

**KUM ZEMİNLERİN BİYOLOJİK
İYİLEŞTİRİLMESİNDE *BACILLUS ARENOSI*
BAKTERİSİNİN KULLANILABİLİRLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Harun AKOĞUZ

**Yüksek Lisans Tezi
İnşaat Mühendisliği Anabilim Dalı
Geoteknik Bilim Dalı
Yrd. Doç. Dr. Semet ÇELİK**

2014

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KUM ZEMİNLERİN BİYOLOJİK İYİLEŞTİRİLMESİNDE
BACILLUS ARENOSI BAKTERİSİNİN KULLANILABİLİRLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI

Harun AKOĞUZ

İNŞAAT MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
Geoteknik Bilim Dalı

ERZURUM
2014

Her hakkı saklıdır



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



TEZ ONAY FORMU

**KUM ZEMİNLERİN BİYOLOJİK İYİLEŞTİRİLMESİNDE
BACILLUS ARENOSI BAKTERİSİNİN KULLANILABİLİRLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yrd. Doç. Dr. Semet ÇELİK danışmanlığında, Harun AKOĞUZ tarafından hazırlanan bu çalışma 19/12/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından İnşaat Mühendisliği Anabilim Dalı – Geoteknik Bilim Dalı’nda yüksek lisans tezi olarak ~~oybirliği/oy~~ **çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Semet ÇELİK

İmza :

Üye : Doç. Dr. Özlem BARIŞ

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Seracettin ARASAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 25 / 12 / 2014 tarih ve 51 / 1722 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KUM ZEMİNLERİN BİYOLOJİK İYİLEŞTİRİLMESİNDE *BACILLUS ARENOSI* BAKTERİSİNİN KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Harun AKOĞUZ

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
İnşaat Mühendisliği Anabilim Dalı
Geoteknik Bilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Semet ÇELİK

Son yıllarda zeminlerin iyileştirilmesini konu alan çalışmalar artmıştır. Sektörlerdeki gelişmeler ile birlikte kullanılabilir inşaat sahaları azalmış problemlı zeminler ortaya çıkmıştır. Bu kapsamda yapılar için uygun olmayan zemin şartları iyileştirilmeye çalışılmış ve birçok farklı zemin iyileştirme teknikleri uygulanmaya başlanmıştır. Genel olarak zeminlerde sıvılaşma, şişme, şev stabilitesi, oturma, mukavemet gibi özelliklerin iyileştirilmesi amaçlanmaktadır. Bu çalışma kapsamında zemin iyileştirme tekniklerine yeni bir yaklaşım olarak bakteriler ile iyileştirmenin yapılabilirliği araştırılmıştır. Bakteri olarak *Bacillus arenosi* ve zemin olarak da kum zemin kullanılmıştır. SEM, XRD, EDS ile analizler yapılmıştır. Farklı pH değerlerinde hazırlanan sıvı besiyerlerine bakteri inokülasyonu yapılarak inkübe edilmiştir. En iyi sonuç pH 8,0 değerinde hazırlanan sıvı besiyeri ile elde edilmiştir. Zemine uygulama sonrasında en iyi sonuç kültür ortamına CaCl₂ stok çözelti eklendikten sonra oluşan pelletin santrifüj ile çökeltilerek zemine uygulanması ile elde edilmiştir. SEM görüntülerinden zemin daneleri arasındaki boşlukların azaldığı, yüzeylerinin kaplandığı ve taneler arası bağların oldukça arttığı gözlemlenmiştir. XRD ve EDS analizleri ile bakteri olmadan sadece sıvı besiyeri ile reaksiyonun gerçekleşmediği tespit edilmiş kültür ortamı uygulanan zeminlerde ise kalsit oranının arttığı bu analizler ile belirlenmiştir.

2014, 72 sayfa

Anahtar kelimeler: Zemin iyileştirme, kum, *bacillus arenosi*, biyolojik iyileştirme.

ABSTRACT

MS Thesis

INVESTIGATING THE USABILITY OF BACILLUS ARENOSI BACTERIA IN BIOLOGICAL IMPROVEMENT OF SAND SOILS

Harun AKOĞUZ

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Civil Engineering
Geotechnical Science

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Semet ÇELİK

In recent years, an increase has been observed in the number of studies carried out on improving the soils. In association with the developments in industry, the usable construction fields declined, and the problematic zones emerged. Within this scope, it has been tried to improve soil conditions that are inappropriate for buildings, and various improvement techniques have been put into practice. In general, it is aimed to improve the features of soils such as liquefaction, swelling, slope stability, settlement, and strength. Within the scope of this study, as an addition to soil improvement techniques, the possibility of improvement via bacteria was investigated. As bacteria, *Bacillus Arenosi* was utilized, while sand soil was utilized as soil. The analyses were carried out through the SEM, XRD, EDS techniques. By inoculating the bacteria into liquid agars prepared at various pH values, they were incubated. The best result was obtained with liquid agar prepared at pH 8. After applying the ground, the best result was obtained through centrifuging the pellet that was prepared with CaCl₂ stock solutions addition into culture medium, and applying the precipitation to the soil. In SEM analyses, it has been observed that the gaps between the soil particles have narrowed, that their surfaces have been coated, and that the inter-particle linkages have significantly strengthened. Through XRD and EDS analyses, it has been determined that the reaction doesn't occur only with liquid agars without the bacteria. The increase of the calcite in soils, where the culture mediums were applied, was shown through these analyses.

2014, 72 pages

Keywords: Soil improvement, sand, *bacillus arenosi*, biological improvement.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince yardımını ve fikirlerini esirgemeyen tez danışmanım değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Semet ÇELİK'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarında her türlü bilgi ve desteğini eksik etmeyen değerli hocam Atatürk Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerinden Sayın Doç. Dr. Özlem BARIŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmada yürütülen deneylerin büyük bir bölümü Atatürk Üniversitesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarında gerçekleşmiştir. Yardımlarını esirgemeyen laboratuvardaki sayın arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam süresince emeği geçen Atatürk Üniversitesi İnşaat Mühendisliği Geoteknik laboratuvarındaki sayın arkadaşlarıma da teşekkürlerimi sunarım.

Harun AKOĞUZ

Aralık, 2014

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.2. Yapılan Çalışmalar	2
2. KURAMSAL TEMELLER.....	9
2.1. Zeminlerin İyileştirilmesi ve Uygulanan Teknikler	9
2.1.1. İri taneli zeminlerin katkı malzemesiz iyileştirilmesi	12
2.1.1.a. Kompaksiyon.....	12
2.1.1.b. Dinamik kompaksiyon	12
2.1.1.c. Vibrokompaksiyon	13
2.1.1.d. Diğer metodlar.....	13
2.1.2. İnce taneli zeminlerin katkı malzemesiz iyileştirilmesi	14
2.1.2.a. Yerinden çıkarma yenisiyle değiştirme	14
2.1.2.b. Dolgu ile ön yükleme	14
2.1.2.c. Prefabrik düşey drenler ve dolgu ile ön yükleme	15
2.1.2.d. Vakum konsolidasyonu	16
2.1.2.e. Elektro-osmoz tekniği.....	17
2.1.2.f. Zemin dondurma	17
2.1.3. Yer değiştirme ile zemin iyileştirilmesi	18
2.1.4. Enjeksiyon ve katkı malzemeleri ile zemin iyileştirilmesi.....	20
2.1.4.a. Partikül enjeksiyonu	20
2.1.4.b. Kimyasal enjeksiyon	20
2.1.4.c. Jet enjeksiyon	21
2.1.4.d. Kompaksiyon enjeksiyonu	22
2.1.4.e. Karıştırma metodu	23

2.1.5. Dahil etme ile zemin iyileştirmesi.....	23
2.1.6. Mikrobiyal metot.....	24
2.1.7. Zemin iyileştirme metodunun seçimi	26
2.1.8. Zemin iyileştirmelerinin değerlendirilmesi	27
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	28
3.1. Deneylerde Kullanılan Kumun Özellikleri.....	28
3.2. Sıvı Besiyeri	30
3.3. Bakteri inkübasyonu.....	33
3.4. Karışımın Hazırlanması ve Uygulanması.....	35
3.5. SEM (Scanning Electron Microscopy) Analizi.....	40
3.6. EDS (Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy) Analizi	41
3.7. XRD (X-Ray Diffraction) Analizi.....	41
4. ARAşTIRMA BULGULARI ve TARTIşMA.....	43
4.1. Sıvı Besiyeri Analizi	43
4.2. Sıcaklık Faktörü	50
4.3. Bakteri İnkübasyonu Sonuçları	50
4.4. SEM (Scanning Electron Microscopy) Analizi Sonuçları	53
4.5. EDS (Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy) Analizi Sonuçları.....	64
4.6. XRD (X-Ray Diffraction) Analizi Sonuçları	66
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	69
KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİş	73

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ASTM	Amerikan Malzeme ve Test Derneği
°	Derece
DC	Doğru Akım
EDS	Enerji Dağınımlı X-ışınları Görünge Gözlemi
ISSMGE	Zemin Mekaniği ve Geoteknik Mühendisliği Uluslararası Birliği
Ø	Çap
pH	Hidrojenin Gücü
rDNA	Ribosomal DNA
Rpm	Dönüş Hızı
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
µ	Mikron
XRD	X Işını Kırınım
USCS	Birleştirilmiş Zemin Sınıflandırma Sistemi
γ _s	Tane Birim Hacim Ağırlık

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Vibrokompaksiyon örneği	13
Şekil 2.2. Hızlı etkili kompaksiyon	14
Şekil 2.3. Prefabrik düşey dren	15
Şekil 2.4. Prefabrik düşey drenlerin uygulanması	16
Şekil 2.5. Menard vakum konsolidasyonu	16
Şekil 2.6. Killerde elektro-osmoz	17
Şekil 2.7. Zemin dondurma tekniği	18
Şekil 2.8. Taş kolon imalatı	19
Şekil 2.9. Dinamik yer değiştirme metodu	19
Şekil 2.10. Enjeksiyon tekniklerinin uygulama aralıkları	20
Şekil 2.11. Jet enjeksiyon kolonu imalat aşamaları	21
Şekil 2.12. Enjeksiyon uygulama aşamaları	22
Şekil 2.13. SCM (zemin çimento karıştırma) metodu	23
Şekil 2.14. Doğal ortamda kumun çimentolanması	24
Şekil 2.15. Mikroorganizmada oluşan üre enzim aktivitesi tarafından başlatılan kalsiyum karbonat çökeltisi mekanizması.....	25
Şekil 2.16. (A) kalsit, (B) aragonit, (C) vaterit. Mikrobiyal oluşumların ve minarellerin yakın ilişkisi ayrıca hücre şekilli çukurlar (D) ve septa (E) görülebilir. Bakteri ve kristallerin birbirine olan tutunması da görülmektedir (F)	26
Şekil 3.1. Uygulama yapılmayan kum zemin XRD sonuçları	28
Şekil 3.2. Kum zemin granülometri eğrisi	29
Şekil 3.3. Sterilize edilmiş kum zemin	29
Şekil 3.4. Otoklav cihazı.....	30
Şekil 3.5. Sıvı besiyeri	32
Şekil 3.6. pH ölçüm cihazı.....	32
Şekil 3.7. <i>Bacillus arenosi</i> K64	33
Şekil 3.8. Çalkalayıcı	34
Şekil 3.9. Sterilize ortam.....	34

Şekil 3.10. 5 mL 72 saatlik bakteri kültürü + CaCl ₂ stok çözelti	38
Şekil 3.11. Santrifüj cihazı.....	39
Şekil 3.12. SEM çalışma prensibi	40
Şekil 3.13. Taramalı elektron mikroskobu (Quanta 450 FEG).....	41
Şekil 3.14. X-ışını kırınım cihazı (Empyrean Series 2 X-ray Diffraction System)	42
Şekil 4.1. Kültür ortamı eklenmiş zemin numuneleri	43
Şekil 4.2. 5 nolu numune (zemin tanelerinin birbirine tutunması)	45
Şekil 4.3. Deney düzeneği	48
Şekil 4.4. 1 nolu numune	48
Şekil 4.5. 2, 5 ve 6 nolu numune.....	49
Şekil 4.6. pH 6,0 a) kültür ortamı b) kültür ortamı + CaCl ₂ stok çözelti (2/100).....	51
Şekil 4.7. pH 7,0 a) kültür ortamı b) kültür ortamı + CaCl ₂ stok çözelti (2/100).....	51
Şekil 4.8. pH 8,0 a) kültür ortamı b) kültür ortamı + CaCl ₂ stok çözelti (2/100).....	52
Şekil 4.9. pH 9,0 a) kültür ortamı b) kültür ortamı + CaCl ₂ stok çözelti (2/100).....	52
Şekil 4.10. Farklı pH değerlerine sahip kültür ortamlarının 72 saat sonra ve CaCl ₂ eklendikten sonraki durumları.....	53
Şekil 4.11. Uygulama yapılmamış kum zemin SEM analizi (50x).....	55
Şekil 4.12. Uygulama yapılmamış kum zemin SEM analizi (200x).....	56
Şekil 4.13. Uygulama yapılmamış kum zemin SEM analizi (400x).....	56
Şekil 4.14. Sadece sıvı besiyeri uygulanmış kum zemin SEM analizi	57
Şekil 4.15. pH 6,0 30°C etüv SEM analizleri	57
Şekil 4.16. pH 6,0 35°C etüv SEM analizleri	58
Şekil 4.17. pH 7,0 30°C etüv SEM analizleri	58
Şekil 4.18. pH 7,0 35°C etüv SEM analizleri	59
Şekil 4.19. pH 8,0 30°C etüv SEM analizleri	59
Şekil 4.20. pH 8,0 35°C etüv SEM analizleri	60
Şekil 4.21. pH 9,0 30°C etüv SEM analizleri	60
Şekil 4.22. pH 9,0 35°C etüv SEM analizleri	61
Şekil 4.23. pH 8,0 35°C 7 günlük etüv SEM analizi (400x).....	61
Şekil 4.24. pH 8,0 35°C 7 günlük etüv SEM analizi (800x).....	62
Şekil 4.25. pH 8,0 35°C 7 günlük etüv SEM analizi (1600x).....	62
Şekil 4.26. pH 8,0 35°C 7 günlük etüv SEM analizi (3000x).....	63

Şekil 4.27. pH 8,0 35°C 7 günlük etüv SEM analizi (6000x).....	63
Şekil 4.28. EDS analizi için uygulama yapılan zemin üzerinde belirlenen noktalar	64
Şekil 4.29. 1. noktanın element analiz grafiği	65
Şekil 4.30. 2. noktanın element analiz grafiği	66
Şekil 4.31. Uygulama yapılmayan kum zemin XRD sonuçları	67
Şekil 4.32. Sadece sıvı besiyeri uygulanan kum zemin XRD sonuçları.....	67
Şekil 4.33. Kültür ortamı uygulanan kum zemin XRD sonuçları.....	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Zemin iyileştirme metotlarının sınıflandırılması	10
Çizelge 3.1. Elek analizi sonuçları.....	29
Çizelge 3.2. Kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonunda kullanılan farklı sıvı besiyerleri	31
Çizelge 3.3. Numunelerin hazırlanışı	35
Çizelge 4.1. Farklı sıvı besiyeri uygulanan zemin örnekleri	44
Çizelge 4.2. Farklı sıvı besiyeri uygulanan zemin örnekleri	46
Çizelge 4.3. Sıvı besiyerinde oluşan pH değişimi	50
Çizelge 4.4. 1. ve 2. noktanın atomik ve ağırlık yüzdeleri	65

1. GİRİŞ

1.1. Çalışmanın Kapsamı

Son yıllarda endüstri, sanayi ve inşaat sektöründeki hızlı gelişmeler sonucunda imara yeni yerler açılmış, inşaat sahaları genişlemiş böylece problemli zeminler üzerine yapılar inşa edilmek zorunda kalınmıştır. Bu zayıf zeminler beraberinde birçok sorunu gündeme getirmiştir. Zeminlerin yapıdan gelen yükleri güvenle taşıyabilmesi için projede değişikliklere gidilmesi, mevcut zeminin taşıma gücü yüksek bir zeminle yer değiştirilmesi, zeminlerin iyileştirilmesi gibi yöntemlere başvurulmuştur. Yer seçimi, mevcut zeminin değişimi gibi seçenekler fazla maliyet gerektirdiğinden zeminlerin iyileştirilmesi binlerce yıldır kullanılmaktadır. Genelde zeminlerde sıvılaşma, şişme, dolgu ve şev stabilitesi, erozyon kontrolü, oturma ve mukavemet gibi özelliklerinin iyileştirilmesi amaçlanmaktadır.

Zeminlerin iyileştirilmesinde her yöntem zemine ait farklı parametreleri iyileştirmeye yöneliktir. Ön yükleme, kompaksiyon, zemin kazıkları, mevcut zeminin değiştirilmesi, katkı malzemeleri kullanarak iyileştirme, ısıtma işlemleri gibi birçok uygulama zeminin özelliklerinin iyileştirilmesi için kullanılmaktadır. Son yıllarda bunlara ek olarak bakteriler kullanılarak mikrobiyolojik kalsiyum karbonat çökmesi ile zeminlerin iyileştirme tekniği ortaya çıkmıştır.

Kalsiyum karbonat çökmesi bakterilerin kimyasal prosesler sonucunda kalsit oluşturması durumudur. Oluşan kalsitler zeminde boşlukların doldurulması, zemin tanelerinin birbirine bağlanması, tane yüzeylerinin filmle kaplanarak su geçirgenliğinin azalması gibi etkiler göstermektedir. Bunun sonucunda zeminin geçirgenlik, mukavemet, oturma gibi özellikleri iyileştirilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, *Bacillus Arenosi* bakterisinin zemin iyileştirmesinde kullanılabilirliğini araştırmaktır. Çalışma laboratuvarında steril ortam şartlarında yapılmış farklı kombinasyonlar denenerek optimum şartlar oluşturulmaya çalışılmıştır.

Öncelikle literatürde yapılan çalışmalar ve araştırmalar incelenmiştir. Literatür çalışmalarından yola çıkılarak zemin türü ve bakteri seçilmiş uygulamanın başarısını etkileyecek parametreler analiz edilmiştir.

Laboratuvar çalışmalarında öncelikle zeminlerin özelliklerini belirlemek için birtakım deneyler yapılmıştır. Daha sonra bakteri seçimi yapılmış ve en iyi sonuç alınabilecek sıvı besiyer literatürde yapılmış çalışmalar arasından denemeler yapılarak seçilmiştir. Farklı oranlarda ve ortam şartlarında uygulamalar yapılmış sonuçları SEM, EDS, XRD testleri ile analiz edilmiştir. Analizler sonucunda karşılaştırmalar yapılarak en iyi sonuç verebilecek şartlar ortaya konulmaya çalışılmıştır.

1.2. Yapılan Çalışmalar

Zeminlerin biyolojik iyileştirilmesi ile ilgili olarak literatürde birçok çalışma bulunmaktadır. Literatürdeki çalışmalarda farklı zemin, bakteri, ortam vs. kullanılarak uygulamalar yapılmıştır. Bu bölümde araştırma konusu ile ilgili yapılan çalışmalar ve inşaat mühendisliğinde diğer alanlarda yapılan bakteri uygulamaları özetlenerek verilmiştir.

Whiffin (2004) yapmış olduğu çalışmada, *Proteus Vulgaris* ve *Sporosarcina Pasteurii* bakterilerini karşılaştırarak ekonomik yönden ve kullanılabilirlik yönünden hangisinin daha uygun olduğunu araştırmıştır. pH kontrolü, üre aktivitesi, zemin kirlilik oranı gibi faktörlerinin gelişimi etkilediğini bulmuştur. Optimum bakteri büyüme pH değeri 9,25 bulunmuş ancak diğer pH değerlerinde de üre aktivitesi oluşumunu gözlemlemiştir. Ancak üre aktivitesinin çok olmasının oluşacak kütlenin de çok olacağı anlamına gelmediğini bundan dolayı da diğer faktörlerinde etkili olduğunu, sadece pH kontrolü ile kütle oluşumunun kontrol edilemeyeceğini göstermiştir. Zeminlerin kirlilik oranının

da k t le oluşumunda etkili olduğunu kirlilik oranının %50 den fazla olması durumunda k t le oluşumunun olumsuz olarak etkilendiğini tespit etmiştir. Besiyer olarak üre ve Amonyum kullanmıştır. Hiç besiyer kullanmadan, tek besiyer kullanarak ve her iki besiyeride aynı anda kullanarak k t le oluşumunu gözlenmiştir. K t le oluşumunda besiyer kullanılmadan üre aktivitesi olmadığını, tek besiyer ve çift besiyer kullandığında ise benzer üre aktiviteleri olduğunu tespit etmiştir. *P. vulgaris* ve *S. pasteurii* aynı ortam şartlarında izlenmiş *S. pasteurii*'nin üre aktivitesinin *P. vulgaris*'den on kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. *P. vulgaris*'in daha pahalı olması nedeniyle *S. pasteurii*'nin üre aktivitesi ve k t le oluşumu için daha uygun bir bakteri olduğunu ifade etmiştir.

Dejong *et al.* (2006) alışmalarında, *Bacillus Pasteurii* ve kireç taşı kullanarak Ottawa 50-70 zemin özelliklerinin iyileştirilmesini amaçlamışlardır. Zemine   farklı uygulama yapılmıştır. Zemine katkı kullanılmadan, *Bacillus Pasteurii* kullanılarak ve kireç taşı kullanarak uygulama yapılmış sonuçları analiz edilmiştir. Analizlerde kesme dalgası hızı,   eksenli basınç dayanımı, SEM analizi ve X-Ray analizi kullanılmıştır. İyileştirmeye etki eden faktörleri, pH, oksijen miktarı, metabolik durum, mikrop konsantrasyonu, kalsiyum iyonları ve bunun yanı sıra aşılama sayısı olarak tanımlamışlardır. Kesme dalgası hızı analizinde kireç taşı ile iyileştirilmiş ve bakteri ile iyileştirilmiş zemin benzer sonuçlar göstermiştir. Bakteri ile iyileştirilmiş zeminde kesme kapasitesi, drenajsız kesme koşullarında artış göstermiştir. Uygulama yapılmamış zemin numunesi ile karşılaştırıldığında bakteri ile iyileştirilmiş zemin ve kireç taşı ile iyileştirilmiş zeminde başlangıç kesme bükülmesi ve yüksek elastiklik kapasitesinde artış gözlemlenmiştir. X-ray elektron mikroskobu ile inceleme yapıldığında bakteri ve kireç taşı ile iyileştirilmiş zeminlerin zemin-partikül yüzeylerinin yanı sıra partikül bağlantıları da gözlemlenmiştir. Mikroskopta kireç taşı ile iyileştirilmiş zeminde iyi biçimlendirilmiş, iğne şekilli bir kristal yapı gözlemlenmiş bakteri ile iyileştirilmiş zeminde ise küçük bir yapı ile birlikte daha p r z l  doku gözlemlenmiştir. Sonuç olarak doğal biyolojik süreçlerin kontrolü ve çalışacak duruma getirilmesi yolu ile iyi bir imentolama yapılarak gevşek kum yapılarının güçlendirilebileceği belirtilmiştir.

