Ni-Cu alaşımına korozyon etkisi Ni-Zn alaşımının korozyon davranışından çok daha farklıdır. QCM çalışması ile elde edilen kütle kaybı steril besiyeri içinde bulunan Ni-Cu alaşımı için 2,12 μg iken kütle kaybı bakterinin etkisi ile 2,96 μg olarak bulunmuştur. Polarizasyon eğrilerine bakıldığında bakteri hem E_{kor} hem i_{kor} ve I_{kor} değerlerinde negatife doğru artma ve sonuçta korozyonun artmasına sebep olmuştur. EIS analizinden elde edilen sonuçlarda ise bakterinin etkisi ile R_p değerinin arttığı fakat

yük transfer direncinde bakterinin varlığında korozyon ürünlerin artmasından kaynaklı bir artış saptanmıştır. Bu durumu destekler nitelikte Q_{CPE} değerinde azalma ile yüzeyin bozulduğu sonucuna ulaşılmaktadır. SEM analizinde Ni-Cu yüzeyi tamamen çatlaklarla doludur. Bunun yanında büyüklü küçüklü çukurcuklar da oluşmuştur. Ni-Cu alaşımında yer alan Cu elementinin bakterilere toksik etki gösterdiği (Sungur ve Çotuk 2011) bilinmekte iken *A. eucrenophila* bakterisi Ni-Cu alaşımından etkilenmemiş ve şiddetli bir biçimde mikrobiyal korozyona sebep olmuştur. Sonuç olarak bakteri başlangıç pH değerini 7,02 değerinden 5 saat sonunda pH 5,98 değerine kadar düşmüştür.

Ni-Co alaşım kaplamasına *A. eucrenophila* bakterisinin korozyon etkisine bakıldığında ise bakterinin Ni-Zn ve Ni-Cu alaşımlarına göre daha farklı bir etkiye sebep olmuştur. Steril besiyerinde bulunan Ni-Co alaşımının kütle kaybı bakterili ortamda bulunan alaşım kaplamasının kütle kaybından 20 kat daha fazladır. Bu duruma ilaveten, akım ve akım yoğunluğu değerleri steril besiyeri içinde bulunan Ni-Co alaşımında bakterili ortama göre daha fazladır. Elektrokimyasal model empedans değerlerinden R_{ct} değeri de besiyerinde en düşük değere ulaşmıştır. SEM analizi ile az miktarda yüzeye tutunmuş çubuk şeklinde bakteri, yoğun olmayan çukurcuk ve çatlaklar gözlenmiştir ki pH değeri az bir değişimle pH 6,8 değerinden pH 6,5 değerine ulaşmıştır. Bu durumda bize *A. eucrenophila* bakterisinin Ni-Co alaşımına mikrobiyal korozyon etkisinin diğer alaşımlara göre daha az olduğunu göstermektedir. Civa (Hg) tüm bakteriler için en toksik komponent iken civayı (Hg) kobalt (Co) ve sonrasında kadmiyum (Cd) takip etmektedir. Bu durumda Ni-Co alaşımı anti-fouling özellik göstermektedir. Yani bakterilerin gelişmesini engeller ve metal/alaşım yüzeylerinde tutunmasını engelleyebilmektedir (Stott 2010). Sonuç olarak *A. eucrenophila* bakterisinin Ni-Co alaşımından etkilendiği ve yüzeyinde tutunup, diğer alaşımlardaki gibi gelişemediğini göstermektedir.

5.2 Nikel alaşımlarına *Delftia acidovorans* Bakterisinin Korozyon Etkisi Çalışmalardan Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Tez çalışmasının orijinalliğini oluşturan mikrobiyal korozyon gözlemlenmiş ortamlardan izole edilen bakterilerin Nikel alaşımlarına korozyon etkisinin incelenmesi çalışması için izole edilen ikinci bakteri *Delftia acidovorans* bakterisi olarak bulunmuştur. Kütle kaybı çalışmasında steril besiyeri içinde bulunan Ni-Zn alaşımının kütle kaybı 12,9 µg iken *D.*

acidovorans içeren besiyeri ortamının kütle kaybı 18,6 µg bulunmuştur. Polarizasyon eğrilerinde E_{kor} değerini -0,3 V negatife kaydırmış olsa da korozyon akımı ve korozyon akım yoğunluğu değerlerinin çok yakın değerler olduğu bulunmuştur. EIS değerleri bakterinin Ni-Zn alaşım kaplamasına korozyon etkisini daha açık bir şekilde göstermektedir. Bakterinin etkisi ile R_p değeri artmış, R_{ct} değeri azalmış ve bakterinin korozyon hızını arttırıcı rol oynadığı bulunmuştur. Bu durumu destekler nitelikte SEM mikrograflarına bakıldığında bakterinin etkisi ile oluşan yoğun çatlaklar ve çukurcuklar görülmektedir. Ayrıca bakterinin yüzeye adezyonu ve oluşturmaya başladığı biyofilm parçaları görülmektedir. Bu bakterinin oluşturduğu biyofilm tabakası ve pH değerinin 0,8 değerinde azalması ile korozyona sebep olduğu düşünülmektedir.

Elde edilen sonuçlara göre *D. acidovorans* bakterisinin Ni-Cu alaşımına korozyon etkisi farklı bir desen çizmiştir. Steril besiyeri içindeki Ni-Cu alaşımının kütle kaybı 2,12 µg iken bakteri inokülasyonundan sonra hızlı bir kütle kaybı görülmüş ve alaşımın çözünmesinden sonra kütle artmaya başlamış ve deneyin sonunda sabit faza ulaşmıştır (2,01 µg). QCM çalışmasında sıklıkla karşılaşılabilecek durumlardan biride öncelikle kütle azalmaya başlaması ve sonrasında yüzeyde biriken metal/alaşım iyonlarının veya oluşan biyofilm tabakasının yüzeyde birikerek frekansı kütle artışı şeklinde yorumlanmasıdır. Fakat kütle kaybı analizini tek başına değerlendirmek yanlış olur. Bu sebeple polarizasyon eğrilerine bakıldığında korozyon potansiyeli değerinin anodik tarafa doğru kaydığı ve bu duruma paralel olarak i_{kor} ve I_{kor} değerlerinin bakteri inokülasyonundan sonra azaldığı sonucuna ulaşılmıştır. EIS analizi sonuçlarına göre R_{ct} değeri artarak sanki bakterinin Ni-Cu alaşım kaplamasını korozyondan koruyormuş gibi değerlendirilmesine sebep olmaktadır. Fakat bu tez çalışmasında elde edilen veriler ve benzer literatürler ışığında aslında oluşan biyofilm tabakasının alt tarafında korozyonun devam ettiği düşünülmektedir. Eğer bakteri korozyon inhibisyonuna sebep olsa yüzeyde herhangi bir değişim görülmemeliydi. Buna rağmen SEM mikrograflarına bakıldığında *D. acidovorans* bakterisinin inokülasyonundan sonra yüzeye tutunduğu ve yüzeyde oldukça şiddetli çatlaklar oluşturduğu görülmektedir. Bu mikrograflarda bakterinin oluşturduğu parçalı biyofilm yapısı da belirgindir. Bakterinin Ni-Cu alaşımı yüzeyinde oluşturduğu biyofilm tabakası ve pH değerinin azalması mekanizması ile mikrobiyal korozyona sebep olduğu düşünülmektedir.

Bir diğerk alaşım olan Ni-Co alaşımı için polarizasyon eğrilerine bakıldığında Ni-Co alaşımının E_{kor} değeri bakteri inokulasyonu ile yaklaşık -0,6 V katodik tarafa kaymış fakat korozyon akımı ve korozyon akım yoğunluğu değerlerinde kayda değer bir değişim gözlemlenmemiştir. Kütle kaybı deneylerine bakıldığında ise steril besiyerinde Ni-Co alaşımının kütle kaybı 19,86 μg iken bakteri içeren besiyeri ortamında Ni-Co alaşımının kütle kaybı 3,61 μg olarak bulunmuştur. Bu durum SEM analizi ile açıklanabilir. SEM mikrograflarına bakıldığında *D. acidovorans* bakterisinin Ni-Co alaşım kaplaması üzerinde yoğun bir biyofilm tabakası oluşturduğu grlmektedir. Yoğun biyofilm tabakası oluşumu kütle kaybı çalışmasında elektrot üzerinde birikerek frekans artışına sebep olmuştur. Tüm elektrokimyasal ve yüzey analizlerinin birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Buna göre EIS analizinde Nyquist eğrileri bakterinin korozyona sebep olduğunu ve eğrilerden elde edilen verilerde R_p değerinin inokulasyondan sonra steril besiyerine göre oldukça arttığı ve bu duruma ilaveten R_{ct} değerinin bakteri inokulasyonundan sonra azaldığı sonuçta korozyon hızını arttırdığı söylenebilir. *D. acidovorans* bakterisi Ni-Co alaşımı üzerinde SEM mikrograflarında görüldüğü üzere yoğun biyofilm yapısı oluşturmuştur. Bu çalışmada farklı bir durum da SEM analizi sonunda yapılan EDS analizinde elde edilmiştir. EDS analizine göre steril besiyeri içindeki Ni-Co alaşımının oksit yüzdesi %2.88 iken bu değer bakteri içeren besiyeri ortamında %30,3 değerine ulaşmıştır. Bu oran tez çalışması içinde elde edilen en yüksek oksit yüzdesi değeridir. Bakteri Ni-Co alaşımı yüzeyinde oksijen konsantrasyon hcreti oluşturmuştur. Ayrıca pH değeri tüm tez çalışması içinde elde edilen en düşük değer olan pH 5,91 değerine düşmüştür.

5.3 Nikel Alaşımlarına *Pseudomonas aeruginosa* Bakterisinin Korozyon Etkisi alışmalardan Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Ni-Zn alaşımına *P. aeruginosa* bakterisinin korozyon etkisi çalışmalarından öncelikle QCM alışmaları sonuçlarına bakıldığında, Ni-Zn alaşımının steril besiyeri içinde kütle kaybı 12,12 μg iken *Pseudomonas aeruginosa* inoküle edilmiş besiyerinde kütle kaybı 12,10 μg bulunmuştur. Bakterinin Ni-Zn alaşımına korozyon etkisinin kütle kaybı değeri steril besiyerine göre kayda değer bulunmamıştır. Sonrasında, polarizasyon eğrilerine bakıldığında ise 5 saat sonunda bakteri E_{kor} değerinin anodik tarafa doğru kaydırımıştır. Bu duruma ilaveten, korozyon akımı ve korozyon akım yoğunluğu verileri besiyerine göre daha düşük olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu durumda bakterinin korozyona sebep

olmadığı düşünülebilir. Fakat korozyon çalışmaları için önemli analiz yöntemlerinden olan EIS analizinde ise elektrokimyasal model empedans değerlerinden R_{ct} değeri bakterinin etkisi ile azaldığı ve sonuçta korozyonu arttırdığı söylenebilir. SEM mikrograflarında *P. aeruginosa* bakterisi Ni-Zn alaşımı üzerinde biyofilm oluşumu saptanmamış fakat 5 saat sonunda bakterinin etkisi ile oluşan yoğun çukurcuklar görülmüştür. Bakteri Ni-Zn alaşımı yüzeyini tamamen değiştirmiştir.

P. aeruginosa bakterisinin Ni-Cu alaşımına korozyon etkisi verilerine göre steril besiyeri içindeki Ni-Cu alaşımının kütle kaybı 2,0 µg iken bakteri inokülasyonundan sonra kütle kaybı değeri 1,01 µg olarak bulunmuştur. Polarizasyon eğrilerinde bakteri hem korozyon potansiyel değerini hem korozyon akımı hem de korozyon akım yoğunluğunu iki kat negatif değerlere kaydırmıştır. Bu durum SEM mikrografları ile de doğrulanmaktadır. Mikrograflarda Ni-Cu alaşımı yüzeyine çubuk şeklinde bakterinin tutunduğunu görmekteyiz. Buna ek olarak bakteri korozyon etkisi sebebi ile yüzeyde derin çatlaklar oluşturmuştur. Cu mikroorganizmalar için anti-fouling özellik göstermektedir (Ytreberg vd 2010). Buna rağmen *P. aeruginosa* bakterisi yüzeye tutunmuş ve Ni-Cu alaşımının morfolojik yapısını etkilemiştir.

Tez çalışması kapsamında *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin Ni-Co alaşımına korozyon etkisine bakıldığında ise, steril besiyerinde bulunan Ni-Co alaşımının kütle kaybı 19,86 µg iken bakteri inoküle edildikten sonra ise kütle kaybı 0,35 µg olarak bulunmuştur. Bu durumda bakterinin korozyona neden olmadığı düşünülebilir. Fakat mikrobiyal korozyon mekanizmasını tüm elektrokimyasal teknikler, kütle kaybı çalışması ve yüzey analizleri ile bir bütün olarak belirlemek gerekmektedir. Polarizasyon eğrilerine bakıldığında bakterinin hem korozyon akımını hem de korozyon akım yoğunluğu değerlerini 2 kat arttırdığı dolayısıyla korozyonu da arttırdığı sonucuna ulaşılmaktadır. EIS analizi ile elde edilen veriler polarizasyon eğrilerinden elde edilen verileri destekler niteliktedir. Bakterinin etkisi ile R_p değeri artarken, R_{ct} değeri azalmıştır.

Mikroorganizmalar metal/alaşım ile elektrolit ara yüzeyinde elektrokimyasal koşulların değişmesi ile mikrobiyal korozyona neden olurlar. Bu değişim; bölgesel korozyon, genel korozyon ya da korozyon inhibisyonuna sebep olur. Günümüzde mikrobiyal genomik ve mikrobiyal moleküler ekoloji alanlarındaki gelişmeler sayesinde korozyon

mekanizmasında rol oynayan bakterilerin özellikleri ve dolayısıyla kullandıkları substratların özelliklerine ulaşılmaktadır. Bu avantajlar sayesinde daha açıklanmayan biyokimyasal yolların da açıklanabilme olasılığı bulunmaktadır.

Bilindiği üzere mikrobiyolojik korozyon ve sonrasındaki süreçler tek bir mekanizma ile açıklanamaz. Mikrobiyolojik korozyon olayı özellikle su ile ilgili çevrelerde (endüstriyel yapılar, enerji üretim tesisleri, petrokimyasal sanayi ve kâğıt sanayi) ciddi güvenlik sorunları ve ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Bu sebeple mikrobiyolojik korozyon araştırmaları çok önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir.

Bu alanda tez çalışmasının da kapsamında olan korozyon mekanizmasında yer alan mikroorganizmaların identifikasyonu ve mikrobiyolojik korozyon oluşumu için gerekli spesifik koşulların incelenmesi majör araştırma alanlarını oluşturmaktadır. Bu çalışmalar ile elde edilen sonuçlar biyokorozyondan korunma çalışmalarına öncülük etmesi beklenmektedir.

Mikrobiyolojik korozyon araştırmalarında anaerobik bakterilerin yol açtığı mikrobiyal korozyon literatürde pek çok çalışmanın konusu oluşturmaktadır (Crombie vd 1984, Weimer vd 1988, Czechowski vd 1990, Fonseca vd 1998, Feio vd 2000, Rao vd 2005, Padilla-Viveros vd 2006, Liu vd 2009, Dong vd 2011, Beale vd 2012). Fakat aerobik ve farklı tip bakterilerin izolasyonu ve korozyon etkilerinin araştırılması bugün ve gelecekte disiplinler arası bir inceleme alanı oluşturacaktır.

Tez çalışmasında, endüstriyel sistemlerde sıklıkla kullanılan Nikel alaşımlarının mikrobiyal korozyon mekanizmaları ve biyokorozyonundan korunma çerçevesinde teorik bilgi eldesinin sağlanması amaçlanmıştır.

KAYNAKLAR

Angell, P., Urbanic, K. 2000. Sulphate-reducing bacterial activity as a parameter to predict localized corrosion of stainless alloys. *Corrosion Science*, 42; 897-912.

Anwar, H., Strap, J.L., Costerton, J.W. 1992. Establishment of aging biofilms: Possible mechanism of bacterial resistance to antimicrobial therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36; 1347-1351.

Bairi, L.R., George, R., Kamachi, P., Mudali, U. 2012. Microbially induced corrosion of D9 stainless steel–zirconium metal waste form alloy under simulated geological repository environment. *Corrosion Science*, 61; 19-27.

Bazot, S., Bois, P., Joyeux, C., Lebeau, T. 2007. Mineralization of diuron [3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea] by co-immobilized *Arthrobacter* sp. and *Delftia acidovorans*. *Biotechnology Letters*. 29; 749-754.

Beale, D.J., Dunn, M.S., Morrison, P.D., Porter, N.A., Marlow, D.R. 2012. Characterisation of bulk water samples from copper pipes undergoing microbially influenced corrosion by diagnostic metabolomic profiling. *Corrosion Science*, 55; 272-279.

Beech, I.B., Gaylarde, C.C. 1999. Recent advances in the study of biocorrosion – an overview. *Revista de Microbiologia*, 30; 177-190.

Beech, I.B., Hanjagait, L., Kalaji, M., Neal, A.L., Zinkevich, V. 1999. Chemical and structural characterization of exopolymers produced by *Pseudomonas* sp. NCIMB 2021 in continuous culture. *Microbiology*, 145; 1491-1497.

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

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 & Biodegradation*, 5; 177-183.

Bento, F.M., Gaylerde, C. 1996. Microbial contamination of stored diesel oil in Brazil. *Review of microbiology*, 27; 192-196.

Berger, D.M. 1990. *Corrosion theory*. Gilbert, Commonwealth companies, ISBN 978-0-07-148243-1, p. 308.

Beveridge, T.J., Makin, S.A., Kadurugamuwa, J.L., Li, Z. 1997. Interaction between biofilms and the environment. *FEMS Microbiology Reviews*, 20; 291-303.

Booth, G.H. 1964. Sulphur bacteria in relation to corrosion. *Journal of applied bacteriology*, 27; 174-181.

Borenstein, S.W. *Microbiologically influenced corrosion handbook*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 1994.

Borenstein, S. Microbiologically Influenced Corrosion Handbook, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, 1996.

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

Chang, X., Chen, S., Gao, G., Yin, Y., Cheng, S., Liu, T. 2009. Electrochemical behavior of microbiologically influenced corrosion on Fe₃Al in marine environment. *Acta Metallurgica Sinica (English Letters)*, 22; 313-320.

Chapman, J.S. 2003. Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51; 271-276.

Choi, D.J., You, S.J., Jung-Gu, K. 2002. Development of an environmentally safe corrosion, scale, and microorganism inhibitor for open recirculating cooling systems. *Materials Science and Engineering A*, 335; 228-236.

Christensen, B.E. 1989. The role of extracellular polysaccharides in biofilms. *Journal of Biotechnology*, 10; 181-202.

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

Cloete, T.E., Brözel, V.S. 1992. Practical aspects of biofouling control in industrial water systems. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 29; 299-341.

Codony, F., Morato, J., Ribas, F., Mas, J. 2002. Effect of chlorine, biodegradable dissolved organic carbon and suspended bacteria on biofilm development in drinking water systems. *Journal of Basic Microbiology*, 42; 311-319.

Cloete, T.E. 2003. Biofouling control in industrial water systems: What we know and what we need to know. *Materials Corrosion*, 54; 520-526.

Cole, I.S., Marney, D. 2010. The science of pipe corrosion: a review of the literature on the corrosion of ferrous metals in soils. *Corrosion Science* 56; 5-16.

Crawford, J. A guide of pumping and piping arrangement, 1978, p. 77.

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

Çetinkaya, E. 2006. Çinko-Nikel alaşım kaplamalarının karakteristiklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.

De Bruyn, E. 1992. Microbial ecology of sulphide-producing bacteria in water cooling systems. PhD Thesis, University of Pretoria.

Dong, Z.H., Hong, W.S., Ruan, M., Zhang, G.A. 2011. Heterogeneous corrosion of mild steel under SRB-biofilm characterised by electrochemical mapping technique. *Corrosion Science*, 9; 2978-2987.

Dunne, M.W. 2002. Bacterial adhesion: Seen any good biofilms lately?, *Clinical Microbiology Reviews*, 15; 155-166.

Durmoo, S., Richard, C., Beranger, G., Mouti, Y. 2008. Biocorrosion of stainless steel grade 304L (SS304L) in sugar cane juice. *Electrochimica Acta*, 54; 74-79.

Dynes, J.J., Rema, T., Lawrence, J.R., Swerhone, G.D.W., Hitchcock, A.P., Leppard, G.G., Obst, M., Kaznatcheev, K., Bertwhistle, D., Karunakaran, C., Korber, D.R. 2007. STXM and SR-IR analysis of *Delftia acidovorans* biofilms exposed to Chlorhexidine. *Surveill. Rep. EPS. Environment. Canada*, 104; 104-105.

Fang, H.H.P., Xu, L., Chan, K. 2002. Effect of toxic metals and chemicals on biofilm and biocorrosion. *Water Resource*, 36; 4709-4716.

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

Felloni, L., Fratesi, R., Quadrini, E., Roventi, G. 1987. Electrodeposition corrosion of Zn-Ni alloy from a chloride solution. *Journal of Applied Electrochemistry*, 17 (3); 574-582.

Flemming, H.C. 1996. Biofouling and microbiologically influenced corrosion(MIC) an economical and technical overview. In: Heitz, E., Sand, W., Flemming, H.C (eds.), *Microbial Deterioration of Materials*, p. 5–14, Springer, Heidelberg, 3-527-28624-1.

Flemming, H.C. 2003. Role and levels of real-time monitoring for successful anti-fouling strategies - an overview. *Water Science & Technology*, 47; 1-8.

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

Ford, T., Mitchell, R. 1990. The ecology of microbial corrosion. *Advances in microbial ecology*, 11; 231-262.

Gaines, R.H. 1910. Bacterial activity as a corrosion influence in the soil. *Journal of engineering for industrial chemistry*, 2; 128-130.

Gamburg, Y.D., Grosheva, M.Y., Biallozor, S. 2001. The electrochemical desorption of nickel from electrolytes containing malonic acid. *Surface & Coating Technology*, 150; 95-100.

Giacobone, A.F., Rodriguez, S.A., Burkart, A.L., Pizarro, R.A. 2011. Microbiological induced corrosion of AA 6061 nuclear alloy in highly diluted media by *Bacillus cereus* RE 10. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65; 1161-1168.

Gilbert, P.T., Shreir, L.L., Jarman, R.A., Burstein, G.T. (Eds.). 1995. Corrosion: Metal/Environment Reaction, third ed., Butterworth-Heinemann Ltd., Linacre House, Jordan Hill, Oxford OX2 8DP, p, 4:38, 4:58.

Gomez-Suarez, C., Pasma, J., Van der Borden, A.J., Wingender, J., Flemming, H.C., Busscher, H.J, Van der Mei, H.C. 2002. Influence of extracellular polymeric substances on deposition and redeposition of *Pseudomonas aeruginosa* to surfaces. *Microbiology*, 148; 1161-1169.

Gomez, E., Pane, S., Valles, E. 2005. Electrodeposition of Co–Ni and Co–Ni–Cu systems in sulphate–citrate medium. *Electrochimica Acta*, 51; 146-153.

Gounot, A.M. 1994. Microbial oxidation and reduction of manganese: Consequences in groundwater and applications. *FEMS microbiology reviews*, 14; 339-350.

Guilbault, G. G., Luong, J. H. 1988. Gas phase biosensors. *Journal of Biotechnology*, 9; 1-29.

Gürü, M., Yalçın, H. 2004. Malzeme bilgisi, Palme Yayıncılık, Ankara, 173-190.

Hadley, R.F. 1948. Corrosion by micro-organisms in aqueous and soil environments. In: UHLIG, H.H. (ed), *Corrosion handbook*, p. 466-470, John Wiley & Sons, USA.

Hamilton, W.A. 1985. Sulphate reducing bacteria and anaerobic corrosion. *Annual review of microbiology*, 39; 195-217.

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.

Herbert, B.N. 1997. *Laboratory & on-site Microbiology Tests; An Overview*, Shell Research Ltd. Sittingbourne Research Centre, Sittingbourne, Kent.

Iverson, W.P. 1987. Microbial corrosion of metals. *Advances in applied microbiology*, 32; 1-36.

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

Jack, T.R. 2002. *Biological corrosion failures*, Nova Chemicals Ltd., March: 1-18.

Javaherdashti, R. 2008. *Microbiologically influenced corrosion: an engineering insight Handbook*, Springer Ltd, Verlag London.

Jayaraman, A., Örnek, D., Duarte, D.A., Lee, C.C., Mansfeld, F.B., Wood, T.K. 1999. Axaenic aerobic biofilms inhibit corrosion of copper and aluminum. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52; 787-790.

Jones, D.A. 1996. Principles and prevention of corrosion, second ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 1996, p, 518.

Kakalis, A., Panayiotou, C. 2011. Characterization of interfaces formed between thin, poly(l-lactic acid) polymer films and quartz crystal microbalance, sensor substrates with high frequency impedance analysis. *Sensors and Actuators A: Physical*, 169; 59-65.

Kemmling, A., Kamper, M., Flies, C., Schieweck, O., Hoppert, M. 2004. Biofilms and extracellular matrices on surfaces. *International Journal of Geosciences*, 10; 1-13.

