



Yeni Bir Tahribatsız Muayene Yöntemi: Bakteri Kültürüyle Mikro Hata Tespiti

Bahar Şölen AKDEMİR¹, Hülya DURMUŞ²

¹ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Manisa, Türkiye

² Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Manisa, Türkiye

✉: solenakdemir@gmail.com,  ¹0000-0001-7478-6753,  ²0000-0002-7270-562X

Geliş (Received): 26.03.2019

Düzeltilme (Revision): 03.12.2019

Kabul (Accepted): 27.12.2019

ÖZ

Mikro boyutta üretim bilimsel, teknolojik ve endüstriyel alanlarda oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Hali hazırda kullanılan tahribatsız muayene yöntemleri bu tip mikro hataların tespitinde yetersiz kalmaktadır. Makalede açıklanan yeni teknikle bakteri hücreleri, incelenmek istenen yüzeye uygulanarak yüzeye açık olan mikro boyuttaki yarıklar, çatlaklar ve boşluklar tespit edilebilmektedir. Bu tekniğin temelini bakterilerin oldukça küçük boyutları, yüksek penetrasyon kapasiteleri, hareket edebilirlikleri, tutunabilirlikleri, floresans özellikleri, elektrik ve manyetik alana duyarlılıkları ve tekrar üretilebilir olmaları gibi özellikleri oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bakteri Kültürü, Mikro Hata, Tahribatsız Muayene

New Non-Destructive Test: Micro Defect Detection by Bacterial Cell

ABSTRACT

Micro production is crucial for scientific, technologic and industrial areas. As used non-destructive testing methods are insufficient for determining these kinds of micro defects. With this new technique micro defects on surface like fissures, cracks and voids could be determined by applying bacterial cells on the surface to be examined. The considerably small dimensions, high penetration abilities, mobilities, adhesive properties, fluorescence properties, sensitivities to magnetic and electric field and reproducibility of bacterial cells create the base of this technique.

Keywords: Bacterial cell, micro defect, non-destructive technique

GİRİŞ

Yeni üretim süreçlerinin, tekniklerinin ve malzemelerinin geliştirilmesiyle tahribatsız muayene tekniklerinde bazı zorluklarla karşılaşmaya başlanmıştır. Yeni nesil teknolojiler için üretilen ürün bileşenlerinin boyutlarındaki küçülme, ileri malzemeler ve yeni üretim teknikleri gerektirmektedir. Bu da mikro ve nano boyutta yüzey hatalarının tespit edilmesi ve karakterizasyonu gibi ihtiyaçlarını doğurmaktadır. Biyomedikal [1], elektronik [2] ve kalıp üretim endüstrileri ve ayrıca mikro üretim süreçleri [3] bu tip hataların görülebileceği uygulama alanlarındadır [4]. Mikro ölçekte üretim, çevresel etkinin düşürülmesine katkı sağlama amacıyla parçaların ya da cihazların ağırlıklarının düşürülmesi üzerine kurulmuştur. Ama aynı uygulamada kullanılan makro bileşenlerle aynı yüklerle maruz kalmaktadırlar. Performanslarındaki gelişme bu tarz belirli hataların azalmasını zorunlu kılmıştır. Hali hazırda kullanılan tahribatsız muayene teknikleri mikro hataların tespitinde yetersiz

kalmaktadır. Bu nedenle, yeni teknikler geliştirilmesi kaçınılmaz olmuştur [5].

Mikro üretimde gerçekleşen yeni gelişmeler, var olan tahribatsız muayene tekniklerinin tespit edemediği mikro hataların tespiti için gerçekçi, ekonomik ve çevre dostu tahribatsız muayene teknikleri gerektirmektedir. Mikro üretimde genel olarak karşılaşılan hatalar; pürüzlülük, yüzey mikro çatlakları ya da boşluklarıdır. Nano yapı malzemeler, fonksiyonel yüzeyler ve termal yüzey kaplamaları, mikroelektronik ve optik bileşenler, güneş pilleri, biyomedikal ve ortodontik cihazlar gibi yeni nesil mühendislik malzemelerinin verimlilikleri ve güvenilirlikleri mikro çatlakların varlığına oldukça bağlıdır. Bu mikro boyuttaki yüzey çatlakları mekanik stresin yoğunlaştığı, yorulmanın başladığı, korozyon ve aşınma gibi çevresel hasarlı noktalar olduğu için çok kritik bir öneme sahiptir [6].

Geleneksel tahribatsız muayene tekniklerinin gelişimi bilimsel, teknolojik ve endüstriyel alandaki gelişmelerin yanında yetersiz kaldığı için mikro çatlak tespitlerinde yetersiz kalmaktadır [4]. Mikro bileşenlerin küçük

boyutları, ultrasonik muayene ve girdap akımları tekniklerinde kullanılan problemlerin verimli şekilde çalışmasını engellemektedir [7]. Optik görüntüleme tekniğiyle ürünlerin mikro parçalarının değişik şekillere sahip olmaları nedeniyle ışığın nüfuz edemediği yerlerdeki çatlaklar görülemez [8]. Radyografi ve tomografi teknikleri çok pahalı birer tahribatsız muayene tekniği olmalarının yanı sıra, kalınlığın yaklaşık %2'sinden küçük çatlakların görüntülenmesinde ve karmaşık 3 boyutlu şekillerin yorumlanmasında zorluklar barındırmaktadır [9, 10]. Sıvı penetrant testi ile yaklaşık 0.9 μm boyuta ama yüzey açıklığından daha fazla derinliğe sahip çatlakların kontrolü yapılabilmektedir [11]. Manyetik parçacık testi ise sadece ferromanyetik malzemelere uygulanabilmektedir. Polimerler, seramikler, kompozitler ya da alüminyum, bakır, titanyum, magnezyum ve paslanmaz çelik gibi metaller üzerinde manyetik parçacık testi uygulanabilirliğe sahip değildir [12].