Jimenez-Lopez *et al.* (2007) çalışmalarında gözenekli kireçtaşlarını bakteri ve kültür ortamı kullanarak güçlendirmeyi amaçlamıştır. Mikroorganizma olarak *Myxococcus xanthus* kullanılmıştır. Kireç taşları Granada Cathedral tesislerinden büyük kütlelerde alınarak yüzeyleri temizlenmiş ve 2x5x0,5 cm boyutlarında elmas testereler ile numuneler oluşturulmuştur. (XRD) analizi ile kireç taşının içeriği %95 'den az kalsit, %5'den fazla quartz ve alçı taşı tespit edilmiştir. pH değerleri, kalsiyum konsantrasyonu, XRD ve SEM analizleri yapılmıştır. Numunelerde porozite ve boşluk hacmi değişikliklerini izlemek için mercury intrusion porosimetry deneyi uygulanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda *M. xantus* bakterisi aşılansmış ve aşılansmamış steril olmayan numunelerde mikrobiyal gelişim saptanmıştır. $Ca_{T(aq)}$ analizinde, farklı kültür ortamları karşılaştırıldığında başlangıç ve final kalsiyum karbonat oranı yüksek olan M-3 kültür ortamı olarak görülmüştür. SEM analizlerinde bakteri aşılansmış M-3 ve M-3P numunelerinin her ikisinde de kalsit oluşumu gözlenmiştir. Boşluk boyutları karşılaştırıldığında uygulama yapılmış numuneler ile uygulama yapılmayan numuneler arasında fazla bir fark gözlemlenmemiştir.

Whiffin *et al.* (2007) çalışmalarında bakteri ile zemin iyileştirmesini incelemiştir. Beş metrelik kum kolonu oluşturarak düşük bir akım hızında sürekli bakteri aşılması yapmışlardır. 5 metre boyunda olan PVC tüp içerisindeki akıntının düzgün olması ve içerisinde yığılma olmaması için düşey olarak yerleştirilmiştir. 125-250 μm tane çapı aralığında (kum karakteristikleri: $d_{10}=110 \mu m$; $d_{50}=165 \mu m$; $d_{90}=275 \mu m$) ve kuru yoğunluğu $1,65 g/cm^3$ (porozite %37,8) olan kum kullanılmıştır. Zemine aşılansacak tüm maddeler üst kısımdan ilave edilmiştir. Mikroorganizma olarak *Sporosarcina pasteurii* kullanılmıştır. Üre aktivitesi, amonyum konsantrasyonu, kalsiyum karbonat içeriği tespit edilmiştir. Deney sonucunda basınç dayanımı, porozite, permeabilite gibi zemin özellikleri belirlenmiştir. Kalsiyum karbonatın varlığının poroziteyi açık bir şekilde etkilediği görülmüştür. Maksimum kalsiyum karbonat içeriğinde %90'lık bir porozite düşüşü ölçülmüştür. Basınç ve permeabilite deneyleri sonuçlarında da kalsiyum karbonat içeriğinin etkisi görülmüştür. Düşük karbonat içeriğinde kayda değer bir basınç değeri artışı olmamıştır. Yüksek karbonat içeriğinde 570 kPa gibi yüksek bir basınç dayanımı elde edilmiştir. Permeabilite ise kolondan aşağı doğru inildikçe hafif

bir düşüş seyretmiştir. Sonuç olarak kolonun her yerinde kalsiyum karbonat içeriğine rastlanmıştır ancak bu homojen olarak dağılmamıştır. Üstten aşağı doğru gelindikçe içeriğin giderek azaldığı gözlemlenmiştir. Kalsiyum karbonat oluşumunun zamanla azalmasının, boşluk hacminde giderek azalma meydana gelmesi, kalsiyum karbonat katı çökelti miktarının artması, üre konsantrasyonunun azalması ve reaksiyon esnasında bakterinin yaşama yeteneğinin azalması gibi faktörlerin etkilediğini düşünmüşlerdir.

Muynck *et al.* (2008) yapmış oldukları çalışmada farklı su/çimento oranına sahip betonlara, bakteriler vasıtası ile yüzeysel uygulama yaparak mukavemet özelliklerinin iyileştirilmesini amaçlamışlardır. Bakteriler haricinde geleneksel yüzeysel iyileştirmelerde (Water based dispersion, Silicones, Sodium silicates v.b.) uygulayarak karşılaştırma yapmışlardır. Kalıba dökülen farklı su/çimento oranına sahip beton harçları analizlerde kullanılması için 27 gün su içerisinde muhafaza edilmiştir. Yapılan dayanım testlerinde su/çimento oranları 0,5, 0,6, 0,7 olan numuneler ($100 \times 100 \times 100 \text{ mm}^3$) sırasıyla $50,3 \pm 2,29 \text{ MPa}$, $48,5 \pm 1,96 \text{ MPa}$, $42,6 \pm 2,26 \text{ MPa}$ dayanım değerlerini elde etmişlerdir. Mikroorganizma olarak *B. SpHaericus* bakterisi kullanılmıştır. Bakteri ile yapılan uygulama sonucunda su/çimento oranları 0.5 ve 0.7 olan numunelerin tüm derinliklerinde bakteri yoğunluğuna rastlanmıştır. Buradan bakterilerin sadece yüzeyde kalmadığı betonun içerisine de nüfuz ettiği anlaşılmaktadır. Ancak derinlik arttıkça bakterilerdeki yoğunluk da azalma eğilimi göstermiştir. Sem analizi sonucunda yüzeylerde karbonat kristalleri görülmüştür. Karbonat kristalleri tüm bölgeyi kapsamasına rağmen bazı kristal bulunmayan bölümlere de rastlanmıştır. Bu kristallerin boyutları çoğunlukla 10-40 μm aralığında olup bazılarının 100 μm boyutuna kadar ulaştığını göstermişlerdir. Su emme, bakteri uygulanmış numunelerde, bakteri uygulanmayan numunelere göre aşırı bir düşüş göstermiştir. Su/çimento oranı arttıkça zemin boşluklarının artacağı böylece kalsit üretimi ve besin aktarımının rahat olacağını bu durumun daha iyi kalsit üretimini sağlayacağını ifade etmişlerdir.

Muynck *et al.* (2008a) yapmış oldukları çalışmada inşaat materyallerinin korunması için, yüzeylerinin kaplanması gerektiğini böylece zararlı madde ve su girişlerinin önlenebileceğini bunun geleneksel tekniklerin yerine mikroorganizmalar vasıtası ile de

yapılabileceğini düşünmüşlerdir. Tüm çalışmada çimento olarak portland çimentosu (CEM I 52,5) kullanılmıştır. 0,5 su-çimento (w/c) oranına göre oluşturulan prizmalar 28 günlük kürde bekletilmiştir. Gaz permeabilitesi deneyi için 1200x700x50 mm boyutlarında beton tabakadan H=50mm D=150mm olacak şekilde silindirik şekilde delinerek prizmalar elde edilmiştir. Mikroorganizma olarak *B. SpHaericus* kullanılmıştır. Bakteri ile yapılan uygulamanın geleneksel yüzey uygulamalarıyla karşılaştırılabilmesi için su tutucu ve kaplama özelliği olan başka materyaller denenmiştir. Deney sonucunda SEM analizlerinde yüzeylerin kristallerle (en fazla 100 µm boyunda) kaplı olduğu görülmüştür. XRD analizi sonuçlarında yüzeylerde en çok kalsite rastlanmış bunun yanında az miktarda da vaterit bulunmuştur. Kapiler su emme deneyinde bakteri ile yapılan uygulama diğer geleneksel uygulamalara nispeten çok daha etkili olmuştur. Gaz permeabilitesi deneyinde oksijen ile yapılan tüm uygulamalarda hemen hemen aynı oranda permeabilitede düşüş gözlemlenmiştir.

Okwadha and Li (2010), mikrobiyolojik karbonat çökmesi için optimum şartları araştırmışlardır. Çalışmalarında *S. pasteurii* bakterisi kullanılmıştır. Bakteri yoğunluğu ultra saf su ile seyreltilerek 10^6 ile 10^8 cells mL⁻¹ arasında ayarlanmıştır. Değerlendirme X-ray Diffraction, Scanning Elektron Microscopy ve Energy Dispersive X-ray analizleri ile yapılmıştır. Çalışmada farklı miktarlarda üre, Ca²⁺ ve bakteri yoğunluğu kullanılarak bunların etkileri değerlendirilmiştir. 25 mM Ca²⁺ konsantrasyonu bakteri yoğunluğunu 10^6 dan 10^8 cells mL⁻¹ e artırmış buda kalsiyum karbonat çökmesini %30 arttırmıştır. Ca²⁺ konsantrasyonu 10 kat artırılarak 250 mM Ca²⁺ olarak ayarlandığında kalsiyum karbonat çökmesinin %100 arttığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak yapılan analizlerde mikrobiyolojik karbonat çökmesi için optimum şartlar 666 mM üre, 250 mM Ca²⁺ ve $2,3 \times 10^8$ cells mL⁻¹ hücre yoğunluğu olarak belirlenmiştir. Ekonomik avantajlarda göz önünde bulundurularak daha yüksek Ca²⁺ içeriği ve bakteri yoğunluğu ile daha yüksek karbonat çökmesi elde edilebileceği değerlendirilmiştir.

Cheng and Cord-Ruwish (2012) yapmış oldukları çalışmada bakteriler ile zemin özelliklerini iyileştirmeyi amaçlamışlardır. Çalışmada *Bacillus spHaericus* bakterisi kullanılmıştır. Zemin olarak saf silika kumu (>0,3 mm: %1,13, 0,212-0,3 mm: %63,39,

0,15-0,212 mm: %29,59, <0,15 mm %5,89) ve iç çapı 4,5 cm uzunluğu 30 cm ve 1 m olan PVC kolonlar kullanılmıştır. Kolonlar silika kumu ile doldurulmuş yoğunluğu 1,61–1,63 g/cm³ ve porozitesi %37,5–38,5 olana kadar sürekli vibrasyona tabi tutulmuştur. Çalışmada kum kolonlarına iki farklı su doygunluk derecesinde uygulama yapılmıştır. İlk olarak zemin suya batırılarak tamamen doymun hale getirilmiştir. İkinci olarak da yüzey süzülmesi ile suya doymun olmayan şartlarda hazırlanmıştır. Doymun olmayan şartlar altında çimentolaşma uygulaması kum kolonlarını dikey pozisyona getirerek üst taraftan bakteri süspansiyonunun ve çimentolaşma solüsyonunun eklenmesi bunların yerçekimi etkisi ve kapilarite ile iletilmesi şeklinde yapılmıştır. Deney sonucunda toplam amonyum nitrojen konsantrasyonu, biyokütle konsantrasyonu, kalsiyum iyonlarının varlığı ve üre aktivitesinin ölçülmesi gibi faktörler belirlenmiştir. Zemin dayanımını ölçmek için cep penetrometresi ve basınç dayanımı testleri uygulanmıştır. 1 m lik kum kolonlarının farklı kısımlarından örnekler alınarak SEM analizi yapılmıştır. Üre aktivitesi daldırmada %15 lik, süzülmede %30 luk düşüş göstermiştir. Bunu geliştirmek için düşük süzülme oranı ve yüksek kalsiyum konsantrasyonu denenmiş ancak bakterilerin tutunmasını etkilememiştir. Dayanım testlerinde daldırma yöntemi süzme yöntemine göre çok daha iyi sonuçlar vermiştir. Süzülme yönteminde daha düşük sonuçların alınmasının sebebi olarak kalsiyum karbonat reaksiyonunun daha tamamlanmamış olması (üre dönüşümü daldırma yönteminde %80 süzme yönteminde %40 tamamlanmıştır) ve bakterilerin zemin içerisine çok iyi dağılmamış olması görülmüştür. Sonuç olarak doymun olmayan (su içeriğinin az olduğu) zeminlerde kalsiyum karbonat oluşumunun daha az görüleceği ifade etmişlerdir.

Li (2013) yapmış olduğu çalışmada farklı zeminlerin bakteriler ile iyileştirilmesini incelemiştir. Bakteri olarak *Bacillus pasteurii* kullanmış zemin olarak da farklı yerlerden alınmış zeminler ve silika kumu kullanılmıştır. Zeminler doymun, havada kurutulmuş ve etüvde kurutulmuş olarak hazırlanmıştır. Serbest basınç deneyi, donma çözülme deneyi, XRD, SEM, EDS analizleri yapılmıştır. Serbest basınç deneyi sonuçlarında silika kumu, SM ve SP-SM zeminlerde gelişimler gözlemlenmiştir. Silika kumu diğer zeminlere göre çok daha iyi sonuçlar vermiştir. İki kez uygulama

yapıldığında zemin dayanımları daha da artmıştır. En iyi sonuçlar etüvde kurutulmuş zeminlerde elde edilmiştir. Zeminlere yapılan bakteri aşılama sayısı arttıkça daha da iyi sonuçların alınacağı düşünülmüştür. Ayrıca zeminlerde silt ve kil oranı arttıkça dayanımın düştüğü görülmüştür. Silika kumunda kil ve silt bulunmadığından diğer zemin örneklerinden çok daha iyi sonuç vermiştir. Zeminde donma-çözülme etkisi araştırılmış civa deneyi ile zemin boşluklarının (porozite) azaldığı gözlemlenmiştir. 5-6 kez uygulama yapılmış zemin numunelerinde daha düşük porozite değeri elde edilmiştir. Scanning electron microscopy ve X-ray diffraction testleri ile tane yüzeylerinin kaplandığı ve donma çözülme deneyi sonucunda zemin numunesinin olumlu etkilendiğini göstermiştir.

Bernardi *et al.* (2014) yapmış oldukları çalışmada bakteriler vasıtasıyla kumları kumtaşlarına çevirmeye çalışmışlardır. Bakteri olarak *Sporosarcina pasteurii* zemin olarak da silika kumu ($D_{50}=0,42$ mm, $C_u=2,6$ $C_c=1,2$ $G_s=2,6$ $e_{min}=0,5$ $e_{max}=0,8$) kullanılmıştır. Zemin standart kırmızı tuğlalara benzer boyutlarda PVC'den imal edilmiş 91x58x200 mm boyutlarında kalıba yerleştirilmiştir. Bakteriler süzülme yolu ile üstten aşılanmış altta bırakılan delikler ile de fazla besiyerin dışarı süzülmesi sağlanmıştır. Bekleme süresi, aşılama sayısı, aşılama aralığı her zeminde farklı uygulanmıştır. Boyuna dalga hızı, serbest basınç deneyi ve kalsit ölçümü deneyleri yapılmıştır. Tuğlalarda üstten alta doğru gelindikçe gelişimin azaldığı görülmüş, bekleme süresi arttıkça de gelişimde artış gözlemlenmiştir. Basınç deneyleri sonucunda 1 MPa ile 2 MPa arasında dayanım değerlerine sahip olduklarını belirlemişlerdir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Zeminlerin İyileştirilmesi ve Uygulanan Teknikler

İnşaat mühendisliği uygulamalarında zemin koşullarının, mühendislik tasarımları ve yapım yöntemlerinin seçimi üzerinde önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Zemin koşulları bazı durumlarda projenin uygulanabilirliğini tayin edebilecek kadar problemli olabilmektedir. Bu durumlarda zemin özelliklerinin iyileştirilmesi gerekebilir. Zemin iyileştirilmesi yapılması planlanan mühendislik uygulamalarına yönelik olarak zeminlerin belli özelliklerinin fiziksel, kimyasal yada biyolojik yöntemler kullanılarak iyileştirilmesidir. Zeminlerin iyileştirilmesi yerine çoğunlukla ıslahı, stabilizasyonu ve modifikasyonu gibi eşanlamlı terimler kullanılmaktadır (Özaydın 2012).

Yapıların inşası aşamasında ve sonrasında gelen yükler sonucunda zeminde oluşan gerilmeler, zemin tarafından güvenle karşılanmalıdır. Fakat zeminler her zaman bu gerilmeleri karşılamayabilir. Bu gibi durumlarda bazı önlemler alınması gerekir. Bunlar;

- Mevcut zemine göre proje üretmek,
- Zayıf zemin kaldırılarak yerine taşıma gücü yüksek zemin yerleştirilerek,
- Taşıma gücü düşük zemini geçip daha sağlam zeminlere inşa ederek,
- Zemin özelliklerini arazide iyileştirmek,

şeklinde sıralanabilir (Özdemir ve Özdemir 2006).

Zeminlerin iyileştirilmesinde hedeflenen başlıca amaçlar şunlardır:

- Mukavemet – taşıma gücü artışı,
- Oturmaların azaltılması,
- Gerilme altında şekil değiştirmenin azaltılması,
- Şişme – büzülme potansiyelinin azaltılması,

- Çevresel etkiler (donma – çözülme, ıslanma – kuruma) sonucunda oluşabilecek fiziksel ve kimyasal etkilerin önlenmesi,
- Su geçirgenliği ve sızıntı sularının kontrolü,
- Erozyona karşı olan direncin artırılması,
- Deprem gibi yükler altında sıvılaşma, dayanım gibi özelliklerinin güçlendirilmesi,
- Yüzey bozulmalarına karşı oluşan direncin artırılması (Özaydın 2012).

Geçtiğimiz elli yıl içerisinde birçok farklı zemin iyileştirme tekniği geliştirilmiştir. İnsanlar için uygun alanların oluşturulması için bu teknikler daha da geliştirilmiş ve revize edilmiştir. Bu metotlar ISSMGE Zemin İyileştirmesi Teknik Kongresinde sınıflandırılmıştır (Çizelge 2.1) (Briaud 2013).

Çizelge 2.1. Zemin iyileştirme metotlarının sınıflandırılması (Chu *et al.* 2009)

Kategori	Metot	Çalışma Prensipleri
A. Kohezyonsuz zeminlerde yada dolgularda katkısız zemin iyileştirilmesi	A1. Dinamik kompaksiyon	Granüler zeminlerin sıkılaştırılması için ağırlığın zemine serbestçe düşürülmesi.
	A2. Vibrokompaksiyon	Granüler zemin içerisinde vibrasyon aleti kullanılarak zeminin sıkılaştırılması.
	A3. Patlatmalı kompaksiyon	Granüler zeminlerde patlamanın oluşturduğu şok dalgaları ve titreşimler ile zeminin oturması.
	A4. Elektrik Titreşimli kompaksiyon	Elektrik akımı tarafından üretilen ultra-yüksek voltaj altında oluşan elektrik sinyalleri ve şok dalgaları kullanılarak zeminlerin sıkıştırılması.
	A5. Yüzey kompaksiyonu	Farklı kompaksiyon makineleri ile yüzey veya yüzeye yakın zemin veya dolguların sıkıştırılması.
B. Kohezyonlu zeminlerde katkısız zemin iyileştirilmesi	B1. Yerinden çıkarma, yerine koyma	Kötü zemini kazma yoluyla çıkarma veya zemin veya kayayla yer değiştirme. Bazı hafif malzemeler toprak basıncı ve yük azaltmak için kullanılabilir.
	B2. Dolgu ile önyüklemeye (düşey drenler kullanılarak)	Gelecekteki yükler altındaki sıkışabilirliği azaltmak için dolgularla zemin sıkılaştırılması.
	B3. Vakum kullanılarak ön yüklemeye	90 kPa basınçta uygulanan vakum ile prenkosolide sıkışabilir zeminlerde sıkışabilirliğin azaltılması.
	B4. Drenajlı dinamik konsolidasyon (vakum ile)	Dinamik kompaksiyon ile benzerdir ancak burada yatay ve düşey drenler (yada vakum ile) kullanılarak kompaksiyon boyunca boşluk basıncı oluşturulur.
	B5. Elektro-osmoz yada elektrokinetik konsolidasyon	Zemin sularına yada solüsyonlarda, zemin içerisine yüklenen DC akım ile anotlardan katotlara doğru su akışının sağlanması.
	B6. Dondurma, ısıtma yolu ile termal stabilizasyon	Zeminin fiziksel yada mekanik özelliklerinin ısıtma yada dondurma yolu ile geçici yada kalıcı olarak değiştirilmesi.
	B7. Su fişkırtma kompaksiyonu	Çökebilir zeminlerin (lös) sondaj boyunca ıslatma ve patlatma ile sıkıştırılması.

Çizelge 2.1. (devam)

C. Katkılar yada dahil etmeler ile zemin iyileştirilmesi	C1. Titreşimli değiştirme ya da taş kolonlar	Yumuşak, ince taneli zeminlerde, yoğun çakıl ya da zeminlerin boşluklara doldurularak kolon oluşturulması.
	C2. Dinamik yer değiştirme	İnce ve iri agregaların yüksek enerji ile dinamik etki kullanılarak zemine yerleştirilmesi ve kolon oluşturulması. Bu dolgu ya kum, çakıl, taş ya da enkaz molozları olabilir.
	C3. Kum kompaksiyon kazıkları	Kumun zemin içerisine sondaj borusu ile vibrasyon ve dinamik etkiler altında yerleştirilmesi ve sıkıştırılması sonucunda kolon oluşturulması.
	C4. Geotekstil ile çevrelenmiş kolon	Altı kapalı silindirik geotekstil içerisine kum kullanılarak kolon oluşturulması.
	C5. Rijit dahil etme	Kolonlar, yarı sert yada sert cisimler yada kazıklar kullanılarak yumuşak zeminlerin güçlendirilmesi.
	C6. Geosentetik güçlendirilmiş kolonlar yada kazık destekli dolgular	Kazıklar, sert yada yarı sert kolonlar ve geosentetik kuşatmalar kullanılarak stabilitenin artırılması ve dolgularda oturmaların azaltılması.
	C7. Mikrobiyal metotlar	Mikrobiyal materyaller kullanılarak zeminlerin dayanımının artırılması ve permeabilitesinin azaltılması.
	C8. Diğer metotlar	Geleneksel olmayan metotlar.
D. Enjeksiyon katkısı ile zemin iyileştirme	D1. Partikül enjeksiyonu	Çimento yada diğer partiküllerin granüler zeminlere yada zeminlerin ve kayaların oyuk ve çatlaklarına enjeksiyonu ile zemin dayanımının artırılması yada permeabilitenin azaltılması.
	D2. Kimyasal enjeksiyon	Birden fazla kimyasalın zemin boşluklarında reaksiyona girerek jel oluşturması sonucunda zemin dayanımının artması ve permeabilitenin azalması.
	D3. Karıştırma metodları	Zayıf zemine çimento kireç gibi bağlayıcı maddelerin zemine katılmadan önce karıştırılarak uygulanması.
	D4. Jet enjeksiyon	Yüksek hızlı jetler ile zemine enjeksiyonu vererek kolon yada paneller oluşturulması.
	D5. Kompaksiyon enjeksiyonu	Çok katı enjeksiyonun zemin boşluklarına enjekte edilmesi ve geriye kalan homojen kütlenin yoğunlaştırılması veya oturmuş zeminin kaldırılması.
	D6. Compensation enjeksiyon	Orta-yüksek viskoziteli partikül süspansiyonunun zemin içerisine yer altı kazısı ile enjekte edilmesi ile devam etmekte olan kazının yapıda oluşturacağı oturmayı azaltmak yada etkisiz hale getirmek.
E. Yeryüzü güçlendirilmesi	E1. Geosentetikler ve mekanik olarak sağlamlaştırılmış yüzey	Gerilme dayanımı kullanılarak farklı geosentetikler yada çelik materyaller ile, kesme dayanımı, zemin ve yolların stabilizasyonu, temeller, şevler ve istinat duvarların kapasitesini arttırmak.
	E2. Zemin çivileri ile yüzey sabitleme	Ankraj ve gömülü çivilerin çekme gerilmesi kullanılarak istinat duvarlarının veya şevlerin stabilitesini arttırmak.
	E3. Bitkiler ile biyolojik metotlar	Bitki kökleri kullanılarak şev stabilitesini arttırmak.