Kjelleberg, S., Molin, S. 2002. Is there a role for quorum sensing signals in bacterial biofilms?. *Current Opinion in Microbiology*, 5; 254-258.

Koehler, W.A. 1944. Principles and Applications of Electrochemistry, John Wiley and Sons Inc.

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; 165-94.

Lee, T.H. 2004. The design of CMOS radio-frequency integrated circuits (Second Edition ed.). Cambridge UK: Cambridge University Press. p. 451–453. ISBN 0-521-83539-9.

Li, F., An, M., Liu, G., Duan, D. Effects of sulfidation of passive film in the presence of SRB on the pitting corrosion behaviors of stainless steels. *Materials Chemistry and Physics*, 113; 971-976.

Little, B.J., Wagner, P., Hart, K., Ray, R., Lavoie, D., Nealson, K., Aguilar, C. 1997. The role of metal-reducing bacteria in microbiologically influenced corrosion. *Proc. NACE Corrosion 97*. NACE International, Houston, 215.

Loo, C.Y., Sudesh, K. 2007. Biosynthesis and native granule characteristics of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in *Delftia acidovorans*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40; 466-471.

Loosdrecht, M.C.M., Lyklema, J., Norde, W., Zehnder, A.J.B. 1990. Influence on interfaces on microbial activity. *Microbiology Reviews*, 54; 75-87.

Ludensky, M. 2003. Control and monitoring of biofilms in industrial applications *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51; 255-263.

Madigan, M.T. Martinko, J.M. Parker, J. 2002. Brock microbiology of microorganisms, tenth ed., Prentice Hall, Upper Saddle River.

Mah, T.C., O'toole, G.A. 2001. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents, *Trends in Microbiology*, 9; 34-39.

Marcus, P. 2002. Corrosion mechanisms in theory and practice, Marcel Deccer Inc., New York, 577-578.

- Melo, L.F., Bott, T.R. 1997. Biofouling in water systems. *Experimental Thermal and Fluid Science*, 14; 375-381.
- Moreno, D.A., Ibars, J.R. 1992. Use of potentiodynamic polarization to assess pitting of stainless steels by sulphate reducing bacteria. *Corrosion*, 226-228.
- Myers, C., Nealson, K.H. 1988. Bacterial manganese reduction and growth with manganese oxide as the sole electron acceptor. *Science*, 240; 1319-1321.
- Nercessian, D., Duville, F. B., Desimone, M., Simison, S., and Busalmen, J. P. 2010. Metabolic turnover and catalase activity of biofilms of *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 17552) as related to copper corrosion. *Water Research*, 44; 2592-2600.
- Obuekwe, C.O., Westlake, D.W.S., Plambeck, J.A., Cook, F.D. 1981. Corrosion of mild steel in cultures of ferric iron reducing bacterium isolated from crude oil I. Polarization characteristics. *Corrosion*, 37 (8); 461-467.
- O'Sullivan, C.K., Guilbault, G.G. 1999. Commercial quartz crystal microbalances-theory and applications. *Biosensors and Bioelectronics* 14; 663-6
- Ørmena, Ø., Reguea, M.Q., Tomas, J.M., Granum, P.E. 2003. Studies of aerolysin promoters from different *Aeromonas* spp. *Micropath*, 35; 189-196.
- Pablos, M., Rodríguez-Calleja, J.M., Santos, J.A. Otero, A., García-López, M.L. 2009. Occurrence of motile *Aeromonas* in municipal drinking water and distribution of genes encoding virulence factors. *International Journal of Food Microbiology*, 135; 158-164.
- Padilla-Viveros, A., Garcia-Ochoa, E., Alazard, D. 2006, Comparative electrochemical noise study of the corrosion process of carbon steel by the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio alaskensis* under nutritionally rich and oligotrophic culture conditions. *Electrochimica Acta*, 51; 3841-3847.
- Parbery, D.G. 1968. The role of *Cladosporium resinae* in the corrosion of aluminum alloys. *International biodeterioration bulletin*, 4 (1); 79-80.
- Pedersen, A., Kjelleberg, S., Hermansson, M. 1998. A screening method for bacterial corrosion of metals. *Journal of Microbiological Methods*, 8; 191-198.
- Pompermayer, D.M.C, Gaylarde, C.C. 2000. The influence of temperature on the adhesion of mixed cultures of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to polypropylene. *Food Microbiology*, 17; 361-365.
- Popov, B.N., Kumaraguru, S.P. 2005. Cathodic protection of pipelines, *Handbook of environmental degradation of materials*, pp. 503-521.
- Prescott, L. M., Harley, J.P., Klein, D.A. 1990. *Microbiology*, Wm. C. Brown Publishers, USA, 0-07-111216-2.
- Ramanauskas, R. 1999. Structural factor in Zn alloy electrodeposit corrosion. *Applied Surface Science*, 153; 53-64.

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

Reipa, V., Almeida, J., Cole, K.D. 2006. Long-term monitoring of biofilm growth and disinfection using a quartz crystal microbalance and reflectance measurement. Journal of Microbiological Methods, 66; 449-459.

Roberts, D.J., Nica, D., Zuo, G., Davis, J.L. 2002. Quantifying microbially induced deterioration of concrete: initial studies. International biodeterioration and biodegradation, 49; 227-234.

San, N. O., Nazır, H., Dönmez, G. 2012. Microbiologically influenced corrosion of NiZn alloy coatings by *Delftia acidovorans* bacterium. Corrosion Science, 64; 198-203.

Saraç, A.S. 1995. Metal Kaplama ve Elektrokimyasal Teknolojiler, Çağlayan Kitabevi. Videla, H.A. 1996. Manual of biocorrosion, CRC Press, UK, 0873717260.

Sastri, V.V. 1998. Corrosion inhibitors, principles and applications, John Wiley and Sons, Inc., England, 10-24, 33-46.

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

Schwartz, T., Hoffmann, S., Obst, U. 1998. Formation and bacterial composition of young, natural biofilms obtained from public bank-filtered drinking water systems. Water Resource, 32; 2787-2797.

Short, N.R., Zhou, S., Dennis, J.K. 1996. Electrochemical studies on the corrosion of a range of zinc alloy coated steel in alkaline solutions. Surface & Coatings Technology, 79; 218-224.

Shreir, L.L., Burnstein, G.T., Butterworth-Heinemann, S.A. Corrosion Volume I Metal/Environment Reactions, Jordan Hills, Oxford OX2 8DP 2000 p. 1432.

Tunail, N. 2009. Mikrobiyoloji, 1. Basım PalmeYayıncılık.

Stadler, R., Fuerbeth, W., Harneit, K., Grooters, M., Woellbrink, M., Sand, W. 2008. First evaluation of the applicability of microbial extracellular polymeric substances for corrosion protection of metal substrates. Electrochimica Acta, 54; 91-99.

Starosvetsky, J., Starosvetsky, D., Armon, R. 2007. Identification of microbiologically influenced corrosion (MIC) in industrial equipment failures. Engineering Failure Analysis, 14; 1500-1511.

Steele, A., Goddard, D.T., Beech, I.B. 1994. An atomic force microscopy study of the biodeterioration of stainless steel in the presence of bacterial biofilms. International Biodeterioration & Biodegradation, 34; 35-46.

- Stott, J.F.D. 2010. Corrosion in Microbial Environments, Shreir's Corrosion, Chapter 2.20, p, 1169-1190.
- Sungur, E.I., Cotuk, A. 2010. Microbial corrosion of galvanized steel in a simulated recirculating cooling tower system. *Corrosion Science*, 52; 161–171.
- Türetgen, İ. 2004. Comparison of free residual chlorine and monochloramine for efficacy against biofilms in model and full scale cooling towers. *Biofouling*, 20; 81-85.
- Üneri, S. 1998. Korozyonun temel ilkeleri, SAGEM, s. 462.
- Valcarce, M.B., Sanchez, S.R., Vazquez, M. 2005. Localized attack of copper and brass in tap water: the effect of *Pseudomonas*. *Corrosion Science*, 47; 795–809.
- Videla, H.A. Manual of Biocorrosion, Lewis Publishers/CRC Press Incorporated, Boca Raton, FL, 1996.
- Videla, H.A. 2002. Prevention and control of biocorrosion. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 49; 259-270.
- Videla, H.A. 2003. Biocorrosion and biofouling of metals and alloys of industrial usage. Present state of the art at the beginning of the new millennium. *Review Metal Madrid Volume Extra*, 256-264.
- Videla, H.A., Herrera, L.K. 2005. Microbiologically influenced corrosion: looking to the future. *International Microbiology*, 8; 169-180.
- Von Wolzegen Kühr, C.A. H., Van Der Vlught, L.S. 1934. The graphitization of cast iron as an electrochemical process in anaerobic soils, *Water*, 18; 147-165.
- Wagner, D., Chamberlain, A.H.L., Fischer, W.R., Wardell, J.N., Sequeira, C.A. C. 1997. Microbiologically influenced corrosion of copper in potable water installations-A European project review. *Materials and Corrosion*, 48; 311-321.
- Wang, L., Gao, Y., Xue, Q., Liu, H., Xu, T. 2005. Microstructure and tribological properties of electrodeposited Ni-Co alloy deposits. *Applied Surface Science*, 242; 326-332.
- Wang, H., Estrin, Y., Zúberová, Z. 2008. Bio-corrosion of a magnesium alloy with different processing histories. *Materials Letters*, 62; 2476-2479.
- Weimer, P.J., Van Kavelaar, M.J., Michel, C.B. Ng, T.K. 1988. Effect of phosphate on the corrosion of carbon steel and on the composition of corrosion products in two-stage continuous cultures of *Desulfovibrio desulfuricans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 54; 386-396.
- Wen, M., Fegan, C., Hayward, S., Chakraborty, L., Sly, I. 1999. Phylogenetic relationships among members of the Comamonadaceae, and description of *Delftia acidovorans* (den Dooren de Jong 1926 and Tamaoka et al. 1987) gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49; 567-576.

Xiao, C., Ning, J., Yan, H., Sun, X., Hu, J. 2009. Biodegradation of aniline by a newly isolated *Delftia* sp. XYJ6. Chinese Journal of Chemical Engineering, 17; 500-505.

Yalçın, H., Koç, T. 1991. Demir çelik yapıların korozyonu ve katodik korunması, İller Bankası Yayıncılık, Ankara, s. 47.

Yaro, A.S., Al-Jendeel, H., Khadom, A.A. 2011. Cathodic protection system of copper–zinc–saline water in presence of bacteria. Desalination, 270; 193-198.

Yin, Y., Cheng, S., Chen, S., Tian, J., Liu, T., Chang, X. 2009. Microbially influenced corrosion of 303 stainless steel by marine bacterium *Vibrio natriegens*: (II) Corrosion mechanism, 29; 756–760.

Ytreberg, E., Karlsson, J., Eklund, B. 2010. Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from anti-fouling paints leached in natural and artificial brackish seawater. Science of The Total Environment, 408; 2459-2466.

Yuan, S.J., Pehkonen, S.O. 2007. Surface characterization and corrosion behavior of 70/30 Cu–Ni alloy in pristine and sulfide-containing simulated seawater. Corrosion Science, 49; 1276–1304.

Yuan, S.J., Choong, A.M.F., Pehkonen, S.O. 2007. The influence of the marine aerobic *Pseudomonas* strain on the corrosion of 70/30 Cu–Ni alloy. Corrosion Science, 49; 4352-4385.

Zhang, X., Bishop, P. L., Kinkle, K. 1999. Comparison of extraction methods for quantifying extracellular polymers in biofilms. Water Science & Technology, 39; 211-218.

Zhou, W. 2010. System reliability of corroding pipelines. International Journal of Pressure Vessels and Piping, 87; 587-595.

<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

(http://www.gamry.com/App_Notes/EIS_Primer/EIS_Primer.htm, 2012).

ÖZGEÇMİŞ

| | |
|------------------------|--|
| Doğum Yılı: | 1982 |
| Yazışma Adresi: | Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı 06100 Tandoğan Ankara/Türkiye |
| E-posta: | nalanoyasan@gmail.com |

EĞİTİM BİLGİLERİ

| Ülke | Üniversite | Fakülte/Enstitü | Öğrenim Alanı | Derece | Mezuniyet Yılı |
|--|---------------------|-------------------------|---------------------|---------------|----------------|
| Türkiye | Ankara Üniversitesi | Biyoteknoloji Enstitüsü | Temel Biyoteknoloji | Doktora | 2012 |
| Tez Konusu: Aerobik bakterilerin nikel alaşımlarının korozyonuna etkisinin araştırılması (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gönül Dönmez, Eş Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan Nazır) | | | | | |
| Türkiye | Ankara Üniversitesi | Biyoteknoloji Enstitüsü | Temel Biyoteknoloji | Yüksek Lisans | 2007 |
| Tez Konusu: Ağır metal ve boyar madde içeren atıksuların <i>Rhodotorula</i> sp. ile arıtımı (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gönül Dönmez) | | | | | |
| Türkiye | Gazi Üniversitesi | Fen Edebiyat Fakültesi | Biyoloji | Lisans | 2005 |

TEZLERDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

DOKTORA TEZİNDEN ÜRETİLMİŞ SCI KAPSAMINDA YAYINLAR

San, N.O., Nazır, H., Dönmez, G., 2011. Microbial corrosion of Ni-Cu alloys by *Aeromonas eucrenophila* bacterium. Corrosion Science. 53: 2216-2221.

San, N.O., Nazır, H., Dönmez, G., 2012. Microbiologically influenced corrosion failure analysis of Nickel-Copper alloy coatings by *Aeromonas salmonicida* and *Delftia acidovorans* bacterium isolated from pipe system. Engineering Failure Analysis, 25: 63-70.

San, N.O., Nazır, H., Dönmez, G., 2012. Microbiologically influenced corrosion of NiZn alloy coatings by *Delftia acidovorans* bacterium. Corrosion Science, 64: 198-203.

San, N.O., Nazır, H., Dönmez, G., 2012. The effect of *Aeromonas eucrenophila* on microbiologically induced corrosion of the Nickel-Zinc Alloy. International Biodeterioration & Biodegradation. In press.

**DOKTORA TEZİNDEN ÜRETİLMİŞ ULUSAL HAKEMLİ DERGİLERDE
YAYINLANAN MAKALELER**

San, N.O. and Nazır, H., **2009**. The influence of *Pseudomonas aeruginosa* on corrosion behavior of nickel-cobalt alloy. Communications. 56 (2): 1-9.

DOKTORA TEZİ DIŞINDA ÜRETİLMİŞ SCI KAPSAMINDA YAYINLAR

San, N.O., Nazır, H., Dönmez, G., **2012**. Evaluation of microbiologically influenced corrosion inhibition on Ni-Co alloy coatings by *Aeromonas salmonicida* and *Clavibacter michiganensis*. Corrosion Science. 65: 113-118.

YÜKSEK LİSANS TEZİNDEN ÜRETİLMİŞ SCI KAPSAMINDA YAYINLAR

San, N.O., Dönmez, G., **2012**. Biosorption of chromium(VI), nickel(II) and remazol blue by *Rhodotorula muciliginosa* biomass. Water Science and Technology. 65(3): 471-477.

Ertuğrul, S., **San, N.O.**, Dönmez, G., **2009**. Treatment of dye (Remazol Blue) and heavy metals using yeast cells with the purpose of managing polluted textile wastewaters. Ecological Engineering. 35: 128-134.



Microbial corrosion of Ni–Cu alloys by *Aeromonas eucrenophila* bacterium

Nalan Oya San^a, Hasan Nazır^b, Gönül Dönmez^{c,*}

^a Ankara University, Institute of Biotechnology, 06100 Beşevler-Ankara, Turkey

^b Faculty of Science, Department of Chemistry, 06100 Beşevler-Ankara, Turkey

^c Faculty of Science, Department of Biology, 06100 Beşevler-Ankara, Turkey

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 August 2010

Accepted 1 March 2011

Available online 5 March 2011

Keywords:

- A. Alloy
- A. Copper
- B. EIS
- C. Microbiological corrosion
- A. Nickel
- B. SEM

ABSTRACT

The corrosion behavior of Ni–Cu alloy in Nutrient Broth medium (peptone from meat 5.0 g, meat extract (N source) 3.0 g, and sodium chloride 6.0 g in 1 L) and in the presence of *Aeromonas eucrenophila*, isolated from water treatment system, has been studied using electrochemical techniques. Results showed that the polarization curves exhibiting a cathodic shift of the corrosion potential confirmed the increase in the corrosion rates. According to EIS data lower Q_{CPE} value for 5 h indicates surface inhomogeneity resulting from surface metal roughening, which is the likely cause of the enhanced dissolution of the metal also observed in SEM micrographs. In addition, the pH values of the medium did not change throughout the experiment; however, after immersion the pH value decreased to acidic value and caused corrosion.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Due to their corrosion resistance, mechanical ductility, excellent electrical and thermal conductivity, Ni–Cu alloys are used extensively as pipelines and structural materials [1–3]. Nevertheless, Ni–Cu alloys are sensitive to microbiologically-influenced corrosion [4]. Microbial communities rapidly colonize and strongly adhere to metal surfaces that are in contact with natural or industrial aquatic environments, known as “biofilms”. Biofilm formation protects microbial cells from the external environment, but this formation is also harmful to the lower substratum, in case of the physical degradation or bio-deterioration of the metal surface. This situation is called microbiologically influenced corrosion (MIC) or bio-corrosion [5–7]. The most widespread problems from microbial biofilm’s corrosive tendencies in systems are damaging expensive equipment, loss of production and increased maintenance costs [8,9]. Therefore, the determination of how aerobic and anaerobic bacteria influence the corrosion behavior of metals and alloys is significant, as it may provide helpful insights in controlling bio-corrosion and MIC in aquatic environments. One of the bacterium isolated from water sample of the water treatment system was *Aeromonas eucrenophila*, a Gram-negative, rod shaped, mainly motile, facultative anaerobic, oxidase positive and glucose-fermenting bacterium. *Aeromonas* spp. is ubiquitous in aquatic environments, such as fresh and coastal water, sewage and wastewater. Among the 14 species currently belonging to this genus, only five (*A. hydrophila*, *A. veronii*, *A. caviae*,

A. jandaei, and *A. schubertii*) are recognized as human pathogens [10,11].

The present study examines the influence of *A. eucrenophila* on the corrosion behavior of Ni–Cu alloy in Nutrient Broth medium using electrochemical techniques. In addition, scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectra (EDS) analysis were used in this study to examine the surfaces after the corrosion measurements. Changes in the pH level were followed using exponential phase bacterium. The surface biofilm and scraped surface biofilm was also examined using FT-IR spectroscopy.

2. Experimental method

This study was performed using pure cultures of the *A. eucrenophila* isolated from water samples taken from the microbiologically corroded water treatment system. Samples were spread on Petri plates containing Nutrient Agar medium. The composition of the N. Agar medium is peptone from meat 5.0 g, meat extract (N source) 3.0 g, sodium chloride 6.0 g and agar 15 g in 1 L. Plates were incubated at 30 ± 1 °C on a rotary shaker at 100 rpm (New Brunswick Scientific Innova 4230) for 7–10 days. Cells from the micro-colonies were isolated and purified on these plates by streaking the cells repeatedly on the N. Agar medium plates. The isolated bacterium was characterized on the basis of 16S rRNA sequences and submitted to NCBI under Accession No. GQ466170 [12]. Pure cultures were kept at 4 °C and transferred them to N. Agar medium every 3 months.

The bacterium was cultured for 24 h in a 100 mL Erlenmeyer flask containing 20 mL of the N. Broth medium on a rotary shaker (30 ± 1 °C, 100 rpm). Cultured bacterium was centrifuged at 5000g,

* Corresponding author. Tel.: +90 312 212 67 20; fax: +90 312 223 23 99.

E-mail address: gdonmez@ankara.edu.tr (G. Dönmez).

10 min (Hettich EBA12), and then used for bio-corrosion experiments. A 1% v/v 24 h bacterial culture ($OD_{600} \sim 2.4$) was used for all experiments to ensure reproducibility [13].

The bacterium density was calculated by measuring optical density (OD) at a wavelength of 600 nm with a UV–vis spectrophotometer (SHIMADZU, UV-1201 V, Japan). Cell number calculation was based on the standard calibration with the assumption that an OD value of 1.0 is equivalent to $\sim 10^9$ cells/mL. The growth curve of bacterium was determined from the OD measurements. The exponential phase was achieved after 24 h with an OD value of approximately 2.4.

Electrochemical measurements were carried out in a conventional three-electrode cell with a capacity of 4 mL. The OCP, polarization curves and EIS were measured using CompactStat Potentiostat (IviumStat, The Netherlands). The EIS measurements were carried out at 5 mV (root mean square) applied voltage at sinusoidal wave in the frequency range of 20 kHz–50 mHz. The EIS measurements were conducted at the end of OCP 5 h which was enough for biofilm formation. The Tafel polarization curves were obtained by scanning from the open circuit potential towards 200 mV anodically and cathodically at a scan rate of 1 mV/s. The QCM measurements were carried out in a Model 400A time-resolved quartz crystal microbalance (CH Instrument, USA) linked to a computer equipped with electrochemistry software (CHI400A). The working electrode used in QCM was gold AT-cut quartz crystal (CHI125A). The surface area of a gold crystal was 0.204 cm² and its nominal resonant frequency was 7.995 MHz. ST-42 carbon steel with a surface area of 0.204 cm² was also used as a working electrode in other electrochemical studies. The Ag/AgCl (sat. KCl) electrode (CHI111) was used as the reference electrode and a platinum wire (CHI115) was used as counter electrode for all experiments. Ni–Cu alloy was electrodeposited from a nickel–copper bath containing NiSO₄·7H₂O (86 g/L), NiCl₂·6H₂O (1.46 g/L), H₃BO₃ (2.64 g/L) and CuSO₄·5H₂O (3.84 g/L). The same thickness for all coatings, electrodeposition was performed chronoamperometrically and applied –0.9 V (vs. Ag/AgCl) to the electrolysis system for 60 s during the Ni–Cu coatings, respectively. The Ni and Cu contents of the deposit were also verified with atomic absorption spectrophotometer. So, the yield of coating for bath content was assumed as 100%, the coated Ni–Cu ratio was calculated as 1.2:1 (w/w). Using the bathing solution explained, we electroplated the Ni–Cu thin film with a thickness of approximately 100 nm on one side of the quartz crystal electrodes. Data acquisition software was used to record the mass change. Frequency change, Δf , was converted into the mass variation, Δm , using the Sauerbrey equation [14]:

$$\Delta f = -\frac{2f_0^2 \eta \Delta m}{A \sqrt{\rho \mu}}$$

where f_0 is the resonant frequency of the fundamental mode of the quartz resonator, n is the harmonic number of the oscillation (here $n = 1$), A is the piezoelectrically active surface area, ρ is the quartz crystal density ($\rho = 2.684$ g/cm³) and μ is the shear modulus of quartz ($\mu = 2.947 \times 10^{11}$ g/cm s²). The theoretical thickness (T_r , cm) of the deposits was calculated from $\Delta m/\rho$ (density g/cm³).

To investigate the changes in the pH level, we carried out corrosion of Ni–Cu alloys experiments into laboratory conditions. To compare the influence of the bacteria, pH changes in medium and medium inoculated with bacterium were measured 300 min after inoculation, corresponding to the OCP time.

Surface morphology of the Ni–Cu discs was examined using Scanning Electron Microscopy and performed elemental analysis with Energy Dispersive X-ray Spectra (JEOL JSM-7000F Field Emission SEM-EDAX). Disc surfaces containing biofilm was analyzed using FT-IR spectroscopy through an Affinity-1 model equipped

with ATR (Shimadzu, Japan). Measurements of the Ni–Cu coated steel discs were made in the medium and the 5 h inoculated medium and 7 day inoculated medium in a 20 mL glass flask containing 4 mL Nutrient Broth medium inoculated with 10 μ L bacterium. At the end of 5 h, the disc was fixed in the sample holder and then analyzed. We also analyzed the disc containing EPS at the end of 7th day by scratching and drying the disc in the air.

3. Results and discussion

The corrosion potentials of Ni–Cu electrodes exposed in medium and inoculated medium were shown in Fig. 1. The E_{OCP} value of the Ni–Cu alloys in the medium with bacterium (–0.60 V (vs. Ag/AgCl)) showed a lower OCP than the medium (–0.59 V (vs. Ag/AgCl)). The figure shows that the corrosion potential curves between the electrodes exposed in the medium with bacterium and without bacterium are different tendency. In the *A. eucrenophila* containing medium, that is concurrently connected to the corroding surface, most probably due to a biofilm formation [15]. On the other hand, QCM is capable of detecting small mass changes in the region of ng/cm² under controlled electrochemical conditions in aqueous solutions [16–18]. Fig. 2 shows the results of an experiment where the change of the resonance frequency of a quartz crystal was monitored continuously during the corrosion process for 5 h onto the gold surface of the crystal. The negative slopes of the mass vs. time curves, as shown Fig. 2, are proportional to the corrosion rate, decreases slightly over this period. At the end of 5th h the mass loss of the medium was –2.12 μ g, while the mass loss of the inoculated medium was –2.96 μ g. It was clear that the medium inoculated with *A. eucrenophila* was more corrosive.