Geleneksel tahribatsız muayene yöntemlerinin hataları tespit edebilirlik ve hassaslık limitleri son yıllarda oldukça artmış olmasına rağmen mikrometre düzeyinde hataların tespiti arka plan gürültülerinden dolayı hala oldukça zordur. Taramalı akustik mikroskop (scanning acoustic microscope/SAM), taramalı yakın alan mikroskopisi (near-field scanning optic microscopy/MSOM), taramalı elektron mikroskopu (scanning electron microscopy/SEM) ve atomik kuvvet mikroskopu (atomic force microscopy/AFM) gibi karakterizasyon tekniklerini kullanmak mümkündür. Ancak pahalı olmaları, kontrol alanlarının küçük boyutlu olması ve gerekli analiz ve yorumlama için oldukça fazla zamana ihtiyaç olması kullanılabilirliklerini düşürmektedir [6, 8, 13, 14].

Bu nedenlerden dolayı ucuz, kısa sürede cevap alınabilecek, kolay teknikler geliştirilmesi gerekmektedir. Bakteri hücreleri kullanılarak yapılan teknikte ise; mikro hataların tespitinde ve malzeme karakterizasyonunda floresan sıvı ile işaretlenmiş bakterilerden yararlanılmaktadır. Santos ve arkadaşlarının (2014) çalışmasında belirtilen, *Rhodococcus erythropolis* bakterilerinin bakır, alüminyum ve çelikte sırasıyla 6.8, 4.3 ve 2.9 μm boyutlara sahip çatlakların tespitinde oldukça başarılı olduğu görülmektedir [15]. Yine Santos ve arkadaşları (2016) çalışmalarında *R. erythropolis* ve *Staphylococcus sp.* bakterilerinin manyetik ve elektrik alana maruz kaldıklarında nanoindentasyon ile üretilmiş ya da mikro-toz enjeksiyon döküm ve mikro-lazer kaynak ile üretim sırasında oluşmuş hatalara difüze olabilmelerinin arttığını gözlemlemişlerdir [4]. Carvalho ve arkadaşları (2017) ise girdap akımlarının boy-kesit limitlerinin dışında, sıvı penetrant testi için düşük derinlik-açık yüzey oranına sahip, radyografi, tomografi ve optik görüntüleme için kalın numuneler kullanmışlardır [6].

Rhodococcus erythropolis bakterisi biyogüvenlik açısından 1. seviye kabul edilmektedir. *Staphylococcus aureus* bakterisi ise 2. seviye olarak kabul edilmekle

birlikte insanların burunlarındaki ve derilerindeki florada da bulunmaktadır. Bu sebeple insan sağlığı için herhangi bir tehlike arz etmemektedirler [6, 16].

Biyogüvenlik seviyeleri yaşanan tecrübeler sonucunda Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Center for Disease Control and Prevention/CDC) ve Dünya Sağlık Enstitüsü (National Institutes for Health/NIH) tarafından mikropların ve biyolojik ajanların insan sağlığı üzerindeki tehdidini azaltmak ve önlemek için oluşturulmuştur. Dört temel biyogüvenlik seviyesi bulunmaktadır. Tablo 1'de risk gruplarına karşılık gelen biyogüvenlik seviyeleri belirtilmiştir [17, 18].

Tablo 1. Risk Gruplarına Karşılık Biyogüvenlik Seviyeleri [17]

Risk Grup	Biyogüvenlik Seviyesi	Laboratuvar Tipi	Laboratuvar Uyg.	Güvenlik Ekipman
1	Temel Biyogüvenlik seviye 1 (BSL-1)	Temel öğretim laboratuvarı -Araştırma laboratuvarı	İyi laboratuvar uygulamaları (İLU)	Gerekmez (açık banyo çalışması yeterlidir)
2	Temel Biyogüvenlik seviye 2 (BSL-2)	Halk sağlığı laboratuvarı -Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı -Araştırma laboratuvarı	İLU ile birlikte Biyolojik tehlike işareti -Koruyucu giysi giyilmesi	Açık banyo yanında potansiyel aerosol için biyogüvenlik kabinleri (BGK)
3	Tecrit Biyogüvenlik seviye 3 (BSL-3)	Özel tanı laboratuvarı -Araştırma laboratuvarı	BSL-2'ye ilave olarak -Özel koruyucu giysi - Kontrollü giriş-çıkış -Tek yönlü hava akımı/negatif basınç	BGK ve/veya tüm aktiviteler için diğer birincil koruma ekipmanları
4	Maksimum tecrit Biyogüvenlik seviye 4 (BSL-4)	Çok tehlikeli patojen çalışma laboratuvarı	BSL-3'e ilave olarak -Hava kilitli giriş -Duşlu çıkış -Özel atık sistemi	Sınıf III/BGK veya Sınıf II/BGK ile birlikte pozitif basınçlı özel koruyucu giysi

Tablo 1'de de belirtildiği gibi Seviye 2 bakterilerle deney yapılırken potansiyel sıçramaların ve ayresollerin önlenemediği açık laboratuvar tezgahlarında çalışılması, koruyucu giysi olarak laboratuvar önlüğü ve eldiven giyilmesi yeterlidir [6]. Çalışmalarda farklı elektrik ve manyetik alan büyüklükleri denenmiştir. Bunun sebebi bakterilerin farklı alan yoğunluklarında numune üzerinde aldıkları mesafenin ya da yüzey potansiyellerinin değişmesidir. Carvalho ve arkadaşları (2017) çalışmalarında *Staphylococcus aureus* bakterileri için 1.25, 5 ve 15 Hz frekanslara sahip manyetik alan kullanmışlardır. *Staphylococcus aureus* bakterileri bu değişen alanlarda sırasıyla 38, 66 ve 70 μm yol kat etmektedirler. *Rhodococcus erythropolis* bakterileri için ise 160 ve 320 kV/m yoğunluğa sahip elektrik alan

kullanmışlardır. Böylelikle *Rhodococcus erythropolis* bakterilerinin yüzey potansiyelleri değişmiş ve numune üzerinde aldıkları yollar değişiklik göstermiştir [6].

MATERYAL ve YÖNTEM

Bakteri kullanılarak yapılan bu tahribatsız muayene tekniğinin uygulama aşamaları sıvı penetrant testine oldukça benzemektedir. Genel olarak bu teknik 8 aşamada gerçekleştirilir. Ancak değişkenlere, kullanılan malzemelere ve bakteri kültürlerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir [4]. Uygulama işlemlerinin şematik gösterimi Şekil 1’de verilmiştir.