Zeminlerin iyileştirmelerini beş ana başlık şeklinde inceleyebiliriz:

- 1- İri taneli zeminlerin katkı malzemesiz iyileştirilmesi
- 2- İnce taneli zeminlerin katkı malzemesiz iyileştirilmesi
- 3- Yer değiştirme ile zemin iyileştirilmesi
- 4- Enjeksiyon ve katkı malzemeleri ile zemin iyileştirilmesi
- 5- Dahil etme ile zemin iyileştirilmesi (Briaud 2013).

2.1.1. İri taneli zeminlerin katkı malzemesiz iyileştirilmesi

2.1.1.a. Kompaksiyon

Zemin yoğunluğu dışardan uygulanabilecek kısa süreli mekanik kuvvetler ile artırılabilir. Mekanik iyileştirme kompaksiyon olarak da aynı anlamda kullanılabilir. Kompaksiyon ani ağır yükler ya da dinamik yüklerin zemine uygulanması ile zemin partiküllerinin birbirine yanaşarak bir kütle oluşturması sonucunda boşluk oranının azaltılması anlamına gelmektedir. Boşluk oranının azaltılmasında amaç maksimum kayma mukavemeti elde edilmesi, oturmanın azaltılması, boşlukların suyla dolarak kayma mukavemetinin azaltılması olarak sıralanabilir (Özçep 2009). Kompaksiyon, kaplama katmanlarının hazırlanmasında, istinat duvarlarının arka dolgularında ve dolgularda kullanılır (Briaud 2013).

2.1.1.b. Dinamik kompaksiyon

Geleneksel kompaksiyon tekniklerinde iyileştirme derinliğinin sınırlı olması ve daha büyük derinliklerde zeminlerin sıkıştırılması ihtiyacından dolayı zemin yüzeyine yüksekte serbestçe ağırlık düşürülmesidir. Bu uygulamaya Louis Menard (Menard and Broise 1975) öncü olmuştur. Tipik kombinasyon 20 ton ağırlığın 20 metreden bırakılması şeklindedir (Briaud 2013).

2.1.1.c. Vibrokompaksiyon

Vibro kompaksiyon tekniği, içerisinde dış merkezli bir ağırlığın döndüğü titreşimli bir sonda-vibroflotun (uzunluk 3-5 m, çap 40-50 cm) kendi ağırlığı ve titreşimin etkisi ile zemine penetre ederken (penetrasyonu kolaylaştırmak için su jetleri de kullanılabilir) aletten zemine yayılan vibrasyon enerjisinin etkisi ile zeminlerin sıkıştırılmasıdır (şekil 2.1) (zaydın 2012).



şekil 2.1. Vibrokompaksiyon rneği (Briaud 2013)

2.1.1.d. Diğer metodlar

Bu tekniklerin haricinde iri taneli zeminlerde katkısız iyileştirme tekniği olarak hızlı etkili kompaksiyon (şekil 2.2), patlatmalı kompaksiyon, elektrik darbeleri sıkıştırma teknikleri de uygulanmaktadır.



Şekil 2.2. Hızlı etkili kompaksiyon (Briaud 2013)

2.1.2. İnce taneli zeminlerin katkı malzemesiz iyileştirilmesi

2.1.2.a. Yerinden çıkarma yenisiyle değiştirme

Bu iyileştirme tekniği zayıf zeminlerin ($S_u < 20$ kPa) alınarak yerine daha güçlü zeminlerin yerleştirilmesidir. Eğer alınacak zemin 8 metreden daha fazla ise maliyet ve çevre problemleri ortaya çıkacaktır (Briaud 2013).

2.1.2.b. Dolgu ile ön yükleme

Dolgu kullanılarak ön yükleme tekniği, zemin yüzeyinde dolgular kullanılarak yükleme yapılmasıdır. Uzun yıllardır kullanılan bu tekniğin uygulanabilmesi için tasarım yükü altında yeterli oturmanın oluşması gerekmektedir ve bu uzun bir süre gerektirmektedir (Briaud 2013).

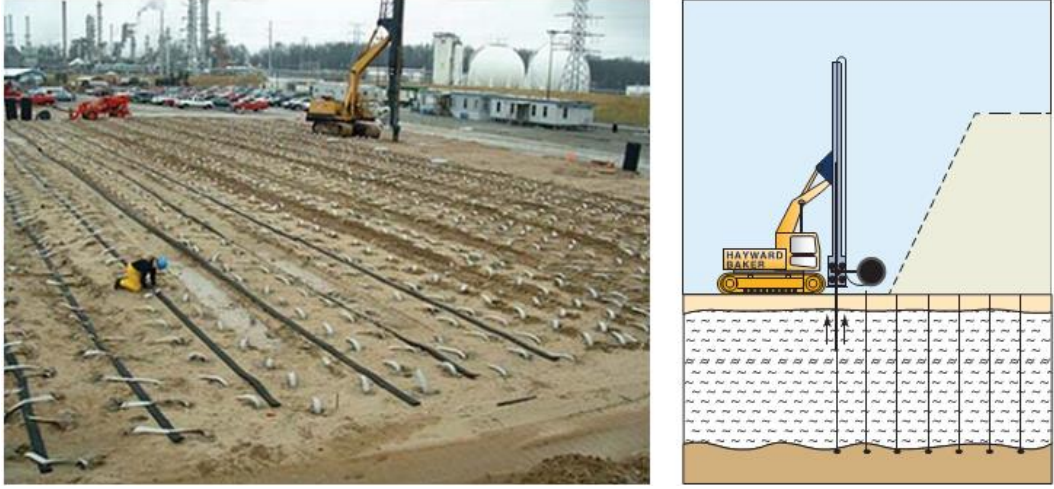
2.1.2.c. Prefabrik düşey drenler ve dolgu ile ön yükleme

Düşey dren ve önyükleme kullanılması tekniği zemine kum drenleri veya prefabrik (Şekil 2.3) düşey drenler yerleştirilmesi ile konsolidasyon sürecini hızlandırılması ve bir dolgunun zemin yüzeyine yüklenmesinden oluşur (Şekil 2.4) (Briaud 2013).

Prefabrik düşey drenler kullanılarak yapılan ön yüklemeli zemin iyileştirme yöntemi, derin zemin tabakalarının iyileştirilmesi gereken zeminlerde bütçe bakımından elverişli bir iyileştirme yöntemidir (Şengün ve EDİL 2010).



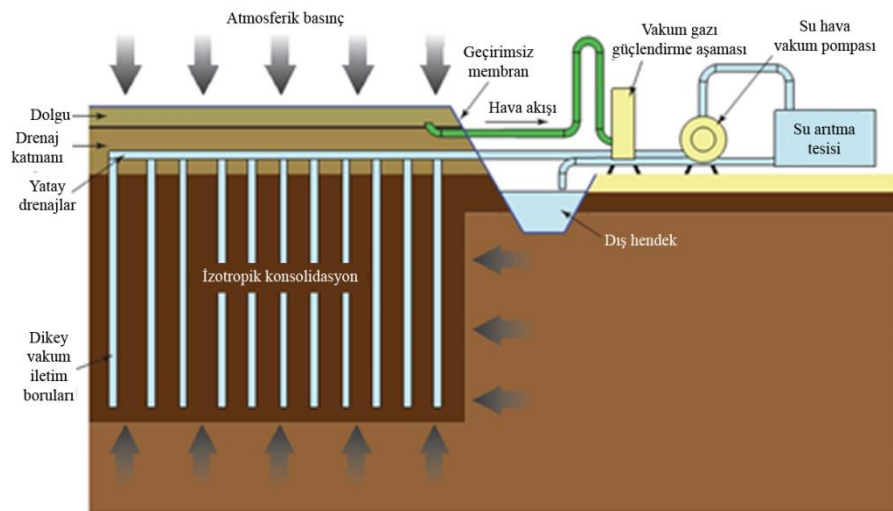
Şekil 2.3. Prefabrik düşey dren (Briaud 2013)



Şekil 2.4. Prefabrik düşey drenlerin uygulanması (Briaud 2013)

2.1.2.d. Vakum konsolidasyonu

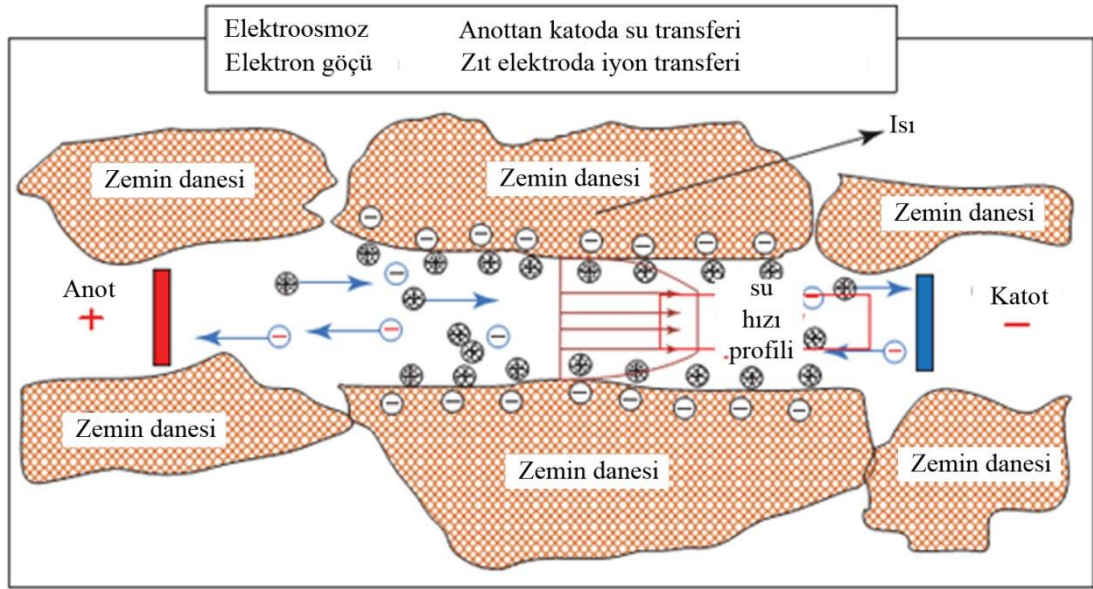
Bu teknik doymuş yumuşak zeminlerin iyileştirilmesinde kullanılır. Zemin yüzeyine hava geçirmez bir membran kaplanır ve çift boru ve vakum pompası aracılığıyla vakum işlemi gerçekleştirilir. Bu iyileştirme yöntemi 4,5 m geleneksel aşırı yükleme işlemi ile eşdeğerdir. Vakum konsolidasyon tekniği ile ön yükleme teknikleri de birleştirilebilir. Membran üzerine yerleştirilecek dolgu ile veya homojen yayılabilen bir yük ile ön yükleme de yapılabilmektedir. (Şekil 2.5) (Anonim 2014).



Şekil 2.5. Menard vakum konsolidasyonu (Briaud 2013)

2.1.2.e. Elektro-osmoz tekniği

İki elektrottan meydana gelen doğru akım (DC) elektrik akımının ince taneli zeminlere verilmesi sonucunda su akımı anottan katoda doğru hareket eder (Şekil 2.6). Böylece suyun drenajı sağlanarak zemin sıkılaştırılır (Briaud 2013).



Şekil 2.6. Killerde elektro-osmoz (Briaud 2013)

2.1.2.f. Zemin dondurma

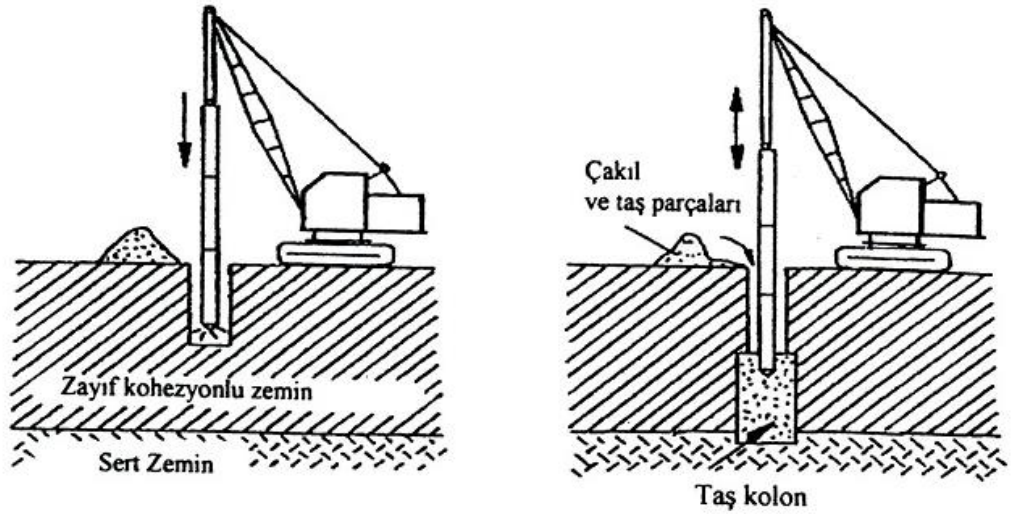
Zemin dondurma tekniği, zemine çelik boru ağlarının yerleştirilmesi ve ya tuzlu su yada sıvı nitrojenin zemin içerisinde sirkülasyonu ile uygulanır (Şekil 2.7). Deniz suyunun sıcaklığı genelde -20°C , sıvı nitrojenin ise -200°C olarak ayarlanır. Deniz suyunun maliyeti nitrojene göre daha azdır ancak nitrojen çok daha kısa sürede zemini dondurabilmektedir. Deniz suyu maliyetinden dolayı büyük projelerde kullanılmaktadır ancak zaman maliyetten daha önemli ise nitrojen kullanımı daha ekonomik de olabilir (Briaud 2013). Bu tekniklerin dışında ince taneli zeminlerde katkısız iyileştirme olarak su fişkirtme kompaksiyonu da uygulanmaktadır.



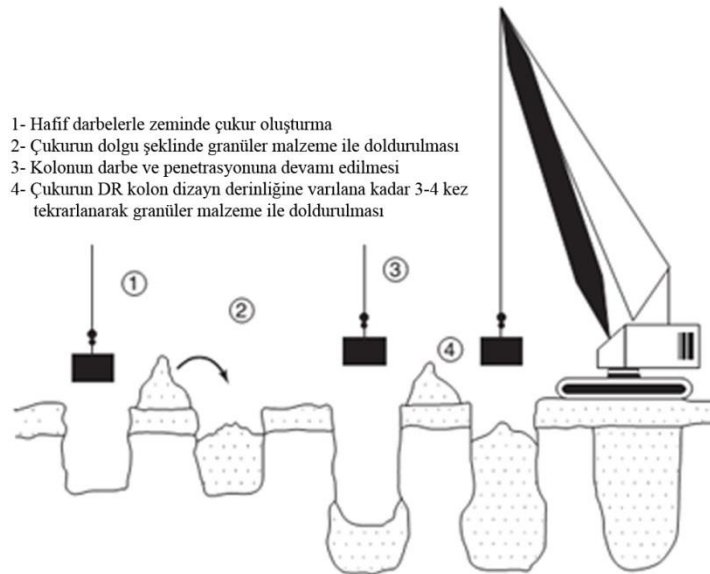
Şekil 2.7. Zemin dondurma tekniği (Briaud 2013)

2.1.3. Yer değıştirme ile zemin iyileştirilmesi

Yer değıştirme ile zemin iyileştirilmesinde taş kolonlar uygulanmaktadır. Taşkolonlar genellikle yumuşak ve orta yumuşak killi zeminlerde uygulanmaktadır. Taş malzemelerin zemin içerisine dikey olarak 0,6–1,0 m çapında ve 20 metreye kadar çeşitli derinliklerde yerleştirilerek sıkıştırılması ile imal edilir (Şekil 2.8). Taş kolonlar oluşturulurken genelde 20–75 mm arası kırma taş kullanılır ancak kaba çakıl agrega yada kum-çakıl karışımları da kullanılmaktadır. Taş kolonlar taşıma gücünde artışa ve oturmanın azalmasına yardımcı olur. Ayrıca düşey drenler gibi çalışarak oturma hızlarının artırırılar. Kohezyonu az ince taneli zeminlerde sıvılaşmaya karşıda kullanılabilir. Yumuşak killerde boru çakma ve doldurarak çekme yöntemi diğer zeminlerde ise genelde tonaj yöntemi uygulanmaktadır. Kolonların ucunun sert zeminlere girmesi istenmektedir (Özdemir ve Özdemir 2006). Ayrıca taş kolonlar geosentetik kılıflar ile birlikte de uygulanmaktadır. Taş kolonlar haricinde zeminlerde dinamik yer değıştirme tekniği de kullanılmaktadır. Bu teknikte agregalar dinamik etkiler altında zemine yerleştirilir ve kolonlar oluşturulur (Şekil 2.9).



Şekil 2.8. Taş kolon imalatı (Özdemir ve Özdemir 2006)

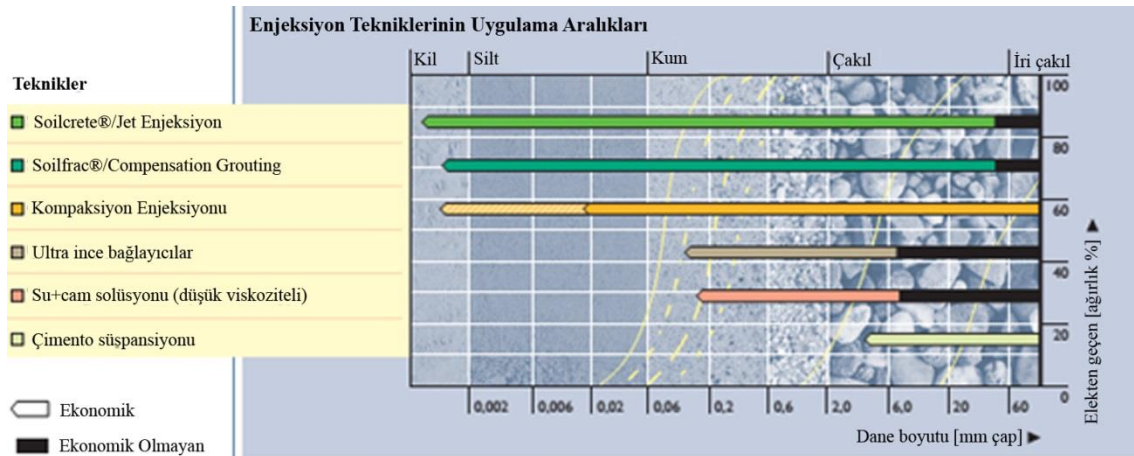


Şekil 2.9. Dinamik yer değiştirme metodu (Chu *et al.* 2009)

2.1.4. Enjeksiyon ve katkı malzemeleri ile zemin iyileştirilmesi

2.1.4.a. Partikül enjeksiyonu

Partikül enjeksiyonu, iri taneli zeminlerde harcın zemin boşluklarına yerçekimi ve basınç etkisiyle enjekte edilmesi ile oluşturulur. Ayrıca enjeksiyon kayalarındaki çatlak ve oyuklara da uygulanmaktadır (Şekil 2.10). Partikül enjeksiyonu açılan sondaj deliğine istenilen derinlikte indirilerek kapatılması ve harcın enjekte edilmesi ile uygulanır (Briaud 2013).



Şekil 2.10. Enjeksiyon tekniklerinin uygulama aralıkları (Anonymous 2014)

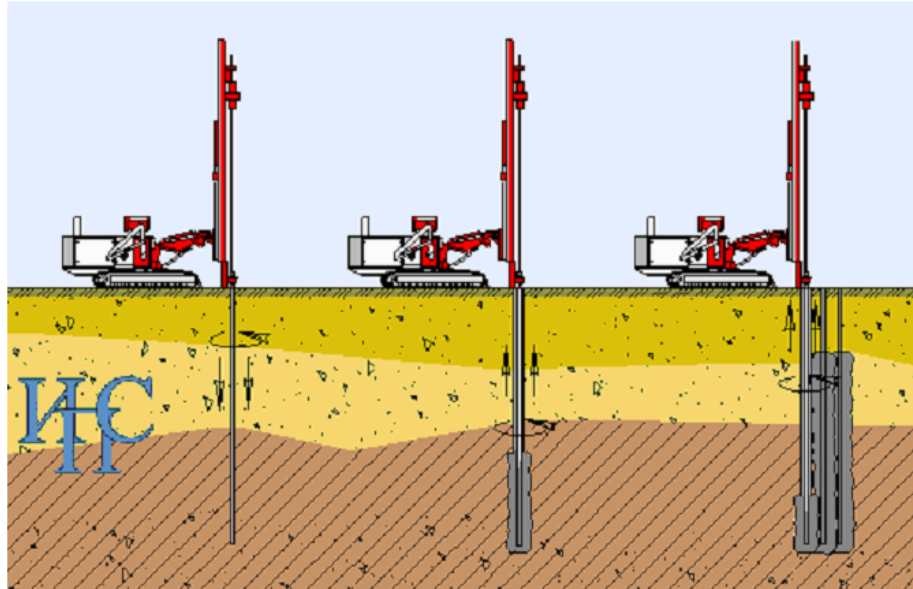
2.1.4.b. Kimyasal enjeksiyon

Kimyasal enjeksiyon içerisinde partikül bulunmayan saf solüsyonların zemine enjekte edilmesidir. İçerisinde hiç partikül bulunmaması ince taneli zeminlerde uygulanabilmesini sağlar. Kimyasal enjeksiyon partikül boyutlarına ve viskoziteye bağlıdır. Bu tekniğin kullanımı kaba siltler için daha uygundur (Briaud 2013).

2.1.4.c. Jet enjeksiyon

Killi ve siltli-kumlu-çakıllı zeminlerde 300-500 bar gibi yüksek basınç ile çimento enjeksiyonun zemine uygulanması sonucunda jet grouting kolonu oluşturulabilir (Şekil 2.11). Bu işlem iki basamaktan oluşmaktadır:

- Kil matkabı, uç konili matkaplar ve dayanıklı tijler döner delgi sistemi ile Ø10 cm kalınlığında delici ekipmanı makine gücü ve basınçlı su yardımıyla proje kotu kadar zemine sokmaktadır,
- Delgi tamamlandığında 1/1 'lik çimento şerbeti 300-500 bar basınçla zemine verilirken delicide zaman ayarlayıcı vasıtası ile yukarı doğru çekilmektedir. Yüksek hızla verilen enjeksiyon karışımı zemini yırtarak dairesel bir kolon oluşmasını sağlamaktadır. Soilcrete olarak adlandırılan bu kolon zemini sıkıştırarak konsolide olmasını da sağlamaktadır (Özdemir ve Özdemir 2006).