The polarization curves of the Ni–Cu electrodes immersed in the medium and inoculated medium after incubation periods of 60 min and 5 h are shown in Fig. 3. Values of the electrochemical corrosion parameters (corrosion potential, E_{corr} ; corrosion current, i_{corr} ; corrosion current density, I_{corr} ; anodic Tafel slope, β_a ; cathodic Tafel slope, β_c) are shown in Table 1. After being immersed in medium for 5 h, we observed that the corrosion potential of Ni–Cu electrodes was –0.59 V (vs. Ag/AgCl). However, the corrosion potential of Ni–Cu electrodes in the medium inoculated with the bacterium for 60 min shifted to cathodic site, –0.63 V (vs. Ag/AgCl) means the increased rate of corrosion. At the end of 5 h, the corrosion potential of the biofilm formation shifted to anodic site, –0.60 V (vs. Ag/AgCl). In addition increase of corrosion current and corrosion current densities with an increase in incubation time, which means the increased rate of corrosion and the pitted and creviced surface.

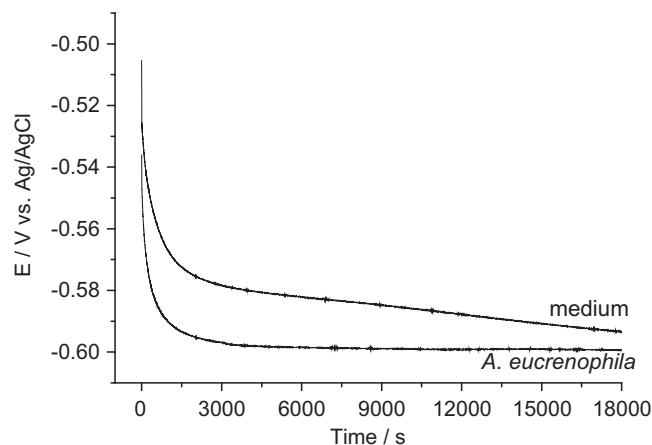


Fig. 1. Variation of OCP of Ni–Cu electrodes immersed in sterile medium and *Aeromonas eucrenophila* inoculated medium.

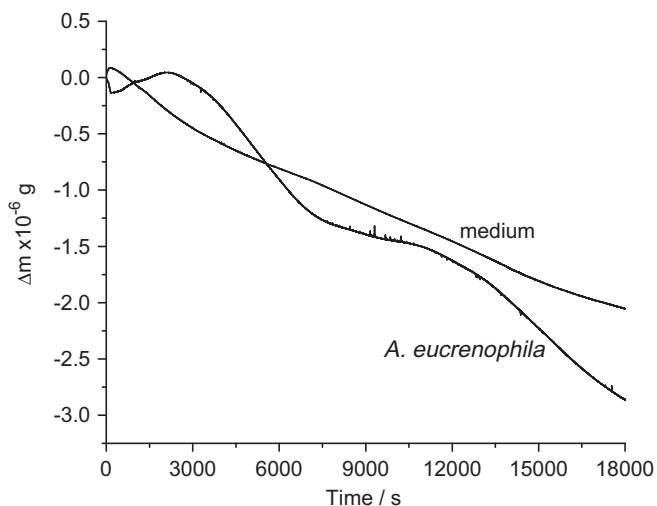


Fig. 2. Time dependence of mass changes of Ni-Cu electrodes in sterile medium and *Aeromonas eucrenophila* inoculated medium, at the room temperature.

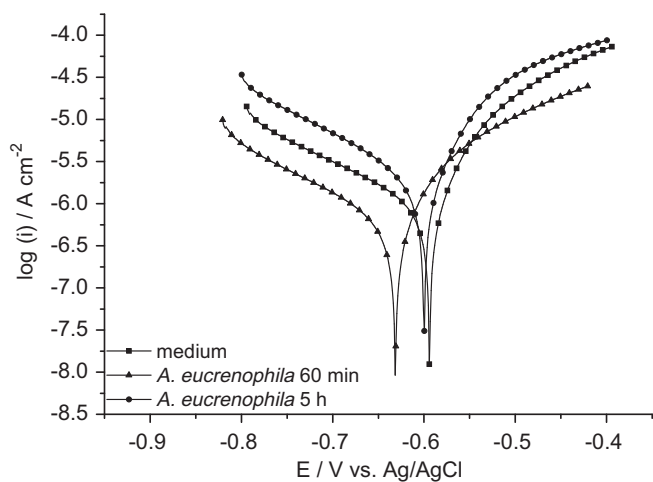


Fig. 3. The polarization curves of Ni-Cu alloy in sterile medium and *Aeromonas eucrenophila* inoculated medium.

Table 1

The corrosion parameters determined from the Tafel plots for Ni-Cu alloy in the sterile and *A. eucrenophila* inoculated medium.

| | Sterile medium | | After inoculation | |
|---|----------------|---------|-------------------|--|
| | 5 h | 60 min | 5 h | |
| E_{corr} V vs. Ag/AgCl | -0.59 | -0.63 | -0.60 | |
| i_{corr} (μA) | 0.59 | 0.51 | 0.77 | |
| I_{corr} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$) | 2.89 | 2.50 | 3.77 | |
| Anodic tafel slope β_a (V/dec) | 0.08 | 0.12 | 0.06 | |
| Cathodic tafel slope β_c (V/dec) | 0.27 | 0.34 | 0.17 | |
| R_p ($\Omega \text{ cm}^2$) | 93,247 | 16,4591 | 55,615 | |

Fig. 4 shows the EIS and equivalent circuits used in the analysis of Ni-Cu alloy in both the medium and in the inoculated medium. We obtained the impedance graphs for the Ni-Cu alloys fitted double-layer equivalent circuits through exposing them to various experimental conditions. Based on the equivalent circuit, the EIS data fit well with the parameters by using EIS Spectrum Analyzer (Beta version) [19]. In the circuit, R_s is the resistance of solution, R_p is the resistance of inhibitor film pore and R_{ct} is the resistance of charge transfer. Q_{CPE} and Q_{dl} are the CPE parameters for the

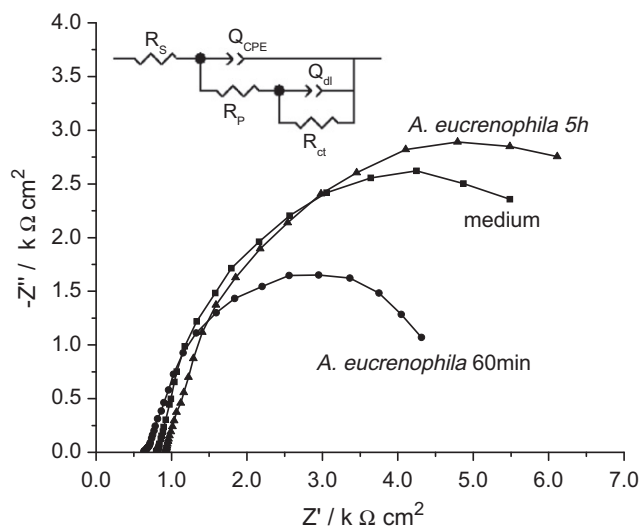


Fig. 4. The EIS and equivalent circuit of Ni-Cu alloy in the sterile medium and *Aeromonas eucrenophila* inoculated medium.

inhibitor film and the double layer. The fitting parameters of the EIS for Ni-Cu alloys in the medium and *A. eucrenophila* inoculated medium were shown in Table 2. The inspection of R_p , related to the resistance of the biofilm formed upon the surface, shows an increase from $347.3 \Omega \text{ cm}^2$ in the medium to $738 \Omega \text{ cm}^2$ after 5 h inoculation. After a certain time, the increase in R_p values may be attributed to the increased porosity of the biofilm. The increase in the charge transfer resistance value at the 60th min and 5th hour is due to the build-up of corrosion products on the alloy's surface in the bacterium's presence. In this context, we can use Q_{CPE} as the measure of surface inhomogeneity, with its decrease connected with a certain increase at surface metal roughening [20–22]. The lower Q_{CPE} value for 5 h indicates surface inhomogeneity resulting from surface metal roughening, which is the likely cause of the enhanced dissolution of the metal.

Fig. 5a shows the SEM images of the Ni-Cu disc surfaces immersed in the medium for 5 h. The NiO and CuO components can be seen clearly. Previously, the toxicity of copper to microorganisms has led to the opinion that Ni-Cu alloys have anti-fouling properties [23]. Nevertheless, microorganisms, including bacteria, microalgae and fungi, can easily attach themselves to the surface of Ni-Cu alloy by producing extra-cellular polymeric substances to develop a slime layer [24–26]. In addition pitting and crevice corrosion existed on the surface of alloy in the sterile medium because of sodium chloride is one of the mediums content.

As displayed in Fig. 5b after 5 h of immersion in the medium with bacterium, we partially covered the Ni-Cu surface with clusters of microbial cells, extra-cellular polymeric substance (EPS) and metabolism products. In addition, in Fig. 5c and d, more pitting and

Table 2

Electrochemical model impedance parameters of the Ni-Cu alloy in the medium and *A. eucrenophila* inoculated medium.

| | Sterile medium | | After inoculation | |
|---|----------------|--------|-------------------|--|
| | 5 h | 60 min | 5 h | |
| R_s | 3921.2 | 3144.8 | 4505.2 | |
| R_p ($\Omega \text{ cm}^2$) | 347.3 | 594.3 | 738 | |
| R_{ct} ($\Omega \text{ cm}^2$) | 18.6 | 20876 | 40,600.3 | |
| $Q_{\text{CPE}} \times 10^{-5}$ ($\Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$) | 58.5 | 32 | 46.8 | |
| η | 0.73 | 0.78 | 0.71 | |
| $Q_{\text{dl}} \times 10^{-5}$ ($\Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$) | 31 | 59 | 33.9 | |
| η | 0.95 | 0.86 | 0.88 | |

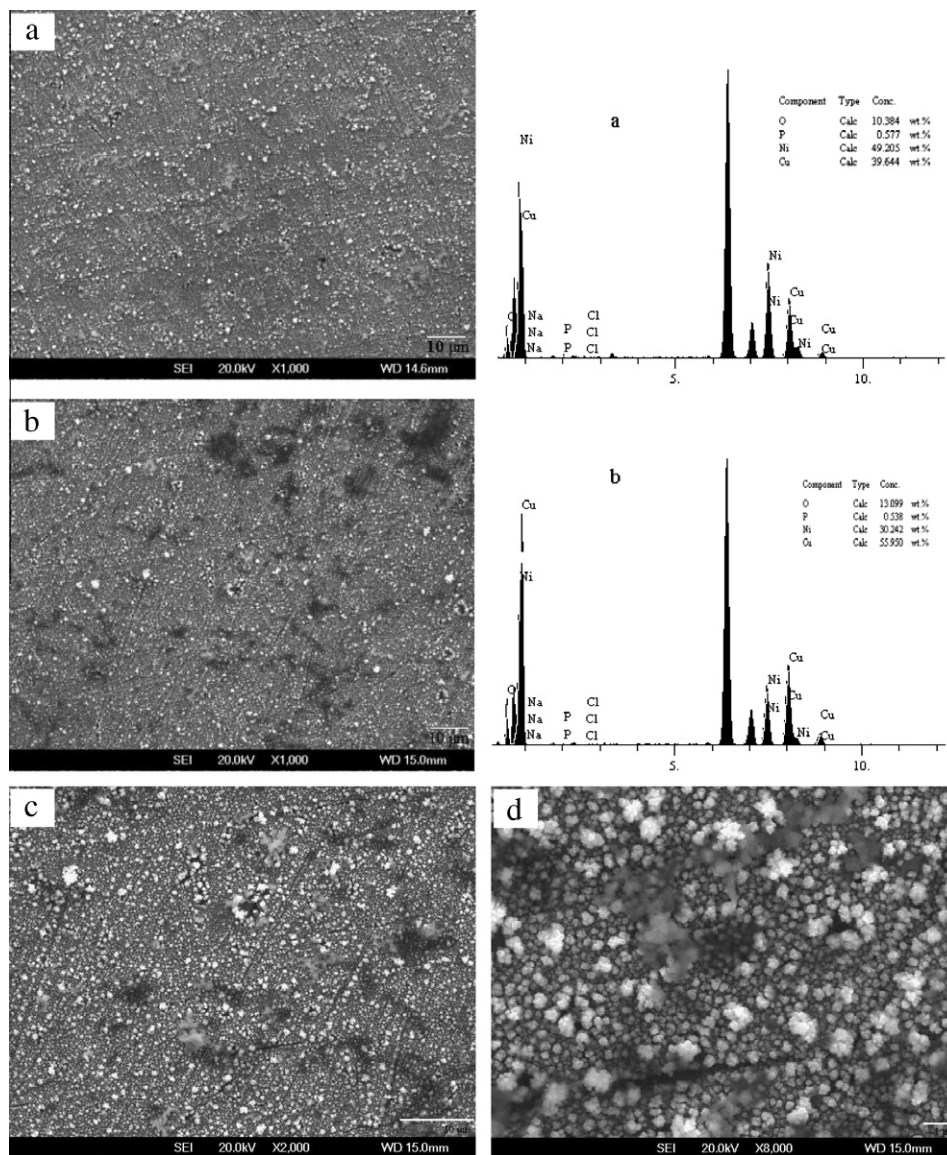


Fig. 5. SEM micrographs and EDS spectrum of Ni-Cu surfaces exposed to different mediums for 5 h: (a) sterile medium (b–d) medium with bacterium.

crevice corrosion were observed on the surface of the inoculated medium than on the surface of the medium.

EDS was used to obtain elemental information from the corrosion products of some typical areas on the surface of the alloy. In the end of the SEM analysis, the oxide percentage of the alloy surface exposed with the medium was 10.4% (Fig. 5a) whereas the alloy surface exposed to the medium with bacterium was 13.1% (Fig. 5b). We conclude that *A. eucrenophila* caused the increase in the oxide percentage due to aerobic respiration.

Possible groups located in EPS structure are polysaccharides, proteins and hydrocarbons. Fig. 6 shows the FTIR spectrum of biofilm (a) and EPS (b). The peak assignments are listed in Table 3. As seen in the figure, the biofilm formed at the end of 5 h, and scraped EPS in the 7th day had the same FTIR pattern. Presence of OH groups is indicated by their stretching modes at 3273 cm^{-1} . The weak peaks at 2935 and 2873 cm^{-1} are due to aliphatic C–H and CH_2 stretching modes. In the case of C=O (amid I), and C–N (amid II), two peaks were observed at 1637 and 1538 cm^{-1} , respectively. Additionally the sharp peaks of polysaccharides are attributable to C–O, P=O, or C–O–C, an observation which is compatible with the

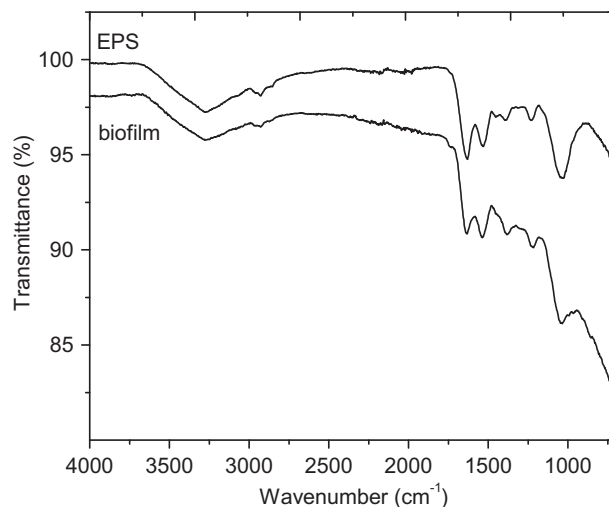


Fig. 6. FT-IR spectrum of (a) biofilm and (b) EPS.

Table 3
Relative compositions of model constituents.

| | Wavenumber (cm ⁻¹) | Band assignment |
|-----------------|--------------------------------|---|
| Region | | |
| Hydrocarbons | 3273 | O–H stretch |
| | 2935 | CH ₂ asymmetric stretch |
| | 2873 | CH ₂ symmetric stretch |
| Proteins | 1637 | C=O of amide I |
| | 1538 | C–N of amide II |
| Polysaccharides | 1386, 1307 | C–O from carboxylic acid |
| | 1224 | P=O |
| | 1045 | C–O, C–O–C stretch from polysaccharides |

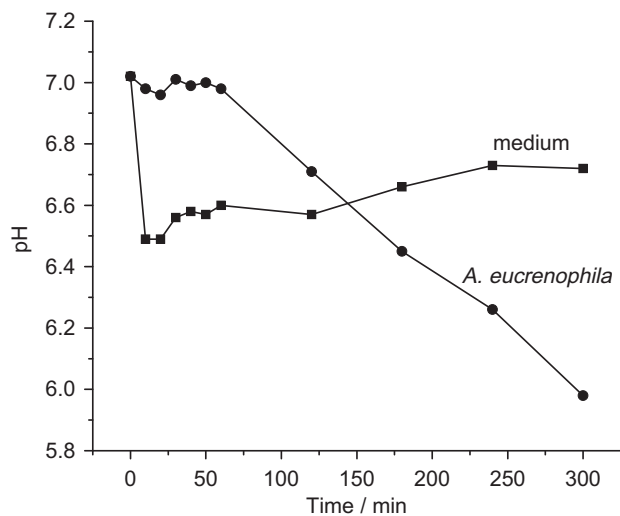


Fig. 7. pH changes of the (a) medium, (b) medium with bacterium.

literature [27,28]. The peaks appear at 1382, 1224 and 1045 cm⁻¹, respectively.

From Fig. 7, in the beginning, both the medium and the inoculated medium pH values were approximately the same (7.02). The pH values of the medium did not change throughout the experiment; however, after immersion in the medium with bacterium for 5 h, the pH value decreased to acidic value to 5.98. The probable cause of this change is due to the metabolism product produced by bacterium. To support this results Pope et al. [29] reported that the microbiological products, such as carbon dioxide, hydrogen sulfide, ammonia, organic and inorganic acids, metabolites that act as depolarizers and sulfur compounds, contributed to the attack on Ni–Cu alloys.

4. Conclusions

In this study, Ni–Cu alloy was electroplated using chronoamperometric technique. Bacterium was isolated from water samples and characterized on the basis of 16S rRNA sequences. To investigate the influence of the bacterium against Ni–Cu alloy coatings, various electrochemical and microscopic techniques were used. This study provided the first look into *A. eucrenophila* on the role of corrosion process on Ni–Cu alloy. The following conclusions could be drawn on the basis of the presented results and discussion:

First, the corrosion potential of the Ni–Cu alloy reached the minimum value when the electrode had been exposed for 5 h in

the medium; however, after 60 min of immersion in the medium, the corrosion potential increased gradually, reaching the break-away potential and leading more easily to corrosion. However, at the end of 5 h, the corrosion potential for the inoculated medium began to decrease.

Second, it is found that this bacterium is aerobic former and often grows in a patchy distribution over the alloy surface and excludes oxygen via respiration; thereby creating oxygen concentration cells or ion concentration cells.

Result showed that *A. eucrenophila* attached and formed a bio-film layer on the Ni–Cu alloy surface and the presence of possible acidic groups in the EPS increases the corrosion of Ni–Cu alloys by lowering the interfacial pH [30].

Acknowledgement

The authors wish to thank Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK-BİDEB).

References

- [1] F. Mansfeld, G. Liu, H. Xiao, C.H. Tsai, B.J. Little, The corrosion behavior of copper alloys stainless steels and titanium in seawater, *Corros. Sci.* 36 (1994) 2063–2095.
- [2] W.A. Badawy, K.M. Ismail, A.M. Fathi, Corrosion control of Cu–Ni alloys in neutral chloride solutions by amino acids, *Electrochim. Acta* 51 (2006) 4182–4189.
- [3] M.T. Pham, M.F. Maitz, E. Richter, H. Reuther, F. Prokert, A. Mucklich, Electrochemical behaviour of nickel surface-alloyed with copper and titanium, *J. Electroanal. Chem.* 572 (2004) 185–193.
- [4] S.J. Yuan, A.M.F. Choong, S.O. Pehkonen, The influence of the marine aerobic *Pseudomonas* strain on the corrosion of 70/30 Cu–Ni alloy, *Corros. Sci.* 49 (2007) 4352–4385.
- [5] S.J. Yuan, S.O. Pehkonen, AFM study of microbial colonization and its deleterious effect on 304 stainless steel by *Pseudomonas* NCIMB 2021 and *Desulfovibrio desulfuricans* in simulated seawater, *Corros. Sci.* 51 (2009) 1372–1385.
- [6] E. Juzeliunas, R. Ramanauskas, A. Lugauskas, K. Leinartas, M. Samuleviciene, A. Sudavicius, R. Juskenas, Microbially influenced corrosion of zinc and aluminium two-year subjection to influence of *Aspergillus niger*, *Corros. Sci.* 49 (2007) 4098–4112.
- [7] R.P. George, D. Marshall, R.C. Newman, Mechanism of a MIC probe, *Corros. Sci.* 45 (2003) 1999–2015.
- [8] E.I. Sungur, A. Cotuk, Microbial corrosion of galvanized steel in a simulated recirculating cooling tower system, *Corros. Sci.* 52 (2010) 161–171.
- [9] X. Shi, R. Avci, M. Geiser, Z. Lewandowski, Comparative study in chemistry of microbially and electrochemically induced pitting of 316L stainless steel, *Corros. Sci.* 45 (2003) 2577–2595.
- [10] Ø. Ørmena, M.Q. Reguea, J.M. Tomas, P.E. Granum, Studies of aerolysin promoters from different *Aeromonas* spp., *Micropath.* 35 (2003).
- [11] M. Pablos, J.M. Rodríguez-Calleja, J.A. Santos, A. Otero, M.L. García-López, Occurrence of motile *Aeromonas* in municipal drinking water and distribution of genes encoding virulence factors, *Int. J. Food Microbiol.* 135 (2009) 158–164.
- [12] Available from: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/258618726>>.
- [13] M.T. Madigan, J.M. Martinko, J. Parker, Brock Biology of Microorganisms, tenth ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, 2002.
- [14] G. Sauerbrey, The use of quartz oscillators for weighing thin layers and for microweighing, *Z. Phys.* 155 (1959) 206–222.
- [15] F. El-Taib Heakal, M.M. Hefny, A.M. Abd El-Tawab, Electrochemical behavior of 304L stainless steel in high saline and sulphate solutions containing alga *Dunaliella salina* and β -carotene, *J. Alloy. Compd.* 491 (2010) 636–642.
- [16] M. Kurosaki, M. Seo, Corrosion behavior of iron thin film in deaerated phosphate solutions by an electrochemical quartz crystal microbalance, *Corros. Sci.* 45 (2003) 2597–2607.
- [17] H.O. Kurkovic, E. Stupnisek-Lisac, H. Takenouti, Electrochemical quartz crystal microbalance and electrochemical impedance spectroscopy study of copper corrosion inhibition by imidazoles, *Corros. Sci.* 51 (2009) 2342–2348.
- [18] H.O. Kurkovic, E. Stupnisek-Lisac, H. Takenouti, Electrochemical quartz crystal microbalance and electrochemical impedance spectroscopy study of copper corrosion inhibition by imidazoles, *Corros. Sci.* 51 (2005) 2342–2348.
- [19] A.S. Bondarenko, G.A. Ragoisha, EIS Spectrum Analyser, Available from: <<http://www.abc.chemistry.bsu.by/vi/analyser/>>.
- [20] C.H. Hsu, F. Mansfeld, Corrosion control using regenerative biofilms (CCURB) on brass in different media, *Corros. Sci.* 44 (2002) 2291–2302.
- [21] Y. Hamlouli, L. Tifouti, F. Pedraza, On the corrosion resistance of porous electroplated zinc coatings in different corrosive media, *Corros. Sci.* 52 (2010) 1883–1888.
- [22] D. Cetin, M.L. Aksu, Corrosion behavior of low-alloy steel in the presence of *Desulfotomaculum* sp., *Corros. Sci.* 51 (2009) 1584–1588.

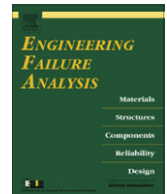
- [23] W.P. Iverson, Microbial corrosion of metals, *Adv. Appl. Microbiol.* 32 (1987) 1–36.
- [24] B. Little, P. Wagner, F. Mansfeld, Microbiologically influenced corrosion of metals and alloys, *Int. Mater. Rev.* 36 (1991) 253–271.
- [25] P.J. Antony, R.K. Singh Raman, R. Raman, P. Kumar, Role of microstructure on corrosion duplex stainless steel in presence of bacterial activity, *Corros. Sci.* 52 (2010) 1404–1412.
- [26] S.J. Yuan, S.O. Pehkonen, AFM study of microbial colonization and its deleterious effect of 304 stainless steel by *Pseudomonas* NCIMB and *Desulfovibrio desulfuricans* in simulated seawater, *Corros. Sci.* 51 (2009) 1372–1385.
- [27] K.Y. Chan, L.C. Xu, H.H.P. Fang, Anaerobic electrochemical corrosion of mild steel in the presence of extracellular polymeric substances produced by a culture enriched in sulfate-reducing bacteria, *Environ. Sci. Technol.* 36 (2002) 1720–1727.
- [28] I. Beech, L. Hanjagsit, M. Kalaji, A.L. Neal, V. Zinkevich, Chemical structural characterization of exopolymers produced by *Pseudomonas* sp. NCIMB 2021 in continuous culture, *Microbiology* 145 (1999) 1491–1497.
- [29] D.H. Pope, *Microbial Corrosion in Fossil-fired Power Plants – A Study of Microbiologically Influenced Corrosion and a Practical Guide for its Treatment and Prevention*, Electric Power Research Institute, Palo Alto, CA, 1987.
- [30] S. Chongdar, G. Gunasekaran, P. Kumar, Corrosion inhibition of mild steel by aerobic biofilm, *Electrochim. Acta* 50 (2005) 4655–4665.