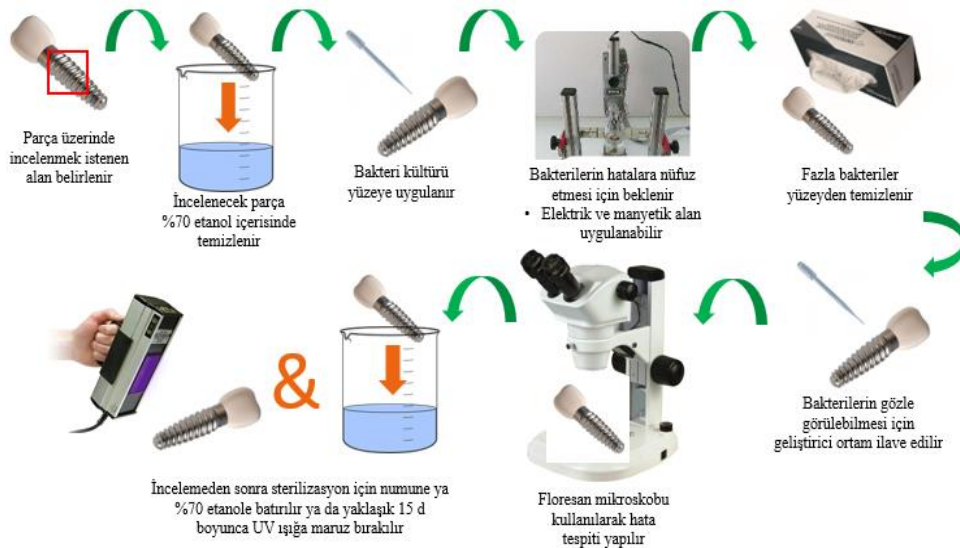
Şekil 1’de görüldüğü gibi ilk aşamada parça üzerinde incelenmek istenen alan belirlenir. Sırasıyla ikinci ve üçüncü aşamadaki gibi temizlenir ve bakteri kültürü yüzeye uygulanır. Dördüncü aşama süspansiyonun viskozitesine ve kapilaritesine bağlı olarak bakterilerin hatalara nüfuz etmesi için gerekli aşamadır. Ayrıca bu aşamada bakterilerin hataların içerisine nüfuz etmesini ve hareketliliklerini arttırabilmek için elektrik ve manyetik alan uygulanır. Bakterilerin nüfuz etmeleri için gereken optimum süre yaklaşık olarak 4 dakikadır [15]. Beşinci aşamada fazla bakteri hücreleri yüzeyden temizlenir. Bu işlem sırasında hatalardaki bazı bakterilerin de temizlenmesi söz konusu olduğu için bu aşama oldukça önemlidir. Eğer hatalar çıplak gözle görülmek isteniyorsa altıncı aşamada bakterilerin popülasyonlarını arttırmaları için gerekli olan ortam ilave edilir. Bu işlem sıvı penetrant testindeki geliştirici ilavesine oldukça benzemektedir. Yedinci aşamada hataların tespiti için floresan mikroskobu kullanılacaksa eğer altıncı aşama ihmal edilebilir. Sekizinci aşamada son temizleme ve sterilizasyon işlemleri uygulanır [4]. Ferreira ve arkadaşları (2017), AISI 316L paslanmaz çelikten Mikro Toz Enjeksiyon Döküm (Micro Powder Injection Molding/ μ PIM) ile üretilmiş iki çeşit parçayla çalışmışlardır [5]. Şekil 2’de gösterildiği gibi ilk numune çekme testi için basit bir geometriye, ikinci numune ise karmaşık bir geometriye sahip mikro

vidadır. Bakteri süspansiyonu olarak *Rhodococcus erythropolis* ve *Staphylococcus aureus* kullanmışlardır.



Şekil 2. Mikro Toz Enjeksiyon Döküm ile Üretilen Mikro Vidalar [5]

Bakteri süspansiyonları görülebilir olmaları için floresan sıvıyla boyanıp yüzeye uygulanmaktadır. Bu sıvı yüzeye uygulanmadan önce yüzey temizlenmektedir. Çalışmada 4 dk boyunca elektrik ve manyetik alan uygulanarak bakterilerin hataların içine nüfuz etmesi sağlanmış daha sonra da yüzeyden temizlenmiştir. Hataların içinde biriken bakteriler floresan mikroskobuyla incelenmiştir. İncelemeden sonra numuneler hacimce %70 etanolün içerisinde ya da 15 dk boyunca UV ışığına maruz bırakılarak sterilize edilmiştir. *Rhodococcus erythropolis* bakterileri 320 kV/m yoğunluğa sahip elektrik alana, *Staphylococcus aureus* bakterileri ise 1 Hz frekansa ve 40 mT pik yoğunluğuna sahip manyetik alana maruz bırakılmıştır. Floresan sıvıyla yapılan boyamadan sonra floresan ışık altında canlı bakteriler yeşil, ölü bakteriler ise kırmızı renkte görülmüştür. Difüzyon süresi, bakterilerin paslanmaz çelikle etkileşime girmeden çatlakların içine ilerleyebilmeleri için 4 dk olarak belirlenmiştir [5]. İncelenen numunelerin daha detaylı sterilizasyonu için ultrasonik banyolar kullanılabilir. Eğer incelenen numuneler -diş implantlarının mikro vidaları gibi- daha sonra canlı organizmada kullanılacaksa sterilizasyon için otoklav ya da UV ışığı kullanılmalıdır [5]. Santos ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptığı çalışmada, AISI 316L paslanmaz çelik, anodize alüminyum, 24 karat altın ve %60 kalay-%40 kurşun barındıran bir alaşım kullanılmıştır [4].