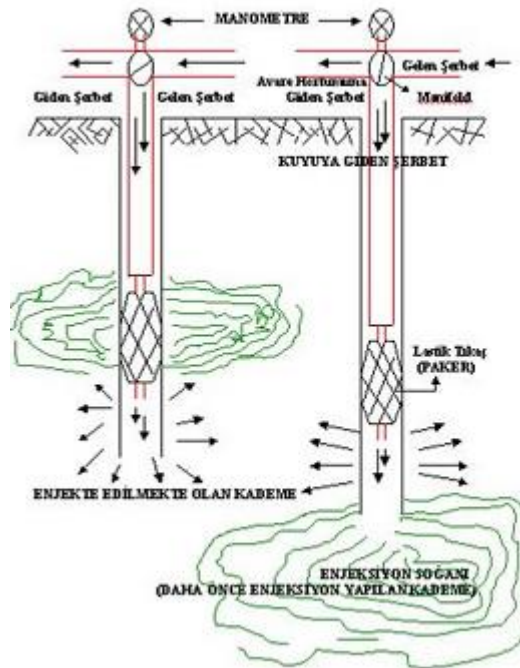


Şekil 2.11. Jet enjeksiyon kolonu imalat aşamaları (Özdemir ve Özdemir 2006)

2.1.4.d. Kompaksiyon enjeksiyonu

Uygulama yapılacak sahaya ilk olarak delici makine ile kuyu açılır. Kuyu içerisine bırakılan tij+matkap ucundan zemine hazırlanan enjeksiyon basınçla verilir (Şekil 2.12). Projenin tipine göre kuyuya packer yerleştirilerek enjeksiyon karışımının zemine girmesi sağlanır. Zemin enjeksiyonu tamamlandığında packer daha yukarı alınarak karışımın daha üst seviyelere verilmesi sağlanabilir. Zemine su/çimento oranı ilk olarak 3/1 oranında daha sonra 1/1 ve 1/3 oranında enjeksiyon karışımı verilerek gerektiğinde kumda eklenir ve zemin arası boşlukların dolmasına gayret edilir. Çift packerli uygulama yaparak daha derinlerde iyileştirme yapmak mümkündür (Özdemir ve Özdemir 2006).

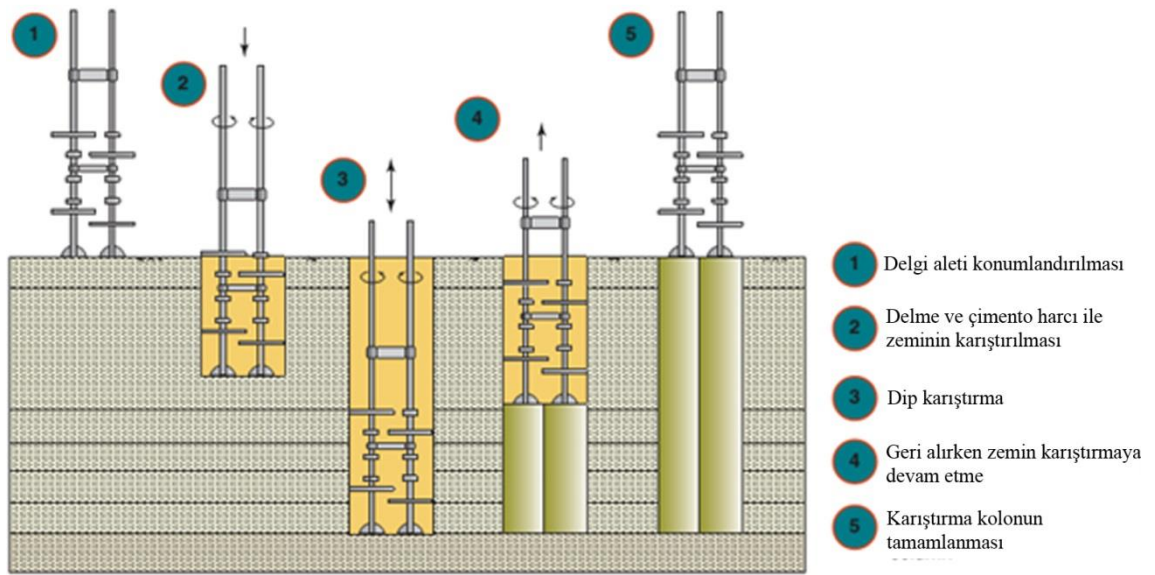
Zeminin uygulama sonucunda doymasına enjeksiyon refüsü adı verilir ve karışım geri dönerek enjeksiyon istasyonuna alınır. Enjeksiyon uygulaması için ilk olarak ince karışımla başlayıp daha sonra kaba karışıma geçip refüden sonra ise ince karışımla tamamlamak tercih edilir (Özdemir ve Özdemir 2006).



Şekil 2.12. Enjeksiyon uygulama aşamaları (Özdemir ve Özdemir 2006)

2.1.4.e. Karıştırma metodu

Karıştırma metodu zemin ile harcın yerinde karıştırılmasından meydana gelir. Bu metotla zeminde kolonlar oluşturulur (Şekil 2.13) (Briaud 2013).



Şekil 2.13. SCM (zemin çimento karıştırma) metodu (Briaud 2013)

2.1.5. Dahil etme ile zemin iyileştirmesi

Dahil etme ile zemin iyileştirilmesinde mekanik olarak yada geosentetikler ile yüzey iyileştirilmesi, zemin ankrajları ile iyileştirme ve geosentetik keçe ve kolon destekli dolgular ile iyileştirmeler yapılmaktadır.

2.1.6. Mikrobiyal metot

Bu metot kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonu olarak da anılmaktadır. Kalsiyum karbonat çökmesi, çözeltide bulunan kalsiyum veya karbonatın artması veya karbonatın çözünübilirliğinin azalması ile doğal ortamlarda oluşabilmektedir. Kalsit çökmesi sıcaklık ve basınç değişimleri veya mikroorganizmaların hareketleri ile fiziksel olarak (Şekil 2.14) meydana gelmektedir (Ural 2011).



Şekil 2.14. Doğal ortamda kumun çimentolanması (Ural 2011)

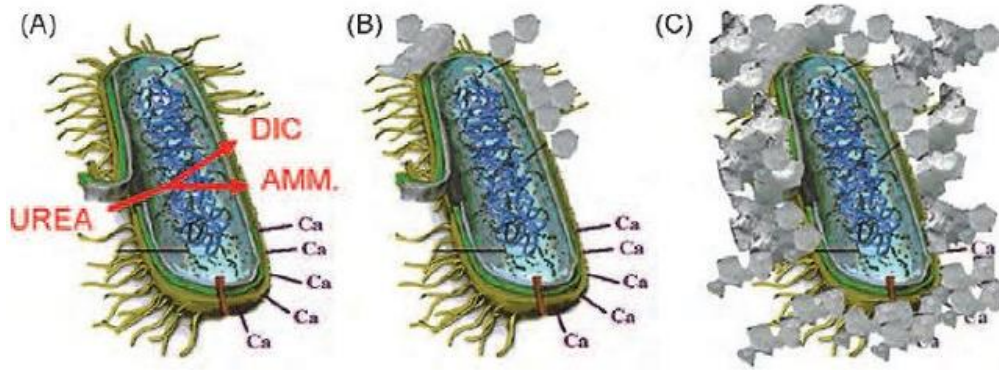
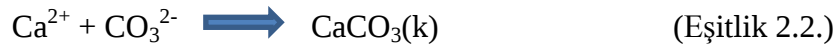
Üç ana grup mikroorganizmalar ile mikrobiyolojik kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyon süreci oluşturulabilir. (i) siyanobakteri ve yosun gibi fotosentetik mikroorganizmalarda CO_2 uzaklaştırılarak, (ii) katabolik sülfat indirgenmesinden sorumlu sülfat indirgeyen bakteri ile, (iii) nitrojen çevrimi ile ilişkili çeşitli mikroorganizmalar yardımıyla gelişen süreçler olarak sıralanabilir (Castanier *et al.* 1999; Hammes and Vestræte 2002).

Kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonu bir dizi kimyasal prosesler sonucunda gerçekleşmektedir. Sıvı besiyerinde bakteri aracılığı ile gerçekleşen reaksiyon

sonucunda amonyum ve karbonat oluşmaktadır (Eşitlik 2.1) (Cheng and Cord-Ruwisch 2013).



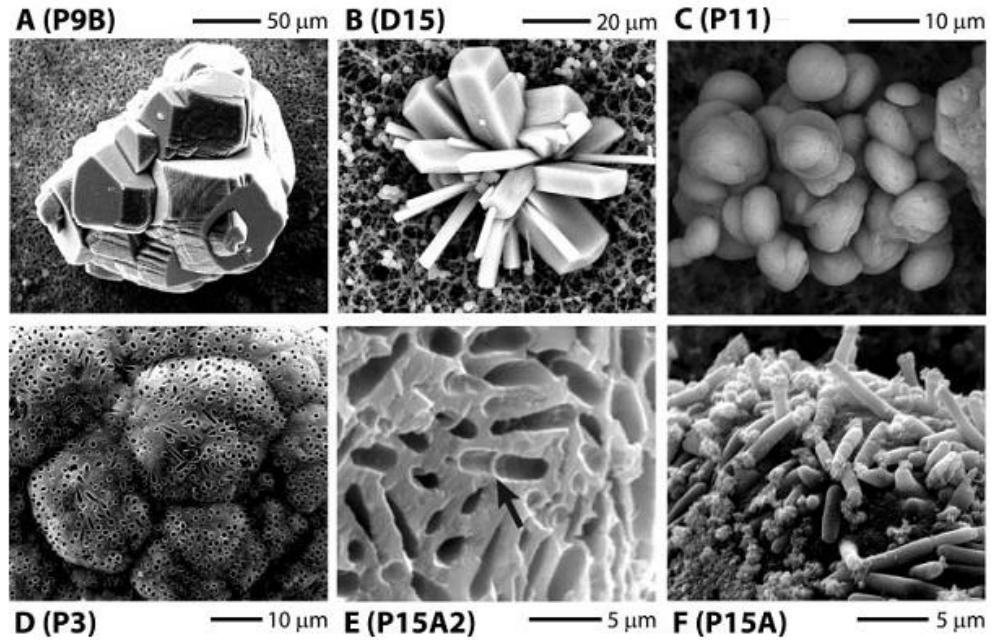
Kültür ortamına CaCl_2 stok çözelti eklendiğinde (Şekil 2.15) gerçekleşen reaksiyon sonucunda oluşan karbonat iyonları kalsiyum ile reaksiyona girerler ve pH değerinin yükselmesi ile kalsiyum karbonat çökeltmesi meydana gelir (Eşitlik 2.2.) (Cheng and Cord-Ruwisch 2013).



Şekil 2.15. Mikroorganizmada oluşan üre enzim aktivitesi tarafından başlatılan kalsiyum karbonat çökeltisi mekanizması (Gupta *et al.* 2013)

*(A) Ca iyonlarının bakteriye tutunması. (B) Bütün hücrenin kapsüllenmesi. (C) Kalsiyum karbonat çökeltmesinin sonlanması.

Reaksiyon sonucunda farklı kristal yapıya sahip kalsit (CaCO_3) oluşumunu tespit etmek amacıyla SEM ve XRD analizleri yapılabilir. SEM analizleri sonucunda (Şekil 2.16) kalsit, vaterit ve aragonit varlığı ispat edilmiştir (Lippmann 1973).



Şekil 2.16. (A) kalsit, (B) aragonit, (C) vaterit. Mikrobiyal oluşumların ve minarellerin yakın ilişkisi ayrıca hücre şekilli çukurlar (D) ve septa (E) görülebilir. Bakteri ve kristallerin birbirine olan tutunması da görülmektedir (F) (Lipmann 1973).

Kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonu sonucunda zemin partikülleri arasında bulunan boşluklar dolarak biyolojik tıkanma, partiküllerin bir araya gelmesi ile de biyolojik çimentolanma meydana gelmektedir. Zemin çimentolanması ile kesme dayanımı artmakta, geçirgenlik azalmaktadır. Biyolojik tıkanma ile de zemin boşluklarının dolması sonucunda oturmalar azalmaktadır. Kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonu ile birçok zemin özellikleri iyileştirilebilmektedir.

2.1.7. Zemin iyileştirme metodunun seçimi

Zemin iyileştirme tekniğinin seçimi birçok faktöre bağlıdır. Sadece bir iyileştirme yöntemi tüm zemin türleri için uygulanabilir, buda zemin dondurma yöntemidir. Diğer yöntemler zeminlere göre sınıflanmaktadır. Zeminin doymun olup olmaması, normal yada aşırı konsolide olması, organik olması gibi durumlar iyileştirme tekniğinin seçiminde etkili olmaktadır. Ayrıca aşağıda belirtilen faktörlerde iyileştirme tekniği seçimini etkilemektedir:

- İhtiyaç duyulan iyileştirmenin türü,
- Zeminin türü, yapısı ve sızıntı koşulları,
- Maliyeti,
- Malzeme ve ekipman temini ve çalışmanın kalitesi,
- İnşaatın süresi,
- Yeraltı su kaynaklarının kirlenmesi,
- Kullanılan malzemenin kullanım ömrü,
- Zemine katılan kimyasalların zehir ve korosif etkisi,
- Bileşenlerin yeniden kullanılabilirliği,
- İnşaatın kontrolü ve performans ölçümlerinin fizibilitesi (Özçep 2009).

2.1.8. Zemin iyileştirmelerinin değerlendirilmesi

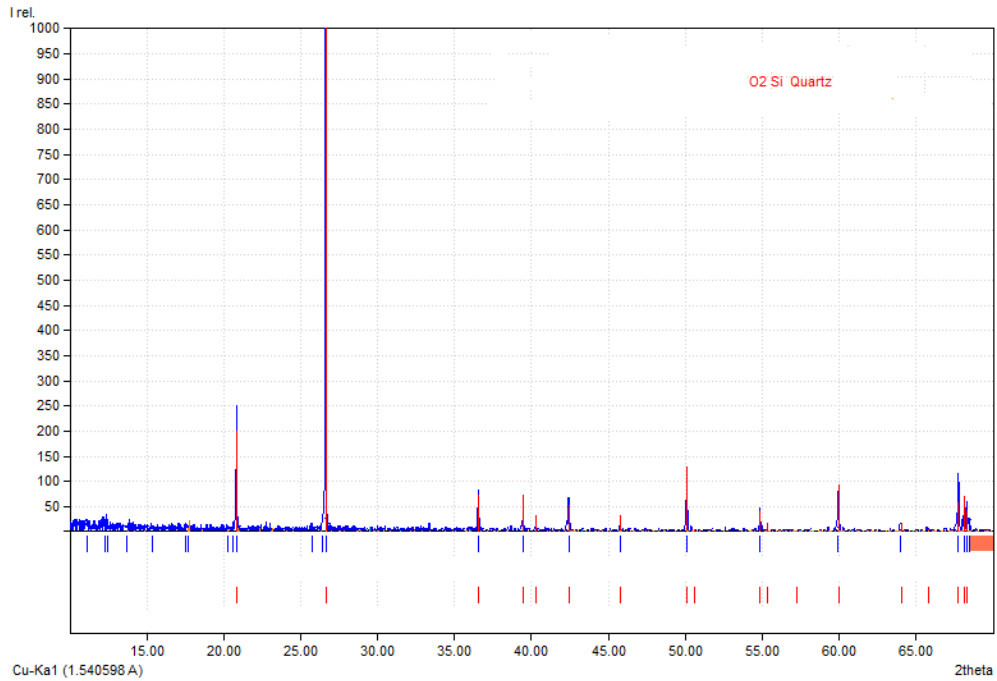
Zemin iyileştirme çalışmaları sonucunda bu çalışmaların değerlendirilmesi ve kontrol edilmesi gerekmektedir. Özçep (2009) tarafından iletildiğine göre, zemin iyileştirmelerinin kontrol işlemleri sırasında aşağıda sıralanan yöntemler kullanılmıştır:

- Yüzey oturma ölçümleri,
- Koni penetrasyon deneyi (CPT),
- Standart penetrasyon deneyi (SPT),
- Presiyometre deneyi (PMT),
- Kayma dalgası hızı (vs) ve Rayleigh dalgası ölçümleri,
- Plaka taşıma deneyi,
- Sondajla karot alma (Ergun vd 2005).

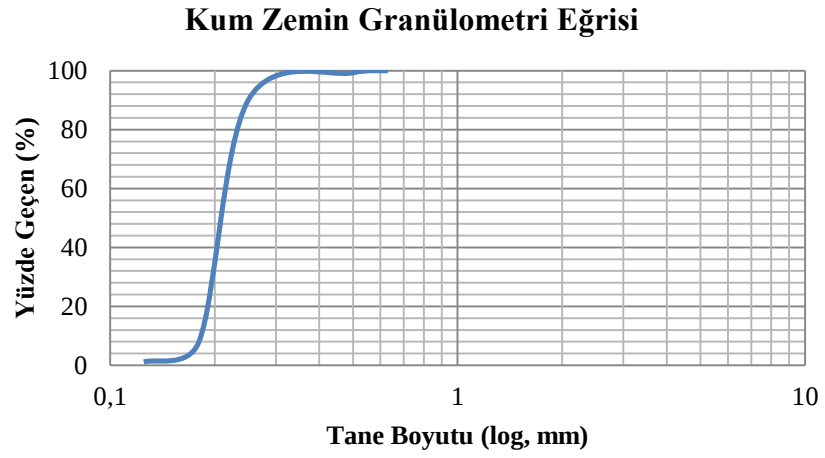
3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Deneylerde Kullanılan Kumun Özellikleri

Bu çalışma iki ana aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada biyolojik olarak zeminlerin iyileştirilmesi araştırılmıştır. Bu kapsamda kil (CH), ince kum (0,074-0,30), kaba kum (0,074-0,30), ince kum - kaba kum (0,074-0,30) karışımı ve kaba kum – çakıl (0,074-0,60) karışımı kullanılmıştır. İkinci aşamada seçilen kum zeminin bazı geoteknik özelliklerini belirlemek amacıyla deneyler yapılmıştır. ASTM E 11 standardına göre yapılan elek analizine göre tane çapı dağılım eğrisi Şekil 3.2 de ve elek analizi sonuçları Çizelge 3.1 de verilmiştir. Kumun tane birim hacim ağırlığı yapılan deney sonucunda $\gamma_s = 26,5 \text{ kN/m}^3$ olarak belirlenmiştir. Ayrıca yapılan XRD analizi sonucunda (Şekil 3.1) zeminin yüksek oranda kuvars mineraline sahip olduğu görülmüştür.



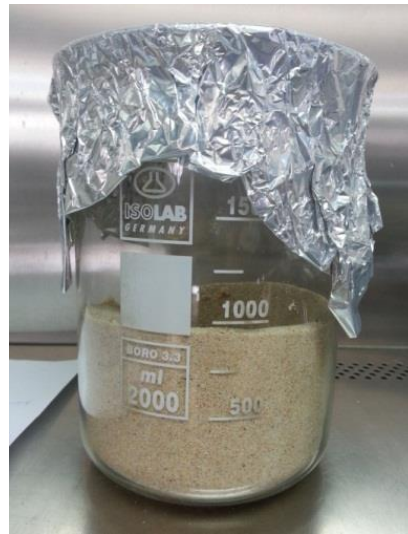
Şekil 3.1. Uygulama yapılmayan kum zemin XRD sonuçları



Şekil 3.2. Kum zemin granülometri eğrisi

Çizelge 3.1. Elek analizi sonuçları

Granülometri parametreleri	Birim	Değer
D_{10}	mm	0,18
D_{30}	mm	0,20
D_{60}	mm	0,22
Uniformluk katsayısı, C_u		1,22
Derecelenme katsayısı, C_c		1,01



Şekil 3.3. Sterilize edilmiş kum zemin



Şekil 3.4. Otoklav cihazı

3.2. Sıvı Besiyeri

Sıvı besiyeri seçiminde öncelikle literatürdeki çalışmalar incelenmiştir. Literatürde seçilen sıvı besiyerlerine (Çizelge 3.2) bakteri inokülasyonu yapılmış ve inkübe edilmiştir. Elde edilen kültürler farklı zeminlere uygulanarak sonuçları incelenmiştir.

Çizelge 3.2. Kalsiyum karbonat çökeltmesi reaksiyonunda kullanılan farklı sıvı besiyerleri (Muynck *et al.* 2010)

İsim	Bileşim	pHa	Referanslar
	Besleyici Öğeler	Konsantrasyon	
Growth medium (CB)	Peptone Yeast extract KNO ₃ NaCl	-	Orial (2000)
Nutrical	Growth Medium + CaCl ₂ .2H ₂ O Actical Natamycine	-	Orial (2000)
B4	Calcium acetate Yeast extract Glucose	0,25 wt% 0,4 wt% 1 wt%	8 Boquet <i>et al.</i>
M-3	BactoCasitone Ca(CH ₂ COO) ₂ .4H ₂ O K ₂ CO ₃ .(1/2)H ₂ O	1 wt% 1 wt% 0,2 wt%	8 Rodriquez-Navarro <i>et al.</i> (2003)
M-3P	M-3 + phosphate buffer	10 mM	8 Rodriquez-Navarro <i>et al.</i> (2003)
CC	BactoCasitone Ca(CH ₂ COO) ₂ .4H ₂ O CaCl ₂ .2H ₂ O NaHCO ₃ Yeast extract	0,3 wt% 0,4 wt% 0,1 wt% 0,3 wt% 0,1 wt%	8 Jimenez-Lopez <i>et al.</i> (2008)
SF^{b,c}	Nutrient broth Urea CaCl ₂ .2H ₂ O NH ₄ Cl NaHCO ₃	3 g L ⁻¹ 20 g L ⁻¹ 1,4-5,6 g L ⁻¹ 10 g L ⁻¹ 2,12 g L ⁻¹	6 Stocks-Fischer <i>et al.</i> (1999)
Growth Medium (DB)	Yeast extract Urea	20 g L ⁻¹ 20 g L ⁻¹	7 Whiffin (2004)
Biodeposition (DB)	Urea CaCl ₂ .2H ₂ O	20 g L ⁻¹ 50 g L ⁻¹	7 De Belia and De Muynck (2008)

Çizelge 3.2 de yer alan sıvı besiyerlerden B4, Growth medium (DB), Biodeposition (DB) ve SF kullanılmıştır. Her sıvı besiyeri için kontroller zeminlere uygulanmıştır. Analizlerde SF sıvı besiyeri seçilmiş içeriği aşağıda belirtilmiştir (Stocks- Fischer *et al.* 1999; Muynck *et al.* 2010). Sıvı besiyeri 3 g nutrient broth (Bacto), 20 g urea, 10 g

NH_4Cl ve 2,12 g NaHCO_3 ile pH ölçülerek hacmi 1 litreye saf su eklenerek tamamlanmıştır. Bakteriler eklenmeden önce sıvı besiyeri 0,22 μm filtreden geçirilerek steril edilmiştir. pH değeri 7,25 ve sıcaklık değeri 34°C olarak ölçülen sıvı besiyeri, NaOH ve HCl kullanılarak pH değerleri 6,0, 7,0, 8,0, ve 9,0 olarak ayarlanmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Sıvı besiyeri

Farklı pH değerlerine sahip olan sıvı besiyerlerine (Şekil 3.5) bakteriler eklenmiş ve bakterilerin inkübasyonu tamamlandıktan sonra tekrar pH ölçümleri cihaz ile (Şekil 3.6) yapılmıştır. Tüm işlemler aseptik kurallara uygun olarak steril ortamda ve steril teçhizatlar ile yapılmıştır. Tüm denemeler tekrarlanmıştır.