ELSEVIER

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Engineering Failure Analysis

journal homepage: www.elsevier.com/locate/engfailanal

Microbiologically influenced corrosion failure analysis of nickel–copper alloy coatings by *Aeromonas salmonicida* and *Delftia acidovorans* bacterium isolated from pipe system

Nalan Oya San^a, Hasan Nazır^b, Gönül Dönmez^{c,*}^a Ankara University, Institute of Biotechnology, 06100 Beşevler-Ankara, Turkey^b Faculty of Science, Department of Chemistry 06100 Beşevler-Ankara, Turkey^c Faculty of Science, Department of Biology, 06100 Beşevler-Ankara, Turkey

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 January 2012

Received in revised form 13 March 2012

Accepted 30 April 2012

Available online 9 May 2012

Keywords:

Failure analysis

Microbially Influenced Corrosion (MIC)

Nickel–copper alloy coatings

QCM

SEM

ABSTRACT

The corrosion failure analysis of Ni–Cu alloy coatings in Nutrient Broth medium and in the presence of two bacteria: *Aeromonas salmonicida* and *Delftia acidovorans*, isolated from water pipe system, has been studied using electrochemical techniques. According to EIS data, the low R_{ct} values of Ni–Cu alloy coatings after bacteria incubation indicated that the metabolic products maybe accelerate corrosion. In addition the pH values of the medium did not change throughout the experiment; however, after immersion the pH value decreased for two bacteria and caused corrosion. These situations were verified with crevice corrosion with SEM analysis.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Adhesion of bacteria and formation of biofilm commonly exist both in natural environments and industrial processes [1]. The biofilm which was a heterogeneous structure and the attached bacteria form complex biological systems that can cause several chemical changes at the metal/biofilm interface, such as causing gradients in pH, dissolved oxygen, chloride and sulfate [2,3]. Under aerobic conditions, differential aeration and concentration cells were formed due to microbial colonization and the metabolism of the bacterial colony. The concentration cells is widely characterized to be detrimental to the integrity of the passive film and to increase the initiation of pitting or crevice corrosion [4]. This process is well known as microbiologically influenced corrosion (MIC) or a biocorrosion [5–8].

Metallic coatings (e.g. zinc, nickel, copper) have been used successfully in many practical anti corrosive applications, for many years. Especially, the nickel plating provides a surface that is resistant to corrosion [9–11]. Ni–Cu alloy coatings were used frequently in different industries, especially in pipe system, ships, power stations, heat exchangers [12–15] due to their excellent properties like workability and thermal conductivity [16]. However, MIC is a serious problem in the aquatic environment and many industries, such as power generation, petrochemical, pulp and paper, with serious safety and economic concerns [17]. Therefore, influence of aerobic and anaerobic bacteria on metals and alloys is significant, as it may provide helpful insights in controlling MIC in aquatic environments. Two bacteria isolated from corroded water pipe system and characterized on the basis of 16S rRNA sequences is *Aeromonas salmonicida* and *Delftia acidovorans*.

* Corresponding author. Tel.: +90 312 212 67 20; fax: +90 312 223 23 99.

E-mail address: gdonmez@ankara.edu.tr (G. Dönmez).

A. salmonicida is an aquatic, facultative, Gram-negative bacterium causing the lethal disease in fish [18]. *D. acidovorans* is a Gram-negative, strictly aerobic, straight to slightly curved rods shaped, mainly motile, oxidase and catalase positive, non-fermentative and accumulated Poly- β -hydroxybutyrate. *Delftia* spp. is ubiquitous in soil and freshwater [19,20].

The aim of this study was to determine the corrosion of Ni–Cu alloy coatings in N. Broth medium and medium containing two bacteria. In this study, polarization curves and impedance diagrams are compared to the mass evolution curves during the electrochemical process. The bacterial attachment on the alloy coating surfaces was determined with SEM analysis.

2. Materials and methods

2.1. Preparation of Ni–Cu alloy coatings

ST-42 steel discs were polished with 1200-grit emery paper, rinsed with double-distilled water and then air-dried. Afterwards, Ni–Cu alloy coatings was electrodeposited from a Ni–Cu bath containing NiSO₄ 7H₂O (86 g/L), NiCl₂ 6H₂O (1.46 g/L), H₃BO₃ (2.64 g/L) and CuSO₄ 5H₂O (3.84 g/L). Due to same thickness for all coatings, electrodeposition was performed chronoamperometrically and applied –0.9 V (vs. Ag/AgCl) to the electrolysis system for 60 s during the Ni–Cu coatings respectively. The Ni and Cu contents of the deposit were also verified with atomic absorption spectrophotometer. So, the yield of coating for bath content was assumed as 100%, the coated Ni–Cu ratio was calculated as 1.2:1 (w/w). Using the bathing solution explained above, the Ni–Cu thin film with a thickness of approximately 100 nm was electroplated on one side of the quartz crystal electrodes. Data acquisition software was used to record the mass change. Frequency change, Δf , was converted into the mass variation, Δm , using the Sauerbrey equation [21].

$$\Delta f = \frac{-2\Delta m f_0^2}{A\sqrt{\rho\mu}}$$

where f_0 is the resonant frequency of the fundamental mode of the quartz resonator, A is the piezoelectrically active surface area, ρ is the quartz crystal density ($\rho = 2.684 \text{ g/cm}^3$) and μ is the shear modulus of quartz ($\mu = 2.947 \times 10^{11} \text{ g/cm s}^2$). The theoretical thickness (T_f , cm) of the deposits was calculated from $\Delta m/\rho$ (density g/cm^3).

2.2. Bacteria isolation and incubation

A. salmonicida and *D. acidovorans* strains were isolated from plates of the Nutrient Agar medium immersed in samples taken from the microbiologically corroded pipe system for 7–10 days. Isolates were screened from a layer of deposit on the metal pipe surface into the sterile Nutrient Broth medium and incubated for enrichment, and were subsequently purified in sterile agar plates by picking up several single colonies with a sterile inoculation loop. The isolated bacteria were characterized on the basis of 16S rRNA. The sequences obtained were compared directly to all the known sequences deposited in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) databases using the basic local alignment search tool Blastn and submitted to NCBI (GenBank ID: GU907676 and GQ466172) [22,23].

The bacteria were cultured at $30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ on a rotary shaker at 100 rpm for 24 h (New Brunswick Scientific Innova 4230) in a N. Broth medium used for enrichment culture, which contained peptone from meat 5.0 g, meat extract 3.0 g, sodium chloride 6.0 g in 1 L deionized water. After 24 h incubation, cultured bacteria were centrifuged at $5000 \times g$, 10 min (Hettich EBA12), and then biomass used for bio-corrosion experiments. Exponential phase bacteria were used for all experiments to ensure reproducibility.

2.3. Electrochemical studies for the effect of *A. salmonicida* and *D. acidovorans* on the corrosion of Ni–Cu alloy coatings

The electrochemical impedance spectroscopy (EIS), and the potentiodynamic polarization curves were carried out using the CompactStat Potentiostat (IviumStat, The Netherlands) in a conventional three-electrode cell consisting of the Ni–Cu coated ST-42 carbon steel with a surface area of 0.204 cm^2 used as a working electrode (WE), platinum is a counter electrode (CHI111) (CE) and a Ag/AgCl (sat. KCl) electrode (CHI111) is a reference electrode. The Ag/AgCl (sat. KCl) electrode was connected to the working electrode through a Luggin's capillary. The EIS measurements were carried out at 5 mV applied voltage at sinusoidal wave in the frequency range 20 kHz–50 mHz. The experimental data were analyzed using EIS Spectrum Analyzer software (Beta version) [24] to obtain the fitting parameters. The Tafel polarization curves were obtained by scanning from potential towards 200 mV anodically and cathodically at a scan rate of 1 mV/s. The Quartz Crystal Microbalance (QCM) measurements were carried out in a Model 400A time-resolved quartz crystal microbalance (CH Instruments, USA) linked to a computer equipped with electrochemistry software (CHI400A). In the QCM experiments, AT-cut quartz crystal (CHI125A) was used as a working electrode and alloy was deposited on this gold surface of the crystal. Surface area of a gold crystal was 0.204 cm^2 and its nominal resonant frequency was 7.995 MHz.

2.4. Characterization of the corrosion surface

After MIC experiments, the surface morphology of the Ni–Cu alloy coated discs were characterized using a SEM (JEOL JSM-7000F Field Emission SEM-EDAX). Besides, the coated Ni–Cu alloy discs exposed to a sterile medium were used for comparison. The varying compositions of surface were analyzed using energy dispersive spectrometer (EDS). At the end of experiments, the discs were taken from medium, rinsed with deionized water and dried under a stream of nitrogen gas.

2.5. pH experiments

To investigate the changes in the pH level, corrosion of Ni–Cu alloy coatings experiments were carried out into laboratory conditions. pH changes in sterile medium and medium containing bacterium were measured for compare the influence of the bacterium.

3. Results and discussion

3.1. Quartz crystal microbalance

A quartz crystal microbalance (QCM) is capable of detecting small mass changes in the region of ng cm^{-2} under controlled electrochemical conditions in aqueous solutions [25,26]. By use of the QCM, we measured the mass loss of the alloy coatings with time during the corrosion process for 5 h. (see Fig. 1). This mass loss is caused by the corrosion of the coatings, i.e. the dissolution of alloy. At the end of experiments, the mass loss of the medium was $2.12 \mu\text{g}$. After *A. salmonicida* bacterium inoculation, the mass loss of the inoculated medium was $1.86 \mu\text{g}$. Furthermore, after *D. acidovorans* inoculation, during the first period of about 2 h, one observes a rather fast dissolution. After dissolution of alloy coating, mass began to increase and

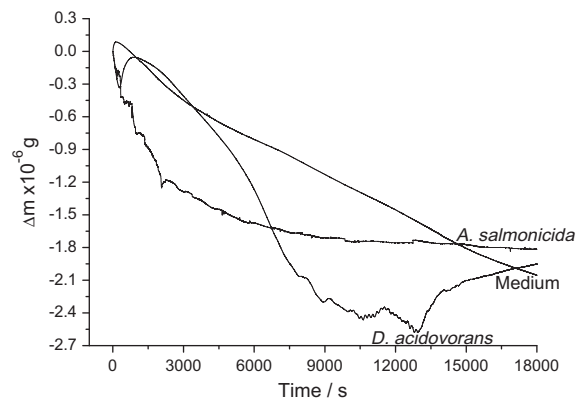


Fig. 1. Time dependence of mass changes of Ni–Cu alloy coatings immersed in sterile medium, medium containing *A. salmonicida* and medium containing *D. acidovorans*.

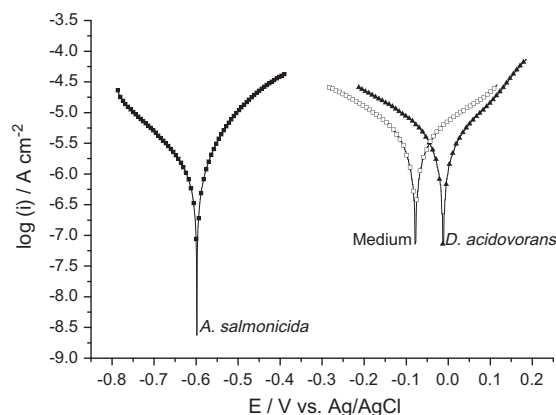


Fig. 2. Polarization curves of Ni–Cu alloy coatings immersed in sterile medium, medium containing *A. salmonicida* and medium containing *D. acidovorans*.

Table 1

The corrosion parameters determined from the Tafel plots for Ni–Cu alloy in the sterile, *A. salmonicida* and *D. acidovorans* inoculated medium.

| | Sterile medium 5 h | After inoculation | |
|---|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | <i>A. salmonicida</i> | <i>D. acidovorans</i> |
| E_{corr} , V vs Ag/AgCl | −0.08 | −0.60 | −0.01 |
| i_{corr} , μA | 4.58 | 0.66 | 2.03 |
| I_{corr} , $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ | 22.47 | 3.26 | 14.1 |
| Anodic Tafel slope β_a , V/dec | 0.37 | 0.12 | 0.20 |
| Cathodic Tafel slope β_c , V/dec | 0.44 | 0.19 | 0.25 |
| R_p , $\Omega \text{ cm}^2$ | 40684.7 | 102,655 | 51,401 |

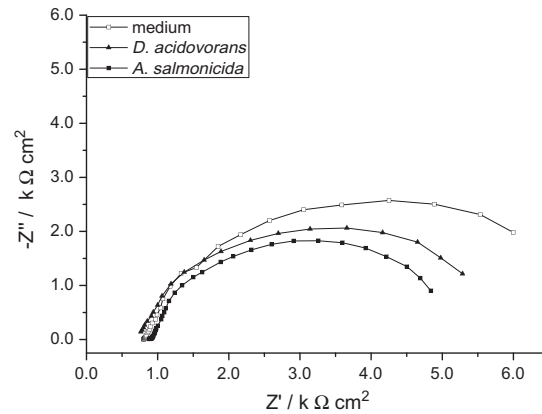


Fig. 3. Impedance diagrams of Ni–Cu alloy coatings immersed in sterile medium, medium containing *A. salmonicida* and medium containing *D. acidovorans*.

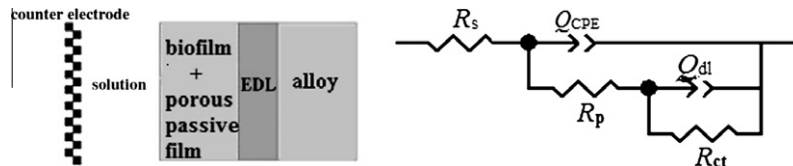


Fig. 4. Equivalent circuits used for fitting the impedance spectra based on a double-layer model of surface film.

Table 2

Electrochemical model impedance parameters of the Ni–Cu alloy in the medium, *A. salmonicida* and *D. acidovorans* inoculated medium.

| | Sterile medium 5 h | After inoculation | |
|--|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | <i>A. salmonicida</i> | <i>D. acidovorans</i> |
| R_s , Ω | 797 | 885.1 | 697.5 |
| R_p , Ω | 70.68 | 2088.9 | 1038.1 |
| R_{et} , Ω | 7100.2 | 4407.9 | 4387.7 |
| $Q_{CPE} \times 10^{-5}$, $\Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 11.9 | 3.86 | 14.09 |
| η | 0.92 | 0.85 | 0.80 |
| $Q_{dl} \times 10^{-5}$, $\Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 17.78 | 23.7 | 22.2 |
| η | 0.94 | 0.98 | 0.92 |

reaches a steady state with a mass loss rate of about 2.01 μg . The mass loss values of the different mediums were seemed nearly same.

3.2. Polarization curves

The polarization curves of the Ni–Cu electrodes immersed in the medium and medium containing bacteria are shown in Fig. 2. Values of the electrochemical corrosion parameters (corrosion potential, E_{corr} ; corrosion current, i_{corr} ; corrosion current density, I_{corr} ; anodic Tafel slope, β_a ; cathodic Tafel slope, β_c) are shown in Table 1. After being immersed in medium for

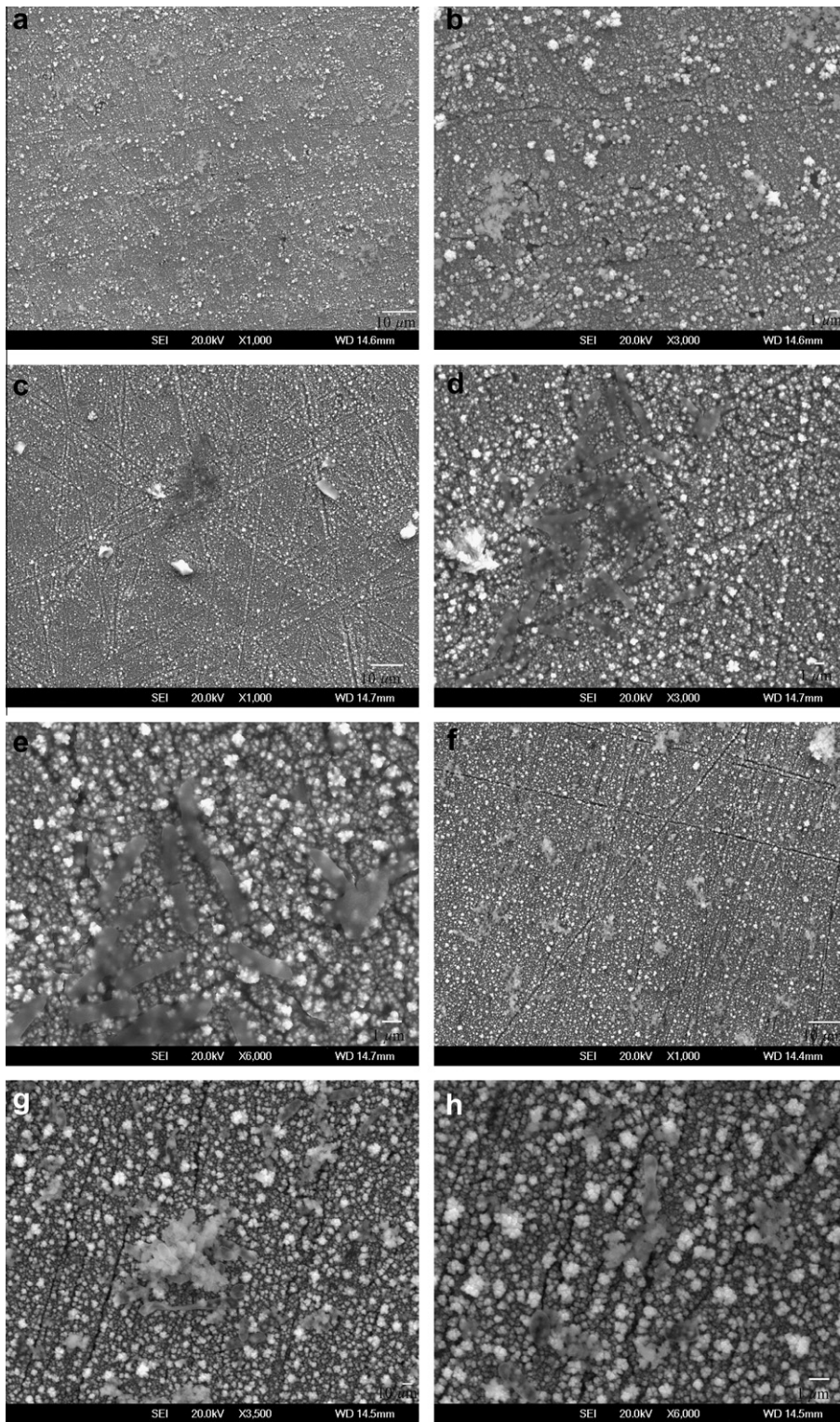


Fig. 5. SEM micrographs of Ni-Cu alloy coated surfaces exposed to sterile medium and medium containing bacteria (a) Ni-Cu alloy coating in sterile medium $\times 1000$. (b) Ni-Cu alloy coating in sterile medium $\times 3000$. (c) Ni-Cu alloy coating in medium containing *A. salmonicida* $\times 1000$. (d) Ni-Cu alloy coating in medium containing *A. salmonicida* $\times 3000$. (e) Ni-Cu alloy coating in medium containing *A. salmonicida* $\times 6000$. (f) Ni-Cu alloy coating in medium containing *D. acidovorans* $\times 1000$. (g) Ni-Cu alloy coating in medium containing *D. acidovorans* $\times 3500$. (h) Ni-Cu alloy coating in medium containing *D. acidovorans* $\times 6000$.

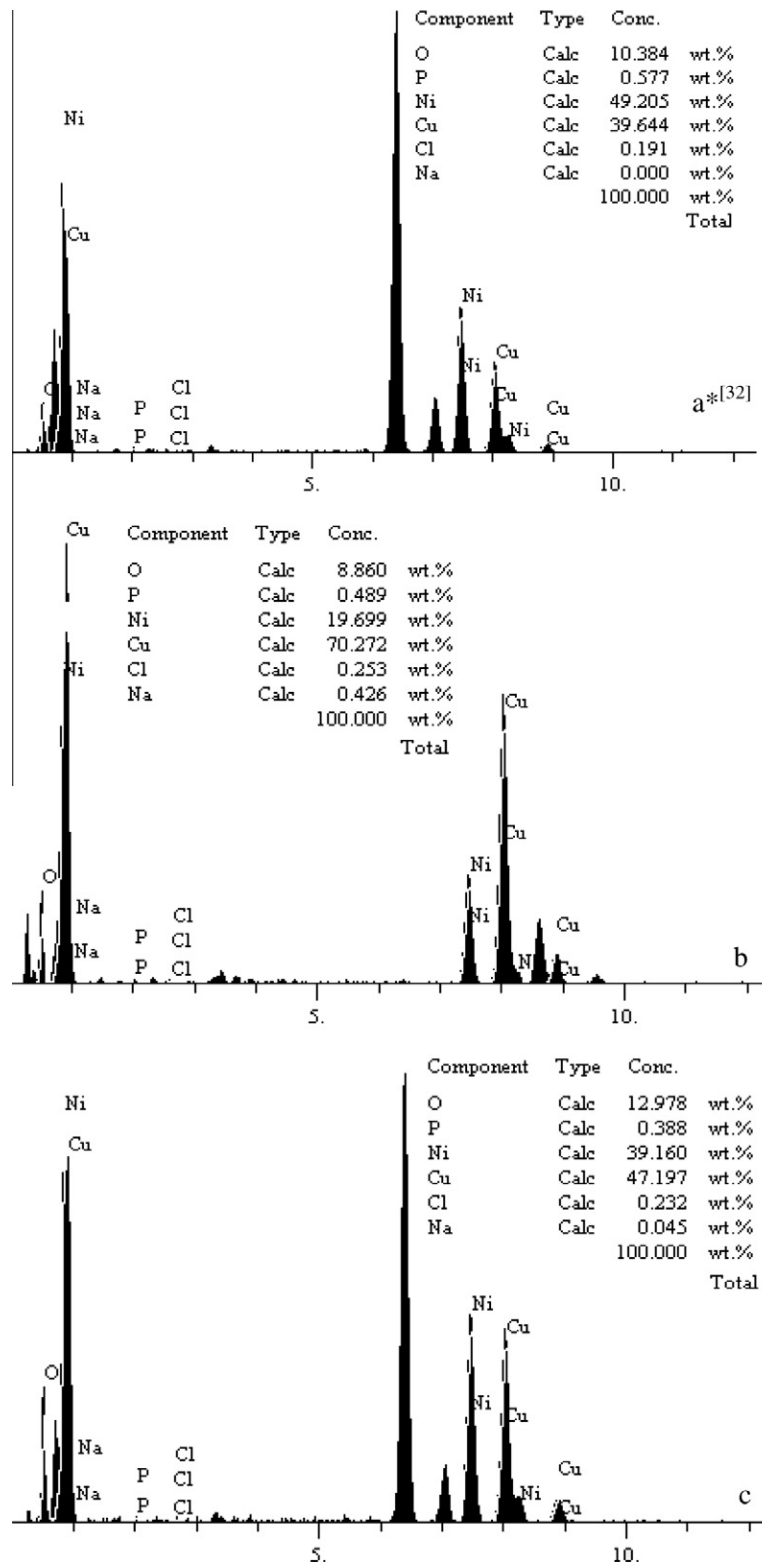


Fig. 6. EDS spectrum of Ni-Cu alloy coatings exposed to different mediums for 5 h: (a) Ni-Cu alloy coatings in sterile medium [32], (b) Ni-Cu alloy coatings in medium containing *A. salmonicida* (c) Ni-Cu alloy coatings in medium containing *D. acidovorans*.