Şekil 1. Bakteri Kültürü ile Tahribatsız Muayene Aşamaları

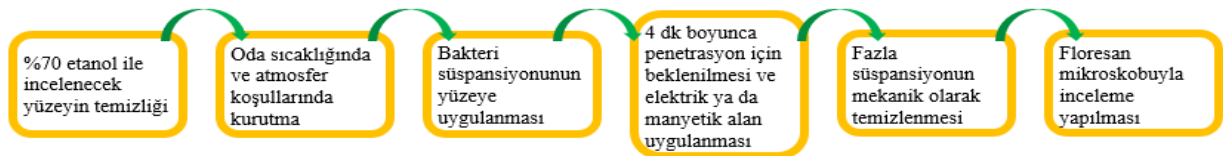
Mikro sertlik cihazı kullanılarak belirli şekillere ve morfolojilere sahip hatalar oluşturulmuştur. Oluşturulan hataların bilgileri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Test sırasında malzemelerde farklı yükler kullanılarak oluşturulan farklı boyutlara sahip hatalar [4]

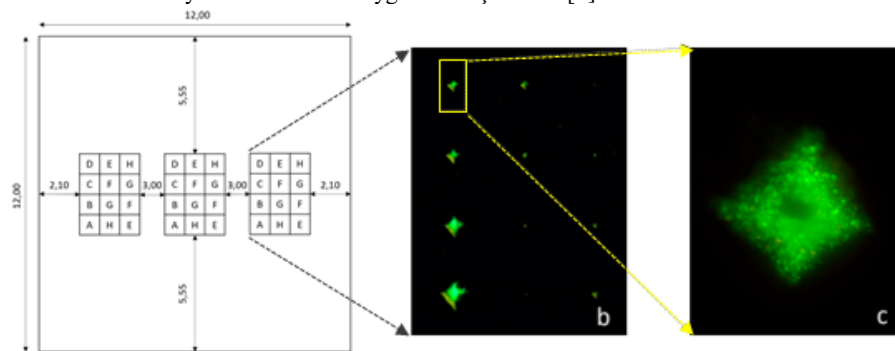
Hata Referansı	Kuvvet (N)	Hata derinliği (D) (μm)	Uzunluk (L) (μm)
A	10	16,5/81,6	-
B	5	11,3/55,8	-
C	3	7,2/35,6	82,9/410,4
D	2	3,2/15,9	34,2/169,4
E	1	2,5/12,6	27,5/136,3
F	0,50	2,6/12,8	22,8/112,8
G	0,25	1,7/8,4	19,4/96,1
H	0,10	1,1/5,6	16,3/80,9

24 karat altın için oluşturulan nano hatalar ise 125 ile 50 mN arası yük ile 3 yüzlü piramit Berkovich indantasyon kullanılarak yapılmıştır. Merkez eksen ve yan yüzler arasındaki açı 65.3° ’dir. İndantasyon uçları arasındaki uzaklık $25\mu\text{m}$, uzunluğu $6\mu\text{m}$ ve derinliği de $0.7\mu\text{m}$ ’dir. Bakteri süspansiyonu olarak Rhodococcus erythropolis kullanılmış olup floresan sıvıyla boyanarak canlı hücrelerin yeşil, ölü hücrelerin ise kırmızı görülmesi sağlanmıştır [4].

Santos ve arkadaşlarının (2016) çalışmalarındaki tahribatsız muayenede kullanılan tekniğin uygulama aşamaları Şekil 3’te gösterilmiştir.



Şekil 3. Kullanılan Tahribatsız Muayene Yönteminin Uygulama Aşamaları [4]

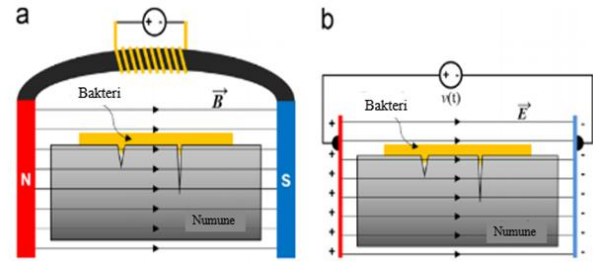


Şekil 5. (a) İncelenen yüzeyde oluşturulan piramit hataların matrisi. Matris içindeki her harf uygulanan yükü temsil etmektedir: A-100N, B-50N, C-30N, D-20N, E-10N, F-5N, G-2.5N, H-1N (b) Yeşil boyalı Rhodococcus erythropolis bakterisi içeren hataların görüntüsü (c) Yeşil boyalı bakteri içeren piramidal hata [6]

AISI 316L paslanmaz çelikte bakterilerin difüzyonu için 75mT genliğe, 1Hz frekansa sahip alternatif manyetik akı yoğunluğu uygulanmıştır [4].

Carvalho ve arkadaşları (2017); iki farklı Staphylococcus kültürü ve Rhodococcus erythropolis bakterisi kullanmışlardır. Staphylococcus aureus bakterileri için sinüs dalgalarıyla modifiye edilmiş elektrik alanla üretilmiş ve 1.25 , 5 ve 15Hz frekanslara sahip manyetik alan kullanılmıştır. Rhodococcus erythropolis bakterileri için kullanılan elektrik alan ise 160 ve 320kV/m yoğunluğa sahiptir [6]. Tahribatsız muayene testinin uygulanma basamakları daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir [1, 2].

Santos ve arkadaşları (2014) AISI 304L, AA1100 ve bakır kullandıkları çalışmada Vickers piramidi kullanarak boyutu ve şekli bilinen hatalar oluşturmuşlardır. Bakterilerin yüzeye girdikleri etkileşimde Van der Waals ve hidrofobik kuvvetler oldukça etkilidir. Yüzeyin pürüzlülüğü, biyokorzyon ihtimali ve antibakteriyel özellikler önemli etkileşimler olduğundan boyutu ve şekli bilinen hataların oluşturulması önemlidir. Çalışmalarında Rhodococcus erythropolis DCL14 bakterisini kullanmışlardır [19].



Şekil 4. Uygulanan (a) Manyetik ve (b) Elektrik Alanın Şematik Gösterimi [20]

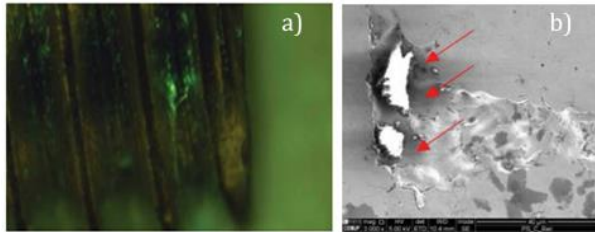
Santos ve arkadaşları (2016) çalışmalarında, yatay olarak uygulanan ve bakterilerin yüzeyde yayılmasına yardımcı olan elektrik ve manyetik alanların şematik gösterimi Şekil 4'te verilmiştir [20].