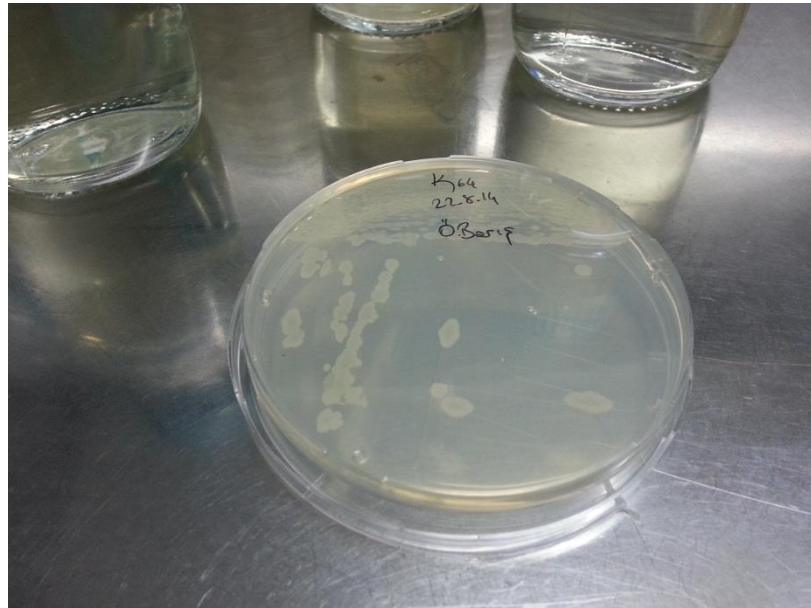


Şekil 3.6. pH ölçüm cihazı

3.3. Bakteri İnkübasyonu

Kalsiyum Karbonat reaksiyonunun gerçekleşmesi için yüksek üreaz aktivitesine sahip presipitasyonda rol aldığı bilinen gram pozitif *in vitro* kalsiyum karbonat çöktürebilen *Bacillus arenosi* K64 izolatı (Şekil 3.7) kullanılmıştır. İlgili izolatın daha önce mağaralardan elde edilmiş ve kalsiyum karbonat çökeltisi oluşturduğu tespit edilmiştir. Bakterinin tanısı 16S rDNA dizi analizleri kullanılarak yapılmıştır. Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümündeki Moleküler Biyoloji ve Bakteriyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

Bu bakteri gram pozitif özelliğe sahip topraktan izole edilebilen bir örnek olup endospor oluşturma yeteneği nedeni ile de oldukça dayanıklıdır. Mikroskoptaki görüntüsü çubuk şeklinde olup boyutları yaklaşık 1 mikron çapında 2.5 mikron boyundadır.



Şekil 3.7. *Bacillus arenosi* K64

Farklı pH değerlerine sahip olan sıvı besiyerlerine bakteri inokülasyonu yapılarak 72 saat süre ile oda sıcaklığında ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) çalkalayıcıda inkübe edilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Çalkalayıcı

Diğer uygulamada ise pH değeri 8,0 olarak ayarlanan sıvı besiyeri 700 ml olarak kaplara ayrılmıştır. Bakterilerin sıvı besiyerine inokülasyonu yapılarak 72 saat süre ile oda sıcaklığında ($25\pm 1^\circ\text{C}$) çalkalayıcıya (110 Rpm) konulmuştur.

Sıvı besiyerinin pH değeri bakteri inkübasyonundan sonra tekrar ölçülmüştür. Tüm işlemler aseptik kurallara uygun olarak steril ortamda (Şekil 3.9) ve steril teçhizatlar ile yapılmıştır. Tüm denemeler tekrarlanmıştır.

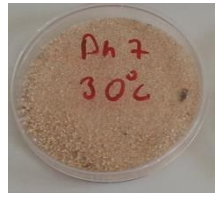
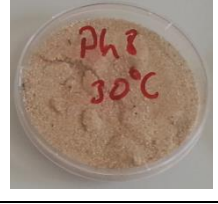
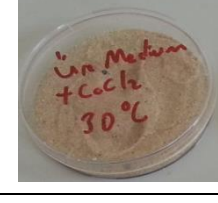


Şekil 3.9. Sterilize ortam

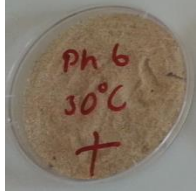
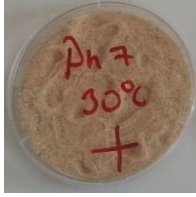
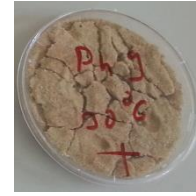
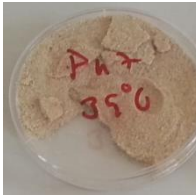
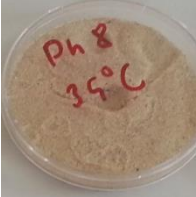
3.4. Karışımın Hazırlanması ve Uygulanması

72 saat sonra sıvı besiyerinde gelişen bakteriler aşağıda belirtilen 2 farklı şekilde zeminlere uygulanmıştır. Uygulama Çizelge 3.3 de verilmiş olup çizelgenin devamında detayları da verilmiştir.

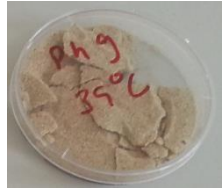
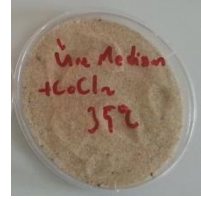
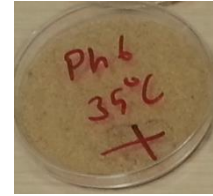
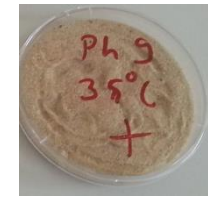
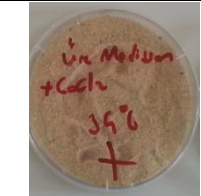
Çizelge 3.3. Numunelerin hazırlanışı

No	Zemin Türü	Kullanılan Bakteri	Sıvı Besiyeri	pH	İnkübasyon Süresi	Deney Süresi ve Sıcaklık	Numune
1	Kum Zemin (0,074 - 0,300)	Bacillus arenosi	SF	6,0	72 saat	7 gün 30 °C	
2	Kum Zemin (0,074 - 0,300)	Bacillus arenosi	SF	7,0	72 saat	7 gün 30 °C	
3	Kum Zemin (0,074 - 0,300)	Bacillus arenosi	SF	8,0	72 saat	7 gün 30 °C	
4	Kum Zemin (0,074 - 0,300)	Bacillus arenosi	SF	9,0	72 saat	7 gün 30 °C	
5	Kum Zemin (0,074 - 0,300)	Kontrol	SF	7,2 5	72 saat	7 gün 30 °C	

Çizelge 3.3. (Devam)

6	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	6,0	72 saat	14 gün 30 °C	
7	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	7,0	72 saat	14 gün 30 °C	
8	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	8,0	72 saat	14 gün 30 °C	
9	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	9,0	72 saat	14 gün 30 °C	
10	Kum Zemin (0,074-0,300)	Kontrol	SF	7,25	72 saat	14 gün 30 °C	
11	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	6,0	72 saat	7 gün 35 °C	
12	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	7,0	72 saat	7 gün 35 °C	
13	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	8,0	72 saat	7 gün 35 °C	

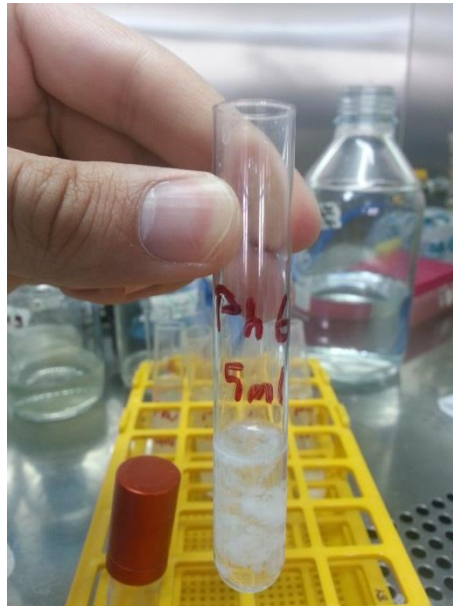
Çizelge 3.3. (Devam)

14	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	9,0	72 saat	7 gün 35 °C	
15	Kum Zemin (0,074-0,300)	Kontrol	SF	7,25	72 saat	7 gün 35 °C	
16	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	6,0	72 saat	14 gün 35 °C	
17	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	7,0	72 saat	14 gün 35 °C	
18	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	8,0	72 saat	14 gün 35 °C	
19	Kum Zemin (0,074-0,300)	Bacillus arenosi	SF	9,0	72 saat	14 gün 35 °C	
20	Kum Zemin (0,074-0,300)	Kontrol	SF	7,25	72 saat	14 gün 35 °C	

İlk uygulamada her pH (6,0, 7,0, 8,0, 9,0) değeri için:

- 4 adet petri kabına 40 'ar gr zemin hassas tartı ile tartılarak aynı sıklıkta konulmuştur.
- Her petri kabı için tüplere tek kullanımlık steril şırıngalar ile 5 mL bakteri kültürü eklenmiştir.
- Daha sonra tüpe konulan bakteri kültürü zemine uygulanmadan önce 2/100 oranında CaCl_2 stok çözelti (140 g/L) ilave edilmiştir (Şekil 3.10).
- Hazırlanan solüsyonlar zeminlere uygulanmıştır.
- Uygulama yapılan zeminlerden 2 tanesi 30°C de diğer iki tanesinde 35°C de ayarlanmış etüvlere yerleştirilmiştir.
- 7 gün süre ile bekletilen numuneler için her iki etüvde bulunan numunelerden bir tanesi alınarak analiz yapılmış ve diğer örneklerle tekrar 5 mL sıvı besiyeri eklenmiştir. 7 gün sonra diğer numunelerde alınmıştır. Alınan numuneler üzerinde SEM, EDS ve XRD analizleri yapılmıştır.

Her pH değeri için aynı işlemler tekrarlanmıştır.



Şekil 3.10. 5 mL 72 saatlik bakteri kültürü + CaCl_2 stok çözelti

İkinci uygulamada pH (8,0) için:

- 700 mL olarak hazırlanan kültür zemine uygulanmadan önce 2/100 oranında CaCl_2 stok çözelti eklenmiş ve 50 mL steril tüplere konularak (6000 Rpm 10 dk.) santrifüjlenmiştir (Şekil 3.11).
- Oluşan süpernant (üst sıvı fazı) uzaklaştırılmış pelet ise taze sıvı besiyeri (pH 8,0) ile süspanse edilerek steril zemine uygulanmıştır.

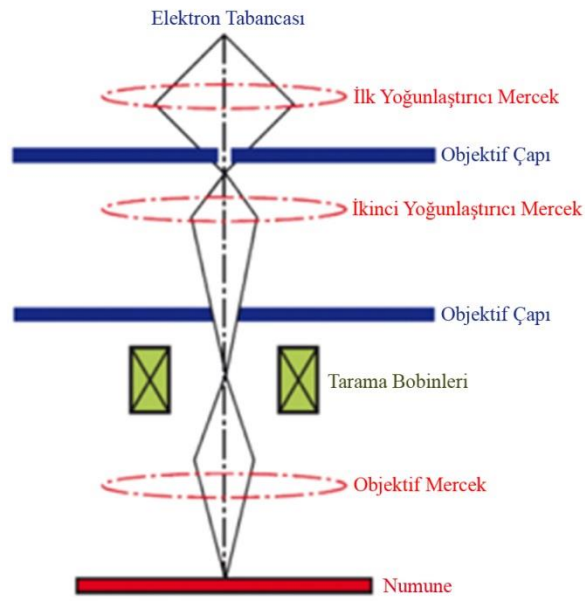
Bakteriler ile yapılan uygulama haricinde zemine bakteri eklemekten sadece sıvı besiyer eklenerek de uygulama yapılmıştır. Bunlar ilk uygulamada olduğu gibi farklı etüvlerde farklı sürelerde değerlendirilmiştir. Kullanılan zeminler ve tüm teçhizatlar aseptik kurallara uygun olarak steril ortamda ve steril teçhizatlar ile yapılmıştır.



Şekil 3.11. Santrifüj cihazı

3.5. SEM (Scanning Electron Microscopy) Analizi

SEM (Scanning electron microscopy), yüzey üzerinde odaklanan elektron ışınları ile yapılan tarama (Şekil 3.12) sonucunda görüntü alabilmemizi ve ışın içerisindeki elektronların örnek ile etkileşime girerek yüzey topoğrafyası ve bileşenleri hakkında bilgi elde etmemizi sağlar (Anonymous 2014a).



Şekil 3.12. SEM çalışma prensibi (Anonymous 2014a)

Zeminin uygulama öncesindeki mevcut yapılar Atatürk Üniversitesi'nde ve uygulamadan sonra oluşan kimyasal yapılar Erzincan Üniversitesi'nde bulunan SEM (Scanning Electron Microscopy) Quanta 450 FEG cihazı ile analiz edilmiştir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. Taramalı elektron mikroskobu (Quanta 450 FEG)

3.6. EDS (Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy) Analizi

EDS analizi esnasında numunenin yüzeyine yüksek enerjili elektronlar çarptığında bu çarpma sonucunda numune yüzeyinden bir kısım elektronlar kopar. Bu elektronların kopmasından sonra dış orbitaldeki elektronların iç orbitale gelmesi ile belli bir enerji kaybı yaşanır. Bu enerji X-ışını şeklinde ortaya çıkar. Ortaya çıkan X-ışını orbitallerle alışverişte bulunur. X-ışınları yarı iletken dedektör tarafından algılanır ve iletkenlik bandına geçen elektronlar elektrik sinyaline dönüştürülür. Elementlerin altında oluşan piklerin alanı, elementlerin yüzdesi ile orantılıdır (Anonim 2010). EDS analizi Erzincan Üniversitesi'nde bulunan Quanta 450 FEG cihazı ile yapılmıştır.

3.7. XRD (X-Ray Diffraction) Analizi

XRD her bir kristalin x-ışınlarını kendi atomik dizilimine bağlı olarak kırması esasına dayanır. Çalışma prensibi olarak örneğe gönderilen x-ışınlarının kırılma ve dağılma verilerinin toplanması olarak düşünülebilir. X-ışınları kristalin üzerine geldiğinde elektronlar tarafından soğurulur ve kendi elektronları salınım yapmaya başlar. Bu elektronlar bir x-ışını kaynağı şeklinde davranarak etrafına x-ışınları yayar. Yayılan bu

ışınlar ölçülebilen bir x ışını şiddeti oluştururlar. Bu ışınlar bize hangi kristal yapıların bulunduğunu gösterir (Özmen ve Timoçin 2012). Bu çalışmada Erzincan Üniversitesi Fen Edebiyat laboratuvarında bulunan Empyrean Series 2 X-ray Diffraction System (Şekil 3.14) cihazı kullanılmıştır. Kırılma açısı olarak 2θ kullanılmıştır.



Şekil 3.14. X-ışını kırınım cihazı (Empyrean Series 2 X-ray Diffraction System)

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Sıvı Besiyeri Analizi

Sıvı besiyeri belirlenmesinde öncelikle literatürdeki çalışmalar incelenmiştir. Seçilen sıvı besiyerlerine bakteri inokülasyonu yapılmış ve inkübe edilmiştir. Elde edilen kültürler farklı zeminlere uygulanarak sonuçları incelenmiştir. Zeminler farklı sınıflarda (Kil, ince kum, kalın kum, ince kum- kalın kum, ince kum-çakıl, kalın kum- çakıl) hazırlanarak plastik kaplara yerleştirilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Kültür ortamı eklenmiş zemin numuneleri

Yapılan bu denemenin sonuçları (Çizelge 4.1) de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı sıvı besiyeri uygulanan zemin örnekleri

No	Zemin Türü	Kullanılan Bakteri	Sıvı Besiyeri	Deney Süresi	Sonuç
1	İnce Kum (0,074-0,30)	<i>Bacillus arenosi</i>	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
2	Kaba Kum (0,074 – 0,30)	<i>Bacillus arenosi</i>	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
3	Kaba Kum-Çakıl (0,074-0,60)	<i>Bacillus arenosi</i>	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
4	Kaba Kum (0,074 – 0,30)	<i>Bacillus arenosi</i>	Biodeposition (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	
5	Kaba Kum-Çakıl (0,074-0,60)	<i>Bacillus arenosi</i>	Biodeposition (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	
6	Kil (CH)	<i>Bacillus arenosi</i>	Biodeposition (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	
7	İnce Kum (0,074-0,30)	Kontrol	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
8	Kaba Kum (0,074 – 0,30)	Kontrol	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.

Çizelge 4.1. (devam)

9	Kaba Kum-Çakıl (0,074-0,60)	Kontrol	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
10	İnce Kum (0,074-0,30)	Kontrol	Biodeposition (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
11	Kaba Kum-Çakıl (0,074-0,60)	Kontrol	Biodeposition (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
12	Kil (CH)	Kontrol	Biodeposition (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.

Çizelge 4.1 de 4 ve 5 nolu numunelerde iyileşme gözlemlenmiştir. Sadece sıvı besiyeri eklenen numuneler ve diğer numunelerde herhangi bir iyileşme gözlemlenmemiştir. Bu çalışma Growth Medium (DB) sıvı besiyerine *Bacillus arenosi* bakterisi inokülasyonu ve inkübasyonu ile kaba kum ve çakıl karışımı zeminlerin iyileştirilebileceğini göstermektedir (Şekil 4.2). Diğer bir çalışmada farklı sıvı besiyeri ile farklı tür zeminlerde aşağıdaki Çizelge 4.2 de belirtilen şekilde uygulamalar yapılmıştır.

**Şekil 4.2.** 5 nolu numune (zemin tanelerinin birbirine tutunması)

Çizelge 4.2. Farklı sıvı besiyeri uygulanan zemin örnekleri

No	Zemin Türü	Kullanılan Bakteri	Sıvı Besiyeri	Deney Süresi	Sonuç
1	İnce Kum (0,074-0,30)	<i>Bacillus arenosi</i>	B4 + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	
2	İnce Kum (0,074-0,30)	<i>Bacillus arenosi</i>	B4 + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	
3	İnce Kum (0,074-0,30)	<i>Bacillus arenosi</i>	B4 + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
4	Kil	<i>Bacillus arenosi</i>	B4 + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
5	İnce Kum (0,074-0,30)	Kontrol	B4 + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
6	İnce Kum (0,074-0,30)	Kontrol	B4 + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
7	İnce Kum (0,074-0,30)	Kontrol	B4 + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
8	Kil	Kontrol	B4 + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
9	İnce Kum (0,074-0,30)	Kontrol	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.

Çizelge 4.2. (devam)

10	İnce Kum (0,074- 0,30)	Kontrol	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	
11	İnce Kum (0,074- 0,30)	Kontrol	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
12	Kil	Kontrol	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
13	İnce Kum (0,074- 0,30)	<i>Bacillus arenosi</i>	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.
14	İnce Kum (0,074- 0,30)	<i>Bacillus arenosi</i>	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	
15	İnce Kum (0,074- 0,30)	<i>Bacillus arenosi</i>	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	
16	Kil	<i>Bacillus arenosi</i>	Growth Medium (DB) + 2/100 CaCl ₂	14 Gün	İyileşme izlenmemiştir.

Çizelge 4.2 de 1 nolu numune haricinde iyileşme gözlemlenmemiştir. Sadece sıvı besiyeri ve kültür ortamı uygulanan numuneler arasında fazla bir fark görülmemiştir. Growth Medium (DB) sıvı besiyeri ilk çalışmada iyi sonuçlar vermiş ancak bu çalışmada iyi sonuçlar vermemiştir.



Şekil 4.3. Deney düzeneği

Daha sonra kurulan bir düzenele (Şekil 4.3) SF sıvı besiyeri kullanılarak uygulama yapılmıştır. Zemin olarak Çizelge 3.1 de özellikleri verilen kum zemin kullanılmıştır. 5 cm iç çaplı PVC kaplara 10 cm yüksekliğinde zemin doldurulmuştur. Bakteri kültürü zemine eklenmiş ve zemin doygun hale gelince alttan süzölmüştür. Süzölen kültür tekrar zemine verilerek kültürün zeminin her yerine ulaşması amaçlanmıştır. Daha sonra 2/100 oranında CaCl_2 stok çözelti eklenmiştir. Kimyasal reaksiyonun devam etmesi için 14 gün sonra tekrar sıvı besiyeri ve CaCl_2 stok çözelti eklenmiş ve 28 gün sonunda numuneler incelenmiştir.



Şekil 4.4. 1 nolu numune



Şekil 4.5. 2, 5 ve 6 nolu numune

Şekil 4.4 ve Şekil 4.5 de görüldüğü gibi 1 nolu numune ve 2-5-6 nolu numunelerde farklı gelişmeler izlenmiştir. Ancak 1 nolu numunedeki gelişme, diğer yapılan sıvı besiyerleri uygulamalarına kıyasla daha fazla olmuştur.

Birçok farklı zemin ve sıvı besiyeri kullanılarak yapılan denemeler sonucunda SF sıvı besiyerinde karar kılınmıştır. SF sıvı besiyerinin seçiminde içeriğinde bulunan nutrient broth kimyasalının da etkisi olmuştur. Birçok çalışmada kullanılan nutrient broth, uygulama solüsyonuna eklendiğinde bakterinin yaşama yeteneğini ve büyümesini sürdürülebilir hale getirmektedir (Ng *et al.* 2012). Daha sonra farklı pH değerlerinde hazırlanan besiyerler ile uygulama yapılarak SEM analizleri ile incelenmiştir. Böylece reaksiyonu etkileyen faktörlerin daha detaylı bir şekilde analizlerinin yapılması amaçlanmıştır. pH değerlerinin sıvı besiyerlerine etkisi sonraki bölümlerde açıklanmıştır.

4.2. Sıcaklık Faktörü

Zeminlere uygulama yapıldıktan sonra farklı sıcaklıktaki etüvlere yerleştirilmiştir. Etüvler 30°C ve 35°C'ye ayarlanmıştır. SEM analizlerinde tüm numunelerde yüzeylerin detaylı incelemeleri sonucunda sıcaklık faktöründeki 5 derecelik değişimin numuneler üzerinde fazla bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır.

4.3. Bakteri İnkübasyonu Sonuçları

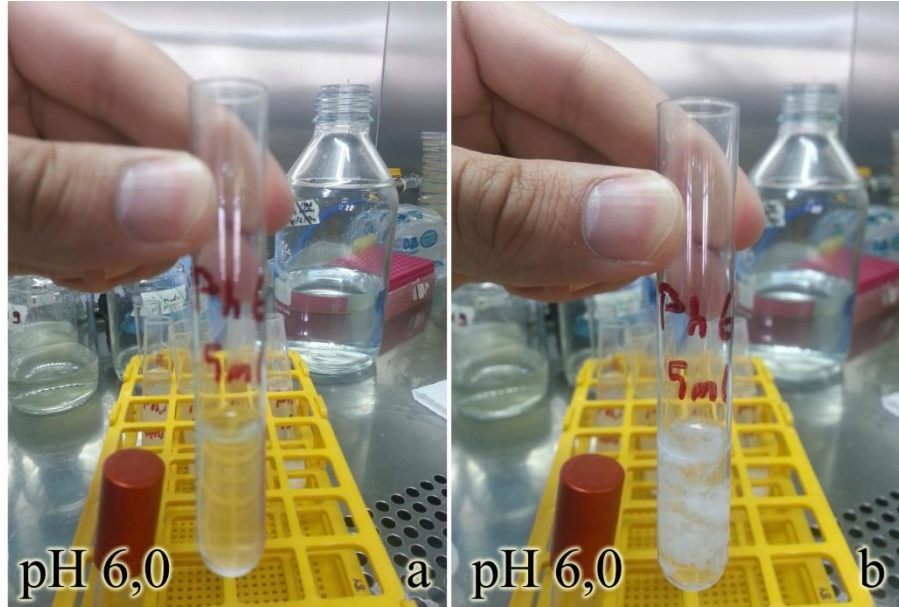
Farklı pH değerlerine sahip olan sıvı besiyerlerine bakteri inokülasyonu yapılarak 72 saat süre ile oda sıcaklığında (25±1°C) çalkalayıcıda inkübe edilmiştir.