Table 3
pH changes for Ni–Cu alloy in the sterile, *A. salmonicida* and *D. acidovorans* inoculated medium.

| | Sterile medium | After inoculation | |
|---------|----------------|-----------------------|-----------------------|
| | | <i>A. salmonicida</i> | <i>D. acidovorans</i> |
| 0 | 6.52 | 6.99 | 6.68 |
| 60 min | 6.6 | 6.99 | 6.73 |
| 90 min | 6.57 | 6.91 | 6.82 |
| 120 min | 6.66 | 6.37 | 6.44 |
| 240 min | 6.73 | 6.01 | 6.34 |
| 300 min | 6.72 | 5.7 | 6.19 |

5 h, we observed that the corrosion potential of Ni–Cu electrodes was -0.08 V (vs. Ag/AgCl). Furthermore, after being immersed in medium containing *D. acidovorans* bacterium for 5 h, we observed that the corrosion potential of Ni–Cu electrodes was shifted to anodic side: -0.01 V (vs. Ag/AgCl). However the situation was totally different for medium inoculation with *A. salmonicida* bacterium that E_{corr} was shifted to cathodic side: -0.60 V (vs. Ag/AgCl). The values listed in Table 1 show that the anodic Tafel slope and the cathodic Tafel slope values decreased with the inoculation of bacteria. But the corrosion current and corrosion current densities were decreased with inoculation. However researches and literatures about Ni–Cu alloy coatings were showed that morphologies, structures, hardness, corrosion resistance and the other properties of this alloy coatings were depend on amount of copper [27,28]. In this studies, measurement indicated that the hardness reached the maxima for a copper content of around 50 wt.% and exhibited better corrosion resistance around 40 wt.%. In addition for copper content of 70 wt.% and beyond then dropped hardness and corrosion resistance. These unexpected properties are connected to morphology of alloy coatings and fcc + hcp (face-centered cubic, hexagonal close packing) structure of the crystal and also low percent of Cu content was increased surface density and smoothness. It is complicate to discuss E and I values comparison because of for Ni–Cu alloy coatings, positive shift of potential and β_a values, which shows electron transfer from anodic side was difficult. Actually this situation was indicated oxide layer on the surface and inhibition efficiency of the EPS layer [29,30]. However, depend on incubation time, SEM images shows roughness, pits and lateral and vertical crevices on the surface.

3.3. Electrochemical impedance spectroscopy

The results of the potentiodynamic polarization experiments were confirmed by impedance measurements, since the electrochemical impedance spectroscopy is a powerful technique in studying corrosion mechanisms [31]. Impedance diagrams of Ni–Cu alloy coated electrode immersed in mediums have been plotted in Fig. 3. Usually, impedance spectra are analyzed using an equivalent circuit, taking into account the contribution of each phenomenon, such as the electrical double layer, passive layer/biofilm formation, and coating. Different models for the equivalent circuit used in the related articles in the literature were examined. The best fitting circuit is presented R_s denotes the resistance of solution, R_p is the resistance of film formed on the surface of coated steel and R_{ct} is the charge transfer resistance. Q_{dl} is the constant phase element (CPE) of the electric double layer and Q_{CPE} is the CPE of the surface film, η is depicted as the dispersion parameter and its value being less than the one indicating an imperfect capacitor (Fig. 4). Equivalent circuit, $R(Q[R(QR)])$, contains two relaxation time constants for sterile medium and medium containing bacteria represents the formation of a double layer; an outer layer of the oxide film/heterogeneous biofilm (medium containing bacteria) and inner layer of the alloy coatings.

The diameters of impedance loops in the Nyquist plots seemed to decrease with inoculation of two bacteria, implying the acceleration in the corrosion rates of the alloy. Furthermore, the inspection of R_p , related to the resistance of the biofilm formed upon the surface, shows a significant increased from 70.68Ω to 2088.9Ω after *A. salmonicida* and 1038.1Ω *D. acidovorans* inoculation. The increase in the R_p effect that enables the easy diffusion of electroactive species through the patchy biofilm formed on the surface of the Ni–Cu coated electrode.

The increased rate in the charge transfer resistance in sterile medium was slowed down after inoculation of bacteria. The increase in R_{ct} causes the increase in the potential of the capacitive component and due to the build-up of corrosion products on the coated alloy's surface leads to a decrease in the corrosion rate. Acceleration of the corrosion rate may depend on bacteria acting directly on alloy coatings, or it may depend on the continued supply of metabolic products.

In Table 2, the higher η_{CPE} values for medium (5 h) indicate that the surface is almost homogeneous till inoculation of bacterium. The lower η_{CPE} values for both bacteria indicate surface inhomogeneity resulting from surface alloy coatings roughening. This may be caused by enhanced dissolution of the alloy.

3.4. Scanning electron microscopy-energy-dispersive X-ray spectroscopy

We used SEM analysis to examine the surface of Ni–Cu alloy coatings immersed in sterile medium and medium containing two bacteria (Fig. 5). The EDS analysis of the elemental information from the corrosion products on the alloy coating surfaces was shown in Fig. 6. In SEM analysis, Fig. 5a and b show the Ni–Cu alloy coating surface in sterile medium was covered

oxide layer with small pits. After incubation of *A. salmonicida*, surface of Ni–Cu alloy coatings were totally changed. Bacterium was attached on the surface and caused drastic crevices all over the surface (Fig. 5c–e). Furthermore, situation was quite similar for *D. acidovorans* inoculation for Ni–Cu alloy coatings. Fig. 5f–h show Ni–Cu alloy coating surface in medium containing *D. acidovorans* that bacterium was attached and produced patchy biofilm layer. In addition, attached colonies were caused effective large crevices. As a result, two bacteria caused effective microbial corrosion. Furthermore, at the end of the SEM analysis, the oxide percentage of the alloy surface exposed with the medium was 10.38% (Fig. 6a) [32] whereas the alloy surface exposed to the medium containing *A. salmonicida* was 8.86% (Fig. 6b) and with *D. acidovorans* 12.9% (Fig. 5c). Due to aerobic respiration *D. acidovorans* increased oxide percentage more than *A. salmonicida*.

3.5. pH analysis

In Table 3, in the beginning, pH value of Ni–Cu alloy coating in the sterile medium and the medium containing bacteria were approximately the same (pH 6.5). The pH value of the sterile medium did not change throughout the experiment; however, after immersion, the pH values decreased to pH 6.1 and pH 5.7 for *D. acidovorans* and *A. salmonicida* Ni–Cu alloy coatings respectively.

4. Conclusions

In this study, Ni–Cu alloy coating was electroplated using chronoamperometric technique. Two bacteria were isolated from water samples in pipe system and characterized on the basis of 16S rRNA sequences. To investigate the influence of the bacteria against Ni–Cu alloy coatings, various electrochemical and microscopic techniques were used. Bacteria used in this study are aerobic/facultative former and often grows in a patchy distribution over the alloy surface and excludes oxygen via respiration; thereby creating oxygen concentration cells or ion concentration cells. In addition, EIS results showed surface inhomogeneity due to *A. salmonicida* and *D. acidovorans* attachment. At the end, bacterial attached layer on the Ni–Cu alloy surface and the presence of metabolic products and possible acidic groups in the EPS increases the corrosion of Ni–Cu alloys by lowering the interfacial pH [33].

As a result, *A. salmonicida* and *D. acidovorans* microorganisms have been created and have intensified crevice corrosion.

Acknowledgement

The authors wish to thanks to Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK-BİDEB).

References

- [1] Beech IB. Int Biodeterior Biodegrad 2004;53:171–83.
- [2] Little B, Wagner P, Mansfeld F. Electrochim Acta 1992;37:2185–94.
- [3] Bernstein SW. Microbiologically induced corrosion handbook. New York: Industrial Press; 1994.
- [4] Little B, Ray R, Wagner P, Jones-Meehan J, Lee C, Mansfeld F. Biofouling 1999;13:301–21.
- [5] Geesey GG, Gillis RJ, Avci R, Daly D, Hamilton M, Shope P, et al. Corros Sci 1996;38:73–95.
- [6] Selvaraju SB, Khan IUH, Yadav JS. Appl Environ Microbiol 2005;71:542–6.
- [7] Wang H, Hu C, Hu X, Yang M, Qu J. Water Res 2012;46:1070–8.
- [8] Starosvetsky J, Starosvetsky D, Armon R. Eng Failure Anal 2007;14:1500–11.
- [9] Beltowska-Lehman E, Ozga P, Swiatek Z, Lupi C. Surf Coat Technol 2002;151–152:444–8.
- [10] Song GM, Sloof WG. Surf Coat Technol 2011;205:4632–9.
- [11] Rossi S, Chini F, Straffellini G, Bonora PL, Moschini R, Stampali A. Surf Coat Technol 2003;173:235–42.
- [12] Yuan SJ, Choong AMF, Pehkonen SO. Corros Sci 2007;49:4352–85.
- [13] Srikanth S, Ravi Kumar B, Das SK, Gopalakrishna K, Nandakumar K, Vijayan P. Eng Failure Anal 2003;10:59–66.
- [14] Zhou BH, Zhai ZQ. Eng Failure Anal 2011;18:1333–40.
- [15] Sadeghi Meresht E, Shahrahi Farahani T, Neshati J. Eng Failure Anal 2011;18:963–70.
- [16] Manna M. Surf Coat Technol 2010;204:1842–6.
- [17] Fang HHP, Xu LC, Chan KY. Water Res 2002;36:4709–16.
- [18] Najimi M, Lemos ML, Osorio RC. Vet Microbiol 2009;133:377–82.
- [19] Wen A, Fegan M, Hayward C, Chakraborty S, Sly LI. Int J Syst Evol Microbiol 1999;49:567–76.
- [20] Hsieh WC, Wada Y, Chang CP. J Taiwan Inst Chem Eng 2009;40:143–7.
- [21] Sauerbrey G. Z Phys 1959;155:206–22.
- [22] <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/294987909>>.
- [23] <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/258618728>>.
- [24] Bondarenko AS, Ragoisha GA. EIS spectrum analyser. <<http://www.abc.chemistry.bsu.by/vi/analyser/>>.
- [25] Wang K, Pickering HW, Weil KG. Electrochim Acta 2001;46:3835–40.
- [26] Eickes C, Rosenmund J, Wasle S, Doblhofer K, Wang K, Weil KG. Electrochim Acta 2000;45:3623–8.
- [27] Baldwin KR, Robinson MJ, Smith JE. Corros Sci 1993;35:1267–72.
- [28] Xiangyang M, Feng F, Jianqing J, Rongsheng T. J Rare Earth 2009;27:1037–41.
- [29] Breur HJA, de Wit JHW, van Turnhout J, Ferrari GM. Electrochim Acta 2002;47:2289–95.
- [30] Little BJ, Ray RI, Wagner PA, Jones-Meehan J, Lee CC, Mansfeld F. Biofouling 1999;13:301–21.
- [31] Lin CH, Duh JG. Surf Coat Technol 2009;204:784–7.
- [32] San NO, Nazir H, Dönmez G. Corros Sci 2011;53:2216–21.
- [33] Chongdar S, Gunasekaran G, Kumar P. Electrochim Acta 2005;50:4655–65.



Microbiologically influenced corrosion of NiZn alloy coatings by *Delftia acidovorans* bacterium

Nalan Oya San^a, Hasan Nazır^{b,*}, Gönül Dönmez^c

^a Ankara University, Institute of Biotechnology, 06100 Beşevler, Ankara, Turkey

^b Ankara University, Faculty of Science, Department of Chemistry, 06100 Beşevler, Ankara, Turkey

^c Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology, 06100 Beşevler, Ankara, Turkey

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 January 2012

Accepted 23 July 2012

Available online 2 August 2012

Keywords:

A. Alloy

B. EIS

C. Microbiological corrosion

A. Nickel

B. SEM

A. Zinc

ABSTRACT

In this study, *Delftia acidovorans* was isolated from water treatment pipe system and used to demonstrate microbiologically influenced corrosion of NiZn alloy coatings using electrochemical techniques. The surface morphologies and the corrosion products were determined using scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectra (EDS) analysis. Results showed that when the metabolic activity reached maximum level, corrosion activity of NiZn alloy coatings significantly increased in correlation with E_{corr} , I_{corr} , QCM and R_{ct} . Furthermore, crevice corrosion which has been seen due to bacterial adhesion confirms that *D. acidovorans* plays an important role in corrosion of NiZn alloy coating.

Crown Copyright © 2012 Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Zinc coatings are widely used in protection of steel components against corrosion [1–3]. Co-deposition of other metals is one of the ways to improve the corrosion properties of zinc deposits. Also the NiZn alloy coatings possess higher corrosion resistance and better mechanical characteristics than pure zinc or other zinc alloy coatings and eventually attracting much attention [4–8]. Several authors showed that NiZn alloy coatings have the best corrosion resistance in saline environment [9,10].

It is widely documented that microorganisms tend to attach themselves to surfaces, colonize, proliferate, and form a biofilm. The biofilm, consisting of microbial cells and their metabolic products, including extracellular polymeric substance (EPS), creates gradients of pH, dissolved oxygen, nutrient content, temperature and pressure leading to the corrosion of metals and alloys [11–

14]. This situation was referred as biocorrosion or microbiologically influenced corrosion (MIC) [15–17].

Due to changes in the electrochemical conditions at the metal-alloy/solution interface, microorganisms cause corrosion. These changes may have different effects, like the localized corrosion, general corrosion or corrosion inhibition. Current Progress in microbial genomics and microbial molecular ecology is changing our perception in composition of bacterial consortia associated with corroding metals/alloys. Also our understanding of substrata type that bacteria are capable of utilizing as electron donors and acceptors was improved. These advances have also revealed the existence of previously unsuspected biochemical pathways. In addition, biocorrosion and its counter-process are rarely linked to a single mechanism and MIC becomes a serious problem in aquatic environments and many industries, such as power generation, petrochemical, pulp and paper, with serious safety and economic concerns [18,19]. Therefore the issue has become a significant area of scientific research, particularly the identification and characterization of the microbial organisms that cause MIC and the specific conditions in which MIC occurs has become a major focus. Focusing on these issues may provide helpful insights for controlling MIC in aquatic environments.

One of the bacterium isolated from corroded water treatment pipe system is *Delftia acidovorans*: a Gram-negative, strictly aerobic and straight to slightly curved rods shaped, mainly motile, oxidase

Abbreviations: Ag/AgCl, silver chloride electrode; CHX, chlorhexidine; *D. acidovorans*, *Delftia acidovorans*; EDS, energy dispersive X-ray spectra; EIS, electrochemical impedance spectroscopy; EPS, extracellular polymeric substance; MIC, microbiologically influenced corrosion; NCBI, National Center for Biotechnology Information; N. Broth, nutrient broth; NiZn, nickel–zinc; OD, optical density; PHA, polyhydroxyalkanoate; SEM, scanning electron microscopy; QCM, quartz crystal microbalance.

* Corresponding author. Tel.: +90 312 212 6720x1026; fax: +90 312 223 23 99.

E-mail address: nazir@science.ankara.edu.tr (H. Nazır).

and catalase positive, non-fermentative and found in soil and water [20]. *D. acidovorans* is the best known wild type bacteria that can efficiently accumulate polyhydroxyalkanoate (PHA) [21]. Furthermore, bacterium was successfully biodegrade aniline [22] and diuron [23] into sole carbon, nitrogen and energy sources. In another study, *D. acidovorans* was utilized organosulfonates as carbon sources due to sulfite dehydrogenase [24]. In addition to above information, *D. acidovorans* is often resistant to antimicrobial agents [25]. According to Dynes et al. *D. acidovorans* formed an effective biofilm formation and this helps the bacterium not to be affected by chlorhexidine (CHX) which is used as antimicrobial agent [26]. In the light of these information, metabolic and resistance properties of *D. acidovorans* may have the main role in MIC process.

The aim of this study is to examine the influence of *D. acidovorans* on the corrosion behavior of NiZn alloy coatings in nutrient broth medium by using electrochemical techniques. Changes in the pH level were calculated using exponential phase bacterium. Furthermore, scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectra (EDS) analysis were used in the examination of the corroded surface.

2. Experimental method

Aerobic bacterium population of *D. acidovorans* was isolated from microbiologically corroded water treatment pipe system in Ankara, Turkey. Genetic characterization of the isolated bacterium was made on the basis of 16S rRNA and submitted to NCBI GenBank under Accession No. GQ466172 [27]. The bacterium density analysis, culture preparation, pH level and electrochemical measurements were carried out as described in the previous report [28].

NiZn alloy coating was electrodeposited from the mixture of NiSO₄·7H₂O (31 g/L), NiCl₂·6H₂O (0.68 g/L), ZnCl₂·6H₂O (25 g/L), H₃BO₃ (1.3 g/L) and NH₄Cl (60 g/L). Electrodeposition was performed chronoamperometrically and a potential of −1.2 V (vs. Ag/AgCl) was applied to the electrolysis system for 100 s during the NiZn alloy coating. The NiZn contents of the deposit were also verified with atomic absorption spectrophotometer. The ratios of the coated Ni/Zn were about 30/70.

At the end of electrochemical experiments (5 h), alloy coating discs in sterile medium and medium containing bacterium were observed with a scanning electron microscopy (SEM) under stationary conditions. After 5 h experiments, the discs were taken from the medium, rinsed with deionized water and dried under a stream of nitrogen gas. Surface morphology of the NiZn coated discs were examined using scanning electron microscopy and elemental analysis was performed with energy dispersive X-ray spectra (JEOL JSM-7000F Field Emission SEM–EDAX).

3. Results and discussion

Bacterial culture (exponential phase after 48 h) was used for all experiments to ensure reproducibility. As seen in Fig. 1, the exponential phase was achieved after 48 h with an OD₆₀₀ nm value of approximately 2.9.

QCM is a substantially mass-sensitive sensor that is capable of quantitatively measuring the mass changes in nano-gram ranges at real-time modes. Furthermore, QCM has been used to monitor biofilm formation [29–31]. Several papers appeared on bacterial adhesion [32,33] and little attention was given to the use of QCM in monitoring corrosion activity on biofilm formation. As the local attack of the microorganisms attached to the metal or alloy surfaces caused the most severe problem, our experiments were focused on researching adhesion and corrosion at an early stage.

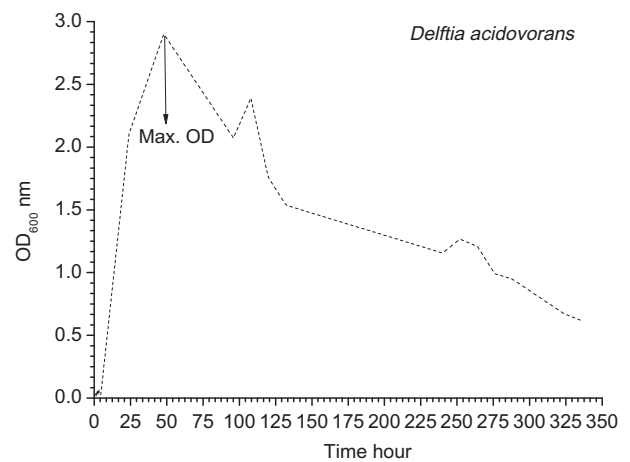


Fig. 1. Growth curve of *Delftia acidovorans*.

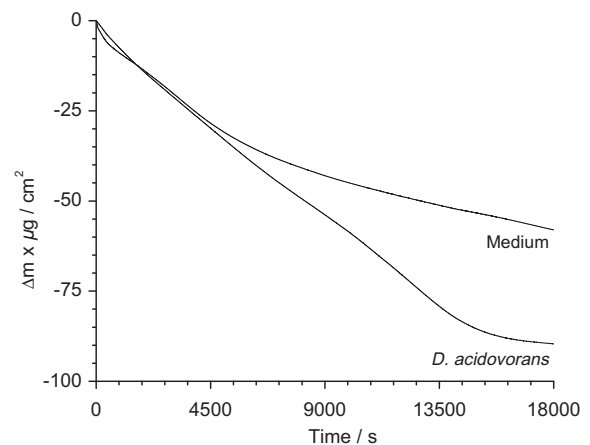


Fig. 2. Time dependence of mass changes of NiZn alloy coatings immersed in sterile medium and medium containing *D. acidovorans*, at the room temperature.

Fig. 2 shows the mass losses during the corrosion process for 5 h onto the gold surface of the crystal for sterile medium and medium containing bacterium. In both cases, significant differences could be seen between samples exposed to sterile medium and medium containing bacterium. The negative slopes of the mass vs. time curves, as shown in Fig. 2, are proportional to the corrosion rate, and mass losses decreased rapidly over this period. During the first period (4 h), one observes a rather fast corrosion. Then, the mass loss rate dropped and reached a steady state with a mass loss rate of about 12.10 μg for sterile medium and 18.71 μg for medium containing bacterium. These data confirmed that when bacterium was added into the medium, the mass loss reached the highest value, which means *D. acidovorans* influenced NiZn alloy coating efficiently and caused biocorrosion.

Potentiodynamic polarization curves for the NiZn alloy coatings after 5 h of exposure in the sterile medium and the medium containing *D. acidovorans* are shown in Fig. 3. Values of the electrochemical corrosion parameters such as corrosion potential (E_{corr}), corrosion current (i_{corr}), corrosion current density (I_{corr}), anodic Tafel slope (β_a) and cathodic Tafel slope (β_c) are presented in Table 1. In comparison with alloy coating in sterile medium for 5 h, the corrosion potential, E_{corr} , of the NiZn alloy coating undergoes a negative shift of ~30 mV by the effect of the *D. acidovorans* bacterium (Table 1). Furthermore, at the beginning of the experiments (60 and 90 min), the E_{corr} value of the *D. acidovorans*-colonized alloy coating electrode is much more positive than the alloy coating in

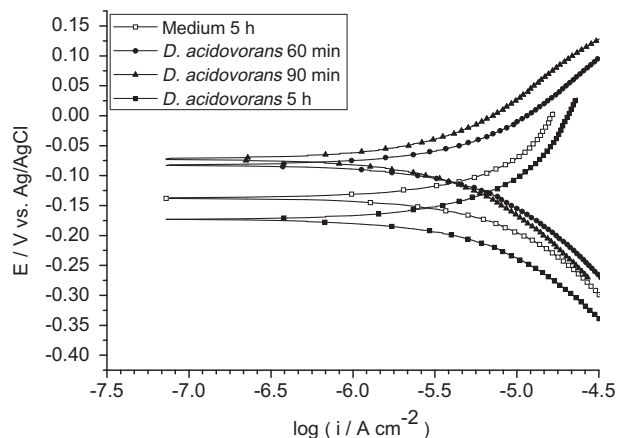


Fig. 3. The polarization curves of NiZn alloy coatings in sterile medium and medium containing *D. acidovorans*.

Table 1

The corrosion parameters determined from the Tafel plots for NiZn alloy coatings in the sterile and medium containing *D. acidovorans*.

| | Sterile medium 5 h | After inoculation | | |
|---|-----------------------|-------------------|--------|-------|
| | | 60 min | 90 min | 5 h |
| E_{corr} V vs. Ag/AgCl | -0.14 | -0.08 | -0.07 | -0.17 |
| i_{corr} μA | 5.6 | 4.9 | 3.35 | 6.02 |
| I_{corr} $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ | 27.5 | 24 | 16.4 | 30.4 |
| Anodic tafel slope β_a V/dec | 0.47 | 0.57 | 0.39 | 0.57 |
| Cathodic tafel slope β_c V/dec | 0.31 | 0.37 | 0.34 | 0.37 |
| R_p , $\Omega \text{ cm}^2$ | 6307 | 35912 | 49735 | 33535 |

sterile medium, indicating that adhesive layer formation supposedly protects alloy coating from corrosion. However, at the end of experiments, i_{corr} and I_{corr} value of the inoculated medium (5 h) was higher than sterile medium, showing a slightly higher electrochemical activity on the alloy coated surface due to the biological activity. This means that the bacterium and its metabolites induced an increase in the corrosion rate of NiZn alloy coating.

Nyquist plots of nickel alloys immersed in N. broth medium and medium containing bacterium have been plotted in Fig. 4. The entire frequency region can be divided into two sub-regions, corresponding to two time constants as shown in Bode plots ($\log|Z|$ vs. $\log(f)$) in Fig. 5. In this sense, an electrical-equivalent-circuit comprised of two time constants was used to model the experimental values (Fig. 6) and summarized in Table 2. In the circuit, R_s is the resistance of solution, R_p is pore resistance and R_{ct} is the resistance of charge transfer. Q_{CPE} and Q_{dl} are the CPE parameters for the inhomogeneous layer and the double layer. A constant phase element (CPE) is used due to the microscopic roughness of a surface [34–37]. Examination of R_p data obtained in *D. acidovorans* inoculated medium for 5 h revealed a direct influence of microbial activity. Table 2 shows that R_p values increases from 0.326 $\text{k}\Omega \text{ cm}^2$ in the sterile medium to 10.545 $\text{k}\Omega \text{ cm}^2$ for 60 min, 11.658 $\text{k}\Omega \text{ cm}^2$ for 90 min and 28.008 $\text{k}\Omega \text{ cm}^2$ after 5 h inoculation of the bacterium. When charge transfer resistance value (R_{ct}) decreased, this eventually leads to an increase in the corrosion rate [38]. R_{ct} value of the sterile medium was 21.287 $\text{k}\Omega \text{ cm}^2$. After the incubation, R_{ct} values were decreased. Acceleration of the corrosion rate may depend on bacteria acting directly on alloy coatings, or it may depend on the continued supply of metabolic products. In addition, Q_{CPE} value clarified surface inhomogeneity, with its descent connected with a certain increase at surface alloy coatings roughening [39,40]. It could be seen that there are two-time constants in Bode

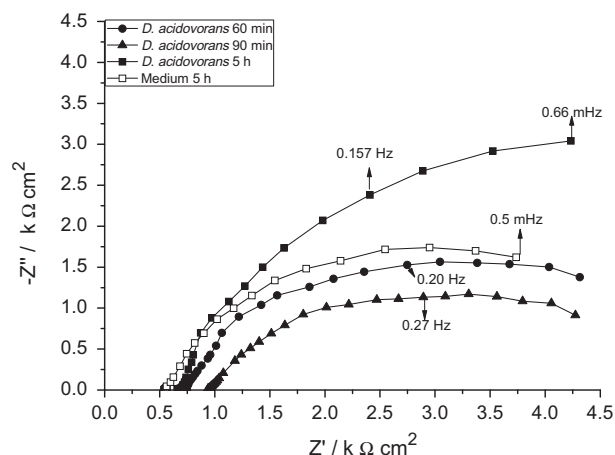


Fig. 4. Impedance diagrams of NiZn alloy coatings in the sterile medium and medium containing *D. acidovorans*.

plots (Fig. 5). The first one, which appears at high frequencies, has been related to the response of the corrosion products layer [41]. The second time constant appears at low frequencies after exposure and could be related to the growth and stabilization of the bacterial adhesive layer.

