



**MİKROBİYAL ARACILI KALSİT ÇÖKELMESİ
İLE ZEMİNLERİN BİYOLOJİK İYİLEŞTİRİLMESİNDE
BAZI DEĞİŞKENLERİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Harun AKOĞUZ

**Doktora Tezi
İnşaat Mühendisliği Anabilim Dalı
Geoteknik Bilim Dalı
Doç. Dr. Semet ÇELİK
2019
Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**MİKROBİYAL ARACILI KALSİT ÇÖKELMESİ İLE
ZEMİNLERİN BİYOLOJİK İYİLEŞTİRİLMESİNDE BAZI
DEĞİŞKENLERİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Harun AKOĞUZ

**İNŞAAT MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
Geoteknik Bilim Dalı**

**ERZURUM
2019**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**MİKROBİYAL ARACILI KALSİT ÇÖKELMESİ İLE ZEMİNLERİN
BİYOLOJİK İYİLEŞTİRİLMESİNDE BAZI DEĞİŞKENLERİN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Doç. Dr. Semet ÇELİK danışmanlığında, Harun AKOĞUZ tarafından hazırlanan bu çalışma 29/05/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından İnşaat Mühendisliği Anabilim Dalı – Geoteknik Bilim Dalı’nda Doktora tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu** (..../....) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Selim ALTUN

İmza :

Üye : Prof. Dr. Hanifi ÇANAKCI

İmza :

Üye : Prof. Dr. Özlem BARIŞ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Semet ÇELİK

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Zeynep Neşe KURT ALBAYRAK

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu **13/06/2019** tarih ve **24/4** nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP, projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: FDK-2019-6880

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

Doktora Tezi

MİKROBİYAL ARACILI KALSİT ÇÖKELMESİ İLE ZEMİNLERİN BİYOLOJİK İYİLEŞTİRİLMESİNDE BAZI DEĞİŞKENLERİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Harun AKOĞUZ

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

Danışman: Doç. Dr. Semet ÇELİK

Günümüzde kullanılabilir inşaat sahalarının azalmasıyla birlikte zeminlerin iyileştirilmesi daha da önem kazanmıştır. Bu kapsamda birçok zemin iyileştirme tekniği uygulanmakta ve başarılı sonuçlar alınabilmektedir. Mevcut zemin iyileştirme tekniklerinden daha çevreci ve yeni bir yaklaşım olan bakteriler aracılığıyla uygulanan biyolojik zemin iyileştirme tekniği ile zeminlerin birçok özelliği iyileştirilebilmektedir. Bu çalışma kapsamında, *Viridibacillus arenosi* bakterisi kullanılarak %35 rölatif sıklığa ve farklı granülometriye sahip iki kum zemin üzerinde biyolojik zemin iyileştirmesi yapılmıştır. Parametre olarak farklı sıvı besiyerleri, uygulama solüsyonları, akış hızları, uygulama süreleri, uygulama şekilleri, farklı kalsiyum kaynakları ve magnezyum klorür kullanılmıştır. Bu parametrelerin iyileştirme üzerindeki etkileri serbest basınç, kesme kutusu, permeabilite deneyleri, pH, sızma hızı, kalsit yüzdesi, SEM, XRD, EDS, Line profil gibi analizlerle araştırılmıştır. Öncelikle farklı sıvı besiyerleri arasından spektrofotometre analizi ile en iyi kültür ortam koşulları belirlenmiştir. Uygulama şeklinin belirlenmesi amacıyla kültür ortamı ve uygulama solüsyonu zeminlere farklı şekillerde uygulanmıştır. Optimum uygulama şekli kullanılarak farklı uygulama süreleri (3,6,11 gün), akış hızları (0,266 mL/sn, 0,400 mL/sn, 0,666 mL/sn), farklı kalsiyum kaynakları, magnezyum klorür kullanılarak her bir zemin için optimum iyileştirme koşulları belirlenmiştir. Biyolojik iyileştirme sonucunda zeminlerin mukavemetleri, içsel sürtünme açıları ve kohezyonları artmış, geçirimsizlikleri ise azalmıştır.

2019, 156 sayfa

Anahtar Kelimeler: Zemin iyileştirme, MICP, Biyolojik zemin iyileştirme tekniği, *Viridibacillus arenosi*, Biyoçimentolanma, Biyotıkanma

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME VARIABLES IN BIOLOGICAL IMPROVEMENT OF SOILS BY USING MICROBIAL INDUCED CALCITE PRECIPITATION

Harun AKOĞUZ

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

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Semet ÇELİK

Improvement of soils has become more significant in line with the decrease of the usable construction sites in our day. Accordingly, numerous soil improvement techniques are implemented and successful results can be achieved. Furthermore numerous features of soils can be improved by virtue of the biological soil improvement technique implemented through utilization of bacteria, which is a more green and novel approach compared to existent soil improvement techniques. Biological soil improvement has been accomplished on two sand soils with 35% relative density and different granulometry implemented through utilization of *Viridibacillus arenosi* bacteria in line with the purview of this study. Different liquid media, application solutions, flow rates, application periods, application means, different calcium sources and magnesium chloride have been utilized as parameters. The effects of these parameters on the improvement were studied by unconfined compressive strength, shear box, permeability tests, pH, seepage rate, calcite percentage as well as by virtue of analyzes such as SEM, XRD, EDS and Lineprofile. First and foremost the best culture medium conditions were determined through spectrophotometer analysis among different liquid media. Culture medium and the application solution were applied to soils in different ways with an eye to determine the mode of administration. Optimum improvement conditions for each soil were determined through utilization of optimum method of administration, different application times (3, 6, 11 days), flow rates (0,266 mL/sec, 0,400 mL/sec, 0,666 mL/sec), different calcium sources and magnesium chloride. Strength of the soils, internal friction angles and cohesions increased and their permeability decreased as a result of the biological improvement.

2019, 156 pages

Keywords: Soil improvement, MICP, Biologically soil improvement technique, *Viridibacillus arenosi*, Biocementation, Bioclogging

TEŞEKKÜR

Çalışmam süresince her türlü yardımını ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Semet ÇELİK'e içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, 2019/6880 nolu Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesinden sağlanan destekle yürütülmüştür. Alınan destek ve katkıları dolayısıyla, Atatürk Üniversitesi'ne şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma kapsamındaki deneyler Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi İnşaat Mühendisliği Bölümü Zemin Mekaniği Laboratuvarı, Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarları, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Merkezi Laboratuvarları'nda yürütülmüştür. Bu kapsamda, Atatürk Üniversitesi İnşaat Mühendisliği Bölüm Başkanlığına, Biyoloji Bölümü Bölüm Başkanlığına, Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji ve Araştırma Merkezi Yönetimine, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Merkezi Laboratuvarı Yönetimine ve emeği geçen tüm personele en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitemde yer alarak kıymetli vakitlerini ayıran ve çalışmalarına ıssık tutan hocalarım Sayın Prof. Dr. Özlem BARIŞ'a ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Zeynep Neşe KURT ALBAYRAK'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen ve beni çalışmaya sevk eden sevgili eşime, çalışmamda desteklerini eksik etmeyen sevgili anneme, babama ve kardeşlerime, eşimin ailesine ve sevgili kızım ve oğluma şükranlarımı sunarım.

Harun AKOĞUZ

Mayıs, 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Amaç ve Kapsam.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	5
2.1. Biyolojik Zemin İyileştirme Tekniği.....	5
2.1.1. Biyomineralizasyon ve mikrobiyal CaCO ₃ oluşum mekanizmaları.....	6
2.1.2. Biyomineralizasyon ile zeminlerin iyileştirilmesi.....	8
2.1.3. MICP (Mikrobiyal aracılı kalsit çökeltmesi).....	36
2.1.4. MICP sonucunda oluşan yapıların zeminlerin mühendislik özellikleri üzerine etkileri	42
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	46
3.1. Materyal.....	46
3.1.1. Bakteri	46
3.1.2. Sıvı besiyeri.....	46
3.1.3. Zemin.....	47
3.2. Yöntem	49
3.2.1. Deney ortamının hazırlanması.....	51
3.2.2. Kültür ortamı ve uygulama solüsyonunun hazırlanması	52
3.2.3. Ön deneyler ve uygulama yöntemi.....	55
3.2.4. Serbest basınç deneyi	63
3.2.5. Kesme kutusu deneyi.....	63
3.2.6. Sızma hızı ile permeabilite tespiti	64
3.2.7. Kalsiyum karbonat yüzdesi deneyi.....	64
3.2.8. SEM (Scanning Electron Microscopy) analizi	65

3.2.9. EDS (Energy-Dispersive- X-ray Spectroscopy) ve çizgi profil analizi	67
3.2.10. XRD (X-ray Diffraction) analizi	67
3.2.11. Spektrofotometre analizi	68
3.2.12. Üre aktivitesinin belirlenmesi ve pH takibi.....	70
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	71
4.1. Sıvı Besiyerinin Seçimi	71
4.2. Uygulama Yönteminin Belirlenmesi.....	74
4.3. Serbest Basınç Deney Sonuçları.....	83
4.4. Kesme Kutusu Deney Sonuçları.....	98
4.5. Sızma Hızı Sonuçları.....	100
4.6. Permeabilite Deney Sonuçları	103
4.7. Kalsit Yüzdesi Sonuçları	105
4.8. Üre Aktivitesi ve pH Ölçüm Sonuçları	118
4.9. SEM (Scanning Electron Microscopy) Analiz Sonuçları	123
4.10. EDS (Energy-Dispersive- X-ray Spectroscopy) ve Çizgi Profili Analiz (Line Profile Analysis) Sonuçları	127
4.11. XRD (X-ray Diffraction) Sonuçları	139
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	145
KAYNAKLAR	150
ÖZGEÇMİŞ	157

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

a	İvme
\$	Dolar
%	Yüzde
μ L	Mikro litre
ATCC	Amerikan tıp kültür koleksiyonu
$^{\circ}$ C	Santigrat derece
cfu	Koloni oluşturabilen birim
CH	Yüksek plastisiteli kil
CIUC	İzotropik konsolidasyonlu drenajlı basınç testi
CL	Düşük plastisiteli kil
cm	Santimetre
cm^2	Santimetrekare
cm^3	Santimetreküp
dk	Dakika
EDS	Enerji dispersiv spektrum
et al	Ve diğerleri
g	Gram
HCl	Hidroklorik asit
IRB	demir redüksiyon bakterisi
Kg	Kilogram
kPa	Kilopaskal
m	Metre
M	Molar
m^3	Metreküp
mg	Miligram
MICP	Mikrobiyal aracılı kalsit çökmesi
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar

MPa	Mega paskal
OD600	Dalga boyu
pH	Suyun asit ve alkalitesini anlatan logaritmik ölçü birimi
rpm	Dakikada devir sayısı
SC	Killi kum
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SM	Siltli kum
sn	Saniye
SP	Kötü derecelenmiş kum zemin
SRB	sülfat redüksiyon bakterisi
UCS	Serbest basınç mukavemeti
UPB	üreaz pozitif bakterisi
USCS	Birleştirilmiş zemin sınıflandırma sistemi
v	Hacim
vd	Ve diğerleri
w	Kütle
XRD	X-ray kırınımı
µL	Mikro litre
µm	Mikro metre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kalsiyum karbonat biyo-mineralizasyonunun doğal yapıları.....	6
Şekil 2.2. Tek kalsit kristallerinin karşılaştırılması	7
Şekil 2.3. Biyo-aracılı zemin iyileştirme saha uygulamalarının şematik örneği	10
Şekil 2.4. Laboratuvar tesisat şeması.....	12
Şekil 2.5. Uygulama yapılan kum yüzeyinde oluşan kabuk	13
Şekil 2.6. Biyoçimentolama sonrasında kil kümesinin kalsit kristal kabuğu	34
Şekil 2.7. Kil kümesini kaplayan kalsiyum karbonat kabuğu.....	35
Şekil 2.8. 24 saatlik inkübasyon sonucunda farklı kültür ortamlarında oluşan kalsiyum karbonat çökmesi miktarları	38
Şekil 2.9. Farklı kültür ortamlarında 24 saatlik inkübasyon sonucunda oluşan kalsiyum karbonat çökmesine pH değerinin etkisi.....	39
Şekil 2.10. 24 saatlik inkübasyon sonucunda oluşan kalsiyum karbonat çökmesine farklı sıcaklıkların etkisi.....	40
Şekil 2.11. Deney ortamı	41
Şekil 2.12. Uygulama yapılan zeminlerin serbest basınç dayanımları	44
Şekil 2.13. Suların çekildiği kıyı, gelgit düzeyi ve diğer kıyılarda tipik kıyı/ırmak ağzı anatomisi görseli.....	45
Şekil 3.1. 1 ve 2 nolu kum zeminlere ait granülometri eğrisi	48
Şekil 3.2. Kullanılan zeminlere ait görsel a: 2 nolu kum zemin (dere kumu), b: 1 nolu kum zemin (ticari silis kumu)	49
Şekil 3.3. Yöntem	50
Şekil 3.4. Numune kalıplarının hazırlanması.....	51
Şekil 3.5. Deney düzeneği	52
Şekil 3.6. Kullanılan bazı kimyasallar	52
Şekil 3.7. pH cihazı.....	53
Şekil 3.8. Otoklav cihazı.....	54
Şekil 3.9. (a) TSB sıvı besiyeri, (b) TSB sıvı besiyerine bakteri eklendikten sonra kültür ortamı (48 saat 110 rpm çalkalayıcıda)	55
Şekil 3.10. Sıvı besiyeri pH ayarlanması	56

Şekil 3.11. Aseptik ortam	56
Şekil 3.12. Deney düzeneği	57
Şekil 3.13. Deney düzeneği	57
Şekil 3.14. Uygulama sonucu (a) kültür ortamı eklenmesi, (b) stok solüsyon eklenmesi ve altta görülebilen kalsiyum karbonat çökmesi, (c) kapta oluşan kalsiyum karbonat çökmesi, (d) Numune sonuçları	58
Şekil 3.15. Uygulama sonuçları (a) kültür ortamı verilen numuneler, (b) stok solüsyon eklenmesi sonucunda oluşan çökelti, (c) numune sonuçları	59
Şekil 3.16. Uygulama sonucu (a) sıvı besiyeri, (b) 48 saatlik kültür ortamı, (c) santrifüjde çökeltiletilen pellet, (d) uygulama sonucu	60
Şekil 3.17. Kalsit yüzdesi belirlenmesine ait deney görseli.....	65
Şekil 3.18. SEM çalışma prensibi	66
Şekil 3.19. Taramalı elektron mikroskobu.....	66
Şekil 3.20. X-ışını kırınım cihazı (Empyrean Series 2 X-ray Diffraction System)	68
Şekil 3.21. Spektrofotometre	69
Şekil 3.22. Spektrofotometre ölçüm prensip şeması.....	69
Şekil 4.1. Hazırlanan kültür ortamları (1 günlük durumu)	71
Şekil 4.2. Spektrofotometre analizi için hazırlanan tüpler.....	72
Şekil 4.3. Spektrofotometre cihazı.....	73
Şekil 4.4. Çizelge 3.3.'te detayları verilen uygulamaya ait fotoğraf	75
Şekil 4.5. Günlük sızma hızları (mL/sn).....	75
Şekil 4.6. Uygulama yapılan deney numunelerinin uygulama süresince günlük değişimlerine ait görseller	76
Şekil 4.7. Etüve yerleştirilen uygulama yapılmış zemin numuneleri	77
Şekil 4.8. Uygulama yapılan numunelere ait fotoğraf	77
Şekil 4.9. Serbest basınç deney sonuçları	79
Şekil 4.10. Uygulama yapılan 5 ve 6 nolu numunelerin serbest basınç deneyi sonucunda kırılan numunelere ait fotoğraflar	79
Şekil 4.11. Ön deney numuneleri kalsit analizleri	80
Şekil 4.12. Çizelge 3.4'te detayları verilen uygulamanın deney düzeneği.....	82
Şekil 4.13. 2 nolu kum zemin üzerinde yapılan uygulama sonucunda oluşan numuneler ve yapılan serbest basınç deneylerine ait görseller	84

Şekil 4.14. İyileştirilen 2 nolu kum zemin üzerinde yapılan serbest basınç deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği	85
Şekil 4.15. 2 nolu kum zeminler üzerinde 6 ve 11 günlük uygulama süresi sonrasında elde edilen serbest basınç mukavemetleri (akış hızı 0,266 mL/sn)	86
Şekil 4.16. 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan uygulama sonucunda oluşan numuneler ve yapılan serbest basınç deneylerine ait görseller	87
Şekil 4.17. 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan uygulama sonucunda oluşan numuneler ve yapılan serbest basınç deneylerine ait görseller	88
Şekil 4.18. 0,266 mL/sn akış hızı ile uygulama yapılarak iyileştirilen 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan serbest basınç deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği	89
Şekil 4.19. 0,40 mL/sn akış hızı ile uygulama yapılarak iyileştirilen 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan serbest basınç deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği	89
Şekil 4.20. 0,666 mL/sn akış hızı ile uygulama yapılarak iyileştirilen 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan serbest basınç deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği	90
Şekil 4.21. Farklı akış hızında uygulama yapılan 1 nolu kum zemin numunelerin 3, 6 ve 11 günlük serbest basınç mukavemetleri.....	92
Şekil 4.22. 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan magnezyum klorür uygulaması sonucunda oluşan numuneler ve serbest basınç deneylerine ait görseller ...	93
Şekil 4.23. Magnezyum klorür uygulamasında oluşan çökelti	94
Şekil 4.24. Magnezyum klorür ve kalsiyum klorür uygulanan numunelerde serbest basınç mukavemeti deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği.....	95
Şekil 4.25. Kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat uygulanarak iyileştirilen 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan serbest basınç deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği	96

Şekil 4.26. 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat uygulamaları sonucunda oluşan numuneler ve serbest basınç deneylerine ait görseller	97
Şekil 4.27. İyileştirilen ve iyileştirilmeyen 1 nolu kum zemin kesme kutusu deney sonuçları	98
Şekil 4.28. Uygulama yapılan zemin örnekleri.....	99
Şekil 4.29. 2 nolu kum zemin üzerinde deneyler esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri.....	100
Şekil 4.30. 1 nolu kum zemin üzerinde deneyler esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri.....	101
Şekil 4.31. 1 nolu kum zemin üzerinde kalsiyum klorür ve/veya magnezyum klorür uygulamasında deneyler esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri (akış hızı 0,400 mL/sn).....	101
Şekil 4.32. 1 nolu kum zemin üzerinde kalsiyum asetat kalsiyum nitrat uygulamalarında deneyler esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri (0,400 mL/sn)	102
Şekil 4.33. 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri	106
Şekil 4.34. 0,266 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri	107
Şekil 4.35. 0,40 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri	108
Şekil 4.36. 0,666 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri	108
Şekil 4.37. 2 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri	109
Şekil 4.38. 0,266 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 2 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri	110
Şekil 4.39. 0,40 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 2 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri	111
Şekil 4.40. 0,666 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 2 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri	111
Şekil 4.41. 1 nolu kum zeminde uygulama solüsyonu olarak kalsiyum ve/veya magnezyum klorür uygulanması durumunda oluşan kalsit yüzdeleri	112

Şekil 4.42. Magnezyum uygulaması sonucunda 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri	113
Şekil 4.43. 1 nolu kum zeminde uygulama solüsyonu olarak kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat uygulanması durumunda oluşan kalsit yüzdeleri	114
Şekil 4.44. Kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat uygulaması sonucunda 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri	114
Şekil 4.45. Üre aktivitesi deney sonuçları	119
Şekil 4.46. 2 nolu kum zemin numunelerinde uygulama süresince pH değişimi grafiği	121
Şekil 4.47. 1 nolu kum zemin numunelerinde uygulama süresince pH değişimi grafiği	121
Şekil 4.48. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum klorür ve/veya magnezyum klorür uygulanan 1 nolu kum zeminlerde iyileştirme süresince pH değişimi grafiği	122
Şekil 4.49. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum klorür ve kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum zeminlerde iyileştirme süresince pH değişimi grafiği	122
Şekil 4.50. Kür zamanı ile zeminin pH değişimi (Moravej <i>et al.</i> 2018).....	123
Şekil 4.51. 11 gün 0,400 mL/sn akış hızı uygulanan ve uygulama yapılmayan 1 nolu kum zemin numunesine ait SEM analiz görseli	125
Şekil 4.52. 11 gün 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunesine ait SEM analiz görseli	126
Şekil 4.53. 0,20 M MgCl ₂ + 0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi SEM analiz görseli	126
Şekil 4.54. Kalsiyum asetat uygulanan 1 nolu kum zemin SEM analiz görseli	126
Şekil 4.55. Kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesine ait SEM analiz görseli	127
Şekil 4.56. 11 gün 0,400 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları.....	128
Şekil 4.57. 11 gün 0,400 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları.....	129