Çalışmalarında yüzey temizliğinden sonra bakterileri uygulamadan önce incelenecek yüzeyin bakteri barındırmadığından emin olabilmek için mikroskopta kontrol etmişlerdir. Aynı şekilde testin sonunda bakteriler yüzeyden temizlendiğinde sterilizasyondan emin olabilmek için numuneler tekrar mikroskop altında kontrol edilmiştir [6].

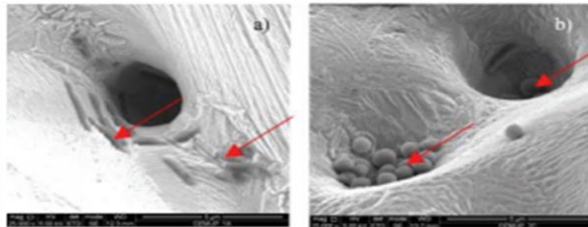
Bakterilerin farklı malzemelerdeki hataların içerisine difüze edebilmesini karşılaştırabilmek için numunelerin yüzeyinde 300 µm aralıklarla 4x3'lük matris şeklinde hatalar oluşturulmuştur. Bu matris ve yaratılan hatalar Şekil 5'te verilmiştir. Üretilen hatalar için karşılıklı yüzeyleri arasında 136°lik açı bulunan kare piramit Vickers sertlik testi kullanılmıştır. Her piramidin derinliği, uzunluğunun 1/5'i kadardır. Bu oran sıvı penetrant testinin uygulanabilmesi için gerekli olan derinlik/açıklık oranından oldukça düşüktür [6].

Literatürdeki Deneysel Çalışmalar

Ferreira ve arkadaşları (2017), taramalı elektron mikroskobu kullanarak alınan görüntülerinde bakterilerin hataların içinde 600 nm'den fazla derinlikte biriktiğini görmüşlerdir. Alınan mikroskop görüntüleri Şekil 6 ve Şekil 7'de belirtilmiştir [5].



Şekil 6. (a) Mikro Vidaların Hatalarının İçindeki Rhodococcus Erythropolis Bakterileri (b) Çekme Testi Numunelerinin Hatalarının İçindeki Bakteri Örnekleri [5]



Şekil 7. Diş İmplantları İçin Üretilen Mikro Vidaların Hatalarının İçindeki (a) Rhodococcus Erythropolis ve (b) Staphylococcus Aureus Bakterileri [5]

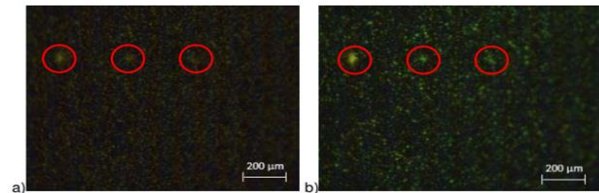
Santos ve arkadaşlarının (2016) yaptıkları çalışmadan elde edilen verilerin bulunduğu bilgiler Tablo 3'de belirtilmiştir [4]. Carvalho ve arkadaşları (2017) yatayda uygulanan manyetik alanın bakterilerin dağılmasına yardımcı olurken, dikeyde uygulanması hataların içine nüfuz etmelerini kolaylaştıracağını görmüşlerdir. Manyetik alanın hata tespitindeki etkisini

ölçmek için yapılan testlerin sonuçları Tablo 4'te belirtilmiştir [6].

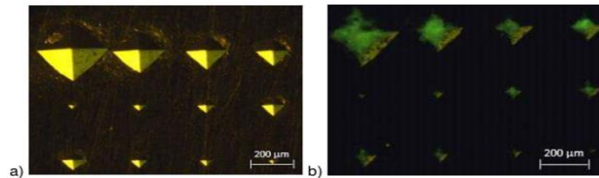
Bakır üzerinde yapılan testlerde ise bakterilerin sadece 30-40 µm boyut aralığına sahip hatalara nüfuz edebildiği görülmüştür. Manyetik alan altında ise bakteriler ile tespit edilebilen hataların boyutunun 96.7 µm'ye çıktığı belirlenmiştir. Bunun nedeni ise uygulanan manyetik alanın bakırın antimikrobiyal özelliğini aktif etmesi olarak açıklanmaktadır [6].

Tablo 3. Santos ve Arkadaşlarının 2016 Yılında Yaptıkları Çalışmada Elde Ettikleri Veriler [4]

Numune	Tespit edilen hatanın		Ek bilgi
	Derinliği (µm)	Uzunluğu (µm)	
Siyah anodize alüminyum	7.2	35.6	Yüzey pürüzlülüğü hataların tespitini zorlaştırmaktadır (Şekil 8)
Kalay-kurşun alaşımı	16.3	---	Bütün hatalar tespit edilmiştir (Şekil 9)
AISI 316L paslanmaz çelik	1.2	---	Bakterilerin hatalardaki nano düzensizliklerin içlerine difüze olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 10)
24 karat altın	0.7	6	Şekil 11



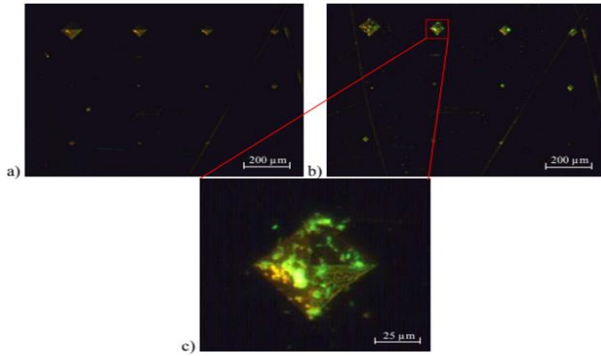
Şekil 8. Rhodococcus Erythropolis ile Test Edilen Siyah Anodize Alüminyum (a) Rhodococcus Erythropolis Bakterili ve (b) Bakterisiz [4]