Çizelge 4.3. Sıvı besiyerinde oluşan pH değişimi

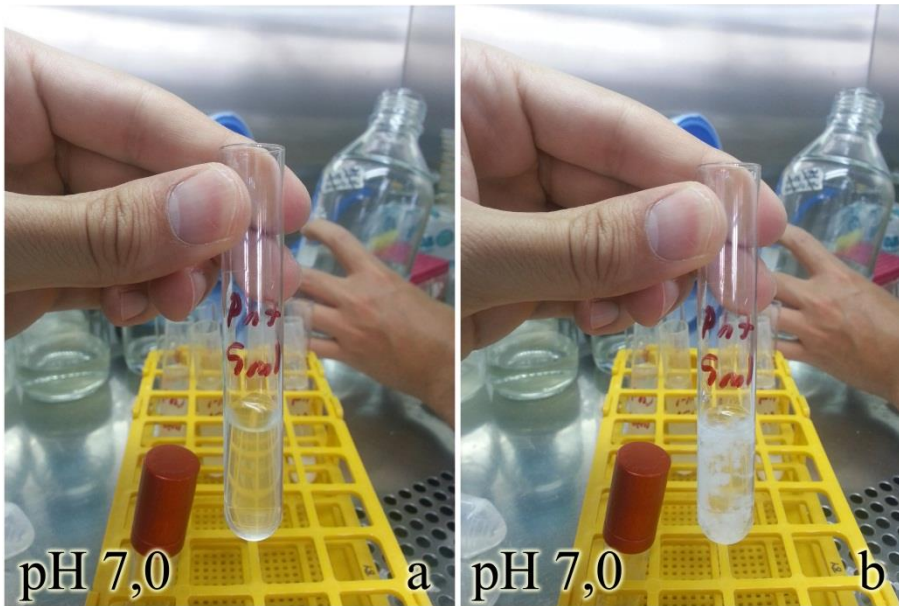
Sıvı besiyerin hazırlanırken ayarlandığı pH	Bakteri inokülasyonundan sonra (72 saat sonra) ölçülen pH	CaCl ₂ stok çözelti eklendiğinde pH
6,0	8,94	8,91
7,0	8,99	8,95
8,0	8,85	8,88
9,0	8,92	8,79

Çizelge 4.3 de pH'ı ayarlanan sıvı besiyerlerinin bakteri inokülasyonu ve CaCl₂ stok çözelti eklenmesi sonucunda oluşan pH değişimleri gösterilmiştir. Sıvı besiyerine bakteri inokülasyonu sonucunda oluşan pH değerleri karşılaştırıldığında en az değişim pH 8,0 'da görülmüştür. İnkübasyon sonucunda yaklaşık olarak tüm pH değerleri birbirine yaklaşmıştır. Buradan sıvı besiyerinin ilk pH değerinin farklı olmasının inkübasyon sonucunda oluşacak pH değerini etkilemediğini görebiliriz. Daha sonra kültür ortamına CaCl₂ stok çözelti eklendiğinde pH 8,0 değeri bir miktar artmış diğer pH değerleri ise azalmıştır. Kalsiyum karbonat reaksiyonunda çökelmenin ortam pH

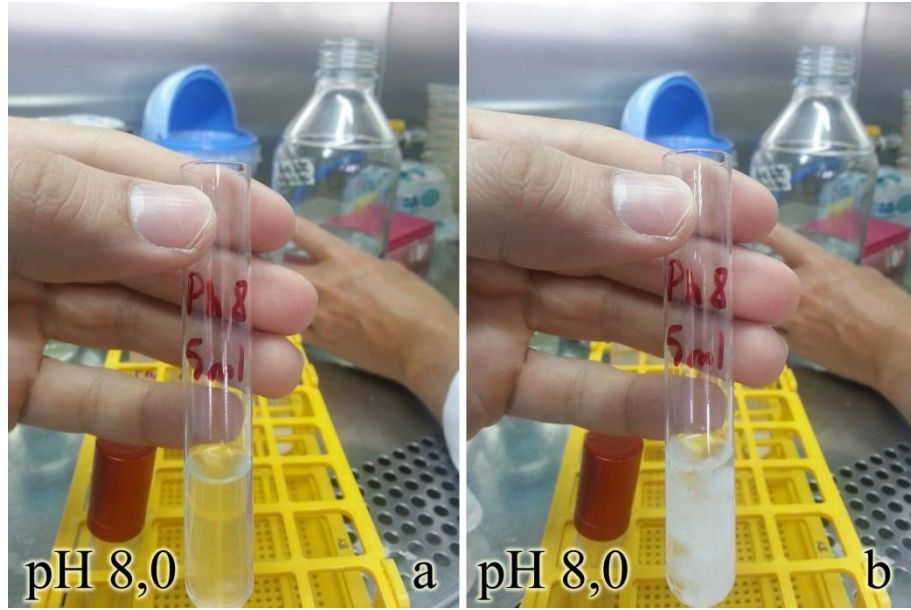
değerinin yükselmesi sonucu oluştuğu (Ural 2011) ve pH 8,0 da daha iyi sonuçlar alınacağı tespit edilmiştir.



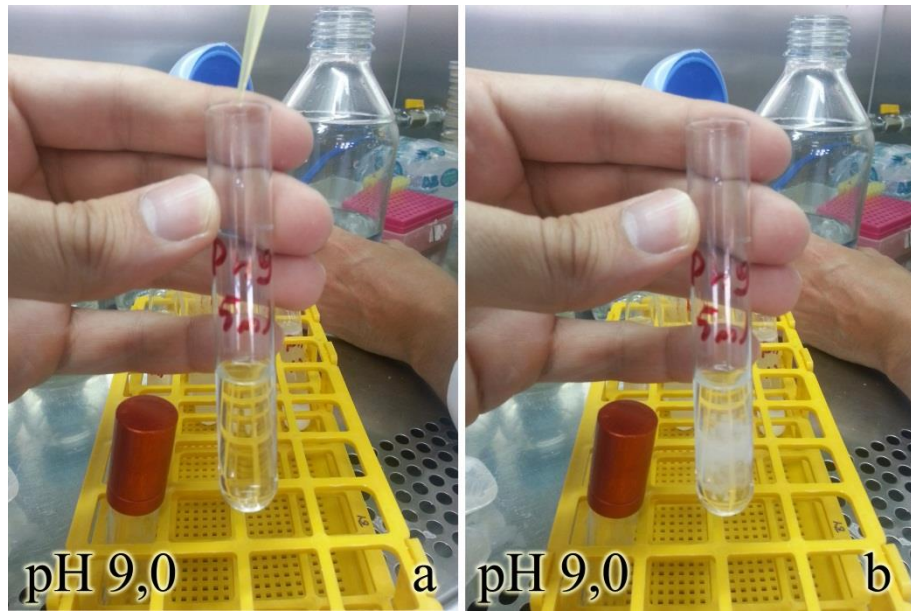
Şekil 4.6. pH 6,0 a) kültür ortamı b) kültür ortamı + CaCl_2 stok çözelti (2/100)



Şekil 4.7. pH 7,0 a) kültür ortamı b) kültür ortamı + CaCl_2 stok çözelti (2/100)

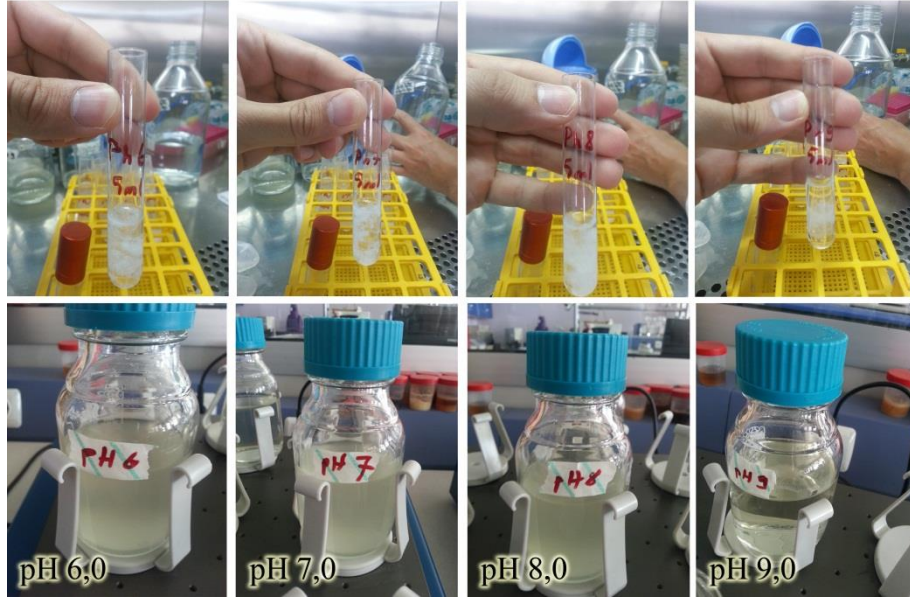


Şekil 4.8. pH 8,0 a) kültür ortamı b) kültür ortamı + CaCl_2 stok çözelti (2/100)



Şekil 4.9. pH 9,0 a) kültür ortamı b) kültür ortamı + CaCl_2 stok çözelti (2/100)

Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, değerlendirildiğinde en yüksek pellet oluşumu pH 8,0 da, en düşük pH 9,0 da görülmüştür. pH 6,0 ve pH 7,0 da yaklaşık olarak aynı oranda pellet oluşumu gözlenmiştir.



Şekil 4.10. Farklı pH değerlerine sahip kültür ortamlarının 72 saat sonra ve CaCl_2 eklendikten sonraki durumları

Şekil 4.10'den anlaşılabacağı üzere 72 saatlik inkübasyon sonucunda kültür ortamlarının görünür yoğunluğu pellet oluşumunda etkili olmuştur. pH 9,0 sıvı besiyeri diğerlerine göre daha az yoğunluğa sahip olduğundan daha az pellet oluşturmuştur. pH 6,0, pH 7,0 ve pH 8,0 kültür ortamları yaklaşık olarak aynı yoğunlukta görülse de pH 8,0 da daha fazla pellet oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.8).

4.4. SEM (Scanning Electron Microscopy) Analizi Sonuçları

SEM analizlerinde öncelikle uygulama yapılmamış kum zeminin analizleri yapılmıştır. Sonrasında yapılan tüm uygulamaların analizleri yapılarak sunulmuştur. Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13 de uygulama yapılmayan kum zemin gösterilmiştir. Bu görüntülerde kum yüzeylerinde herhangi bir yapının bulunmaması uygulama yapılan numunelerin değerlendirilmesi için önemlidir.

Şekil 4.14 de sadece sıvı besiyeri ve CaCl_2 stok çözelti uygulanmış zemin numunesi incelendiğinde taneler üzerinde yalnız CaCl_2 stok çözeltide bulunan klordan dolayı

oluşan tuz kristallerinin olduğu görülmektedir. Tüm numunede bu yapıya rastlanmış başka bir kimyasal yapıya rastlanmamıştır.

Şekil 4.15 ve Şekil 4.16 incelendiğinde pH 6,0 da hazırlanmış sıvı besiyerinin uygulandığı numunelerde tanelerin birbirine tutunduğu gözlenmiştir. 7 günlük ve 14 günlük numuneler karşılaştırıldığında oluşan kalsitlerin boyutları arasında bir fark görülmemiş buda sonradan eklenen sıvı besiyeri ve CaCl_2 stok çözeltinin görülür bir etkisinin olmadığını göstermiştir. 30°C ve 35°C etüvde bekletilen numuneler arasında da bir fark bulunamamıştır.

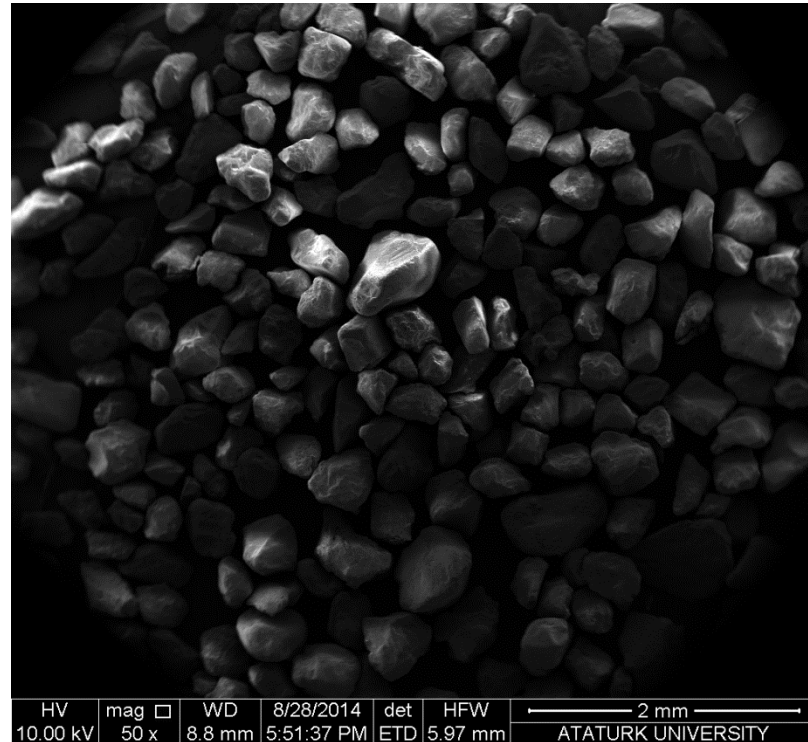
Şekil 4.17 ve Şekil 4.18 pH 7,0 da hazırlanan numuneleri göstermektedir. Görüntüler incelendiğinde taneler arası boşlukların dolduğu ve tane yüzeylerini kapladığı görülmektedir. Tekrar besiyeri eklenmesinin ve farklı sıcaklıktaki etüvlerin pH 7,0 da bir fark oluşturmadığı SEM analizinden anlaşılmaktadır.

Şekil 4.19 ve Şekil 4.20 de gösterilen pH 8,0 görüntüleri incelendiğinde taneler arasında oluşan yapıların zemin tanelerini birbirine bağladığı ve tane yüzeylerinde de yapıların oluştuğu gözlemlenmektedir. Sıcaklık faktörünün ve tekrar uygulamanın pH 8,0 da bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir.

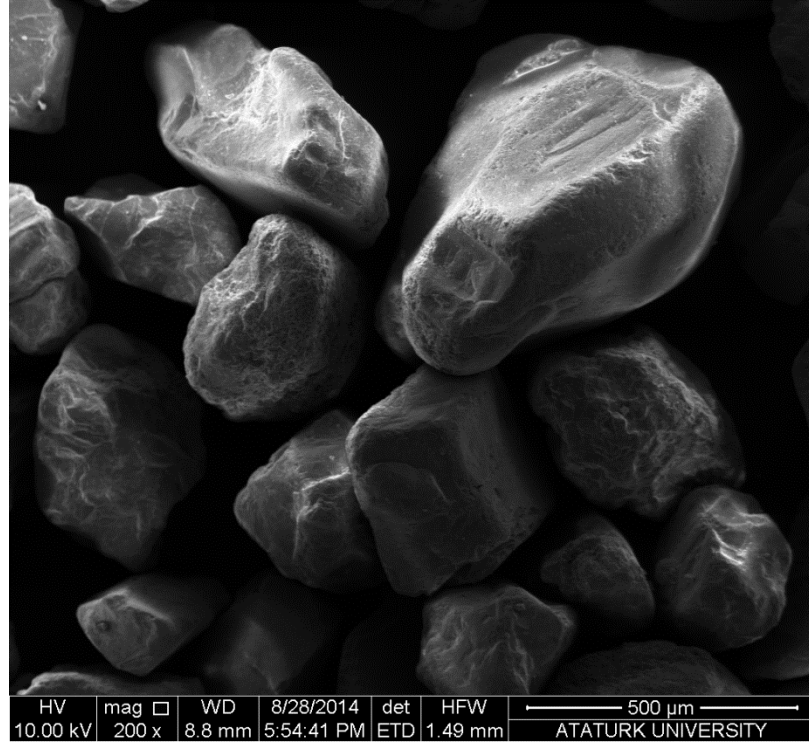
Şekil 4.21 ve Şekil 4.22 de verilen pH 9,0 SEM görüntüleri incelendiğinde taneler üzerinde ve arasında yapılara rastlanmıştır ancak tüm numune yüzeyi incelendiğinde bu yapıların diğer pH değerlerindeki numunelere nazaran daha az olduğu tespit edilmiştir. Diğer numunelerle aynı şekilde farklı sıcaklıkların ve tekrar besiyer eklenmesinin numuneler üzerinde bir etkisi olmamıştır.

Şekil 4.23, Şekil 4.24, Şekil 4.25, Şekil 4.26 ve Şekil 4.27 de pellet ile yapılan uygulamaların SEM görüntüleri verilmektedir. Görüntülerde numunelerin yüzeylerinin ve arasındaki boşluklarının çok büyük bir bölümünün kaplandığı görülmektedir. Numuneye daha yakından bakıldığında (Şekil 4.26) oluşan farklı kalsit yapıları ve oklarla gösterilen *Bacillus arenesi* bakterisi görülmektedir.

Yapılan tüm SEM analizleri incelendiğinde taneler arasında ve tanelerin yüzeylerinde kalsit oluşumları gözlemlenmiştir. Sadece sıvı besiyeri ve CaCl_2 stok çözelti kullanılan zeminlerde herhangi bir kalsit oluşumuna rastlanmamıştır. 7 günlük ve 14 günlük (tekrar sıvı besiyeri verilen) numuneler karşılaştırıldığında kalsit oluşumunda bir fark gözlenememiştir. pH 9,0 ile uygulama yapılan numunelerde genel olarak daha az kalsit oluşumu gözlemlenmiştir. Diğer pH değerleri arasında kalsit oluşumunda fazla bir fark görülmemiş ancak pH 8,0 da tüm numune yüzeyleri incelendiğinde daha fazla kalsit oluşumu gözlemlenmiştir. Diğer uygulamadan farklı olarak santrifüj ile çöktürülerek elde edilen pelletin uygulandığı numunede yüksek oranda kalsit oluşumu gözlemlenmiştir. Tanelerin yüzeyinin ve partiküller arasında boşlukların dolduğu görülmüştür. SEM analizleri sonuçlarının değerlendirilmesinde tüm numunelerde yüzeyler detaylı olarak incelenmiş numunedeki genel görünüşü veren bölgeden görüntüler alınmaya çalışılmıştır.



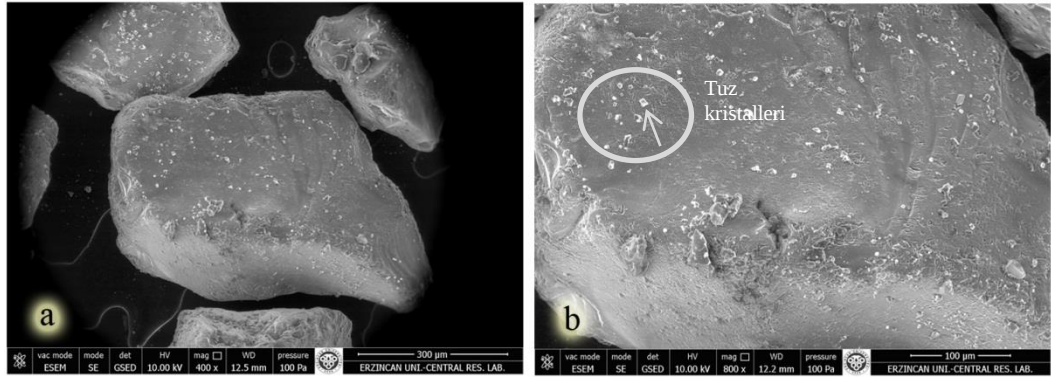
Şekil 4.11. Uygulama yapılmamış kum zemin SEM analizi (50x)



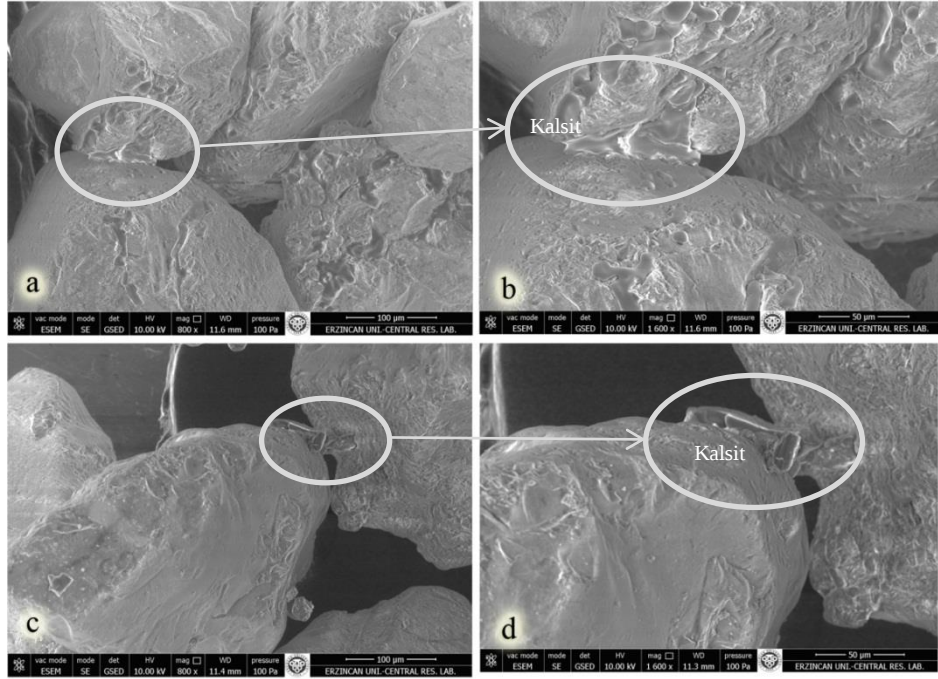
Şekil 4.12. Uygulama yapılmamış kum zemin SEM analizi (200x)