Şekil 4.58. 11 gün 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunesi	
EDS sonuçları.....	130
Şekil 4.59. 11 gün 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunesi	
EDS sonuçları.....	131
Şekil 4.60. Uygulama solüsyonu olarak 0,20 M MgCl ₂ + 0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	
uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları	132
Şekil 4.61. Uygulama solüsyonu olarak 0,20 M MgCl ₂ + 0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	
uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları	133
Şekil 4.62. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum asetat uygulanan 1 nolu kum	
zemin numunesi EDS sonuçları	134
Şekil 4.63. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum asetat uygulanan 1 nolu kum	
zemin numunesi EDS sonuçları	135
Şekil 4.64. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum	
zemin numunesi EDS sonuçları	136
Şekil 4.65. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum	
zemin numunesi EDS sonuçları	137
Şekil 4.66. (a,b) biyolojik iyileştirilmiş kumun SEM mikrografı, (c) bakteriyel	
karbonat çökeliminin EDS spektrum analizi (Chen <i>et al.</i> 2016).....	138
Şekil 4.67. Uygulama yapılmayan 1 nolu kum zemin XRD sonuçları.....	139
Şekil 4.68. Uygulama yapılmayan 2 nolu kum zemin XRD sonuçları.....	140
Şekil 4.69. 11 gün 0,400 mL/sn akış hızı ile uygulama yapılan 1 nolu kum zemin	
numunesine ait XRD analizi sonuçları.....	141
Şekil 4.70. 11 gün 0,266 mL/sn akış hızı ile uygulama yapılan 2 nolu kum zemin	
numunesine ait XRD analizi sonuçları.....	141
Şekil 4.71. 0,20 M MgCl ₂ + 0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre uygulanan 1 nolu kum	
zemin numunesine ait XRD analizi sonuçları	142
Şekil 4.72. Kalsiyum asetat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesine ait XRD	
analizi sonuçları.....	142
Şekil 4.73. Kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesine ait XRD	
analizi sonuçları.....	143

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bakteri gruplarına bağlı mikrobiyal CaCO_3 oluşum mekanizmaları.....	8
Çizelge 2.2. Zeminlerde biyouygulama esasları	10
Çizelge 2.3. Literatürdeki bazı MICP çalışmalarından raporlar	43
Çizelge 3.1. Kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonunda kullanılan farklı sıvı besiyerleri.....	47
Çizelge 3.2. Zeminlere ait analiz sonuçları.....	48
Çizelge 3.3. Kültür ortamının zemine uygulanma şekilleri	61
Çizelge 3.4. Optimum akış hızı ve uygulama süresinin belirlenmesi için yapılan uygulamaların detayları	62
Çizelge 3.5. Farklı kalsiyum kaynakları ve magnezyum klorür uygulanması programı.....	63
Çizelge 4.1. Spektrofotometre analiz sonuçları	73
Çizelge 4.2. Uygulama yapılan zeminlerin serbest basınç deney sonuçları	83
Çizelge 4.3. 1 nolu kum zemin kesme kutusu deney sonuçları	99
Çizelge 4.4. Uygulama yapılan numunelerde permeabilite katsayısındaki yüzdelik azalmalar	103
Çizelge 4.5. Mikrobiyal üre hidrolizi kullanılarak oluşturulan kalsiyum karbonat için reaksiyon şartları	119

1. GİRİŞ

1.1. Amaç ve Kapsam

Son yıllarda endüstri, sanayi ve inşaat sektöründeki hızlı gelişmeler sonucunda imara yeni yerler açılmış, inşaat sahaları genişlemiş böylece zayıf zeminler üzerine yapılar inşa edilmek zorunda kalmıştır. Zayıf zeminler genellikle düşük dayanım ve yüksek sıkışabilirlik karakteristiklerine sahiptirler (Huat 2006; Ho and Chan 2011). 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 değiştirmesi, zeminlerin iyileştirilmesi gibi yöntemlere başvurulmuştur. 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. Portland çimentosu, kireç, asfalt, sodyum silikat ve diğer tekniklerin zemin iyileştirilmesinde başarılı oldukları kanıtlanmıştır (Reuben 2003; Basha *et al.* 2005). Ancak bu metotların kullanımı ile çoğu zaman zeminin pH seviyesi değişmekte, içerisindeki zehirli ve tehlikeli maddeler zemini ve yeraltı suyunu kirletmektedir (Reuben 2003; DeJong *et al.* 2006).

Zeminlerin iyileştirilmesinde bağlayıcı olarak çimentolar ve kimyasallar sıklıkla kullanılmış ve zeminlerin kesme dayanımında artış, su geçirgenliğinde düşüş sağlanmıştır. Ancak zemin iyileştirmede çimento ya da kimyasalların kullanımı masraflı ve zaman alıcıdır. Ayrıca afet azaltma önlemlerinin sınırlı bir bütçeyle daha büyük alanlarda uygulanabilmesi için daha uygun maliyetli zemin iyileştirme metotlarına ihtiyaç vardır. Örneğin Yeni Zelanda ve Japonya'daki deprem felaketlerinde görüldüğü gibi sivilaşma uzun zamandır büyük bir tehlike olarak tanımlanmaktadır. Fakat sivilaşma riskinin azaltılması için yapılan zemin uygulamaları deniz limanı, havalimanı gibi önemli yapılarda yürütülmektedir. Bunun nedeni sivilaşmanın engellenmesi için yapılan zemin uygulamalarının yüksek maliyetli olmasıdır. Sivilaşmayı azaltacak daha ucuz bir metot geliştirilebilir ise daha geniş ölçekte sivilaşma önleyici zemin uygulamaları yapılabilir ve

böylece sıvılaşma ile ilgili zararlı etkiler azaltılabilir. Zemin iyileştirmede kimyasalların ve çimentonun kullanımını azaltmak ve maliyetleri düşürmek için yeni ve sürdürülebilir yapı malzemelerine olan ihtiyaç kaçınılmazdır (Chu *et al.* 2015).

Bu kapsamda yeni ve sürdürülebilir bir konu olan mikrobiyolojik kalsiyum karbonat çökmesi ile zeminlerin iyileştirmesi alanında çalışmalar artmıştır. Kalsiyum karbonat çökmesi bakterilerin bazı biyolojik-kimyasal süreçler sonucunda kalsit oluşturmalarıdır. 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 iyileştirilebilmektedir.

Bu uygulamanın başlıca etkilerini, kum ve kilde sıklığın ve kesme dayanımının artırılması, kumda permeabilitenin düşürülmesi, killi zeminlerde sıkışabilirliğin azaltılması, kumlarda sıvılaşma direncinin artırılması şeklinde sıralayabiliriz (Li 2015). Biyolojik uygulamayı asıl etkileyen faktörler, birlikte olan kum partikülleri ile bakterilerin geometrik uyumluluklarıdır (Li 2015). Birçok uygulama kumlar için uygundur. Kil partiküllerinin boşluk boyutları çok küçük olduğundan bakteri hücrelerinin ulaştırılması kolay olmayacaktır (Li 2015).

Son çalışmalar birçok bakteri türü ile biyolojik çimentolanmanın yapılabildiğini göstermektedir (Li 2015). Bunlar üreaz pozitif bakteri (UPB), demir redüksiyon bakteri (IRB), nitrifiyan bakteri, oligotrofik bakteri, sülfat redüksiyon bakteri (SRB) ve kalsiyum fosfat çökmesi ile dimorf fitaz-aktif maya üretimidir (DeJong *et al.* 2006; Ivanov and Chu 2008; Chu *et al.* 2009; Roeselers and Van Loosdrecht 2010). Biyolojik çimentolanma ve biyolojik tıkanma için en etkili yöntemin mikrobiyal aracılı kalsit çökmesi (MICP) olduğu tanımlanmıştır. En yaygın olanı üreaz pozitif bakteriler (UPB)'dir (Li 2015).

Bu kapsamda çalışmamızda mikrobiyal aracılı kalsit çökmesi (MICP) yöntemi kullanılarak zeminlerin biyolojik olarak iyileştirilmesi amaçlanmıştır. Biyolojik iyileştirmeyi etkileyen birçok faktör olduğunu göz önünde bulundurarak çalışmamızda

farklı bakteri, uygulama şekli, uygulama süresi, akış hızı gibi birçok değişken kullanılmıştır. Bunlar arasında önemli olanlardan biri bakteridir. Çalışmamızda literatürde yaygın olarak kullanılan *Bacillus pasteurii* bakterisinden farklı olarak *Viridibacillus arenosi* bakterisi kullanılmıştır. Kullanmış olduğumuz bakteri biyolojik iyileştirmede en yaygın olan üreaz pozitif bakteri (UPB) niteliğindedir.

Bakteriden sonra diğer bir öneme sahip olan faktör zemin türüdür. Farklı zemin türleri farklı boşluk yapılarına sahip olacağından aynı uygulamada farklı sonuçlar verebilecektir. Bu nedenle çalışmamızda iki farklı dane çapı dağılım eğrisine sahip kum zemin seçilmiştir. Aynı rölatif sıklıkta yerleştirilen kum zeminler ile dane çapının uygulamaya etkisi de araştırılmıştır.

Biyolojik iyileştirmeyi etkileyen bir diğer etkende sıvı besiyeridir. Çalışmamızda farklı sıvı besiyerleri üzerinde spektrofotometre ile analizler yapılmış ve kültür ortamı için en uygun besiyeri belirlenmiştir.

Uygulamanın nasıl yapılacağı da biyolojik iyileştirmeyi etkileyen faktörlerden biridir. Zemine kültür ortamı ve stok solüsyon farklı şekillerde uygulanmıştır. Bakteri ve kültür ortamının uygulama şekli belirlendikten sonra farklı akış hızları ve farklı sürelerde uygulama solüsyonu verilmiştir. Böylece her iki zemin içinde optimum uygulama yöntemi belirlenmiştir. Ayrıca farklı kalsiyum kaynaklarının (kalsiyum klorür, kalsiyum nitrat, kalsiyum asetat) uygulama sonuçlarını nasıl etkilediği belirlenmiştir. Kalsiyum kaynağı haricinde magnezyum klorür de uygulanarak oluşan yapılar ve iyileştirmeye etkisi de incelenmiştir. Bu farklı uygulamalar sonucunda her bir zemin için optimum iyileştirme koşulları belirlenmiştir.

Uygulama sonucunda zemin numunelerinin geoteknik özelliklerini belirlemek amacıyla serbest basınç deneyi, kesme kutusu deneyi, permeabilite deneyi, biyolojik süreçlerin değerlendirilmesi ve oluşan kalsit miktarlarını belirlemek amacıyla spektrofotometre analizi, kalsit yüzdeleri, pH takibi, iyileştirme sonucunda oluşan yapıların

belirlenebilmesi amacıyla da SEM (Taramalı elektron mikroskobu), EDS (enerji dispersiv spektrum), Line Profil (izgi profil) ve XRD (X-ray kırınımı) analizleri uygulanmıştır.