Fig. 7 shows the surface appearance of the NiZn alloy coatings discs immersed in sterile medium and medium containing bacterium for 5 h. Fig. 7a shows the medium effects to the coated alloy surface. Sterile medium contains sodium chloride, so pitting corrosion occurred. As displayed in Fig. 7b, after 5 h of immersion, in the medium containing bacterium, it was seen that the NiZn surface was partially covered with clusters of microbial cells. In addition, in Fig. 7c and d, more pitting and effective crevice corrosion were observed on the surface of the medium containing bacterium unlike the surface of the sterile medium.

EDS was used for obtaining elemental information from the corrosion products of some typical areas on the surface of the alloy. EDS analysis shows that the oxide percentage of the alloy surface exposed with the medium was 4.8% (Fig. 8a) whereas the alloy surface exposed to the medium containing bacterium was 6.89% (Fig. 8b). As a result, *D. acidovorans* caused an increase in the oxide percentage due to aerobic respiration.

As displayed in Fig. 9, both the medium and the inoculated medium pH values were approximately the same (6.75) in the beginning. The pH values of the medium did not change throughout the experiment; however, after immersion in the medium containing bacterium for 5 h, the pH value decreased to 6.0.

4. Conclusions

Microbiologically influenced corrosion of NiZn alloy coatings by the aerobic *D. acidovorans* bacterium has been monitored by electrochemical techniques, quartz crystal microbalance and SEM–EDS analysis. MIC of the material was predicted by quartz crystal microbalance. The electrochemical response (E_{corr} , R_p , and EIS) of NiZn alloy coating was influenced by the presence of bacterium. At the end of 5 h experiments, E_{corr} decreased in the presence of bacterium, showing a small increase of the electrochemical activity on the alloy surface. The increase in R_p values indicated that electrochemical reactions occurred when the bacterium were active. In any case, the pH of the medium remained approximately constant.

In this study, EIS of sterile medium and medium containing bacterium was carried out. The results obtained were in agreement with the results coming from the classical electrochemical techniques. E_{corr} . So, I_{corr} and QCM have been shown to be suitable

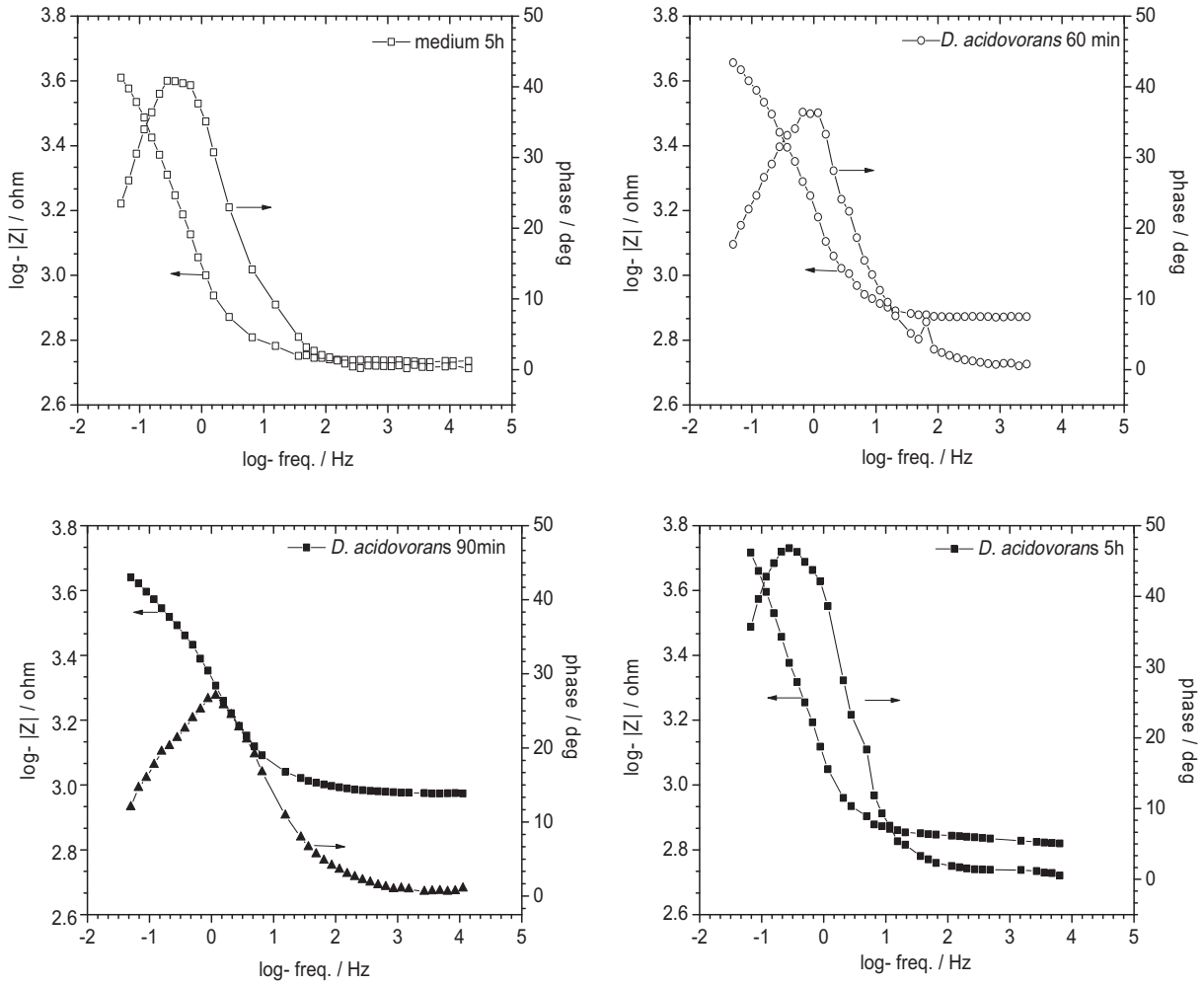


Fig. 5. Bode phase angle plots of NiZn alloy coatings immersed in sterile medium and medium containing *D. acidovorans*.

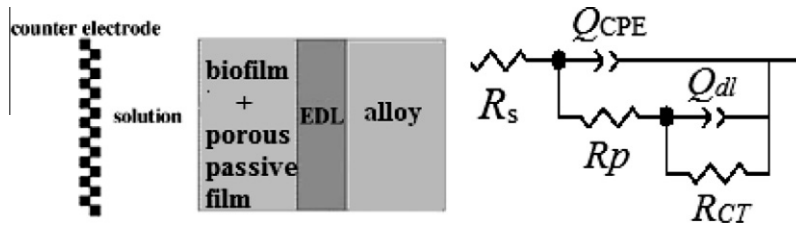


Fig. 6. Equivalent circuit used for fitting the impedance spectra based on a double-layer model of surface film.

Table 2
Electrochemical model impedance parameters of the NiZn alloy coatings in the medium and medium containing *D. acidovorans*.

| | Sterile medium 5 h | After inoculation | | |
|---|--------------------|-------------------|--------|-------|
| | | 60 min | 90 min | 5 h |
| $R_s, \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$ | 0.5 | 0.7 | 0.9 | 0.6 |
| $R_p, \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$ | 0.3 | 10.5 | 11.6 | 28.0 |
| $R_{ct}, \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$ | 21.2 | 4.1 | 14.9 | 2.7 |
| $Q_{CPE} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 14 | 85.4 | 70.3 | 124.8 |
| η | 0.7 | 0.8 | 0.7 | 0.8 |
| $Q_{dl} \times 10^{-5}, \Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$ | 16.8 | 237.6 | 245 | 245 |
| η | 0.8 | 0.1 | 0.3 | 0.8 |

The EIS measurements were carried out at 5 mV applied voltage at sinusoidal wave in the frequency range 20 kHz–50 MHz in pH 7.0 nutrient broth medium at room temperature.

parameters to measure the electrochemical activity of alloy coatings subjected to biological corrosion. All electrochemical techniques have shown that at the end of the exponential phase, when the metabolic activity is maximum, the corrosion activity of NiZn coatings notably increased due to bacterial metabolites. In the end, the accumulation of corrosion product led to degradation of the alloy coatings.

MIC has been recognized by a combination of observations: pitting and crevice corrosion, and presence of bacterial adhesion. Thus, the observations tend to confirm that *D. acidovorans* plays an important role in the corrosion of NiZn alloy coating, in laboratory tests. This is most probably due to the fact that *D. acidovorans* caused electrochemical exchanges between the coated alloy surface and the culture liquid medium.

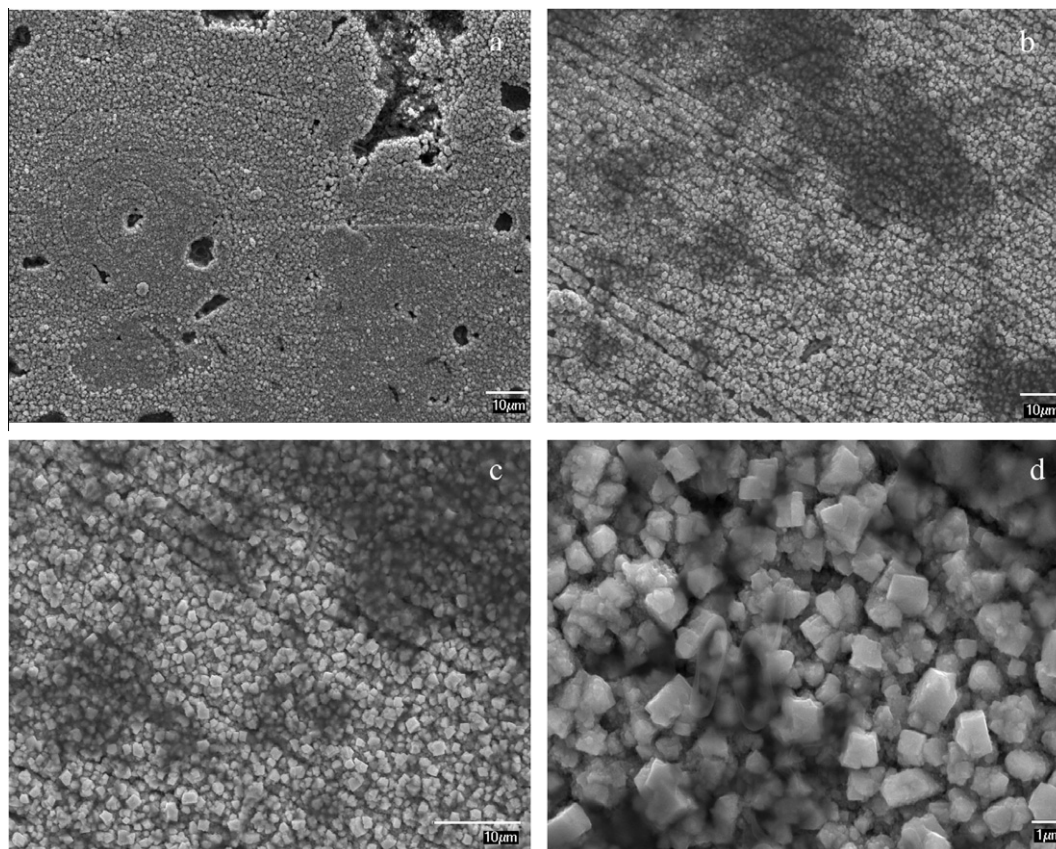


Fig. 7. SEM micrographs of NiZn surfaces exposed to different mediums for 5 h: (a) NiZn alloy coating in sterile medium (1000 \times); (b) NiZn alloy coating in medium containing bacterium (1000 \times); (c) NiZn alloy coating in medium containing bacterium (2000 \times); (d) NiZn alloy coating in medium containing bacterium x8000.

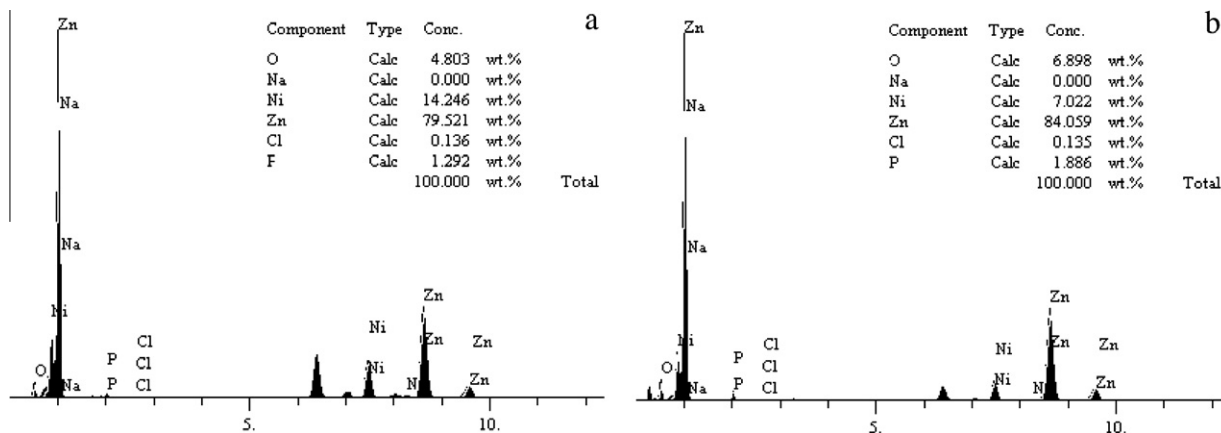


Fig. 8. EDS spectrum of NiZn alloy coatings exposed to different mediums for 5 h: (a) NiZn alloy coatings in sterile medium; (b) NiZn alloy coatings in medium containing *D. acidovorans*.

Corrosion never stops but its scope and severity may be diminished. In this case, the use of biocide is one of the best-known methods for protection against corrosion [42]. Some researchers have proved that biocide could control the corrosion of different metals and alloys. For example, the molybdate anion inhibits the corrosion of iron, steel, copper, brass, aluminum, and zinc presence of bacteria [43]. Lavania et al. also reported efficiency of biocides against *Desulfovibrio vulgaris* and *Desulfovibrio gigas* [44]. In the light of these studies, it is necessary for us to study bio-

cide/inhibitor effect on *D. acidovorans* on NiZn alloy coatings corrosion.

This study may provide theoretical information for the application of NiZn alloy coatings materials in industrial environment and controlling MIC in aquatic environments. In addition, the results presented here could provide useful information for MIC, more experiments should be carried out with different novel bacteria to find the reasons of microbial corrosion in industrial environment.



Evaluation of microbiologically influenced corrosion inhibition on Ni–Co alloy coatings by *Aeromonas salmonicida* and *Clavibacter michiganensis*

Nalan Oya San^a, Hasan Nazır^b, Gönül Dönmez^{c,*}

^a Ankara University, Institute of Biotechnology, 06100 Beşevler-Ankara, Turkey

^b Faculty of Science, Department of Chemistry, 06100 Beşevler-Ankara, Turkey

^c Faculty of Science, Department of Biology, 06100 Beşevler-Ankara, Turkey

ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 February 2012

Accepted 2 August 2012

Available online 11 August 2012

Keywords:

A. Alloy

A. Nickel

B. EIS

C. Microbiological corrosion

ABSTRACT

Microorganisms are able to intensely change the electrochemical conditions at the metal/solution interface by forming biofilms. These changes can result in acceleration of corrosion to corrosion inhibition. In this study microbiologically influenced corrosion inhibition (MICI) has been observed for Ni–Co alloy coatings when two bacteria inoculated to the medium. Experiments were performed in sterile medium and using *Aeromonas salmonicida* and *Clavibacter michiganensis* bacteria. After the inoculation of the bacteria, a decrease detected at the E_{corr} and I_{corr} values. Highest inhibition efficiency (η_p and η_i) values were detected for *C. michiganensis*, as it caused a slower corrosion reaction.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Microbiologically influenced corrosion (MIC) has been defined as an electrochemical process in which the participation of microorganisms is able to initiate, facilitate, or accelerate the corrosion reaction [1–4]. The formation of biofilms on materials immersed in an aquatic environment is a combined action by adhesion of organic/inorganic macromolecules, exo polymeric substance (EPS) production, microbial growth and hydrodynamic erosion. EPS are known to modify the substratum surface properties by modifying surface charge, wettability and surface free energy resulting in enhanced corrosion or corrosion inhibition [5,6].

The general concept of MIC is based on the assumption that microorganisms accelerate the kinetics of electrochemical reactions thereby producing increased corrosion rates [7,8]. Although Stadler et al. [9] demonstrated a corrosion protection of three different kinds of metal substrate in the presence of Sulfate-reducing bacteria (SRB) and *Pseudomonas* strain, it is surprising that the possibility of corrosion inhibition caused by bacteria has rarely been considered. Jayaraman et al. [10,11] have demonstrated that protective biofilms decreased the corrosion rate of mild steel, apparently by reducing the oxygen concentration at the metal surface. Due to the high costs associated with repairing or replacing component damaged by MIC, the issue has become a significant area of scientific research. These results suggest that MICI is a more common phenomenon than was previously assumed and observa-

tions have led to a new approach of corrosion protection based on corrosion control using natural bacteria.

The electrochemical properties of nickel coatings are well known. Their wide application is a result of specific properties of nickel, which exhibits good corrosion resistance in aggressive solutions and a high catalytic activity for many electrochemical processes. In order to enhance the utilization of these materials, various modifications can be applied, such as the use of nickel alloys [12–15]. In addition, electrodeposited Ni–Co alloy coatings have high strength and hardness, specific magnetic properties, good chemical stability, wear and corrosion-resistance [16–18].

Two examples of bacteria isolated from the water sample of the corroded water treatment system are; *Aeromonas salmonicida* and *Clavibacter michiganensis*. The former is *A. salmonicida*, Gram negative, facultative, aquatic bacterium and caused the lethal disease in fish [19,20]. The latter is *C. michiganensis*, Gram positive, aerobic and plant-pathogenic bacterium [21,22].

The major aim of the present study was to elucidate the influence of two bacteria's corrosion inhibition on alloy coatings. Electrochemical polarization and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) was used to characterize the corrosion inhibition process. The mass loss was determined by using the quartz crystal microbalance (QCM) method. In addition, scanning electron microscopy (SEM) was used to examine the electrode surface and energy dispersive X-ray spectra (EDS) analysis was used to obtain elemental information from the corrosion products of some typical areas from the surface of the alloy.

Considering the lack of literature on the subject, this is the first report on investigation of microbiologically influenced corrosion

* Corresponding author. Tel.: +90 312 212 67 20; fax: +90 312 223 23 99.

E-mail address: gdonmez@ankara.edu.tr (G. Dönmez).

inhibition of two novel bacteria on Ni–Co alloy coatings. It is becoming apparent that MICI is a more common phenomenon than has been assumed previously.

2. Material and methods

Two bacteria were isolated from water samples which were taken from corroded water treatment system. Samples were incubated in Nutrient Broth medium for enrichment, and subsequently purified in sterile agar plates. The isolated bacteria were characterized using of 16S rRNA nucleotide sequences and submitted to NCBI GenBank under Accession numbers GU907676 (*A. salmonicida*) and, GQ466171 (*C. michiganensis*) [23].

The bacteria were cultured on a rotary shaker (New Brunswick Scientific Innova 4230) at 30 ± 1 °C and 100 rpm in a N. Broth medium used for enrichment culture, which contained 5.0 g peptone from meat, 3.0 g meat extract, and 6.0 g sodium chloride in 1 L deionized water. The medium was autoclaved at 121 °C for 15 min (Alp CL-40M, Japan). After 24 hours of incubation, cultures were centrifuged at 5000g, 10 min (Hettich EBA 12), and the biomass was used for bio-corrosion experiments. In order to ensure the reproducibility of the experiments, exponential phase bacteria having approximately the same OD₆₀₀ values were used.

Electrochemical measurements were carried out in a conventional three-electrode cell. The OCP, polarization curves and EIS were measured using CompactStat Potentiostat (IviumStat, The Netherlands). The EIS measurements were carried out at 5 mV applied voltage at sinusoidal wave in a frequency range of 20 kHz–50 mHz. The EIS measurements were conducted at the end of OCP measurements. The charge transfer resistance (R_{ct}) was obtained from the diameter of the semicircle in the Nyquist plot, and the values of percentage inhibition efficiency, η_i was using the equations below:

$$\eta_i = \frac{R_{ct(\text{uninh})} - R_{ct(\text{inh})}}{R_{ct(\text{inh})}} \times 100 \quad (1)$$

where $R_{ct(\text{uninh})}$ and $R_{ct(\text{inh})}$ are the uninhibited and inhibited charge transfer resistance, respectively. The polarization curves were obtained by scanning from the open circuit potential towards 200 mV anodically and cathodically at a scan rate of 1 mV/s. The corrosion current density (I_{corr}) was determined graphically by extrapolating the linear Tafel segment of the cathodic and anodic curves to the E_{corr} (vs Ag/AgCl). The inhibition efficiency, η_p was calculated from polarization measurements according to the equation given below:

$$\eta_p = \frac{I_{\text{corr}(\text{uninh})} - I_{\text{corr}(\text{inh})}}{I_{\text{corr}(\text{uninh})}} \times 100 \quad (2)$$

where $I_{\text{corr}(\text{uninh})}$ and $I_{\text{corr}(\text{inh})}$ are the uninhibited and inhibited corrosion current densities.

All the recorded i_{corr} values are converted into the corrosion rate (A) in mm y⁻¹ (Millimeter per year; the penetration rate of corrosion through a metal/alloy) using the equation below [24]:

$$A(\text{mmy}^{-1}) = 3.28 \times i_{\text{corr}} \times \left(\frac{M}{nd}\right) \quad (3)$$

where M is the arithmetic average of the atomic weights of Ni (58.6 g/mol) and Co (58.9 g/mol), n the number of electrons transferred in the corrosion reaction ($n = 2$) and d is the arithmetic average of Ni (8.90 g cm⁻³) and Co (8.96 g cm⁻³)'s densities. Average atomic weights and densities were used in expression (3).

The QCM measurements were carried out in a Model 400A time-resolved quartz crystal microbalance (CH Instrument, USA) linked computer with electrochemistry software (CHI400A). The working electrode used in QCM was gold AT-cut quartz crystal

(CHI125A). Surface area of a gold crystal was 0.204 cm² and its nominal resonant frequency was 7.995 MHz. Moreover, ST-42 carbon steel with a surface area of 0.204 cm² was also used as a working electrode in other electrochemical studies. The Ag/AgCl (sat. KCl) electrode (CHI111) was used as the reference electrode and a platinum wire (CHI115) was used as counter electrode for all experiments. Ni–Co alloy was electrodeposited on the QCM and ST-42 electrodes from a nickel–copper bath containing NiSO₄·7H₂O (104 g/L), NiCl₂·6H₂O (3.5 g/L), H₃BO₃ (6.95 g/L) and CoSO₄·7H₂O (5 g/L). Electrodeposition was performed chronoamperometrically with -1.2 V (vs. Ag/AgCl) applied to the electrolysis system for 150 s during the Ni–Co depositions. The Ni and Co contents of the deposit were also verified with an atomic absorption spectrophotometer. So, the yield of coating for bath content was assumed as 100%, where Ni–Co ratios were calculated as 90 and 10, respectively. Using the bathing solution explained, we electroplated the Ni–Co thin film with a thickness of approximately 100 nm on one side of the quartz crystal electrodes. Data acquisition software was used to record the mass change. Frequency change, Δf , was converted into the mass variation, Δm , using the Sauerbrey equation [25].

$$\Delta f = -\frac{2f_0^2 n \Delta m}{A \sqrt{\rho \mu}} \quad (4)$$

where f_0 is the resonant frequency of the fundamental mode of the quartz resonator, n is the harmonic number of the oscillation (here $n = 1$), A is the piezoelectrically active surface area, ρ is the quartz crystal density ($\rho = 2.684$ g/cm³) and μ is the shear modulus of quartz ($\mu = 2.947 \times 10^{11}$ g/cm s²). The theoretical thickness (T_t , cm) of the deposits was calculated using $m/(\text{density g/cm}^3)$.

After the experiments (5 h) the coated discs were taken from the mediums, rinsed with deionized water and dried under a stream of nitrogen gas. Surface morphology was inspected and analyzed with a SEM at an acceleration voltage of 20 kV (JEOL JSM-7000F Field Emission SEM-EDAX).