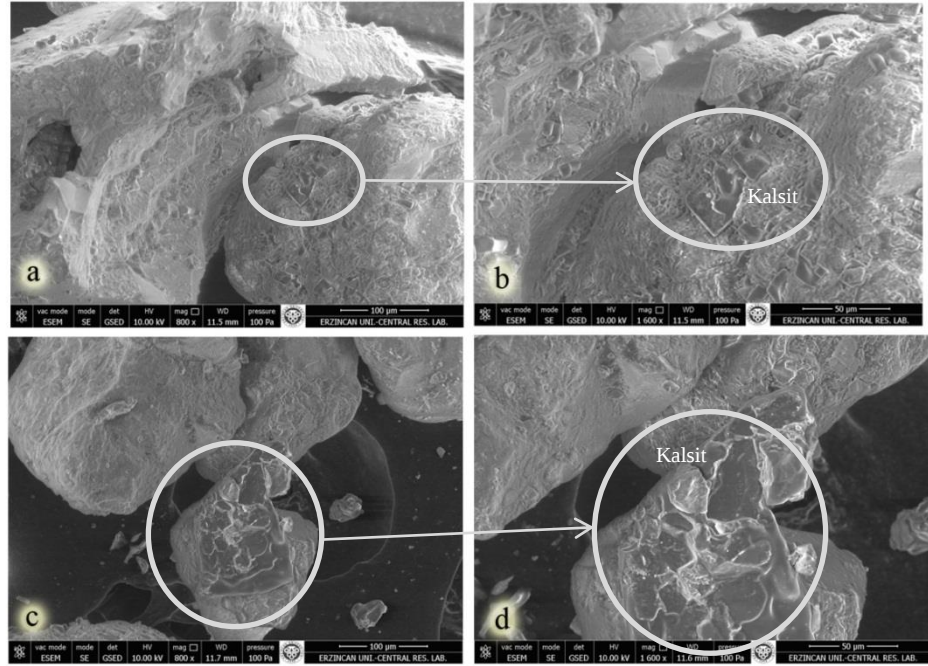
Şekil 4.13. Uygulama yapılmamış kum zemin SEM analizi (400x)



Şekil 4.14. Sadece sıvı besiyeri uygulanmış kum zemin SEM analizi
*a) 400x b) 800x

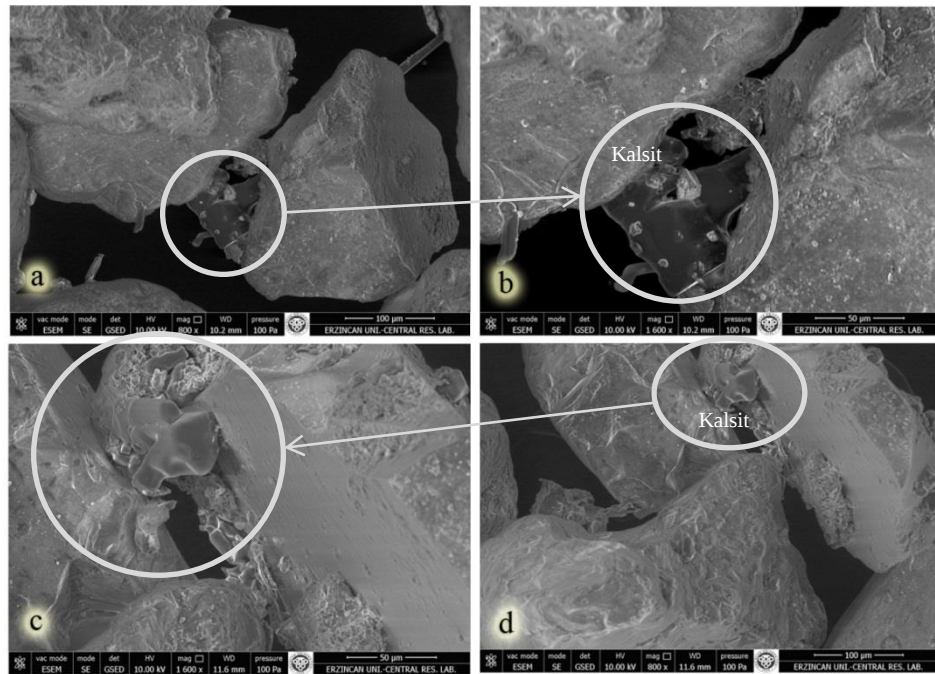


Şekil 4.15. pH 6,0 30°C etüv SEM analizleri
*a) 7 günlük (800x) b) 7 günlük (1600x) c) 14 günlük (800x) d) 14 günlük (1600x)



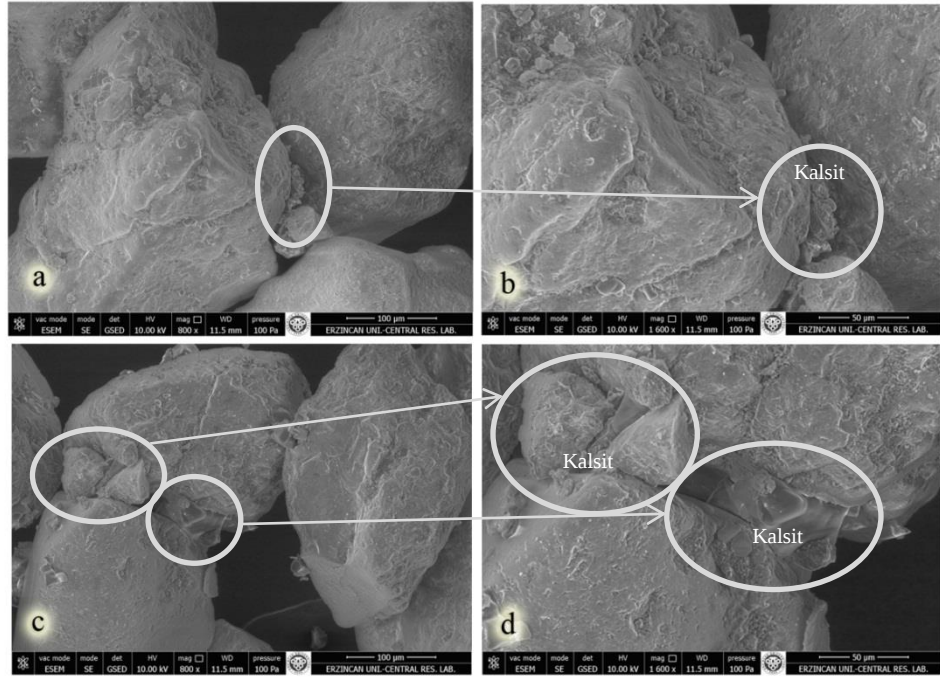
Şekil 4.16. pH 6,0 35°C etüv SEM analizleri

*a) 7 günlük (800x) b) 7 günlük (1600x) c) 14 günlük (800x) d) 14 günlük (1600x)



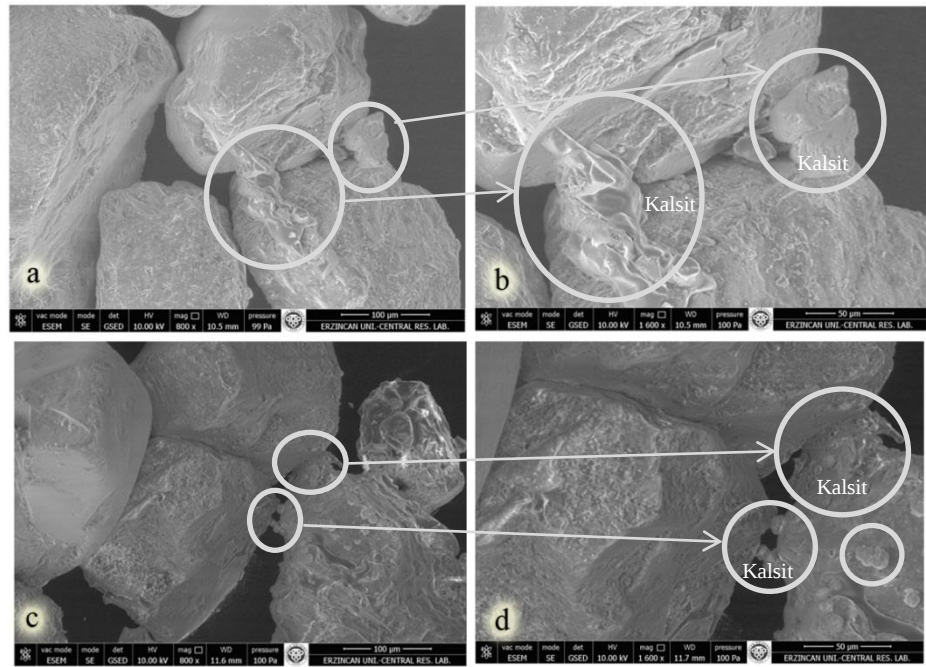
Şekil 4.17. pH 7,0 30°C etüv SEM analizleri

*a) 7 günlük (800x) b) 7 günlük (1600x) c) 14 günlük (1600x) d) 14 günlük (800x)



Şekil 4.18. pH 7,0 35°C etüv SEM analizleri

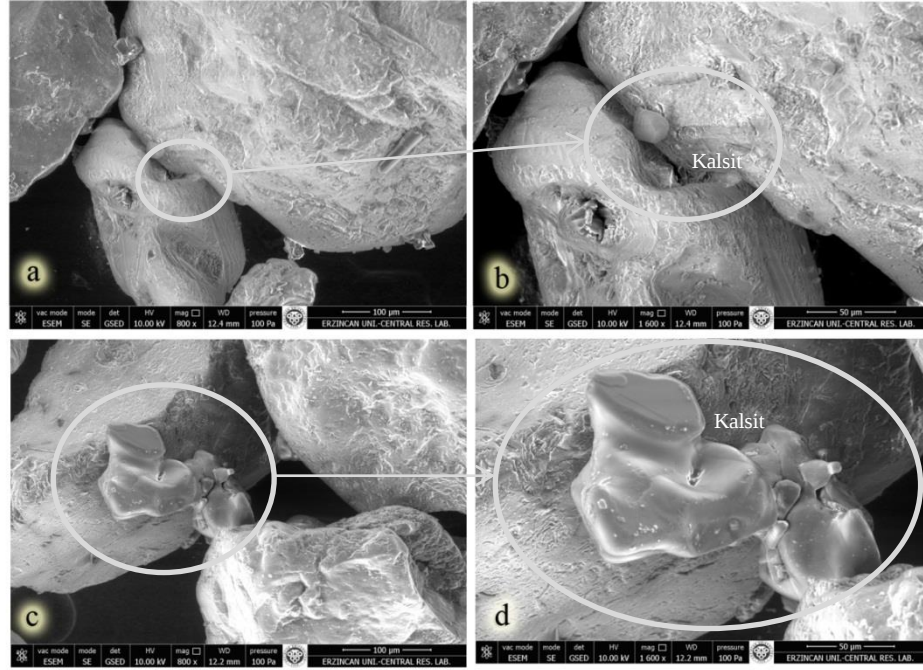
*a) 7 günlük (800x) b) 7 günlük (1600x) c) 14 günlük (800x) d) 14 günlük (1600x)



9

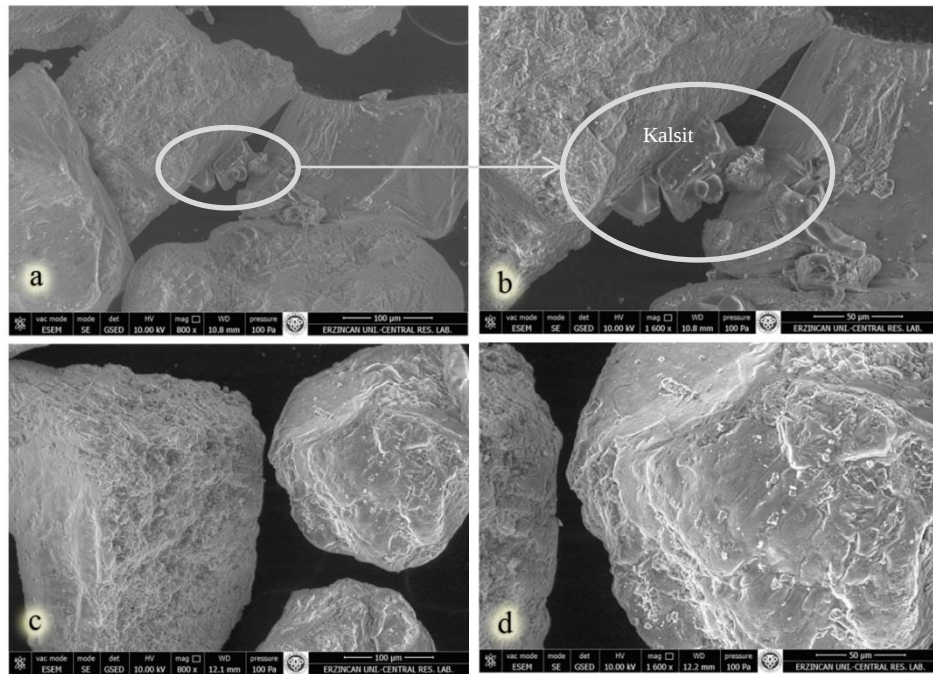
Şekil 4.19. pH 8,0 30°C etüv SEM analizleri

*a) 7 günlük (800x) b) 7 günlük (1600x) c) 14 günlük (800x) d) 14 günlük (1600x)



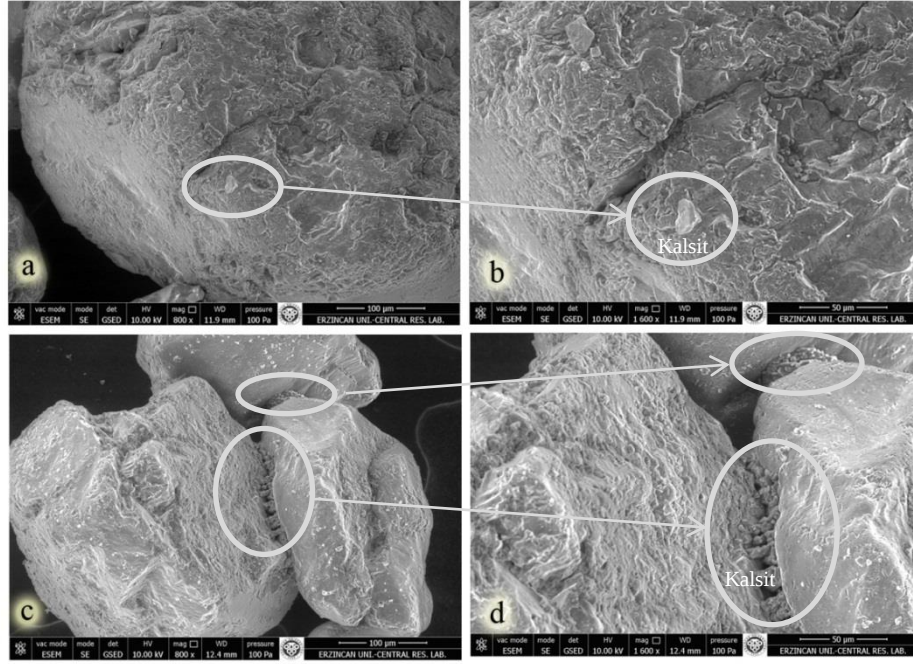
Şekil 4.20. pH 8,0 35°C etüv SEM analizleri

*a) 7 günlük (800x) b) 7 günlük (1600x) c) 14 günlük (800x) d) 14 günlük (1600x)



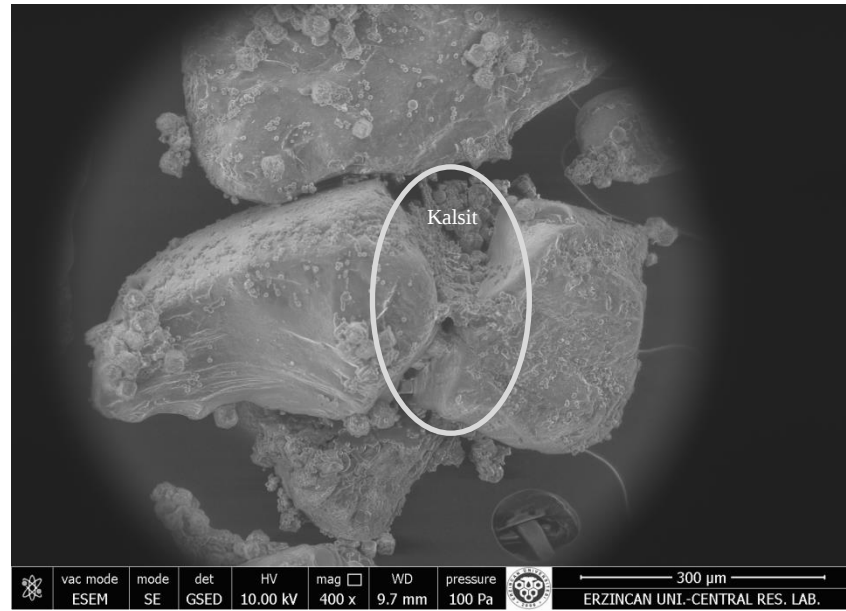
Şekil 4.21. pH 9,0 30°C etüv SEM analizleri

*a) 7 günlük (800x) b) 7 günlük (1600x) c) 14 günlük (800x) d) 14 günlük (1600x)



Şekil 4.22. pH 9,0 35°C etüv SEM analizleri

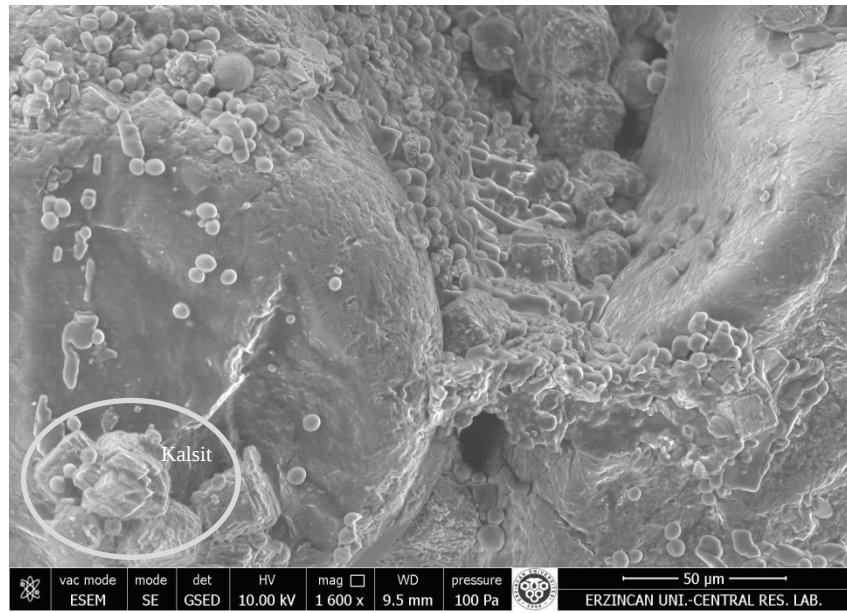
*a) 7 günlük (800x) b) 7 günlük (1600x) c) 14 günlük (800x) d) 14 günlük (1600x)



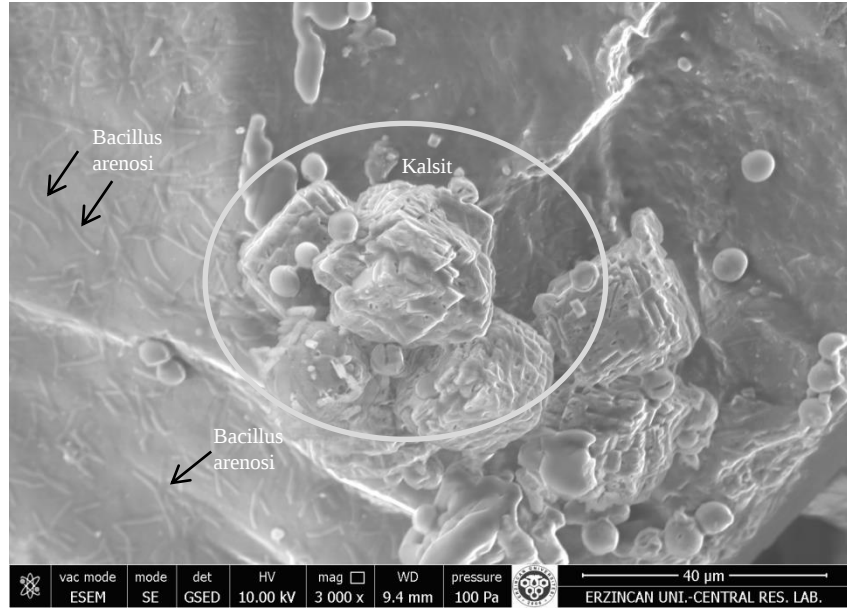
Şekil 4.23. pH 8,0 35°C 7 günlük etüv SEM analizi (400x)



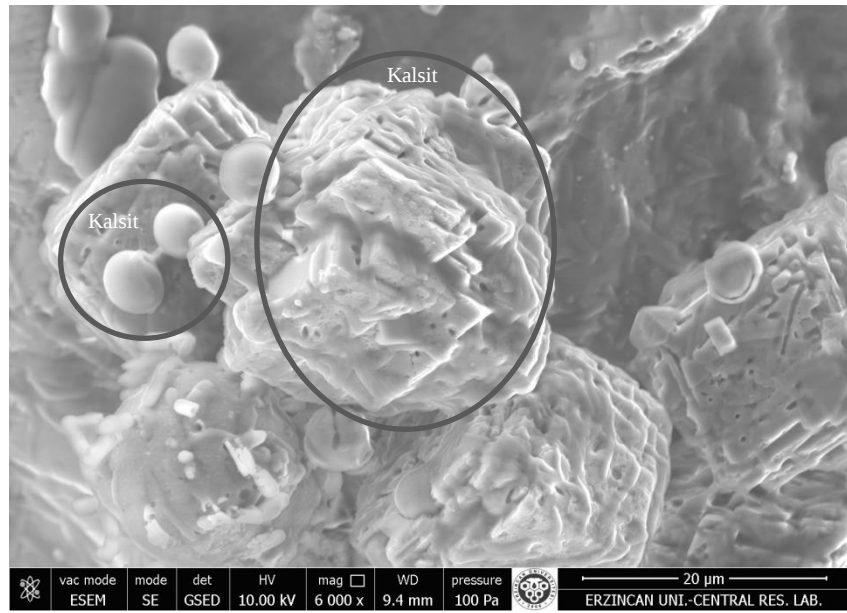
Şekil 4.24. pH 8,0 35°C 7 günlük etüv SEM analizi (800x)



Şekil 4.25. pH 8,0 35°C 7 günlük etüv SEM analizi (1600x)



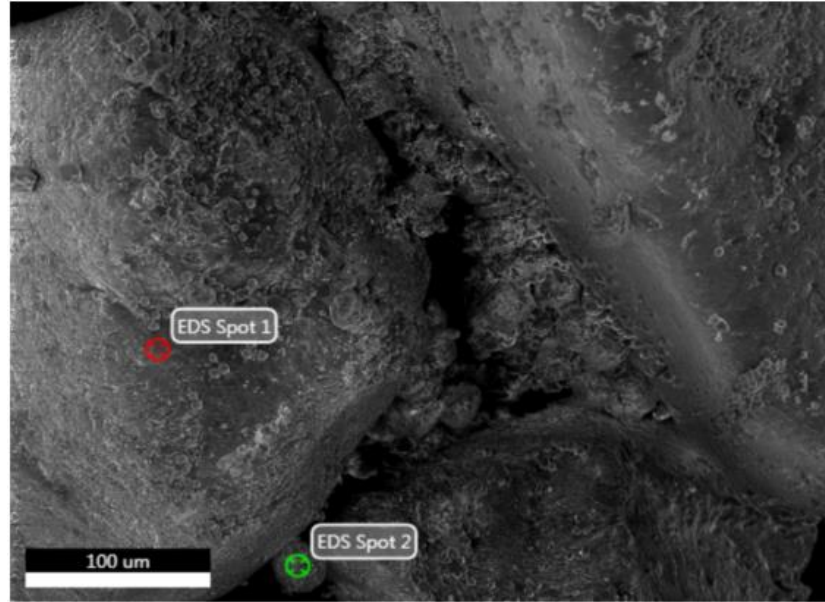
Şekil 4.26. pH 8,0 35°C 7 günlük etüv SEM analizi (3000x)



Şekil 4.27. pH 8,0 35°C 7 günlük etüv SEM analizi (6000x)

4.5. EDS (Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy) Analizi Sonuçları

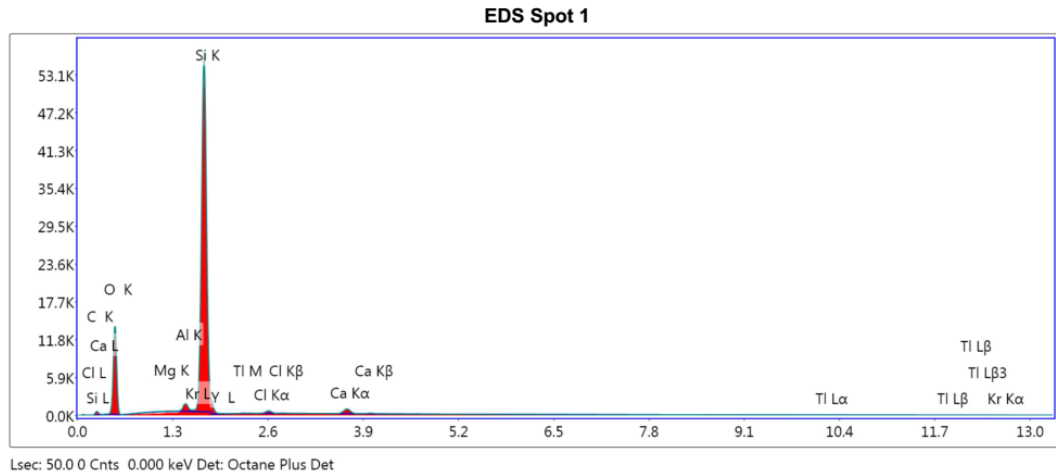
EDS analizi ile pellet örneği üzerinde farklı noktalar belirlenerek yapılan iyileştirme sonucunda oluşan elementlerin analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda 1. Noktada SiK atom ağırlığı yüzdesi %47,43, CaK yüzdesi ise %1,62 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). 2. noktada ise atom ağırlıkları yüzdeleri SiK %5,5, CaK %45,49 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5). 1. ve 2. noktalar karşılaştırıldığında kalsiyumlu bileşiklerin 2. noktada arttığı görülmüştür (Şekil 4.29) (Şekil 4.30). Böylece *Bacillus arenosi* bakterisi ile oluşan kalsitler EDS analizinde belirlenmiştir.