2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Biyolojik Zemin İyileştirme Tekniği

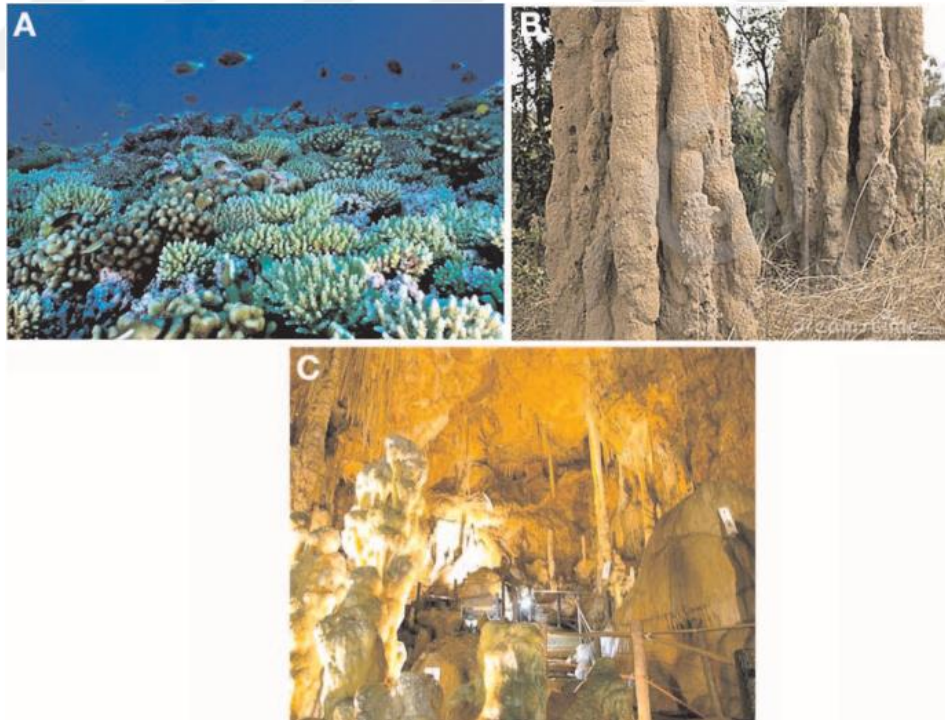
Biyolojik zemin iyileştirme tekniği bir diğer adıyla MICP (Mikrobiyal aracılı kalsit çökmesi), zemin iyileştirme tekniklerine yeni bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır. MICP tekniği kullanılarak yapılan çalışmalar günümüzde yoğun bir şekilde artış gösterse de geçmişte bu konu ile ilgili yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (Dapples 1942; Rhoads 1974; Mccall and Tevesz 1982; Meadows and Meadows 1991). Örneğin MICP ile kesme mukavemeti (Meadows and Tait 1989; Tufail *et al.* 1989; Meadows *et al.* 1990; Jones and Jago 1993), erozyon ve sedimentasyon modelleri (Grant *et al.* 1982; Meadows and Tufail 1986; Meadows *et al.* 1990) ve sediment permeabiliteleri değıştirilebilmiştir (Weaver and Schultheiss 1983; Meadows and Tait 1989; Meadows and Hariri 1991).

Yapılan çalışmalarda bakteriler kullanılarak kimyasal ve biyolojik bazı süreçler sonucunda zeminlerin iyileştirilmesi amaçlanmıştır. Bu süreçler doğada kendiliğinden olabildiği gibi biyolojik ve kimyasal araçları kullanarak yapay olarak da gerçekleşebilmektedir. Ayrıca bu tekniğin mevcut zemin iyileştirme tekniklerine göre birçok avantajı bulunmaktadır. Mikrobiyal zemin iyileştirmenin maliyetinin (0,5 \$ - 9 \$/m³) kimyasal enjeksiyon tekniğine (2\$ - 72\$ /m³) göre oldukça ucuz olduğu belirtilmiştir (Ivanov and Chu 2008) . Mikroorganizmaların doğada bol miktarda olması ve yeniden üretilebilmesinin kolay ve düşük maliyetli olmasından dolayı sürdürülebilir bir tekniktir. Mikrobiyal biyoteknoloji ile mevcut bazı yapım süreçleri daha basit bir şekilde uygulanabilecektir. Örneğin biyoçimento ya katı ya da sıvı formda olabilmektedir. Sıvı formda biyoharç daha düşük viskositeye sahiptir ve su gibi akabilir. Bundan dolayı çimento ve kimyasallarla karşılaştırıldığında zemin içerisine dağıtımı daha kolaydır. Ayrıca çimento kullanımında tam dayanıma ulaşılması haftalar alabilirken biyoçimento kullanıldığında eğer istenirse reaksiyon süresi kısaltılabilmektedir (Chu *et al.* 2015). MICP kullanılarak yapılan iyileştirme yemyeşil, sürdürülebilir ve doğa dostu bir teknik olarak bize iyi bir gelecek vaat etmektedir (Sharma and Ramkrishnan 2016).

2.1.1. Biyomineralizasyon ve mikrobiyal CaCO_3 oluşum mekanizmaları

Bu kısımda zeminlerin biyolojik iyileştirmesi ile ilgili olarak doğal ve yapay biyolojik süreçler, kullanılan metotlar ve bu metotlarla zeminlerin hangi özelliklerinin iyileştirilebileceği literatürdeki mevcut çalışmalardan yola çıkılarak açıklanmaya çalışılmıştır.

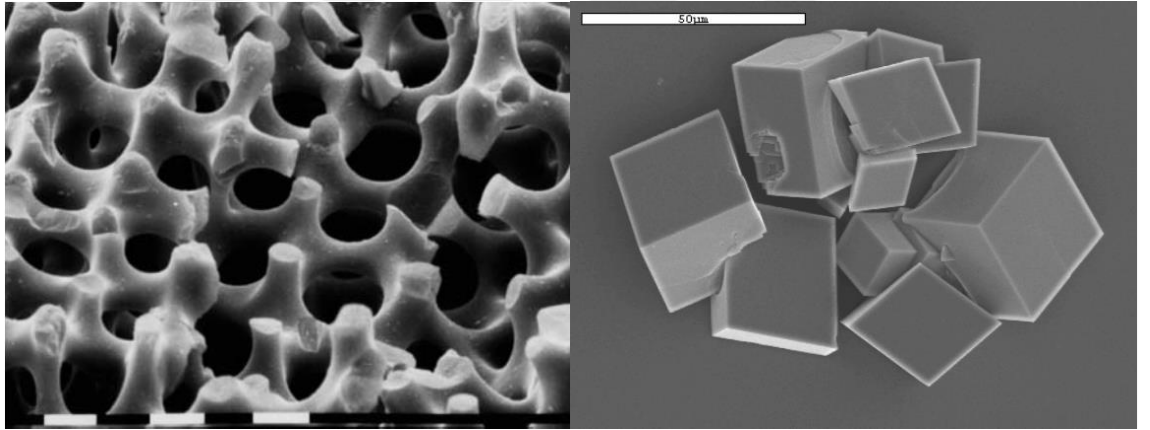
Çevremize bakındığımız zaman sabit bir düzende olsun ya da olmasın güzel mercanlar, karınca tepelikleri, mağaralar, yumuşakça deniz kabukları, dişler, kemikler ya da kayalar gibi biyominerallerin etrafımızı kapladığını görürüz (Şekil 2.1). Yerküre etrafındaki araştırmacıların yeni odağı bu biyomineraller farklı alanlardaki teknik uygulamalarda kullanılmaktadır. Biyomineralizasyon yaşayan organizmalar tarafından minerallerin üretim sürecidir (Reddy 2013).



Şekil 2.1. Kalsiyum karbonat biyo-mineralizasyonunun doğal yapıları
(A) mercanlar, (B) karınca tepeleri, (C) kireç taşı mağaraları (Reddy 2013)

Biyomineralizasyona ait ilk kitap 1924 yılında Alman Schmidt (Schmidt 1924) tarafından yayınlanmış ve bu konu kendini bu işe adayan bilim adamları topluluğunun uzun yıllar ilgisini çekmiştir. 1980’lerin başlarına kadar bu alan biyolojik olarak oluşan kalsiyum-içeren minerallerin hâkimiyetini yansıtan “kalsifikasyon” olarak bilinmekteydi. Gitgide artarak başka katyonlar içeren biyojenik minerallerin keşfi ile birlikte bu alan “biyomineralizasyon” olarak anılmaya başlandı (Weiner and Dove 2003).

Kontrollü koşullar altında oluşan biyomineral fazlar çoğunlukla, inorganik olarak oluşan benzerlerine karşın şekil, boyut, kristallik, izotop ve iz gibi element kompozisyonları özelliklerine sahiptir. Biyomineral terimi tüm bu karmaşıklığı yansıtır. Şekil 2.2’de sentetik tek kristalli kalsit ile bir ekinoderm tarafından oluşan tek kalsit kristalinin karşılaştırılması gösterilmiştir (Weiner and Dove 2003).



Şekil 2.2. Tek kalsit kristallerinin karşılaştırılması
(solda) ekinoderm stereomu (sağda) sentetik olarak oluşan rombohedral formlar (Weiner and Dove 2003)

Bakteri gruplarına bağlı olarak farklı mikrobiyal CaCO_3 oluşum mekanizmaları bulunmaktadır. Bunları fotosentetik mikroorganizmalar tarafından siyanobakteriyel fotosentez, sülfat indirgeyen bakteriler tarafından sülfat indirgenmesi, nitrat indirgeyen bakteriler tarafından denitrifikasyon, amonifikasyon ve ürolitik bakteriler tarafından gerçekleştirilen üre hidrolizi olarak sıralayabiliriz (Yıldırım vd 2016). Bakteri gruplarına bağlı farklı mikrobiyal kalsiyum karbonat oluşum mekanizmaları Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Bakteri gruplarına bağlı mikrobiyal CaCO_3 oluşum mekanizmaları (Yıldırım vd 2016)

Bakteri Grubu	Bakteri Çeşitleri	Metabolizma	Reaksiyon	Yan Ürün
Siyanobakter ve Alg	<i>Nostoc calcicola</i>	Fotosentez	$2\text{HCO}_3^- + \text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{CH}_2\text{O} + \text{CaCO}_3 + \text{O}_2$	$\text{O}_2, \text{CH}_2\text{O}$
	<i>Oscillatoria willei</i>			
	<i>Anabaena cycadae</i>			
Ürolitik Bakteriler	<i>Bacillus pasteurii</i>	Üre hidrolizi	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{Ca}^{2+} + \text{Cell} \rightarrow 2\text{NH}_4^+ + \text{Cell-CaCO}_3$	NH_4^+
	<i>Bacillus sphaericus</i>			
	<i>Bacillus megaterium</i>			
Nitrat İndirgeyen Bakteriler	<i>Diaphorobacter nitroreducens</i>	Denitrifikasyon	$\text{CH}_2\text{COO}^- + 2,6\text{H}^+ + 1,6\text{NO}_3^- \rightarrow 2\text{CO}_2 + 0,8\text{N}_2 + 2,8\text{H}_2\text{O}$ $\text{Ca}^{2+} + \text{CO}_{2(\text{aq})} + 2\text{OH}^- \rightarrow \text{CaCO}_{3(\text{s})} + \text{H}_2\text{O}$	$\text{CO}_2 + \text{N}_2$ $\text{NO} + \text{N}_2\text{O}$
	<i>Nitrosomonas</i> türleri			
	<i>Nitrobakter</i> türleri			
Miksobakteriler	<i>Myxococcus xanthus</i>	Amonifikasyon	$\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$ $\text{Ca}^{2+} + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{H}^+$	NH_3
Sülfat İndirgeyen Bakteriler	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Sülfat İndirgenmesi	$\text{SO}_4^{2-} + 2[\text{CH}_2\text{O}] + \text{OH}^- + \text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{HS}^-$	CO_2 HS^-
	<i>Desulfobacterium autotrophicum</i>			