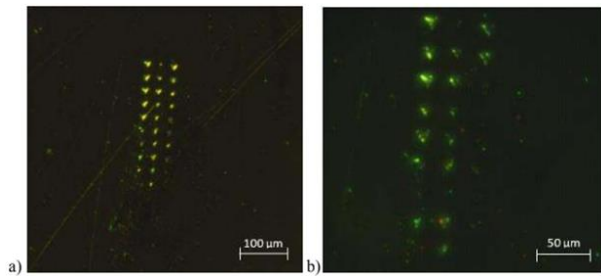
Şekil 9. Rhodococcus Erythropolis Bakterisi ile Test Edilmiş Kalay-Kurşun Alaşımı (a) Bakterisiz ve (b) Rhodococcus Erythropolis Bakterili [4]

Yine Santos ve arkadaşları (2014) alüminyum, bakır ve çelik üzerinde kontrollü hatalar oluşturup elektrik ve manyetik alan altında bakterilerin tepkilerini incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlar tablo 5'te verilmiştir. Elektrik alan altında bakırın antibakteriyel

etkisi azaltıldığından en küçük hataların bile tespit edildiği görülmüştür [19].



Şekil 10. Rhodococcus Erythropolis Kullanılarak Test Edilen AISI 316L Paslanmaz Çelik (a)Bakterisiz, (b)Rhodococcus Erythropolis Bakterili, (c)b'deki Kutu İçindeki Hatanın Büyütülmüş Görüntüsü [4]



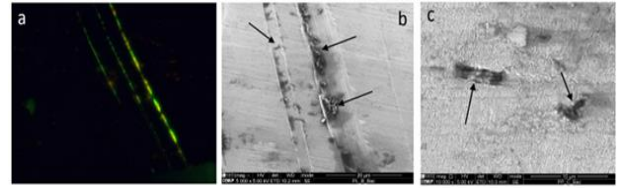
Şekil 11. Rhodococcus Erythropolis Kullanılarak Test Edilen 24kt Altın Numune (a)Bakterisiz, (b)Rhodococcus Erythropolis Bakterili [4]

Tablo 4. Carvalho ve Arkadaşlarının Manyetik Alanın Değişmesiyle Tespit Edebildikleri Hata Derinlikleri [6]

Numune	Piramidal hata derinliği (µm)	
	Manyetik alan kullanılmadan	Manyetik alan altında
AISI 304L paslanmaz çelik	3.7	2.0
AA 1100 alüminyum	4.6	2.6
Titanyum	4.6	2.6

Kontrollü olarak oluşturulan hataların dışında gerçek hataların da belirlenebilirliğini test edebilmek için diş implantlarında kullanılan AISI 316L paslanmaz çelik mikro vidalar kullanılmıştır. Mikro toz enjeksiyon döküm tekniğiyle üretilen mikro vidalara laboratuvar ortamında, uygulama esnasında maruz kalabileceği yükler uygulanmıştır (Şekil 12) [6].

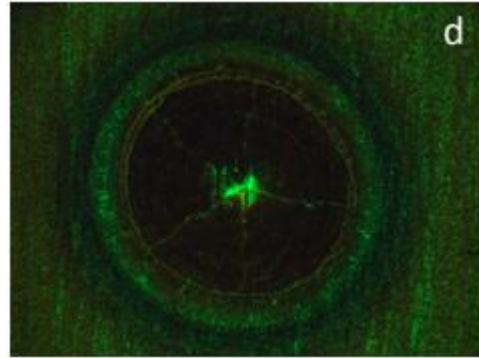
AISI 316L paslanmaz çeliğin yanı sıra darbeli lazer kaynak uygulanmış titanyum saclardaki hatalar da bu tahribatsız muayene yöntemi ile incelenmiştir (Şekil 13).



Şekil 12. Oluşturulan Çiziklerdeki Rhodococcus Erythropolis Bakterilerin SEM Görüntüleri (a,b)Yüke Maruz Bırakılmış Dental İmplant (x5000) (c)Mikro Toz Enjeksiyon ile Üretilmiş Mikro Vida (x10000) [6]

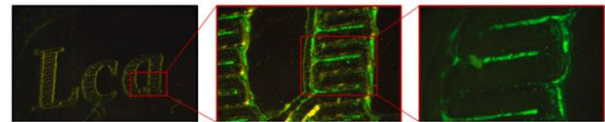
Tablo 5. Santos ve arkadaşlarının elektrik ve manyetik alan altında tespit ettikleri hata boyutları [19]

Uygulanan alan	Derinlik (D)/yan uzunluk (L) (µm)		
	Alüminyum	Bakır	Çelik
Elektrik	1.7/8.4	2.0/9.7	1.9/9.7
Manyetik Alan	1.7/8.4	5.0/24.6	1.2/5.71
uygulanmadan	21.3/4.3	33.4/6.8	14.4/2.9



Şekil 13. Darbeli Lazer Kaynağı Uygulanmış Titanyum Sacındaki Radyal Çatlaklar [6]

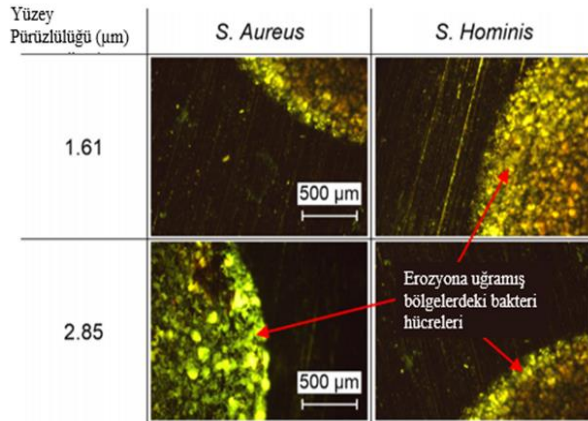
Yüzeyine desen işlenmiş altın numuneler incelendiğinde ise bakterilerin hem yüzey topografisi hem de pürüzlülüğü hakkında bilgi verdiği görülmüştür. Parlatılmış kısımlar da ise bakteriye rastlanmamıştır (Şekil 14) [6].