3. Results and discussion

Fig. 1 represents the potential – time curves of the alloy coatings as a function of time in sterile medium, medium inoculated with *A. salmonicida* and medium inoculated with *C. michiganensis*. In Fig. 1, sterile medium exhibited lower open circuit potential (c: -0.6 V (vs. Ag/AgCl)) than that in medium inoculated with *C. michiganensis* (a: -0.57 V (vs. Ag/AgCl)) and in the medium inoculated with *A. salmonicida* (b: -0.58 V (vs. Ag/AgCl)). As a result,

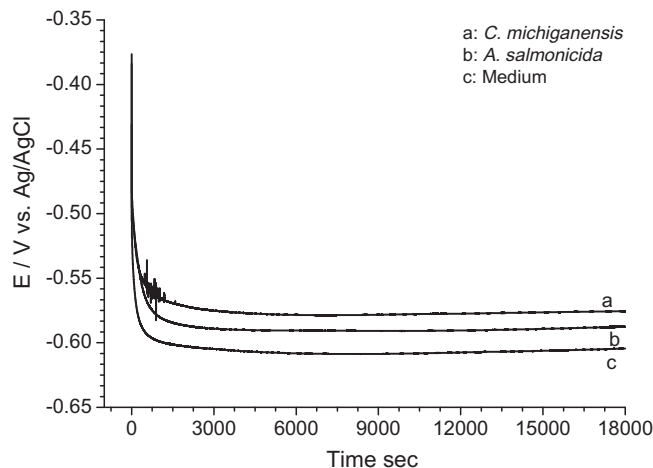


Fig. 1. Variation of OCP of Ni–Co electrodes immersed in sterile and inoculated medium.

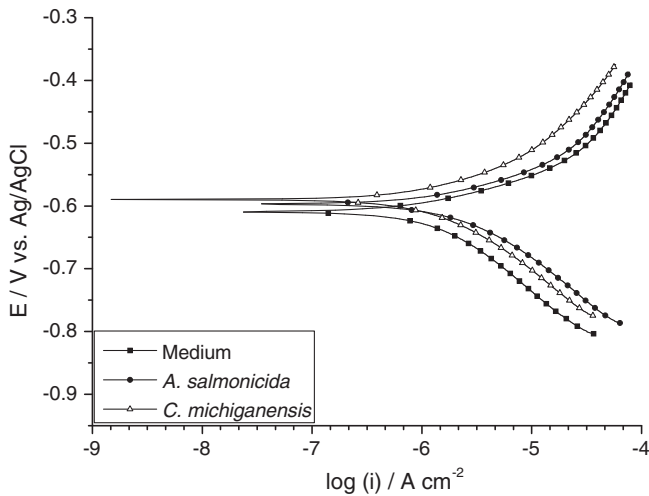


Fig. 2. The polarization curves of Ni-Co alloy coatings in sterile and inoculated medium.

E_{corr} value of the medium shifted more negative value than E_{corr} values of the medium inoculated with bacteria.

Fig. 2 shows the polarization curves in the absence and presence of two bacteria after 5 h of exposure. The electrochemical parameters; corrosion potential, E_{corr} , corrosion current, i_{corr} , corrosion current density, I_{corr} , anodic Tafel slope β_a , cathodic Tafel slope β_c , inhibition efficiency from polarization measurements, η_p , corrosion rates, A , and mass losses from QCM experiments were calculated and given in Table 1. As shown in Table 1, the corrosion potential shifted to less negative values upon inoculation of the bacteria. On the other hand, the inoculation of bacteria resulted with a significant decrease in corrosion current. From the results, the corrosion current density value detected after 5 h of exposure from the alloy coatings exposed to the medium was $12.29 \mu\text{A}/\text{cm}^2$. This value was much higher than all current density values of the medium inoculated with two bacteria. This behavior showed corrosion inhibition ability of bacteria on Ni-Co alloy coatings. The I_{corr} value of medium inoculated with *C. michiganensis* has the highest $\eta_p\%$ value and therefore, this bacterium was more protective than *A. salmonicida* which caused less corrosion. In addition, the corrosion rates of the alloy coating discs in sterile medium and medium inoculated with *A. salmonicida* and *C. michiganensis* were calculated from the Eq. (3) are shown in Table 1. At the end of 5 h long incubation period, the estimated corrosion rates were approximately five times higher for the sterile medium (132.61 mmy^{-1}) compared to the medium inoculated with *C. michiganensis* (25.42 mmy^{-1}).

QCM is capable of detecting small mass changes in the region of ng/cm^2 under controlled electrochemical conditions in aqueous solutions [26–28]. Fig. 3 shows the results of an experiment where the change at the resonance frequency of a quartz crystal was monitored continuously during the corrosion process for 5 h. The negative slopes of the mass vs time curves, as shown in Fig. 3, were

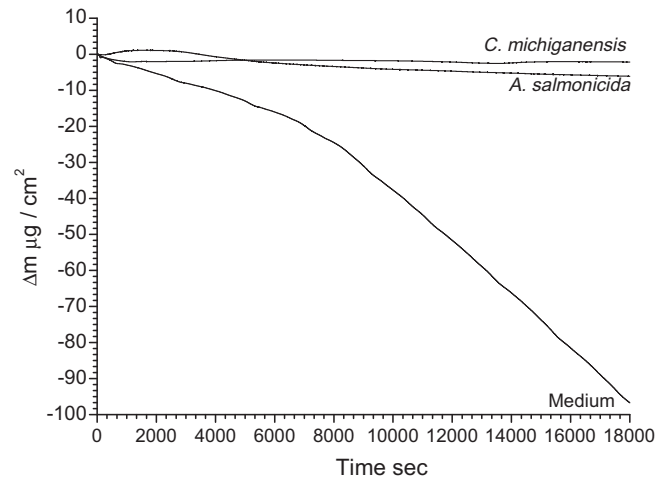


Fig. 3. Time dependence of mass changes of Ni-Co electrodes in sterile and inoculated medium, at the room temperature.

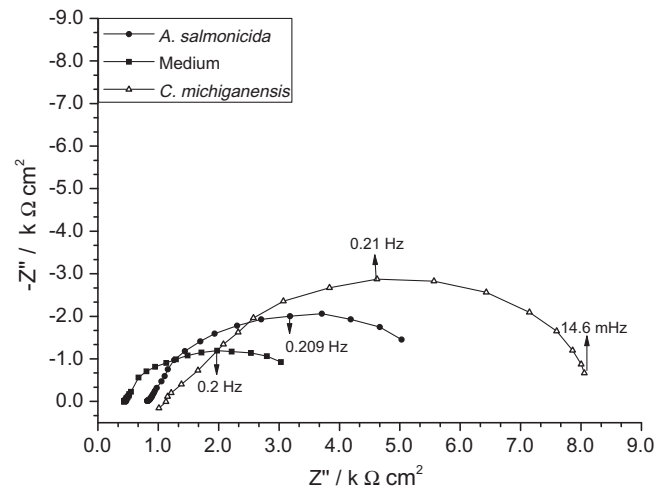


Fig. 4. Impedance diagrams of Ni-Co alloy coatings immersed in sterile and inoculated medium.

proportional to the corrosion rate, and decreased slightly over this period. Results showed that the mass loss of Ni-Co alloy coatings in the medium was $96.9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ but after inoculation of bacteria the mass loss began to slow down. As a result, the mass loss values were $2.14 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ for *C. michiganensis* and $6.10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ for *A. salmonicida*. When we compared the corrosion abilities, *A. salmonicida* was found to be more effective than *C. michiganensis*.

Nyquist plots of Ni-Co alloy coatings immersed in sterile medium and medium inoculated with two bacteria for 5 h are shown in Fig. 4. In addition Fig. 5 shows the physical structure of the surface film on the coated alloy specimens and their corresponding

Table 1
Electrochemical parameters of Ni-Co alloy coatings corrosion inhibition in medium and medium inoculated with bacteria.

| | E_{corr} , V vs Ag/AgCl | i_{corr} , mA | I_{corr} , $\mu\text{A cm}^{-2}$ | $\eta_p\%$ | Anodic Tafel slope β_a , V dec $^{-1}$ | Cathodic Tafel slope β_c , V dec $^{-1}$ | Corrosion Rate (mm y^{-1}) | QCM mass loss ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) |
|-------------------------|---------------------------|-----------------|------------------------------------|------------|--|--|---------------------------------------|---|
| Medium | -0.61 | 2.50 | 12.29 | - | 0.29 | 0.23 | 132.61 | 96.9 |
| <i>A. salmonicida</i> | -0.60 | 1.06 | 5.20 | 57.6 | 0.06 | 0.19 | 56.15 | 6.10 |
| <i>C. michiganensis</i> | -0.59 | 0.48 | 2.36 | 80.8 | 0.08 | 0.11 | 25.42 | 2.14 |

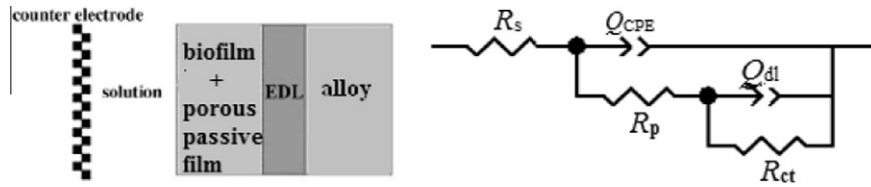


Fig. 5. Equivalent circuits used for fitting the impedance spectra based on a double-layer model of surface film.

Table 2

Electrochemical model impedance parameters of the Ni–Co alloy coatings in the medium and inoculated medium with two bacteria.

| | R_s , Ω | R_p , $k\Omega\text{ cm}^2$ | R_{ct} , $k\Omega\text{ cm}^2$ | η , % | Q_{CPE} , $\Omega^{-1}\text{ cm}^{-2} \times 10^{-5}$ | η | Q_{dl} , $\Omega^{-1}\text{ cm}^{-2} \times 10^{-5}$ | η |
|-------------------------|------------------|-------------------------------|----------------------------------|------------|---|--------|--|--------|
| Medium | 441.2 | 7.6 | 19.4 | – | 24.0 | 0.85 | 24.9 | 0.7 |
| <i>A. salmonicida</i> | 830.2 | 19.1 | 8.4 | 56.6 | 18.1 | 0.8 | 44.6 | 0.09 |
| <i>C. michiganensis</i> | 1159.9 | 13.5 | 3.2 | 83.5 | 5.6 | 0.9 | 13.5 | 0.91 |

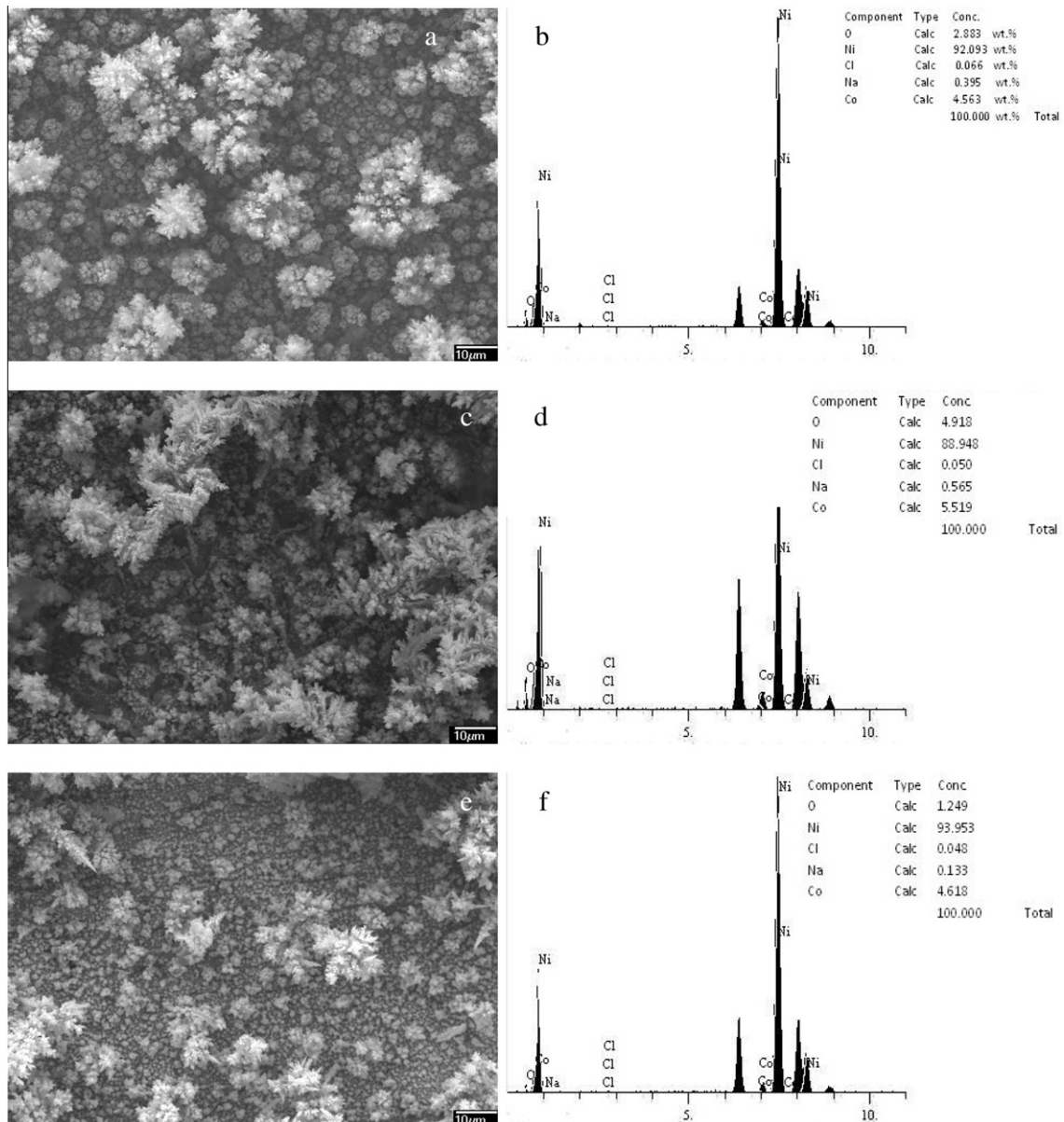


Fig. 6. SEM micrographs and EDS spectrum of Ni–Co alloy coated surfaces exposed to sterile medium and medium containing two bacteria for 5 h: (a,b) Ni–Co alloy coating in sterile medium (c,d) Ni–Co alloy coating in medium containing *A. salmonicida* (e,f) Ni–Co alloy coating in medium containing *C. michiganensis*.

equivalent circuit which can be satisfactorily used for fitting the impedance data by using EIS Spectrum Analyzer (Beta version) [29]. In this circuit, R_s is the resistance of solution, R_p is the resistance of the porous inhibitor film and R_{ct} is the resistance of charge transfer. Q_{CPE} and Q_{dl} are the CPE parameters for the inhibitor film and the double layer. Table 2 shows the best fitting parameters obtained in numerical analyses. In this table, it is possible to observe the decrease of R_{ct} and R_p values at sterile medium for 5 h, indicating the breakdown of corrosion inhibition film [30,31]. The inhibition efficiency values obtained from the EIS measurements were congruent with those obtained from the polarization measurements.

SEM and EDS analysis of the Ni–Co alloy coated discs, in nutrient broth medium, at the absence and presence of two bacteria after 5 h of immersion were also examined. The results obtained were shown in Fig. 6a–f. In the sterile medium (Fig. 6a), a rough surface was observed due to rapid corrosion attack of the Ni–Co alloy coating disc. Micrographs after bacteria inoculation were shown in Fig. 6c (*A. salmonicida*) and Fig. 6e (*C. michiganensis*), the rough surface is visibly reduced, indicating a formation of film on the surface of the alloy coatings and inhibiting effect of the bacteria. A closer inspection of Fig. 6(c) and (e) reveals that the inhibitive biofilm formed in the presence of *C. michiganensis* (6e) seems to be more compacted than in the presence of *A. salmonicida* (6c). This behavior is related to the compact film and inhibition efficiency enhancement as corrected with EDS analysis. EDS analysis showed that the oxide percentage of the alloy surface exposed with the sterile medium was 2.8% (Fig. 6b) whereas the alloy surface exposed to medium containing *C. michiganensis* bacterium was 1.2% (Fig. 6e). However, EDS analysis of the medium containing *A. salmonicida* bacterium was 4.9% (Fig. 6d). Result was explained with EIS analysis that double layer capacitance of the *A. salmonicida* damaged the barrier of the biofilm and expected corrosion rate from i_{corr} value was higher. Furthermore the presence of a biofilm could speed up the corrosion rate if the concentration of harmful anions like chloride beneath the biofilm was increased. As seen in the EDS analysis results, percentage of the chloride in medium was 0.066%. After incubation, values were decreased to 0.050% for *A. salmonicida* and 0.048% for *C. michiganensis*.

4. Conclusions

Biocorrosion and microbial inhibition are rarely linked to a single mechanism. Either the corrosive or the inhibitory actions of bacteria are developed at biofilmed metal/alloy surfaces where complex biofilm/protective films interactions occur. Microorganisms influence the type and concentrations of ions and the pH and oxygen levels inducing significant variations in the physical and chemical characteristics of the environment as well as in the electrochemical parameters used to measure the corrosion rate.

MICI has been observed for Ni–Co alloy coatings exposed to nutrient broth medium inoculated with *A. salmonicida* and *C. michiganensis* bacteria. After bacteria inoculation, the R_{ct} values were increased and indicated inhibition of the corrosion process. Compact biofilm formation of the *A. salmonicida* and *C. michiganensis* may protect the alloy surface [32]. Even damaged surfaces could be repaired by this bacterial activity. Corrosion protection due to consumption of deleterious oxygen by the biofilm was also observed, either in a direct [33] or an indirect way [34].

Acknowledgement

The authors wish to thank Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK-BİDEB).

References

- [1] D.J. Beale, M.S. Dunn, D. Marney, Application of GC–MS metabolic profiling to ‘blue-green water’ from microbial influenced corrosion in copper pipes, *Corros. Sci.* 52 (2010) 3140–3145.
- [2] E. İlhan-Sungur, A. Çotuk, Microbial corrosion of galvanized steel in a simulated recirculating cooling tower system, *Corros. Sci.* 52 (2010) 161–171.
- [3] A. Nagiub, F. Mansfeld, Evaluation of microbiologically influenced corrosion inhibition using electrochemical noise analysis, *Corros. Sci.* 43 (2001) 2001–2009.
- [4] M. Mehanna, R. Basséguy, M.L. Délia, A. Bergel, Effect of *Geobacter sulfurreducens* on the microbial corrosion of mild steel, ferritic and austenitic stainless steels, *Corros. Sci.* 51 (2009) 2596–2604.
- [5] R.F. Jack, D.B. Ringelberg, D.C. White, Differential corrosion rates of carbon steel by combinations of *Bacillus* sp., *Hafnia alvei* and *Desulfovibrio gigas* established by phospholipid analysis of electrode biofilm, *Corros. Sci.* 33 (1992) 1843–1853.
- [6] G. Gunasekaran, S.T. Chongdar, P. Kumar, Influence of bacteria on film formation inhibiting corrosion, *Corros. Sci.* 46 (2004) 1953–1967.
- [7] D. Örnek, T.K. Wood, C.H. Hsu, F. Mansfeld, Corrosion control using regenerative biofilms (CCURB) on brass in different media, *Corros. Sci.* 44 (2002) 2291–2302.
- [8] D.J. Beale, M.S. Dunn, P.D. Morrison, N.A. Porter, D.R. Marlow, Characterization of bulk water samples from copper pipes undergoing microbially influenced corrosion by diagnostic metabolomic profiling, *Corros. Sci.* 55 (2012) 272–279.
- [9] R. Stadler, W. Fuerbeth, K. Harneit, M. Grooters, M. Woellbrink, W. Sand, First evaluation of the applicability of microbial extracellular polymeric substances for corrosion protection of metal substrates, *Electrochim. Acta.* 54 (2008) 91–99.
- [10] A. Jayaraman, E.T. Cheng, J.C. Earthman, T.K. Wood, Importance of biofilm formation for corrosion inhibition of SAE 1018 steel by axenic aerobic biofilms, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 18 (1997) 396–401.
- [11] A. Jayaraman, J.C. Earthman, T.K. Wood, Corrosion inhibition by aerobic biofilms on SAE 1018 steel, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 47 (1997) 62–68.
- [12] M. Ebadi, W.J. Basirun, Y. Alias, Influence of magnetic field on the electrodeposition of Ni–Co alloy, *J. Chem. Sci.* 122 (2010) 279–285.
- [13] C.A. Figueiredo, R.W. Bosch, M. Vankeerberghen, Electrochemical investigation of oxide films formed on nickel alloys 182, 600 and 52 in high temperature water, *Electrochim. Acta.* 56 (2011) 7871–7879.
- [14] R. Oriňáková, A. Turoňová, D. Kladeková, M. Gálová, R.M. Smith, Recent developments in the electrodeposition of nickel and some nickel-based alloys, *J. Appl. Electrochem.* 36 (2006) 957–972.
- [15] H. Kim, D.B. Mitton, R.M. Latanision, Corrosion behavior of Ni-base alloys in aqueous HCl solution of pH 2 at high temperature and pressure, *Corros. Sci.* 52 (2010) 801–809.
- [16] K.H. Hou, M.D. Ger, L.M. Wang, S.T. Ke, The wear behaviour of electrocodeposited Ni–SiC composites, *Wear* 253 (2002) 994–1003.
- [17] C. Lupi, A. Dell’Era, M. Pasquali, P. Imperatori, Composition, morphology, structural aspects and electrochemical properties of Ni–Co alloy coatings, *Surf. Coat. Technol.* 205 (2011) 5394–5399.
- [18] L. Shi, C. Sun, W. Liu, Electrodeposited nickel–cobalt composite coating containing MoS₂, *Appl. Surf. Sci.* 254 (2008) 6880–6885.
- [19] K.R. Arnesen, H. Mikkelsen, M.B. Schröder, V. Lund, Impact of reattaching various *Aeromonas salmonicida* A-layer proteins on vaccine efficacy in Atlantic cod (*Gadus morhua*), *Vaccine* 28 (2010) 4703–4708.
- [20] B. Husevåg, Starvation survival of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* in seawater, *FEMS Microbiol. Ecol.* 16 (1995) 25–32.
- [21] K.H. Gartemann, O. Kirchner, J. Engemann, I. Gräfen, R. Eichenlaub, A. Burger, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: first steps in the understanding of virulence of a Gram-positive phytopathogenic bacterium, *J. Biotechnol.* 106 (2003) 179–191.
- [22] S.E. Brown, A.A. Reilley, D.L. Knudson, C.A. Ishimaru, Genomic fingerprinting of virulent and avirulent strains of *Clavibacter michiganensis* subspecies *sepedonicus*, *Curr. Microbiol.* 44 (2002) 112–119.
- [23] <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.
- [24] M.A. Amin, S.S. Abd El Rehim, H.T.M. Abdel Fatah, Electrochemical frequency modulation and inductively coupled plasma atomic and a test for validity of the Tafel extrapolation method, *Corros. Sci.* 51 (2009) 882–894.
- [25] G. Sauerbrey, The use of quartz oscillators for weighing thin layers and for microweighing, *Z. Phys.* 155 (1959) 206–222.
- [26] F. Falkenberg, K. Fushimi, M. Seo, Study on initiation of localised corrosion on copper thin film electrode by combinational use of an EQCM with a liquid-phase ion gun, *Corros. Sci.* 45 (2003) 2657–2670.
- [27] J. Itoh, T. Sasaki, M. Seo, T. Ishikawa, *In situ* simultaneous measurement with irras and qcm for investigation of corrosion of copper in a gaseous environment, *Corros. Sci.* 39 (1997) 193–197.
- [28] D. Wang, X. Tang, Y. Qiu, F. Gan, G.Z. Chen, A study of the film formation kinetics on zinc in different acidic corrosion inhibitor solutions by quartz crystal microbalance, *Corros. Sci.* 47 (2005) 2157–2172.
- [29] A.S. Bondarenko, G.A. Ragoisha, EIS Spectrum Analyser, <http://www.abc.chemistry.bsu.by/vi/analyser/>.
- [30] H. Gerengi, K. Darowicki, P. Slepski, G. Bereket, J. Ryl, Investigation effect of benzotriazole on the corrosion of brass-MM55 alloy in artificial seawater by dynamic EIS, *J. Solid State Electrochem.* 14 (2010) 965–973.

- [31] P.C. Banerjee, R.K. Singh Raman, Y. Durandet, G. McAdam, Electrochemical investigation of the influence of laser surface melting on the microstructure and corrosion behaviour of ZE41 magnesium alloy – An EIS based study, *Corros. Sci.* 53 (2011) 1505–1514.
- [32] H. Harms, H.P. Volkland, G. Repphun, A. Hiltbold, O. Wanner, A.J.B. Zehnder, Action of chelators on solid iron in phosphate-containing aqueous solutions, *Corros. Sci.* 45 (2003) 1717–1732.
- [33] R. Stadler, L. Wei, W. Fürbeth, M. Grooters, A. Kuklinski, Influence of bacterial exopolymers on cell adhesion of *Desulfovibrio vulgaris* on high alloyed steel: Corrosion inhibition by extracellular polymeric substances (EPS), *Mater. Corros.* 61 (2010) 1008–1016.
- [34] M. Dubiel, C.H. Hsu, C.C. Chien, F. Mansfeld, D.K. Newman, Microbial iron respiration can protect steel from corrosion, *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (2002) 1440–1445.