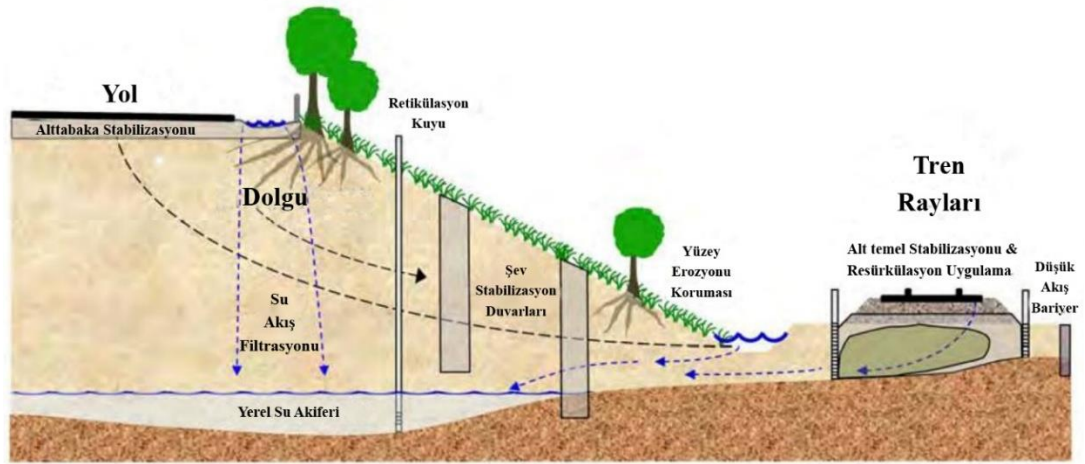
2.1.2. Biyomineralizasyon ile zeminlerin iyileştirilmesi

Son yıllarda biyomineralizasyon ile zeminlerin iyileştirilmesi konusunda yapılan çalışmalar artış göstermektedir. Biyo-jeo-kimyasal prosesler kullanılarak zeminlerin fiziksel özellikleri (yoğunluk, gradasyon, porozite, doygunluk), iletim özellikleri (hidrolik, elektrik, termal), mekanik özellikleri (sıkılık, genleşme, sıkışabilirlik, şişme/büzülme, kohezyon, çimentolama, sürtünme açısı, erodibilite ve zemin-su karakteristik eğrisi) ve kimyasal bileşimi (tamponlama, reaktivite, katyon değişim kapasitesi) gibi mühendislik özellikleri geliştirilebilir (DeJong *et al.* 2014).

Biyolojik iyileştirme tekniği buradakilerle sınırlı olmamakla birlikte aşağıdaki konuları içermektedir (DeJong *et al.* 2010):

- Sıvılaşmanın engellenmesi: yeraltının çimentolanması ile sıvılaşmaya ve bundan doğacak zararlara engel olmak
- Yapılarda oturmanın azaltılması: Oturmanın azaltılması ve temellerin taşıma kapasitesinin artırılması
- Baraj ve set güvenliği: Uukarı akıntı enjeksiyon tekniği ile erozyon borulamasının önlenmesi
- Tünel açma: Tünel açmadan önce zemin stabilizasyonu ile parçalanmanın azaltılması ve verimliliğin artırılması
- Aşınma/erozyon engellenmesi: Su akışının erozif kuvvetlerine karşı uygulama ile mukavemet artışı
- Kayalık ve şev stabilizasyonu: Uygulama ile kusurların önüne geçebilmek için ilave dayanım sağlanması
- Geçirimsiz bariyerler: Bariyerler ile kirli maddelerin yeraltına taşınmasını durdurma/yönlendirme
- Reaktif bariyerler: Yeraltı suyunun akışını bariyerler oluşturarak iyileştirme / temizleme fırsatı
- Yer altı suyu koruması: Akiferler kirlenmeden önce materyallerin hareketsiz hale getirilmesi için yapılan uygulama
- Acil hareketsizleştirme: Kirletici maddelerin tehlikesinden hızlı bir şekilde korunma,
- Akifer depolama ve iyileştirme: Uygulama ile akiferlerde depolamanın artırılması ve kayıpların azaltılması
- Enerji (yakıt) birikimi: Sıvılaşmış doğal gazın depolanması için yeraltı tesisleri oluşturmakta kullanılması
- Karbon birikimi: Karbonun depolanması için yeraltı tesisleri oluşturmakta kullanılması.

Öngörülen uygulamalar şematik olarak Şekil 2.3'te belirtilmiştir (DeJong *et al.* 2014).



Şekil 2.3. Biyo-aracılı zemin iyileştirme saha uygulamalarının şematik örneği (DeJong *et al.* 2014)

Bakteri grupları kullanılarak oluşan bu biyoteknolojik yapıların uygulama sonuçlarına göre sınıflandırılması Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Zeminlerde biyoygulama esasları (Stabnikov *et al.* 2015)

Biyoygulama süreç türü	Zemin partikülü yada yapı malzemesi (koyu renk) uygulama sonrası oluşan bağlayıcı madde (gri renkli)
Zeminlerde biyoagregasyon - zemin partiküllerinin boyutlarının artmasıyla zemin erozyonunun ve toz yayımının azalması	
Biyokabuklanma - zemin üzerinde oluşan kabuktan dolayı rüzgar ve su erozyonu, toz yayımı ve su sızdırması düşürülebilir	
Biyokaplama - katı cisim üst katmanında oluşan yüzey ile korozyondan koruma, kolonizasyon yada yüzey estetiği geliştirilebilir.	
Biyotkama - çatlaklı kayaç zemindeki boşlukların ve kanalların dolmasıyla zeminlerin yada çatlaklı kayaçların hidrolik iletkenliği önemli derecede düşürülebilir.	
Biyoçimentolanma - zemin partiküllerinin bağlanmasıyla zeminlerin dayanımının önemli derecede artması.	
Doygun zeminde kısmi biyodesaturasyon - biyogaz kabarcıklarının mahallinde üretimi ile zeminlerin doygunluğunun ve sıvılaşma potansiyelinin düşürülmesi.	
Biyokapsüllenme - yumuşak killi zeminlerde, doygun gevşek zeminlerde, akıcı kumlarda, bataklık (drene edilmiş bataklık) zeminlerde dayanım artışı	
Biyoremediasyon - inşaat öncesinde zemin kirliliği için biyobozunma yada biyoimmobilizasyon	

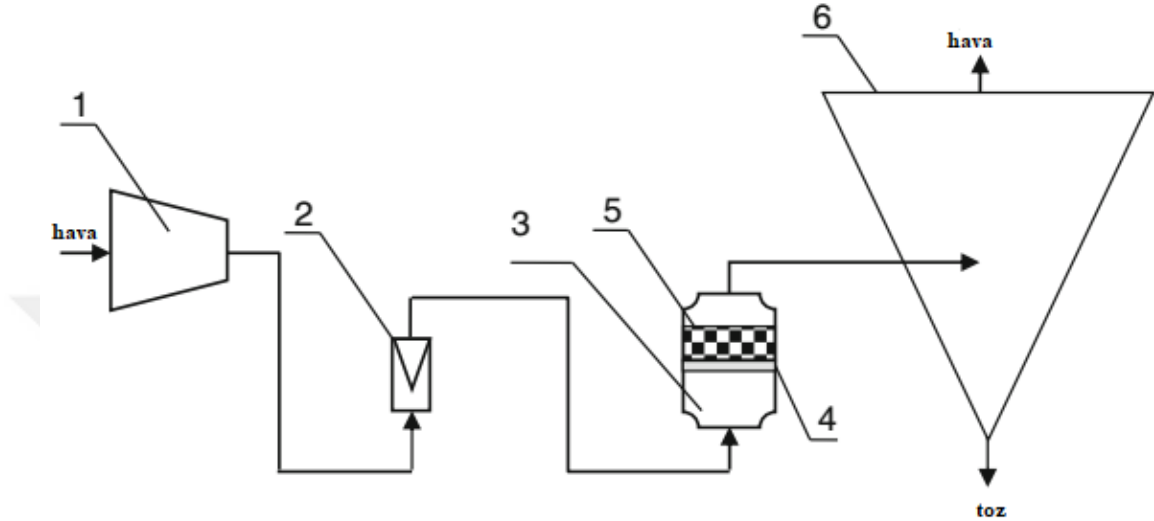
Çizelge 2.2’de verilen bu farklı uygulamalar ile ilgili literatürde mevcut çalışmalara aşağıda değinilmiştir.

Biyoagregasyon: Stabnikov *et al.* (2013) yapmış oldukları çalışmada biyoagregasyon tekniğini kullanarak kum tozunun ve bununla ilişkili kirleticilerin bloke edilmesi üzerine araştırma yapmışlardır. Bakteri olarak *Bacillus* sp. VS1 sıvı besiyeri olarak Tryptic Soy Broth Bacto 30 g/L, üre 20 g/L, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 12 mg/L, $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 24 mg/L, phenol red 10 mg/L kullanmışlardır. Biyoçimento sıvısı olarak 0,375 M (41,2 g/L) kalsiyum klorür ve 0,75 M (45 g/L) üre ve zemin olarak da 2,65 özgül ağırlığa sahip %98,9 silika içeren Graded Ottawa kumu kullanılmıştır. Kullanılan kum partiküllerin boyutları 1,180 μm ile 150 μm arasındadır. İnce kum oluşturmak için 200 g kum gezegen bilyeli değirmenine yerleştirilmiş ve 3,5 saat süre ile 200 rpm hızında çevrilmiştir. Kum tozu oluşturmak için kullanılan ince kumun ortalama (hacim ağırlığı) büyüklüğü 12 μm ’dur ve bu parçacıkların %90’ı (d_{90}) 29 μm dan küçüktür. Yapay kimyasallar ve mikrobiyal kirleticiler kullanılarak kum tozuna absorbe edilen kirleticilerin uygulamada ve kontrollerde hareketi değerlendirilmiş ve biyoçimentolanma sonrasında tipik zemin kirleticilerin akıbetinin ne olduğu incelenmiştir. Yapay olarak kumun kirletilmesinde kullanılan kimyasal ve biyolojik maddeler şunlardır:

- zemin kirletici patojen olarak *Bacillus megaterium*,
- hidrofobik petrokimyasallarla zemin kirliliği modellemesi (saf asetik asit içerisinde 6 g/L phenantherene solüsyonu)
- ağır metallerle zemin kirliliği modellemesi (su içerisinde 9,6 g/L içeren kurşun nitrat çözeltisi).