Şekil 14. Üzerine Desen İşlenmiş Altın Kolyenin Yüzey Topografisi ve Pürüzlülüğünün Bakteri Kullanılarak İncelenmesi (Soldan Sağa Büyütme 30x, 150x, 300x) [6]

Santos ve arkadaşları (2016), kalıplar ve optik bileşenler gibi yüzey işleme gerektiren uygulamalarda yüzey pürüzlülüğünü ölçmek için çeşitli çalışmalar yapmışlardır [20]. Bunun için mekanik olarak parlatılmış, başlangıçta 0.13 µm yüzey pürüzlülüğüne sahip AA1100 alüminyum alaşımı kullanılmıştır. Elektroerozyon (electro discharge machining/EDM) ile 1.61 µm ve 2.85 µm arasında değerlere sahip yüzey pürüzlülüğü verilmiştir. Şekil 15'te gösterildiği gibi bu

yöntem farklı yüzey özelliklerinin belirlenmesinde de kullanılabilir [20].



Şekil 15. AA1100 Alüminyum Alaşımında Korozyona Uğrayan Yüzeylerde Biriken İki Farklı Staphylococcus Bakterisi [20]

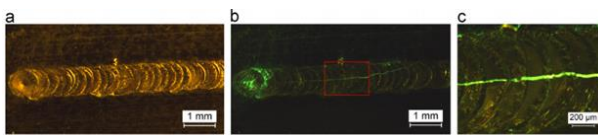
Mikro-indentasyon tekniği ile üretilen hataların tespitinde daha önceki çalışmalara kıyasla Santos ve arkadaşları Tablo 6'da belirtilen sonuçları elde etmişlerdir [20].

Tablo 6. Santos ve Arkadaşlarının Tespit Ettikleri Mikro-İndentasyonla Oluşturulan Hata Boyutları [20]

Numune	Manyetik alan yokken		Manyetik alan uygulandığında	
	Hata derinliği (μm)	Hata açıklığı (μm)	Hata derinliği (μm)	Hata açıklığı (μm)
AA1100 alüminyum	4.3	21.3	1.8	8.8
AISI 304L paslanmaz çelik	2.9	14.4	1.4	6.8

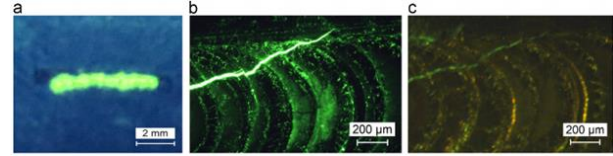
AISI 304L paslanmaz çeliğinde ise 0.6 μm derinliğe ve 5.3 μm açıklığa sahip nano-indentasyonla açılan hatalar tespit edilebilmiştir [20].

Şekil 16'da NiTi sacında 1 mm genişliğe ve 5.6 mm uzunluğa sahip darbeli lazer kaynağı dikişinin optik görüntüleri verilmiştir. Şekillerden de görüleceği gibi kaynak dikişinin çevresinde herhangi bir bakteri popülasyonu bulunmamaktadır. Bakteri hücreleri çatlakların içinde ve füzyon kaynağına özgü olan önemli kristal büyüme noktalarında toplanmışlardır [20].



Şekil 16. Mikro Lazer Kaynağı Yapılmış NiTi (a)Makrografi, (b)Bakteri Hücresi Testi, (c)b'deki Şeklin Büyütülmüş Hali [20]

Lazer kaynak dikişindeki hatanın tespitinde sıvı penetrant testi ile bakteri hücreleri kullanılarak yapılan testin karşılaştırmasını içeren görüntüler Şekil 17'de verilmiştir [20]. Şekilden de görüleceği gibi sıvı penetrant testinde tam bir analiz yapılamazken, bakteri kültürü kullanılarak hatanın detaylı tespiti yapılabilmektedir [20].



Şekil 17. Sıvı Penetrant Testiyle Bakteri Kültürü Testinin Karşılaştırması (a)Sıvı Penetrant Testi, (b)Şekil 16'daki c'nin Ayrıntılı Görüntüsü, (c)Bakteri Kültürü Testi [20]

Sıvı penetrant testinde gerekli olan kapiler etkiyi ve ıslatma açısını elde edebilmek için kullanılan sıvılar genellikle çevresel olarak toksik kimyasallar içermektedirler. Floresan sıvı penetrantı olarak kullanılan bu sentetik ve petrol bazlı sıvıların temin ve atık maliyetleri de oldukça yüksektir. Bu sebeple, bakteri hücrelerinin kullanımı sıvı penetrant testine göre daha ucuz ve daha temiz bir tahribatsız muayene yöntemi sayılabilir [6].

Mikro ve nano ölçekte tahribatsız muayene yöntemleri transparant seramik ve estetik, optik ve tribolojik özellik sergileyebilen yüzeylere sahip olan güneş panelleri gibi gelişmekte olan sektörlerde oldukça öneme sahiptir. Yapılan testlerde kullanılan Rhodococcus erythropolis bakterisi 1. seviye biyogüvenliliğe sahip, Staphylococcus aureus bakterileri ise 2. seviye biyogüvenliliğe sahip olup aynı zamanda insan florasının da bir parçasıdır [6].

SONUÇ

Yeni nesil teknolojinin gerektirdiği ürünlerde kullanılan bileşenlerin mikro ve nano boyuttaki hatalarının tespit edilmesinde bu yeni geliştirilen tahribatsız muayene yöntemi ile oldukça verimli sonuçlar elde edilmektedir. Ferreira ve arkadaşları (2017), AISI 316L paslanmaz çelikten Mikro Toz Enjeksiyon Döküm (Micro Powder Injection Molding/μPIM) ile üretilmiş iki çeşit parçayla çalışmışlardır [5]. Ferreira ve arkadaşları (2017), taramalı elektron mikroskopu kullanarak alınan görüntülerinde bakterilerin hataların içinde 600 nm'den fazla derinlikte biriktiğini görmüşlerdir.