COMMUNICATIONS

DE LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE D'ANKARA

FACULTY OF SCIENCES
UNIVERSITY OF ANKARA

Series B: Chemistry and Chemical Engineering

VOLUME: 56 **Number: 2** **YEAR: 2010**

Faculty of Sciences, Ankara University
06100 Tandoğan, Ankara – TURKEY
ISSN 1303-6017

COMMUNICATIONS

DE LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE D'ANKARA

FACULTY OF SCIENCES
UNIVERSITY OF ANKARA

Series B: Chemistry, Chemical Engineering

Owner

MUAMMER CANEL

Editor-in-Chief (Publishing Manager)

GÖNÜL DÖNMEZ

Assoc. Editor

CAFER COŞKUN

Editor

ATILLA ÖKTEMER

Managing Editor

MUSTAFA GÜLLÜ

ADVISORY BOARD

E.ALPAY Ege Univ.

M.SAÇAK Ankara Univ.

Z.KILIÇ Ankara Univ.

R.TÜRKER Gazi Univ.

A.KENAR Ankara Univ.

C.ÜNALEROĞLU Hacettepe Univ.

M.OBALI Ankara Univ.

A.YAŞAR Gazi Univ.

Ş.PEKYARDIMCI Ankara Univ.

B.PEYNİRCİOĞLU METU

This Journal is published two issues in a year by the Faculty of Sciences, University of Ankara. Articles and any other material published in this journal represent the opinions of the author(s) and should not be construed to reflect the opinions of the Editor(s) and the Publisher(s).

Correspondence Address:

COMMUNICATIONS

DERGİ BAŞEDİTÖRLÜĞÜ

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi,

06100 Tandoğan, ANKARA – TURKEY

Tel: (90) 312-212 67 20 Fax: (90) 312-223 23 95

e-mail: commun@science.ankara.edu.tr

Print:

Ankara Üniversitesi Basımevi

İncitaş Sokak No:10 06510 Beşevler

ANKARA – TURKEY

Tel: (90) 312-213 65 65

Basım Tarihi:

COMMUNICATIONS

DE LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE D'ANKARA

FACULTY OF SCIENCES
UNIVERSITY OF ANKARA

Series B: Chemistry and Chemical Engineering

VOLUME: 56

Number: 2

YEAR: 2010

Abstracted in
Chemical Abstract & Tübitak - Ulakbim

Faculty of Sciences, Ankara University
06100 Tandoğan, Ankara – TURKEY
ISSN 1303-6017

COMMUNICATIONS

DE LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE D'ANKARA

FACULTY OF SCIENCES
UNIVERSITY OF ANKARA

Volume : 56

Number : 2

Year : 2010

Series : B

N. OYA SAN and H. NAZIR. The influence of *Pseudomonas aeruginosa* on
corrosion behavior of nickel-cobalt alloy1

THE INFLUENCE OF *Pseudomonas aeruginosa* ON CORROSION BEHAVIOR OF NICKEL-COBALT ALLOY

NALAN OYA SAN¹ AND HASAN NAZIR^{2*}

¹Ankara University, Institute of Biotechnology, 06100 Beşevler-Ankara, Turkey

^{2*}Faculty of Science, Department of Chemistry 06100 Beşevler-Ankara, Turkey

(Received April 18, 2010; Accepted June 26, 2010)

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of *Pseudomonas aeruginosa* bacterium on the corrosion of nickel-cobalt (Ni-Co) alloy. The corrosion rate was determined with using of Tafel slopes and Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS). The morphology and the formation of the alloy surface were observed by scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectra (EDS) analysis. It was observed from the Tafel plots that the polarization resistance decreases and the current density increases with a change in time. This was attributed accumulation to the biofilm on the surface and therefore surface became pitted. The Nyquist semicircles tended to open at lower frequencies which indicated the crevice of the surface and the rupture of protective film.

KEYWORDS: Microbial Corrosion; Nickel-Cobalt Alloy; SEM; EIS

INTRODUCTION

Nickel electroplating is utilized in large number of applications due to its advantages such as strength, toughness and resistance to corrosion/wear¹⁻². Ni-Co alloy, which possess good adhesion, low-stress, corrosion resistance, and be thermally stable with excellent magnetic properties³. Physicochemical interactions between a metallic material and its environment can lead to corrosion. Electrochemical corrosion is a chemical reaction involving the transfer of electrons from zero valent metal to an external electron acceptor, causing release of the metal ions into the surrounding medium and deterioration of the metal. This process proceeds through a series of oxidation (anodic) and reduction (cathodic) reactions of chemical species in direct contact with, or in close proximity to, the metallic surface⁴⁻⁶. Metal surfaces are rapidly colonized by microorganisms in contact with natural or industrial aquatic environments, giving rise to a complex and strongly adhering microbial community, termed as “biofilm”⁷. The biofilm accumulation not only protects microbial cells from the external environment, but it is also detrimental to the underlying

substratum, thereby causing physical degradation or biodeterioration of the metal surface⁸⁻⁹. This phenomenon is widely recognized as biocorrosion or microbiologically influenced corrosion (MIC)¹⁰⁻¹¹. Electrochemical methods, including direct current methods, alternating current impedance spectroscopy, and electrochemical noise measurement, are commonly used to study MIC. These methods, however, often assume uniform chemical and electrochemical conditions¹²⁻¹³. In reality, the biofilm tends to create non-uniform surface conditions, leading to localized corrosion.

In the present study, *Pseudomonas aeruginosa* influence on the corrosion of Ni-Co alloy in nutrient medium has been examined with using electrochemical techniques. In addition, scanning electron microscopy (SEM) was used to examine the surface after the corrosion measurements. *P. aeruginosa* was chosen due to its widespread behaviour in nature¹⁴⁻¹⁵. The microorganism used in this study is an aerobic, heterotroph, motile, Gram-negative bacterium, producing large amount of exopolysaccharide, called biofilm.

MATERIALS AND METHODS

Microorganism and culture conditions

This study was performed with pure culture of *P. aeruginosa* obtained from Ankara University, Biotechnology Laboratory in Ankara, Turkey. The bacterium was cultured for 24 hours in a 100 mL Erlenmeyer flask containing 20 mL of the Nutrient Broth medium (peptone from meat 5.0 g, meat extract 3.0 g in 1 L.) on a rotary shaker (New Brunswick Scientific Innova 4230) with 100 rpm, 30±1 °C. The cultured bacterium (20 mL) was centrifuged at 5000×g for; 10 min (Hettich EBA12) then pellet was used for biocorrosion experiments.

Scanning Electron Microscopy

The surface morphology of the Ni-Co deposited brass discs were examined by scanning electron microscopy and elemental analysis was taken out with energy dispersive X-ray spectra (JEOL JSM-7000F Field Emission SEM-EDAX).

Electrochemical measurements

The EIS and polarization curves were measured with using Compactstat potentiostat (IviumStat, The Netherlands). The EIS measurements were carried out at 5 mV (root mean square) applied voltage at sinusoidal wave in the frequency range 20 kHz - 50 mHz. The EIS measurements were conducted of OCP 5 h. The polarization curve scanning rate was 1 mV/s, with a scanning range from -0.20 V of OCP to +0.20 V of OCP. Steel disc was used as a working electrode ($A= 0.204 \text{ cm}^2$). The Ag/AgCl (sat. KCl) electrode was used as the reference in which all potentials refer. The counter

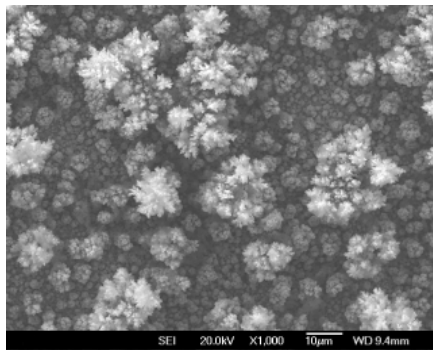
electrode was a platinum wire. Ni-Co alloy, used as a working electrode, was electrodeposited from a nickel-cobalt bath. The Ni-Co bath solution contained 1 M $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2M $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.6 M H_3BO_3 , 0.05 M CoSO_4 (5:1:2.5:5) v/v). The electrodeposition was performed chronoamperometric and -1.2 V was applied to the electrolysis system for 150 s during the Ni-Co coatings.

RESULTS AND DISCUSSIONS

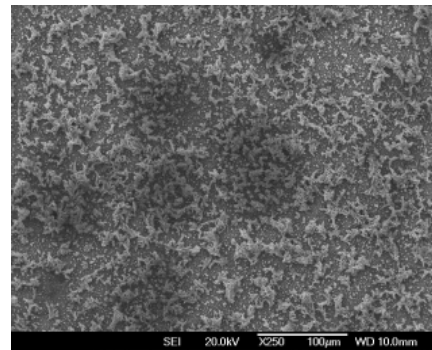
SEM study

“Fig. (1a)” and “Fig. (1b)” show the SEM images of the Ni-Co discs surfaces immersed in the medium without *P. aeruginosa* and with *P. aeruginosa* after incubation for 5 h. In “Fig. (1a)” the oxide components of Ni and Co can be clearly seen. As displayed in “Fig. (1b-1e)” after 5 hours of immersion with medium containing bacterium, it can be seen that the Ni-Co surface partially covered with clusters of microbial cells, extracellular polymeric substance (EPS) and metabolism products. In addition, from the “Fig. (1e)”, pitting corrosion and crevice corrosion were observed on the surface of the inoculated medium rather than on the surface exposed to only medium. The EDS analysis of the corrosion products on discs was illustrated in “Fig. (1d)”.

At the end of the EDS analysis, the oxide percentage of the alloy surface exposed with bacterium was 11.80% (“Fig. (1d)”) where as the alloy surface exposed to the medium was 9 point lower oxide percentage. We conclude that *P. aeruginosa* enhanced corrosion rate due to aerobic respiration.



(a)



(b)

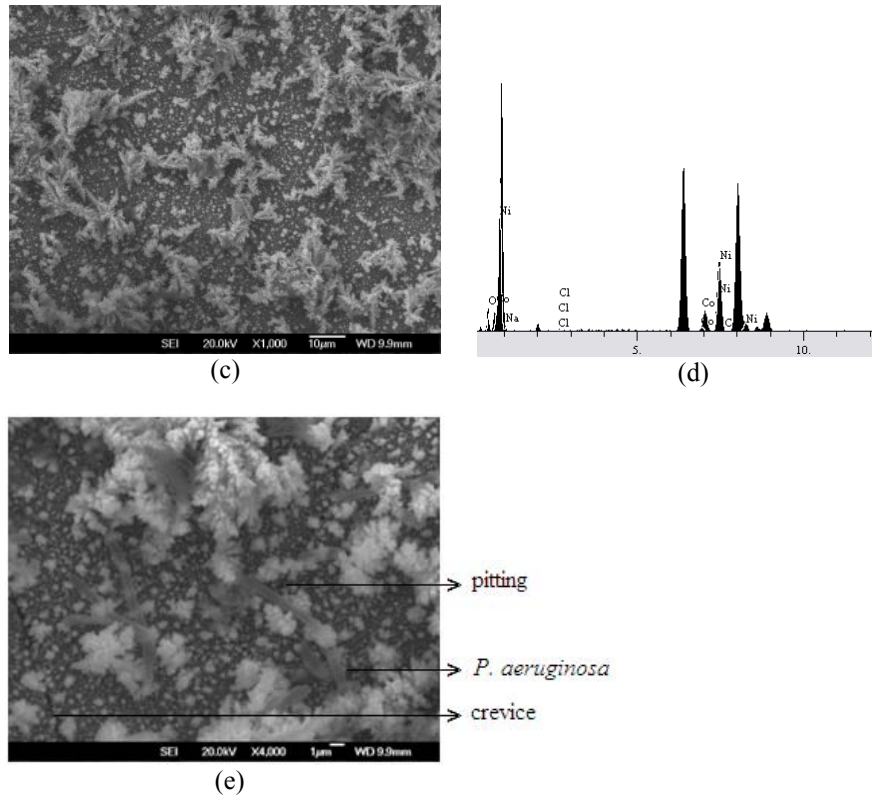


Fig. 1. The SEM micrograph of the surface of the Ni-Co coated discs exposed to (a) medium and (b, c, e) medium with *P. aeruginosa*, (d) The EDS spectrum of the Ni-Co coated disc after incubation for 5 h in the medium with *P. aeruginosa*.

Polarization curves

The polarization curves from the Ni-Co electrodes immersed in the medium and inoculated medium after incubation periods of 30, 60 minutes and 5 hours were shown in “Fig. (2)”. Value of the electrochemical corrosion parameters was shown in Table 1. It can be seen that after being incubation in medium for 5 h, the corrosion potentials of Ni-Co electrodes were -0.082 V. However, the corrosion potentials of Ni-Co electrodes in the inoculated medium with bacterium for 30 min were shifted to -0.144 V. When time increased (60 min) corrosion potential was shifted to cathodic site (-0.594 V) and at the end of 5 h due to biofilm formation, corrosion potentials were shifted to anodic site again as, -0.117 V. Due to microbial activity E_{corr} values began to shift cathodic site first then shifted to anodic site because of the biofilm formation. In addition increase of corrosion current and corrosion current

densities with an increase in incubation time, which meant the increased rate of corrosion and the pitted surface. Furthermore, when biofilm began to comprise on the disc surface, polarization began to decrease, as well, which encouraged the increasing corrosion rate.

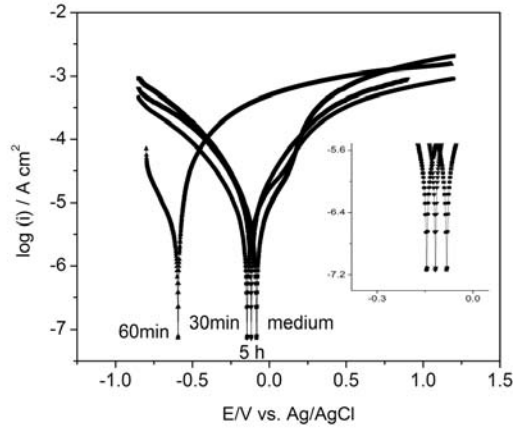


Fig. 2. Polarization curves of Ni-Co alloys in medium for 5h and medium with bacterium for 30, 60 min and 5h.

Table 1. The corrosion parameters determined from the polarization curves for Ni-Co alloys in the medium and *P. aeruginosa* inoculated medium for 5h.

| | Sterile medium | After inoculation | | |
|---|----------------|-------------------|--------|--------|
| | | 30 min | 60 min | 5 h |
| E_{corr} V vs Ag/AgCl | -0.082 | -0.145 | -0.594 | -0.117 |
| i_{corr} μA | 2.555 | 3.345 | 1.607 | 4.793 |
| I_{corr} $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ | 13.04 | 17.07 | 8.199 | 24.45 |
| Anodic tafel slope β_a V/dec | 0.238 | 0.347 | 0.074 | 0.311 |
| Cathodic tafel slope β_c V/dec | 0.268 | 0.331 | 0.218 | 0.310 |
| R_p Ω | 9305 | 9554 | 6482 | 6108 |

Electrochemical Impedance Spectroscopy

It was shown in “Fig. (3)” the EIS and equivalent circuit used in the analysis of Ni-Co alloy in the medium and inoculated medium. The impedance graphs obtained for the Ni-Co alloys exposed to various experimental conditions were fitted double-layer equivalent circuit. Based on the equivalent circuits, the EIS data were fitted well. In the circuit, R_s is the resistance of solution, W_s is the resistance of the transport process which it is described by the Warburg impedance W_s , R_p is the resistance of inhibitor film pore and R_{ct} is the resistance of charge transfer. Q_p and

Q_{dl} , CPE parameters for inhibitor film and double layer. “ n ” is depicted as the dispersion parameter and its value being less than the one indicating an imperfect capacitor. Increase of the roughness or the lateral and vertical heterogeneity of the surface film means the decrease of the conductivity and n value. The fitting parameters of the EIS for Ni-Co alloys in the medium and *P.aeruginosa* inoculated medium are given in Table 2. The inspection of R_p related to the resistance of the biofilm formed upon the surface shows that it increases from 527.2 Ω in the 60 min inoculated medium to 3307 Ω after the inoculation for 5 hours. The increase in the R_p values after a certain time may be attributed to the increased porosity of the lateral and vertical heterogeneity of the surface¹⁶. The increase in R_{ct} causes the increase in the potential of the capacitive component parallel to it. This eventually leads to an increase in the corrosion rate. Similarly, the decrease in the R_{ct} has the same effect that enables the easy diffusion of electro active species through the biofilm formed on the surface such as seems to control suggests that the increase in R_{ct} value for 5 h of immersion is due to build up the corrosion of coated surface¹⁷⁻¹⁸.

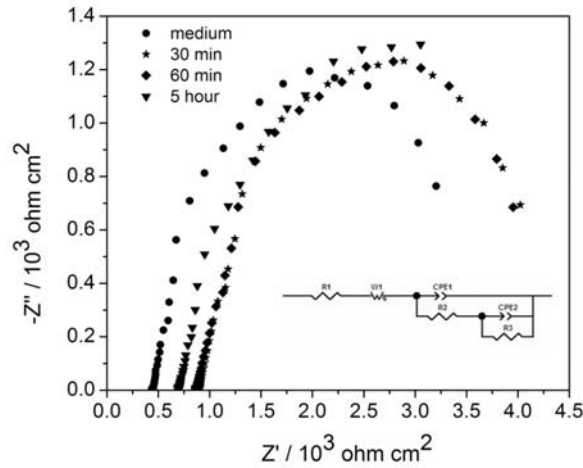


Fig. 3. The EIS and equivalent circuit Ni-Co alloy in the medium and medium with bacterium.

Table 2. Electrochemical model impedance parameters of the Ni-Co alloy in the medium and *P. aeruginosa* inoculated medium.

| | Sterile medium | After inoculation | | |
|---|----------------|-------------------|--------|-------|
| | | 30 min | 60 min | 5 h |
| R_s (Ω cm ²) | 442 | 899 | 861.5 | 695.3 |
| W_s (Ω cm ²)* | 145 | 62.4 | 1031 | 448.2 |
| Q_p (Ω^{-4} cm ⁻² x10 ⁻⁴) | 2.49 | 1.67 | 2.88 | 6.17 |
| n | 0.80 | 0.76 | 0.93 | 0.81 |
| R_p (Ω cm ²) | 300 | 808.4 | 527.2 | 3307 |
| Q_{dl} (Ω^{-4} cm ⁻² x10 ⁻⁴) | 0.53 | 0.49 | 2.29 | 66.42 |
| n | 0.94 | 0.80 | 0.78 | 0.44 |
| R_{ct} (Ω cm ²) | 2923 | 2741 | 1989 | 637 |

CONCLUSIONS

In summary, this study provided an initial look at the role of the microbially influenced corrosion of Ni-Co alloy by *P. aeruginosa*. We determined the effect of the MIC using electrochemical techniques and surface analyses. In order to clarify the effect of the bacterium, we immersed Ni-Co alloys in medium and inoculated medium. The corrosion potential of the Ni-Co alloy reached the minimum value when the electrode had been exposed for 5 h in the medium; however, after 60 min of immersion in the medium, the corrosion potential increased gradually, reaching the breakaway potential and leading more easily to corrosion. However, at the end of 5 h, the corrosion potential for the inoculated medium began to decrease and closed the medium's corrosion potential. SEM analysis showed that *P. aeruginosa* attached and formed a biofilm layer on the Ni-Co alloy's surface, even though cobalt is toxic to a variety of microorganisms¹⁹⁻²⁰.

ACKNOWLEDGEMENTS

Financial support was provided by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK-BİDEB).

ÖZET: Bu çalışmanın amacı, *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin nikel-kobalt (Ni-Co) alaşımına korozyon etkisinin incelenmesidir. Korozyon oranı, Tafel ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ile belirlenmiştir. Alaşım yüzeyinin morfolojisi ve bileşimi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve X-ışınları saçılımı (EDS) ile incelenmiştir. Tafel grafikleri, zamana bağlı olarak polarizasyon direncinin düştüğünü, akım yoğunluğunun ise arttığını göstermiştir. Bu değişim yüzeyde oluşan biyofilm tabakası ve çukurcuk korozyonu nedeniyle. Nyquist yarım daireleri düşük frekanslarda açık hale gelmektedir. Korozyonun arttığını gösteren bu değişim, alaşım yüzeyinde meydana gelen yarıma ve biyofilm tabakasında oluşan çatlaklardan dolayıdır.

REFERENCES

- [1] Srivastava, M., Selvi, E., Grips, V.K.W., Rajam, K.S., 2006. Corrosion resistance and microstructure of electrodeposited nickel–cobalt alloy coatings, *Surf. Coat. Technol.*, 201: 3051–3060.
- [2] Chang, L.M., An, M.Z., Shi, S.Y., 2005. Corrosion behavior of electrodeposited Ni-Co alloy coatings under the presence of NaCl deposit at 800 °C, *Mater. Chem. Phys.*, 94: 125-130.
- [3] Shi, L., Sun, C.F., Zhou, F., Liu, W.M., 2002. Electrodeposited nickel–cobalt composite coating containing nano-sized Si₃N₄, *Mater. Sci. Eng. A.*, 397: 190–194.
- [4] Melidis, P., Sanozidou, M., Mandusa, A., Ouzounis, K., 2007. Corrosion control by using indirect methods, *Desalin.*, 213: 152–158.
- [5] Ornek, D., Wood, T. K., Hsu, C.H., Mansfeld, F., 2002. Corrosion control using regenerative biofilms (CCURB) on brass in different media, *Corros. Sci.*, 44: 2291–2302 .
- [6] Alvarez, R.B., Martin, H.J., Horstemeyer, M.F., Chandler, M.Q., Williams, N., Wang, P.T., Ruiz, A., 2010. Corrosion relationships as a function of time and surface roughness on a structural AE44 magnesium alloy, *Corros. Sci.*, 52: 1635–1648.
- [7] H.C. Fleming, E. Heitz, H.C. Fleming, K. Sand, *Microbially Influenced Corrosion of Materials*, Springer-Verlag, New York, 1996, p. 5. 6–14.
- [8] Duan, J., Wu, S., Zhang, X., Huang, G., Du, M., Hou, B., 2008. Corrosion of carbon steel influenced by anaerobic biofilm in natural seawater, *Electrochim. Acta.*, 54: 22–28.
- [9] Messano, L.V.R., Sathler, L., Reznik, L.Y., Coutinho, R., 2009. The effect of biofouling on localized corrosion of the stainless steels N08904 and UNS S32760, *Int. Biodeter Biodegr.*, 63: 607–614.
- [10] Melchers, R.E., 2002. Effect of temperature on the marine immersion corrosion of carbon steels, *Corros. Sci.*, 58: 768–782.
- [11] Pope, D.H., Morris, E.A., 1995. Some experiences with microbiologically influenced corrosion of pipelines, *Mater. Perform.*, 34: 23–28.
- [12] Heakal, F.E.T., Hefny, M.M., Tawab, A.M.A.E., 2010. Electrochemical behavior of 304L stainless steel in high saline and sulphate solutions containing alga *Dunaliella Salina* and β -carotene, *J. Alloys. Compd.*, 491: 636–642.
- [13] Starosvetsky, J., Starosvetsky, D., Pokroy, B., Hilel, T., Armon, R., 2008. Electrochemical behaviour of stainless steels in media containing iron-oxidizing bacteria (IOB) by corrosion process modeling, *Corros. Sci.*, 50: 540–547.

- [14] S.J. Yuan , S.O. Pehkonen., 2007. Microbiologically influenced corrosion of 304 stainless steel by aerobic *Pseudomonas* NCIMB 2021 bacteria: AFM and XPS study, *Corros. Sci.*, 50: 540–547.
- [15] Abdelouas, A., Lu, Y., Lutze, W., Nuttal, H.E., 1998. Reduction of U(VI) to U(IV) by indigenous bacteria in contaminated ground water, *J. Contam. Hydrol.*, 35: 217–233.
- [16] C.H. Hsu, F. Mansfeld., 2002. Corrosion control using regenerative biofilms (CCURB) on brass in different media, *Corros.Sci.*, 44: 2291–2302.
- [17] K.Y. Chan, L.C. Xu, H.H.P. Fang, Anaerobic electrochemical corrosion of mild steel in the presence of extracellular polymeric substances produced by a culture enriched in sulfate-reducing bacteria, *Enviren. Sci. Technol.* 36 (2002) 1720-1727.
- [18] Cetin, D, Aksu, M.L., 2009. Corrosion behavior of low-alloy steel in the presence of *Desulfotomaculum* sp., *Corros. Sci.*, 51:1584-1588.
- [19] Hassen, A., Saidi, N., Cherif, M., Boudabous, A., 1998. Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*, *Bioresour.Technol.*, 65: 73–82.
- [20] Falih, A. M., 1997. Comparative toxicity of heavy metals to some yeast isolated from Saudi Arabian soil, *Bioresour. Technol.*, 64: 193-198.

COMMUNICATIONS

DE LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE D'ANKARA

FACULTY OF SCIENCES
UNIVERSITY OF ANKARA

Volume : 56

Number : 2

Year : 2010

Series : B

N. OYA SAN and H. NAZIR. The influence of *Pseudomonas aeruginosa* on
corrosion behavior of nickel-cobalt alloy1