Kumun yapay olarak kirletilmesinde saf asetik asit içerisinde phenantherene içeren 20 mL solüsyon 50 g ince kuma eklenmiş ve numune 30°C sıcaklıkta 1 gün kurutulmuştur. Sonrasında bu örneğe 20 mL kurşun nitrat solüsyonu eklenmiş ve 30°C sıcaklıkta 1 gün kurutulmuştur. Sonraki gün aynı örneğe 20 mL *Bacillus megaterium* süspansiyonu eklenmiş ve 30°C sıcaklıkta 1 gün kurutulmuştur. Sonunda absorbe olmayan kirleticilerin

ayrışması için örnek 500 mL saf suda 100 rpm hızda çalkanmıştır. Solüsyon ince kumun çökmesinden sonra dökülmüş ve 30°C sıcaklıkta 1 gün kurutulmuştur.



Şekil 2.4. Laboratuvar tesisat şeması

1, hava kompresörü; 2, akış ölçer; 3, toz odası; 4, selüloz zarı; 5, kum tozu; 6, siklon (Stabnikov *et al.* 2013)

Uygulamada kullanılan laboratuvar tesisat şeması Şekil 2.4'te görülmektedir. Toz odasında iki adet kontrol ve iki adet deneysel numune vardır. 1. olarak su, 100 μ L, ince kum kontrolünde eklenmiştir 2. olarak ise su içerisinde bir miktar *Bacillus sp.* VS1 bakteriyel süspansiyonu, 50 μ L, ince kuma eklenmiş ve bir saat sonra kalsiyum klorid ve üre solüsyonu, 50 μ L, ince kuma eklenmiştir. Toz oluşum testine sonraki gün başlanmıştır. Sonuç olarak ince kuma yapılan biyolojik uygulama sonrasında kum tozunun ve onun yapay kirleticilerinin atmosfere salınması kontrol numunelerine kıyasla toz için %99,8, phenantherene için %92,7, kurşun nitrat için %94,4 ve *Bacillus megaterium* bakteriyel hücreleri için %99,8 oranında azalmıştır. Bu toz ve toz kirleticilerin bloke edilmesi ince kum partiküllerinin biyoagregasyonu sayesinde elde edilmiştir. Biyoagregasyon sonrasında kum tozu partiküllerinin boyutları kontroldeki 29 μ m boyuttan 181 μ m boyuta çıkarılmıştır. Zemin yüzeyinde biyoagregasyon uygulamasının, toz ve tozla ilişkili kimyasal ve bakteriyolojik kirleticilerin su, hava ve toprakta dağılmasını önlemek için yararlı bir yöntem olabileceğini belirtmişlerdir.

Biyokabuklanma: Stabnikov *et al.* (2011) yapmış oldukları çalışmada kalsiyum tabanlı biyoçimentolama ile kum zemin üst katmanında geçirimsiz bir tabaka oluşturmaya çalışmışlardır. Bakteri olarak *Bacillus sp.* VS1 kullanmışlardır. Uygulama sonucunda zemin yüzeyinde 1 mm kalınlığında ince ve yoğun bir kabuk oluşmuştur (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Uygulama yapılan kum yüzeyinde oluşan kabuk (Stabnikov *et al.* 2011)

Kum yüzeyine cm^2 de 0,6 g kalsiyum uygulanmış ve yüzeyde oluşan kabuk yapısından dolayı biyoçimentolanmış kumun permeabilitesi 10^{-4} m/s'den $1,6 \cdot 10^{-7}$ m/s (yada 14 mm/gün) değerine düşürülebilmektedir. Oluşan kabuğun eğilme dayanımı (maksimum eğilme gerilmesi) 35,9 MPa olarak belirlenmiştir. Su geçirmez ve mekanik olarak güçlü olan biyoçimentolanmış bu kabuk yapısı ile su ürünleri havuzları yapımı için bir yöntem, kumlu zemin yamaçlarında stabilizasyon, kum tepeleri, çöl alanlarında toz tutma ve kumlu zemin kanallarında ve su depolarında geçirimsizlik sağlanabileceği belirtilmiştir.

Biyokaplama: De Muynck *et al.* (2008) 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 gün kürde bekletilmiştir. Gaz permeabilitesi deneyi için 1200 x 700 x 50 mm boyutlarında beton tabakadan H=50 mm D=150 mm olacak şekilde silindirik şekilde delinerek prizmalar elde edilmiştir. Mikroorganizma olarak *B. spheericus* kullanılmıştır. Bakteri ile yapılan uygulamanın geleneksel yüzey uygulamalarıyla karşılaştırılabilmesi için su tutucu ve kaplama özelliği olan başka materyallerde 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.

Biyotıkanma: Ivanov *et al.* (2012) yapmış oldukları çalışmada zeminlerin biyolojik iyileştirilmesinde biyolojik tıkanma üzerine araştırma yapmışlardır. Zemin olarak 2,65 özgül ağırlığa sahip ASTM C778 standart kumu (0,42 mm tane çapına sahip yuvarlak taneli silika kumu) bakteri olarak da *Bacillus* sp. VS1 kullanılmışlardır. Kalsiyum esaslı biyoharç içeriğinde (1) *Bacillus* sp. VS1 süspansiyonu; (2) 82,5 g/L (final konsantrasyonu 0,75 mol/L) kalsiyum klorür ve 90 g/L üre (final konsantrasyonu 1,5 mol/L) bulunmaktadır. Demir esaslı biyoharç içeriğinde ise (1) *Bacillus* sp. VS1 süspansiyonu; (2) 36,7 g/L (final konsantrasyonu 0,1 mol/L) etilen-diamino-tetraasetik-asit (EDTA) ferrik monosodyum (BDH Laboratory Supplies, England), pH 4,8, 9 g/L (final konsantrasyonu 0,15 mol/L) üre ve enjeksiyon öncesinde solüsyonu pH 6,0 değerine ayarlamak için NaOH (final konsantrasyonu 4,5 mol/L) bulunmaktadır. Kalsiyum esaslı biyoenjeksiyon uygulamasında 50 mL şırınga 50 mL kumla doldurulmuş ve öncelikle 25 mL bakteriyel süspansiyon bu şırıngaya aşağıdan yukarıya doğru enjekte edilmiştir. Şırınganın iç çapı 27 mm'dir. Şırıngadaki kum 2 saat inkübasyona tabi tutulduktan sonra

alt kısımdan yerçekimi vasıtasıyla boşaltılmıştır. Sonrasında 25 mL saf su ile yıkanarak kültür sıvısının artıkları uzaklaştırılmıştır. Yıkama sonrasında 82,5 g/L (0,75 mol/L) kalsiyum klorür ve 90 g/L (1,5 mol/L) üre içeren 25 mL solüsyon aşağıdan yukarıya doğru enjekte edilmiştir. Kalsit kristallerinin 24 saatlik inkübasyonu sonrasında geri kalan kısım yerçekimi vasıtasıyla drene edilmiştir. Demir esaslı uygulamada da benzer şekilde uygulama yapılmış ve sonuçları incelenmiştir. Uygulama yapılmamış kumda geçirimsizlik $5,1 \times 10^{-4}$ m/s olarak hesaplanmıştır. Kalsiyum içeriğinin %1,24 w/w olduğu uygulama yapılmış kum zeminde geçirimsizlik katsayısı $1,6 \times 10^{-7}$ m/s iken demir esaslı uygulamada çökelen demir içeriği %0,35 (F, % w/w) olan uygulama yapılan zeminde geçirimsizlik katsayısı $2,7 \times 10^{-6}$ m/s değerine düşmüştür.

Chu *et al.* (2012) yapmış oldukları çalışmada biyolojik iyileştirmenin zemin yüzeyinde ve içerisindeki gelişimini gözlemlemişlerdir. Tropikal plaj kumundan elde edilen (UPB) VS1 üreaz aktivitesi olan bakteri kullanmışlardır. Sıvı besiyeri olarak Tryptic Soya Broth DIFCO™ 30 g/L, üre 20 g/L, NaCl 10 g/L, MnSO₄.H₂O 12 mg/L, NiCl₂.6H₂O 24 mg/L kullanmışlardır. Besiyerin 4.5 L yararlı hacimde 30°C sıcaklıkta ve 3 L/dk oranında içerisine hava katılarak 48 saat inkübasyonu yapılmıştır. %0,2 (v/v) oranında köpüklenme önleyici katkı olarak palm yağı kullanılmıştır. Kültür ortamının final konsantrasyonundaki kütlesi 8 g kuru biyokütle/L'dir. Biyolojik çimentolanma reaktifleri kalsiyum tuz solüsyonu, üre solüsyonu, pH buffer veya üreaz üreten bakteri ya da üreaz solüsyonu içermektedir. Bu solüsyonları zemin içerisine, zemin üzerine veya zeminden süzülerek, eş zamanlı olarak ya da sıralı olarak uygulamışlardır. MICP için aşağıdaki reaktifler kullanılmıştır: (a) 1N HCl ile bakteri süspansiyonu pH 7.0 a nötrlenmiş ve final konsantrasyonu 10 g/L olacak şekilde CaCl₂ ile karıştırılmıştır; (b) solüsyon 0.75 M CaCl₂ (82 g/L) ve 1.5 M üre (90 g/L) içermektedir ve 1N HCl ile pH 7,0'a ayarlanmıştır. MICP için plastik deney şişesi içerisine dane boyutları 0,6 ile 1,2 mm arasında olan 1 litre zemin doldurulmuştur. Sonrasında 6 sefer uygulanmak üzere şu prosedür izlenmiştir: (1) 1,5 saat bakteri süspansiyonu zemine eklenmiştir; (2) sıvı kumdan süzülmüştür; (3) kalsiyum klorür ve üre solüsyonu 12 saat eklenmiştir; (4) sıvı kumdan süzülmüştür. MICP'nin birinci usulünde kalsiyum klorür ve üre solüsyonu seviyesi kum yüzeyinden düşüktür. Diğer usulde ise kalsiyum klorür ve üre solüsyonu seviyesi zemin yüzeyinden

2 cm yukarıda tutulmuştur. Numuneler üzerinde, üreaz aktivitesi, SEM analizi, eğilme mukavemeti, kalsiyum konsantrasyonu ve içeriği, sızma hızı analizlerini yapmışlardır. MICP süreci sonunda kum içerisinde kalsiyum kaynağının yaklaşık %95-98'i çökelmiştir. Sıvı seviyesinin kum yüzeyinin üzerinde olan uygulamada MICP sonucunda kalsiyum çökmesi çoğunlukla üst tabakada gerçekleşmiş ve kalsit kabuk şeklinde oluşmuştur. Bu kalsiyum içeriğinin nasıl dağıldığının bir göstergesi olmuştur. Kalsiyum karbonat içeriği kabukta %21 kabuğun altındaki zeminde ise %5.6 (w/w) bulunmuştur. Bu şekildeki MICP uygulamasında zemin kütleindeki kalsiyum ile kabuktaki kalsiyumun oranı 1,25 olmuştur. Bu şekilde yapılan uygulama 6 kez tekrar edildiğinde zemin yüzeyinde çökelen kalsiyum miktarı 0.6 g/cm^2 olarak bulunmuştur. MICP uygulamasında sıvı seviyesi zemin yüzeyinden aşağıda olduğu durumda, kalsiyum içeriği derinliğe bağlı olarak %4.3 ile %1.8 arasında olsa da neredeyse her derinlikte kalsiyum karbonat çökmesi gerçekleşmiştir. Çökelen kalsiyum kristalleri yüzeyde küçük kristaller şeklinde olmuştur. 6 kez tekrar sonunda kalsiyum çökmesi miktarı 0.15 g/cm^2 bulunmuştur. Bu sonuçlar kum katmanının üzerinde oluşan kalsit kabuğunun yapısının yüzey üzerindeki kalsiyum katmanına bağlı olduğunu göstermiştir. Altı kez uygulama sonucunda permeabilitenin $1.6 \times 10^{-7} \text{ m/s}$ (ya da 14 mm/d) düştüğünü belirlemişlerdir. Yüzeydeki MICP sonucu eğilme mukavemeti değeri 35,9 MPa olarak ölçülmüştür.