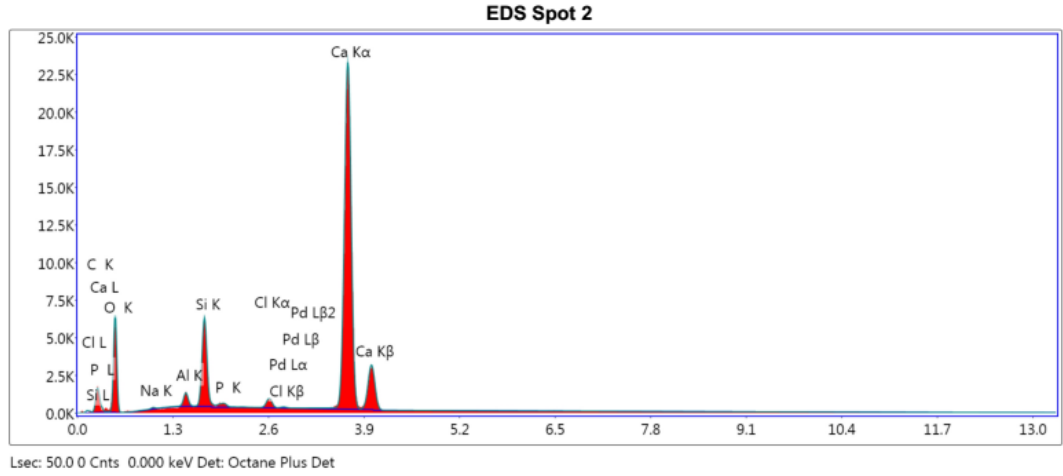
Şekil 4.28. EDS analizi için uygulama yapılan zemin üzerinde belirlenen noktalar

Çizelge 4.4. 1. ve 2. noktanın atomik ve ağırlık yüzdeleri

	1. Nokta		2. Nokta	
Element	Ağırlık (%)	Atomik (%)	Ağırlık (%)	Atomik (%)
C K	6,64	11,29	5,35	10,03
O K	40,75	52	41,52	58,4
NaK	-	-	0,2	0,2
AlK	1,1	0,83	0,93	0,78
KrL	0,24	0,06	-	-
SiK	47,43	34,48	5,5	4,4
Y L	0,06	0,01	-	-
P K	-	-	0,23	0,17
ClK	0,59	0,34	0,74	0,47
PdL	-	-	0,03	0,01
CaK	1,62	0,83	45,49	25,54
TiL	1,56	0,16	-	-



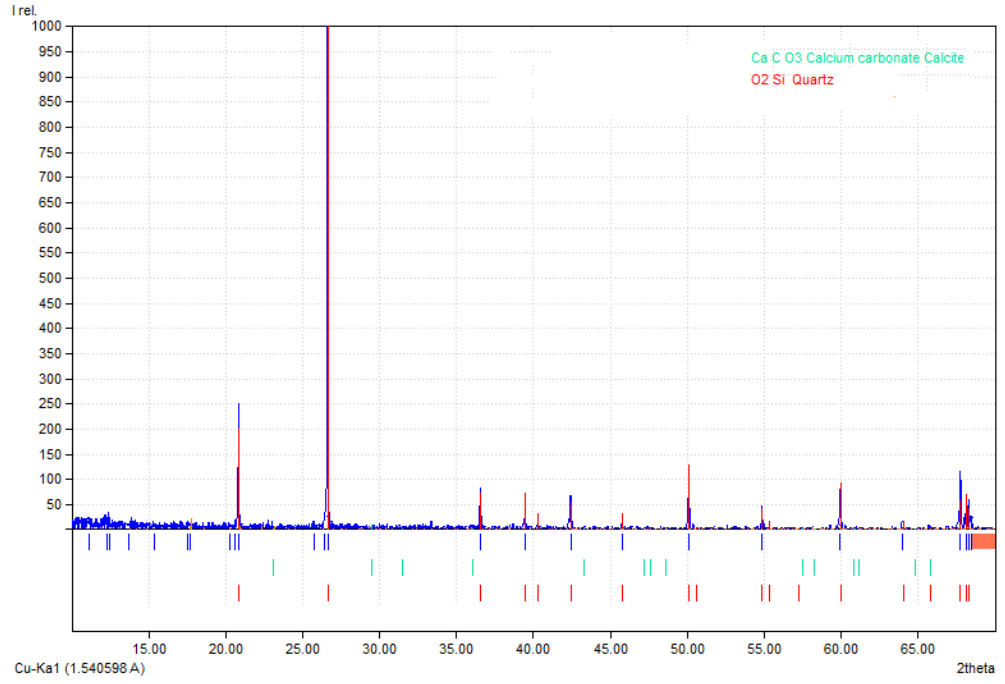
Şekil 4.29. 1. noktanın element analiz grafiği



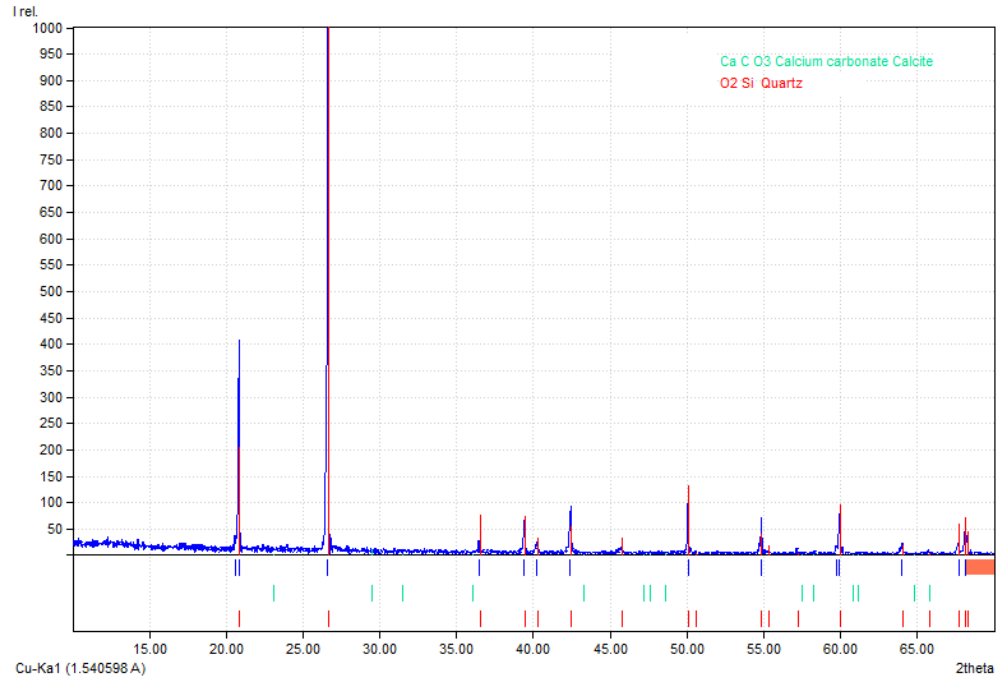
Şekil 4.30. 2. noktanın element analiz grafiği

4.6. XRD (X-Ray Diffraction) Analizi Sonuçları

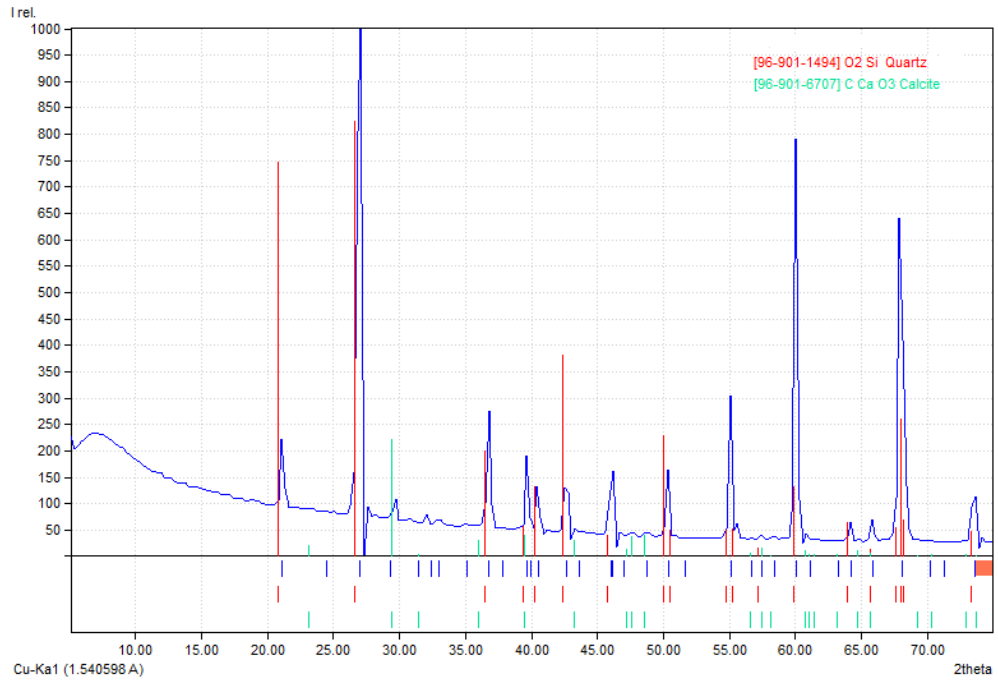
Biyolojik reaksiyonlar sonucunda zeminde oluşan bileşenler tespit edilebilmesi için XRD analizi yapılmıştır. İlk olarak uygulama yapılmamış kum zemin analiz edilmiş daha sonra sadece sıvı besiyeri (SF) uygulanmış zemin numuneleri ve kültür ortamı uygulanmış (pellet) zemin numuneleri analiz edilmiştir. Analiz sonucunda uygulama yapılmayan ve sadece sıvı besiyeri uygulanan kum zemin numunelerinde kuvars (SiO_2) mineraline rastlanmıştır. Kültür ortamı uygulanan zemin numunelerinde ise hem kuvars (SiO_2) hemde kalsit (CaCO_3) minerallerine rastlanmıştır. Buradan yalnızca sıvı besiyeri uygulamasının zeminde kalsit oluşturmadığını söyleyebiliriz.



Şekil 4.31. Uygulama yapılmayan kum zemin XRD sonuçları



Şekil 4.32. Sadece sıvı besiyeri uygulanan kum zemin XRD sonuçları



Şekil 4.33. Kùltür ortamı uygulanan kum zemin XRD sonuçları

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada *Bacillus arenosi* bakterisi kullanılarak kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonu sonucunda zeminlerin iyileştirilmesinin mümkün olup olmadığı araştırılmıştır. Bir takım denemeler sonucunda sıvı besiyeri olarak SF seçilmiştir. Daha sonra kum zemin örneklerine uygulamalar yapılarak SEM, EDS, XRD testleri ile analizler yapılmıştır. Bakteri ve sıvı besiyeri ile uygulamalar yapılarak kalsiyum karbonat reaksiyonunun optimum şartları araştırılmıştır.

Öncelikle bakteri inkübasyonu sonucunda kültür ortamında kalsit oluşumları incelenmiştir. 4 farklı pH derecesine ayarlanan sıvı besiyerlerine bakteriler inkübe edilmiş ve 72 saat sonra CaCl_2 stok çözelti eklenmiştir. Oluşan çökelti miktarları karşılaştırıldığında en iyi sonuç pH 8,0 ile hazırlanan kültür ortamında olmuştur. En az çökelti pH 6,0'da görülürken pH 7,0 ve pH 9,0 da yaklaşık olarak aynı oranda çökelti oluşumu gözlemlenmiştir.

SEM analizleri ile taneler arasında ve tane yüzeylerinde oluşan kimyasal yapılar incelenmiştir. Tüm pH değerlerinde kalsit oluşumuna rastlanmıştır. Numunelerin yüzey analizleri sonucunda en iyi sonuç pH 8,0'da santrifüj ile çökeltilen pelletin zemine uygulanması ile elde edilmiştir. Bu uygulama sonucunda tanelerin yüzeyleri kaplanmış, taneler arası boşluklar dolmuş ve taneler birbirlerine tutunmuştur. Diğer uygulamalarda ise yüzeylerde ve taneler arasında yapılara rastlanmıştır ancak çok iyi sonuçlar alınamamıştır.

XRD ve EDS analizleri ile kimyasal reaksiyonlar sonucunda oluşan yapıların kalsit olduğu gösterilmiştir. XRD analizi ile uygulama yapılmayan zemin ile uygulama yapılan zemin karşılaştırıldığında uygulama yapılan zeminde kalsit oranında yüksek bir artış olduğu gözlemlenmiştir. EDS analizi ile de oluşan kimyasal yapının ağırlık olarak yüksek oranda kalsiyumlu bileşikler (kalsit) içerdiği belirtilmiştir.

Yapılan deneyler sonucunda maksimum kalsiyum karbonat reaksiyonunu, sıvı besiyerin pH 8,0'a ayarlandıktan sonra 72 saat süre ile bakteri inkübasyonunun yapılması ve bu süre sonunda zemine uygulama yapılmadan önce CaCl_2 stok çözelti eklenerek santrifüjde oluşan pelletin taze sıvı besiyeri ile yoğun bir şekilde uygulanmasıyla oluşmuştur.

Yapılan bu analizler sonucunda *Bacillus arenosi* bakterisi kullanılarak zeminlerin iyileştirilebilmesi mümkün görülmektedir. Bu kapsamda biyolojik ve geoteknik çalışmalarımız devam etmektedir.

Kalsiyum karbonat çökmesi sonucunda zeminlerin donma çözülme, şişme v.b. özellikleri iyileştirilebilir. Ayrıca oluşan yapıların taneler arası boşlukları doldurması ve birbirine bağlamasından dolayı zeminlerin geçirimsizlik, oturma, mukavemet v.b. özellikleri de iyileştirilebilir.

Kalsiyum karbonat reaksiyonu sonucunda oluşan yapılar, zeminlerin yüzeylerini kaplayarak zeminlerin donma çözülme, şişme v.b. özelliklerini iyileştirebilir ayrıca tanelerin arasını doldurarak ve birbirine tutunmasını sağlayarak da zeminlerde permeabilite, oturma, mukavemet gibi zemin özelliklerinin de iyileştirilebilmesini sağlayabilirler.

Bakteri türü, sıvı besiyeri, pH, zemin sınıfı, ortam sıcaklığı ve nem oranı gibi kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonunu etkileyebilecek şartların detaylı bir şekilde incelenmesi sonucunda daha başarılı sonuçlar alınabilir. Literatürde yapılan çalışmalar çoğunlukla laboratuvar şartlarında küçük numuneler üzerinde yapılmıştır. Gelecekte yapılacak arazi uygulamalarında da bakterilerin zeminlerin iyileştirilmesinde kullanılabilirliği araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2010. Taramalı elektron mikroskobu bahar 2010. <http://www2.aku.edu.tr> (17.11.2014).
- Anonim, 2014. Vakum Konsolidasyon. <http://www.uniformmuhendislik.com.tr/index.php/2013-04-03-09-20-31/2013-04-08-10-32-08/vakum-konsolidasyon> (17.11.2014).
- Anonymous, 2014. Compaction Grouting. <http://www.kellerholding.com/>, http://www.kellerholding.com/download/pdf/en/Keller_66-01E.pdf (01.12.2014).
- Anonymous, 2014a. <http://www.nanoscience.com/products/sem/technology-overview/how-sem-works/> (17.11.2014).
- ASTM E 11, 2013. <http://www.astm.org/Standards/E11.htm>.
- Bernardi, D., DeJong, J.T., Montoya, B.M., Martinez, B.C., 2014. Bio-bricks: Biologically cemented sandstone bricks. *Construction and Building Materials*, 55, 462-469.
- Briaud, J.L., 2013. *Geotechnical Engineering: Unsaturated and Saturated Soils*. John Wiley & Sons, Inc., 998 p, New Jersey, ABD.
- Castanier, S., Metayer-Levrel, G.Le., Perthuisot, J.P., 1999. Ca-carbonates precipitation and limestone genesis – the microbiolgeologist point of view. *Sedimentary Geology*, 126, 9-23.
- Cheng, L. and Cord-Ruwisch, R., 2012. In situ soil cementation with ureolytic bacteria by surface percolation. *Ecological Engineering*, 42, 64-72.
- Cheng, L. and Cord-Ruwisch, R., 2014. Upscaling Effects of Soil Improvement by Microbially Induced Calcite Precipitation by Surface Percolation. *Geomicrobiology Journal*, 31, 396-406.
- Chu, J., Varaksin, S., Klotz U., Menge, P., 2009. Construction Processes. In *Proceedings of the International Conference on Soil Mechanics and Geotechnical Engineering*, Alexandria, Egypt.
- DeJong, J.T., Fritzges, M.B., Nüsslein, K., 2006. Microbially Induced Cementation to Control Sand Response to Undrained Shear. *Journal of Geotechnical And Geoenvironmental Engineering*, 132 (11), 1381-1392.
- Gupta, S., Rathi, C., Kapur, S., 2013. Biologically Induced Self Healing Concrete: A Futuristic Solution for Crack Repair. *Internatioal Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 1(3), 85-89.
- Hammes, F. and Verstraete, W., 2002. Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation. *Environmental Science & Bio/Technology*, 1, 3-7.
- Jimenez-Lopez, C., Rodriguez-Navarro, C., Piñar, G., Carrillo-Rosua, F.J., Rodriguez-Gallego, M., Gonzalez-Munoz, M.T., 2007. Consolidation of degraded ornamental porous limestone stone by calcium carbonate precipitation induced by the microbiota inhabiting the stone. *Chemosphere*, 68, 1929-1936.
- Li, S., 2013. A laboratory study of the effects of bio-stabilization on geomaterials. MS Thesis, Civil Engineering (Geotechnical Engineering), Iowa State University, Ames, Iowa.

- Lippmann, F. 1973. Sedimentary carbonate minerals. New York:Springer Verlag, 228 p.
- Muynck, W.D., Debrouwer, D., Belie, N.D., Verstraete, W., 2008. Cement and Concrete Research, 38, 1005-1014.
- Muynck, W.D., Cox, K., Belie, N.D., Verstraete W., 2008a. Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete. Construction and Building Materials, 22, 875-885.
- Muynck, W.D., Belie, N.D., Verstraete, W., 2010. Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review. Ecological Engineering, 36, 118-136.
- Ng, W.S., Lee, M.L., Hii, S.L., 2012. An Overview of the Factors Affecting Microbial-Induced Calcite Precipitation and its Potential Application in Soil Improvement. World Academy of Science, Engineering and Technology, 6, 683-689.
- Okwadha, D.O.G. and Li, J., 2010. Optimum conditions for microbial carbonate precipitation. Chemosphere, 81, 1143-1148.
- Özaydın, K., 2012. Zeminlerin İyileştirilmesi. Zemin Mekaniği ve Temel Mühendisliği Ondördüncü Ulusal Kongresi.
- Özçep, F., 2009. Zeminlerin Geoteknik ve Jeofizik Analizi. Nobel Yayın No: 1380, 610s, Ankara.
- Özdemir, A. ve Özdemir, M., 2006. Zayıf zeminlerin iyileştirilmesi ve son yıllarda yaygın olarak uygulanan bazı zemin iyileştirme yöntemleri, Sondaj Dünyası Dergisi,3, 34-38.
- Özmen ve Timoçin, 2012. X-Işınları Kırınım Cihazı (XRD) ve Kırınım Yasası. <http://mersin.edu.tr/apbsuploads/1000470/FizikveTeknoloji/02-XRDVeKırınım.pdf> (17.11.2014)
- Stocks-Fischer, S., Galinat, J.K., Bang, S.S., 1999. Microbiological precipitation of CaCO₃. Soil Biology and Biochemistry, 31, 1563-1571.
- Şengül, T. ve Edil, T., 2010. Prefabrik Düşey Drenlerle Zemin İyileştirme Yönteminde Örselenme Bölgesi Oluşumunun ve Etkisinin Belirlenmesi. Zemin Mekaniği ve Temel Mühendisliği Onüçüncü Ulusal Kongresi, İstanbul.
- Ural, N., 2011. Mikrobiyolojik Çimentolanmayla Zemin İyileştirilmesi. 6th International Advanced Technologies Symposium (IATS'11), Elazığ.
- Whiffin, V.S., 2004. Microbial CaCO₃ Precipitation for the production of Biocement. Doctor Thesis, School of Biological Sciences & Biotechnology, Murdoch University, Western Australia.
- Whiffin, V.S., Paassen, L.A.V., Harkes, M.P., 2007. Microbial Carbonate Precipitation as a Soil Improvement Technique. Geomicrobiology Journal, 24, 417-423.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Erzincan'da doğdu. İlkokul ve lise eğitimini Erzincan'da, ortaokul eğitimini Yozgat'da tamamladı. 2005 yılında başladığı Atatürk Üniversitesi İnşaat Mühendisliği bölümünden 2009 yılında mezun oldu. 2011 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans Eğitimine başladı.