Santos ve arkadaşlarının (2014), Rhodococcus erythropolis bakterilerinin bakır, alüminyum ve çelikte sırasıyla 6.8, 4.3 ve 2.9 μm boyutlara sahip çatlakların tespitinde oldukça başarılı olduğu görülmektedir [15]. Yine Santos ve arkadaşları (2016) çalışmalarında R. erythropolis ve Staphylococcus sp. bakterilerinin manyetik ve elektrik alana maruz kaldıklarında nanoindentasyon ile üretilmiş ya da mikro-toz enjeksiyon döküm ve mikro-lazer kaynak ile üretim

sırasında oluşmuş hatalara difüze olabilmelerinin arttığı gözlemlenmiştir [4]. AISI 316L paslanmaz çelik, anodize alüminyum, 24kt altın ve %60 kalay-%40 kurşun barındıran bir alaşım kullanılmıştır [4]. Mikro sertlik cihazı kullanılarak belirli şekillere ve morfolojilere sahip hatalar oluşturulmuştur. Yapılan çalışma sonucunda siyah anodize alüminyumda 7.2 µm, kalay-kurşun alaşımında 16.3 µm, AISI 316L paslanmaz çelikte 1.2 µm ve 24kt altında 0.7 µm derinliğe sahip hatalar tespit edilebilmiştir. Aynı zamanda Santos ve arkadaşları sıvı penetrant testinin yetersiz kaldığı lazer kaynak dikişi hatalarında da bu yöntemle oldukça başarılı sonuçlar elde etmişlerdir.

Carvalho ve arkadaşları (2017) ise girdap akımlarının boy-kesit limitlerinin dışında, sıvı penetrant testi için düşük derinlik-açık yüzey oranına sahip, radyografi, tomografi ve optik görüntüleme için kalın numuneler kullanmışlardır [6]. Manyetik alanın özelliklerinin hata tespitinde önemli bir yeri olduğunu gözlemlenmiştir. AISI 304L paslanmaz çelik, AA1100 alüminyum ve titanyum numunelerinde manyetik alan uygulanmasıyla derinliği daha az olan hataları tespit edebilmişlerdir. Kullandıkları altın numunede ise bu yöntemle yüzey topografisi ve pürüzlülüğü hakkında da bilgi edinebilmişlerdir.

Kullanılan kimyasallar açısından incelendiğinde bakteri kültürü ile yapılan tahribatsız muayene yöntemi sıvı penetrant testine göre daha ucuz ve daha temiz bir tahribatsız muayene yöntemidir.

KAYNAKÇA

- [1] Sliker L.J., Kern M.D., Schoen J.A., Rentschler M.E. Surgical evaluation of a novel tethered robotic capsule endoscope using micro-patterned treads, *Surgical Endoscopy*, 26 2862-2869, 2012.
- [2] Lin H.D. Tiny surface defect inspection of electronic passive components using discrete cosine transform decomposition and cumulative sum techniques, *Image and Vision Computing*, 26 603-621, 2008.
- [3] Meng J., Loh N.H., Fu G., Tor S.B., Tay B.Y. Replication and characterization of 316L stainless steel micro-mixer by micro powder injection molding, *Journal of Alloys and Compounds*, 496 293-299, 2010.
- [4] Santos T.G., Inacio P.L., Costa A.A., Miranda R.M., De Carvalho C.C.C.R. Applications of a new NDT technique based on bacterial cells, *19th World Conference on Non-Destructive Testing*, Munich, Germany, 2016.
- [5] Ferreira T.J., Farinha A.R., Santos T.G., Miranda R., Carvalho C.C.C.R., Vieira M.T. Nondestructive testing in microfabrication using bacteria, *Ciencia & Tecnologia dos Materiais*, 29 262-264, 2017.
- [6] Carvalho C.C.C.R., Inacio P.L., Miranda R.M., Santos T.G. Using Biotechnology to Solve Engineering Problems: Non-Destructive Testing of Microfabrication Components, *Materials*, 10 788, 2017.
- [7] Ghoni R., Dollah M., Sulaiman A., Ibrahim F.M. Defect characterization based on eddy current technique: Technical review, *Advances in Mechanical Engineering*, 6 182496, 2014.
- [8] Abdelhamid M., Singh R., Omar M. Review of microcrack detection techniques for silicon solar cells, *IEEE Journal of Photovoltaics*, 4 514-524, 2014.
- [9] Ibrahim M.E. Nondestructive evaluation of thick-section composites and sandwich structures: A review, *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 64 36-48, 2014.
- [10] Jolly M.R., Prabhakar A., Sturzu B., Hollstein K., Singh R., Thomas S., Foote P., Shaw A. Review of non-destructive testing (NDT) techniques and their applicability to thick walled composites, *Procedia CIRP*, 38 129-136, 2015.
- [11] McMaster R.C. *Nondestructive Testing Handbook: Liquid Penetrant Tests*, 2nd ed.; American Society for Nondestructive Testing, 1982, USA.
- [12] Eisenmann D.J., Enyart D., Lo C., Brasche L. Review of progress in magnetic particle inspection. *AIP Conference Proceedings*, 1581 1505-1510, 2014.
- [13] KTN. *A landscape for the Future of NDT in the UK Economy*, Materials KTN, London, UK, 2014.
- [14] Hsu J.W.P. Near-field scanning optical microscopy studies of electronic and photonic materials and devices, *Mater. Sci. Eng. R Rep.*, 33 1-50, 2001.
- [15] Santos T.G., Miranda R.M., Carvalho C.C.C.R. A new NDT technique based on bacterial cells to detect micro surface defects, *NDT&E International*, 63 43-49, 2014.
- [16] Carvalho C.C.C.R., Fonseca M.M.R. The remarkable *Rhodococcus erythropolis*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67 715-26, 2005.
- [17] Ceyhan İ. Biyogüvenlik Laboratuvar Seviyeleri ve Biyogüvenlik Kabinlerinin Seçimi Kullanımı ve Bakımı, 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, Samsun, 2005.
- [18] Richardson J., Barkley W., Richmond D., McKinney R. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health, 2011, USA.
- [19] Santos T.G., Inacio P.L., Costa A.A., Vilaça P., Miranda R.M., Carvalho C.C.C.R. Micro Surface Defects Detection by Bacterial Cell Suspension, *11th European Conference on Non-Destructive Testing (ECNDT 2014)*, October 6-10 2014, Prague, Czech Republic
- [20] Santos T.G., Miranda R.M., Vieira M.T., Farinha A.R., Ferreira T.J., Quintino L., Vilaça P., Carvalho C.C.C.R. Developments in micro- and nano-defects detection using bacterial cells, *NDT&E International*, 78 20-28, 2016.