Biyoçimentolanma: Lee *et al.* (2013) yapmış oldukları çalışmada *Bacillus megaterium* bakterisini kullanarak zemin iyileştirmeyi amaçlamışlardır. Sıvı besiyeri içeriğinde 5 g/L peptone, 5 g/L sodyum klorid, 2 g/L yeast extract ve 1 g/L beef extract bulunmaktadır ve pH 7 olarak ayarlanmıştır. İnkübasyon 37°C sıcaklıkta ve 200 rpm hızında gerçekleştirilmiştir. Kullanılan zemin içeriğinde %0 çakıl, %38 kum, %43 silt ve %19 kil bulunmaktadır. Zemin 50 mm çapında ve 150 mm yüksekliğinde çelik kalıp içerisine yerleştirilmiştir. Yeterli miktarda su ve inkübasyona koyulan bakteri ile zemin önce karıştırılmış ve sonra kalıba kuru yoğunluğu 1519 kg/m^3 olacak şekilde yerleştirilmiştir. Kalıp içerisinde akışta düzensizlik ve tıkanma olmaması için zeminin üst ve alt kısmına 10 mm kalınlığında çakıl katmanı yerleştirilmiştir. Kalsit içeriği deneylerinde akış basıncının 0,2 bardan 1,1 bara yükselmesiyle kalsit içeriğinin %2,31'den %2,64'e yükseldiği görülmüştür. Ancak basıncın 2 bara yükseltilmesiyle kalsit içeriğinde

%1,36'lık bir düşüş olduğu görülmüştür. 0,5 M çimentolanma reaksiyonunda 0,25 M'a göre daha yüksek kalsit oluşumu görülmüştür. 1,1 bar basınçla oluşan numunelerde 0,2 bar basınçla oluşturulan numunelere nazaran daha yüksek kalsit içeriği bulunmasına rağmen stres deformasyon grafiklerinde 0,2 bar basınçla oluşturulan numunelerin 1,1 bar basınçla oluşturulan numunelere göre daha yüksek dayanım gösterdiği görülmüştür.

Kalantary and Kahani (2015) yapmış oldukları çalışmada mikrobiyal kalsiyum karbonat çökmesi ile kumlu zeminleri iyileştirmeyi amaçlamışlardır. Reaksiyon hızının kontrolünü değerlendirebilmek amacıyla iki farklı sıvı besiyeri ve farklı ortam şartları kullanılmıştır. Bakteri aktivitesini ölçebilmek için iletkenlik metodunu ve oluşan yapının kompozisyonunu belirleyebilmek için de X-ray kırınımı (XRD) analizini kullanmışlardır. Çalışmada bakteri olarak *Sporosarcina pasteurii* (PTCC=1645), sıvı besiyeri olarak YE-1 (20 g/L Yeast Extract, 10 g/L NH₄Cl, 10 mM NiCl₂, pH 8,0) ve Caso-1 (15 g/L Peptone casein, 5 g/L Pepton soymeal, 5 g/L NaCl, 20 g/L Urea, pH 8,5) kullanılmıştır. Caso-1 kültür ortamı çökelti oluşumunun %50'lik kısmına YE-1 sıvı besiyerine göre 1,5 kat daha erken ulaşarak 1 saatte tamamlamıştır. Serbest basınç mukavemeti deneyi sonucunda 100-400 kPa'a kadar mukavemet elde edilmiştir. XRD sonuçlarında kalsit vaterit ve aragonit oluşumları tespit edilmiştir.

Lin *et al.* (2015) yapmış oldukları çalışmada *Sporosarcina pasteurii* bakterisini kullanarak farklı zeminlerde farklı CaCl₂ konsantrasyonları üzerinde denemeler yaparak zeminin mekanik davranışlarını analiz etmişlerdir. Bakterilerin gelişmesinde Tris buffer (500 mL saf su içerisinde 7,6 g Tris hydrochloric acid, 54,7 g Tris base) ve Growth medium (10 g Yeast extract, 5 g Ammonium sulphate in 500 mL 0,13 M Tris buffer pH 9,0) kullanılmıştır. Ottawa 50/70 ve Ottawa 20/30 olmak üzere iki çeşit zemin kullanılmıştır. Üç eksenli deney numunelerini 72 mm çapında 145 mm yüksekliğinde hazırlamışlardır. Zemin numunelerine kimyasal ve bakteri solüsyonları peristaltik pompa vasıtasıyla alt kısımdan ve 10 mL/dk akış hızında verilmiştir. 0,1 M CaCl₂ uygulanan zeminlerde S dalgası hızı 50/70 kumda 1,8 kat ve 20/30 kumda 2,6 kat artış göstermiştir. P dalgası hızı da 50/70 kumda %8,7 artış gösterirken 20/30 kumda %10,5 artış göstermiştir. Konsolidasyonlu drenajlı deneylerde uygulama yapılmamış numunelere

nazaran 50/70 kumda %93, 20/30 kumda %171 dayanım artışı görülmüştür. 0,3 M CaCl_2 uygulanan 50/70 kumda uygulama yapılmamış numunelere nazaran S dalgası hızı 5,5 kat, P dalgası hızı ise %10,1 artış göstermiştir. Yanal yer değiştirmesi engellenmiş basınç deneyinde 50/70 kumda 0,1 M CaCl_2 solüsyonunda %1,4; 0,3 M CaCl_2 solüsyonunda %2,6 CaCO_3 , 20/30 kumda 0,1 M CaCl_2 solüsyonunda %0,6; 0,3 M CaCl_2 solüsyonunda %1,6 CaCO_3 içeriği tespit edilmiştir. S dalgası hızları ile CaCO_3 içeriği arasında doğrudan bir ilişki bulunamamasına rağmen S dalgası hızı arttıkça CaCO_3 içeriği de artmıştır.

Li *et al.* (2015) yapmış oldukları çalışmada biyolojik olarak iyileştirilmiş zeminlere belirli oranlarda fiber katkısı yaparak sonuçlarını analiz etmişlerdir. Bakteri olarak *Sporosarcina pasteurii* ve zemin olarak üniform Ottawa silika kum kullanmışlardır. Bakteri gelişiminde 1 litre için 0,13 M Tris buffer (pH 9), 10 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ve 20 g yeast extract içeren besiyeri kullanmışlardır. 30°C sıcaklıkta 200 rpm hızında bir gece çalkalanarak inkübasyonu yapılan bakteri 20 dakika süre ve 4000 g da iki kez santrifüjlenmiştir. Sonrasında üst faz alınmış ve taze besiyeri ile tekrar süspanse edilmiştir. Kullanılan çimentolanma besiyeri ise 11,2 g/L üre, 27,6 g/L $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 3,8 g/L NH_4Cl , 1,6 g/L NaHCO_3 ve 4,5 g/L nutrient broth içermektedir. Çimentolanma besiyeri pH değeri 6,0 olarak ayarlanmıştır. Kalıplar geotekstil kullanılarak 36,8 mm çapında 76,2 mm yüksekliğinde hazırlanmıştır. Tüm numuneler bir kap içerisine koyulmuş ve kap içerisindeki manyetik karıştırıcı ile çimentolanma besiyerinin üniform şekilde dağılması sağlanmıştır. 130 g kum ve fibere (fiberin kum ağırlığına yüzdelik oranı 0, 0,1, 0,2, 0,3, ya da 0,4) 45 mL bakteri solüsyonu katılarak üniform bir şekilde karıştırılmış ve rölatif sıklığı %44-55 olarak ayarlanıp yerleştirilmiştir. Toplam 12 adet kalıp 10 L çimentolanma besiyeri içerisine yerleştirilmiştir. 7 günlük reaksiyon süresince sürekli olarak ortama hava pompalanmıştır. Hava haricinde ortama bakteri, sıvı besiyeri veya çimentolanma besiyeri eklenmemiştir. 7 gün sonunda kalıplar çıkarılmıştır. Uygulama yapılan numuneler üzerinde serbest basınç deneyi, üç eksenli konsolidasyonlu drenajlı dayanım deneyi ayrıca oluşan kalsiyum karbonatın dağılımı ve SEM analizi ile sonuçlar değerlendirilmiştir. Sonuç olarak fiber kullanılarak yapılan MICP uygulaması fiber kullanılmadan yapılan MICP uygulamasına göre farklı oranlarda iyileştirmeler göstermiştir. Serbest basınç deney sonuçlarına bakıldığında uygulama yapılan numunelerde kopma uzamasında %233,

serbest basınç dayanımında %240 ve elastisite modülünde %130 artış gözlenmiştir. Üç eksenli basınç deney sonuçlarına bakıldığında uygulama sonucunda kopma uzamasında %270, yenilme kesme gerilmesinde %253, elastisite modülünde %131, kohezyonda %311 ve sürtünme açısında %51 artış elde edilmiştir. Fiber içeriğinin %0,3 e artmasıyla birlikte serbest basınç mukavemeti ve kesme dayanımı da giderek artış göstermiştir. Optimum fiber içeriği %0,2-0,3 aralığında belirlenmiştir.

Zhang *et al.* (2015) yapmış oldukları çalışmada farklı kalsiyum kaynakları kullanarak bunların zemin iyileştirmesini nasıl etkilediklerini ve oluşan yapıları araştırmışlardır. Bakteri olarak *Sporosarcina pasteurii* ve kültür ortamı olarak NH_4^+ -YE (20,0 g yeast extract, 10,0 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, pH 9,0) kullanılmıştır. Sıvı besiyerinde kalsiyum kaynağı ve üre 0,5 M olarak karıştırılmış bulunmaktadır. Kalsiyum kaynağı olarak CaCl_2 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4(\text{H}_2\text{O})$ ve $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve zemin olarak çapları 200-380 μm aralığında endüstriyel kum kullanılmıştır. Numuneler 30 mm çapında 50 mm yüksekliğinde elde edilmiştir. UCS (serbest basınç deneyi) test sonuçlarına göre kalsiyum kaynağı olarak kalsiyum asetat diğer kalsiyum kaynaklarına göre daha iyi sonuçlar vermiştir. En kayda değer fark mikro analizlerde tespit edilmiştir. Kalsiyum asetatın boşluklarda oluşturduğu yapı genele bakıldığında daha üniform görülmüştür. Kalsiyum asetatın mukavemet artışındaki rolünün büyük ölçüde aragonit oluşumu ile iyi derecelenmiş boşluk yapısından kaynaklandığı düşünülmüştür. Sonuç olarak MICP uygulamasında kalsiyum asetatın genel olarak kullanılan diğer kalsiyum kaynaklarından daha iyi olduğunu belirtmişlerdir.

Chen *et al.* (2016) yapmış oldukları çalışmada *Bacillus* sp. bakterisini kullanarak kum zeminler üzerinde biyolojik iyileştirme yapmayı amaçlamışlardır. Kullandıkları zemin %6 siltli kum (<50 μm), %11 çok ince kum (50-100 μm), %59 gümüş kumu (100-250 μm), %24 orta kum (250-500 μm) ve %0.2 kaba kum (500-2000 μm) içermektedir. Kuru ağırlığı 100 g olan zeminle 90 mm petri kabı kullanılarak zemin iyileştirmesi uygulanmıştır. Hücre yoğunluğu, Ca^{2+} , üre konsantrasyonu ve donma çözülme çevrimleri incelenmiştir. Bakteriyle iyileştirilmiş zeminin stabilite özelliklerini belirlemek için rüzgâr erozyonu ve basınç dayanımına dirençlerini belirlemişlerdir. İçerisinde zemin olan petri kabına üzerinden 25 mL hücre süspansiyonunu (farklı hücre yoğunluğu, Ca^{2+} yada

üre konsantrasyonu olarak) püskürterek uygulamışlardır. Hücre yoğunluğunun etkisini belirlemek için pH=8 olan 40 mM Ca^{2+} ve 80 g L⁻¹ içeren farklı yoğunluklarda (OD₆₀₀=0, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 ve 0,7) hücre süspansiyonları kullanmışlardır. Stabilizasyonda Ca^{2+} konsantrasyonunun etkilerini belirlemek için farklı Ca^{2+} (CaCl_2 formunda 0, 15, 30, 45 ve 60 mM) içeriklerine sahip hücre süspansiyonu (pH 8, OD₆₀₀=0,4, başlangıç üre konsantrasyonu 80 g/L) kullanılmıştır. Üre konsantrasyonunun etkilerini belirlemek için farklı üre (0, 20, 40, 60, 80 ve 100 g/L) içeriklerine sahip hücre süspansiyonu (pH 8, OD₆₀₀=0,4, 40 mM Ca^{2+}) kullanılmıştır. %30 nem ve 25°C sıcaklıkta çeşitli hücre süspansiyonları 6 gün süre ile inkübasyonu yapıldıktan sonra zemine uygulanmıştır. Kuru ve suya doymuş zeminler üzerinde farklı donma çözülme çevrim testleri uygulanmıştır. Gündüz ve gece sıcaklıkları 20°C ve -20°C derece olarak 12 saatlik çevrimler halinde uygulanmıştır. Basınç dayanımı ve rüzgar erozyonu direnci 12 gün boyunca donma çözülme çevrimine maruz kalan tüm stabilize edilmiş kumlarda 3 gün ara ile ölçülmüştür. Numuneler üzerinde tek eksenli serbest basınç deneyi, SEM, EDS, XRD analizleri yapılmıştır. Üre hidrolizinde 5 günlük inkübasyon süresi sonunda pH değeri 7.8 den 9.2 değerine artmıştır. Bakterisiz kültür ortamının zemine uygulanması sonucunda basınç dayanımı 11,9 kPa olarak belirlenmiştir. Bu dayanım artışının inorganik iyonların kristalizasyonu ile oluşmuş olabileceğini ancak güçlü rüzgâr erozyonunda bu kristal yapının zayıf ve dirençsiz olduğunu belirtmişlerdir. Bakterisiz kültür ortamının uygulandığı kum numuneler 0° yada 30° açılarında 10 saniye 33 m s⁻¹ rüzgara maruz kaldıklarında tamamen havaya uçmuşlardır. Bakterisiz kültür ortamı serbest basınç mukavemeti 11,9 kPa iken hücre yoğunluğu OD₆₀₀ (0,4) olan bakterili kültür ortamı uygulanan kum numunelerinde serbest basınç mukavemeti 36 kPa olarak belirlenmiştir ve hücre yoğunluğu arttıkça dayanım hafifçe azalmıştır. Farklı hücre yoğunluğuna sahip bakterili kültür ortamı uygulanan kumlar rüzgâr erozyonuna yüksek direnç göstermiştir. Bakteri uygulanmış kumda 33 m s⁻¹ altındaki rüzgâr hızlarında rüzgâr erozyonu görülmemiştir. Ca^{2+} konsantrasyonu arttıkça kumun basınç dayanımı da artmıştır. Sadece Ca^{2+} uygulaması ile 15 mM Ca^{2+} içeren hücre süspansiyonu uygulanan kum numunenin basınç dayanımı karşılaştırıldığında 2 kat fark gözlemlenmiştir. Üre konsantrasyonunun 80 g/L ye kadar artması ile birlikte basınç dayanımı da artış göstermiştir. Üre konsantrasyonu 80 g/L iken maksimum basınç dayanımı 31,4 kPa olarak gözlenmiştir. Fakat üre konsantrasyonu 100 g/L olduğunda basınç dayanımı yaklaşık olarak sıfır

bulunmuştur. 20 ile 80 g/L lik üre konsantrasyonlarında erozyon gözlenmezken 100 g/L üre konsantrasyonuna sahip numunede 33 m s⁻¹ hızda rüzgâr 10 sn. uygulandığında tamamen erozyona uğramıştır. Biyolojik olarak iyileştirilmiş nemlendirilmemiş numuneler 6 kez donma çözölmeye maruz bırakılmıştır ve bu basınç dayanımlarında bir düşüş meydana getirmemiştir ve sonrasında 6 kez daha uygulanmış ve bu bir miktar basınç dayanım değerini düşürmüştür. Biyolojik iyileştirilmiş suya doymun kumlarda 3 kez donma çözölmeye maruz kalması sonucunda basınç dayanımı 50,7 kPa dan 24,1 kPa değerine düşmüştür sonrasında yapılan çevrimlerde çok küçük farklar oluşmuştur. 12 kez donma çözölmeye maruz bırakılmış nemlendirilmemiş ve suya doymun numuneler 33 m s⁻¹ rüzgâr hızı altında rüzgâr erozyonuna karşı yüksek direnim göstermişlerdir. Buradan gece gündüz sıcaklıkları ne kadar değişse de çoğu çölde biyolojik olarak iyileştirilmiş kumların yüksek dayanım göstereceğini ve rüzgâr erozyonuna direncini muhafaza edeceğini çıkarmışlardır. Çok yüksek bakteri yoğunluklarının ya da Ca²⁺ ve üre konsantrasyonlarının stabilite artışı sağlamayacağını aksine basınç dayanımını ve rüzgâr erozyonuna karşı direnç kabiliyetini düşüreceğini belirtmişlerdir. En uygun hücre yoğunluğu, Ca²⁺ ve üre konsantrasyonunun sadece stabilizasyonun optimizasyonu için önemli olmadığını ayrıca harcamaların düşmesi açısından da önemli olacağını belirtmişlerdir.

Cheng *et al.* (2016) yapmış oldukları çalışmada biyolojik olarak iyileştirilen zeminde üreaz konsantrasyonunun, sıcaklığın, yağmursuyu yıkamasının, yağ kirlenmesinin ve donma çözölmeye çevriminin etkisini araştırmışlardır. Üçü kötü derecelenmiş biri iyi derecelenmiş dört farklı zemin kullanılmıştır. Zeminler alt ve üst kısımda 10 mm kalınlığında çakıl ve bulaşık süngerli bulunan 45 mm çapında 180 mm yüksekliğinde PVC kalıplara yerleştirilmiştir. Bakteri olarak *Bacillus* sp. kullanılmıştır. Kültür ortamı içeriğinde 20 g/L yeast extract, 0,17 M amonyum sülfat ve 0,1 mM NiCl₂ bulunmaktadır ve ortam pH değeri 9,25 olarak ayarlanmıştır. Çimentolama solüsyonunda ise 1 M susuz kalsiyum klorür (110,98 g/L) ve 1 M üre (60,06 g/L) bulunmaktadır. MICP uygulamasından önce zemin su ile %100 doymun duruma getirilmiştir. Sonrasında MICP uygulaması aşağı doğru olacak şekilde aşılanmıştır. Optimum kristal dokusu düşük üreaz konsantrasyonunda ve 25°C sıcaklıkta elde edilmiştir.

Choi *et al.* (2016) zeminlerin biyolojik iyileştirmesinde farklı oranlarda PVA fiberler ekleyerek sonuçlarını analiz etmişlerdir. Bakteri olarak *Bacillus* sp. sıvı besiyeri olarak da 20 g yeast extract, 10 g (NH₄)SO₄ ve 0,13 M Tris buffer kullanmışlardır. Besiyeri pH 9 olarak ayarlanmıştır. Zemin olarak Ottawa kumu kullanmışlardır. Kuru PVA fiber (ağırlığa oranla %0,4-0,8 arasında) zeminle üniform olana kadar karıştırılmıştır. %7 su içeriğine ulaşana kadar zemin fiber karışımına saf su eklenmiştir. Karıştırma sonrasında 324 g karışım 5 cm çapında 10 cm yüksekliğindeki kalıplara fiber dağılımının üniform olması amacıyla 10 katman şeklinde her katmanı 1 cm olacak şekilde sıkıştırılarak yerleştirilmiştir. Yerleşimden sonra birim ağırlığı yaklaşık 1,65 Mg/m³ değerini almıştır. Drenajı kolaylaştırmak ve kalsit çökmesinin örneğin üst kısmında olmasını engellemek amacıyla alt ve üst kısma filtre olarak 3 M scotch brite bulaşık süngeri yerleştirilmiştir. Bakteri solüsyonu pompa kullanılarak çevrim şeklinde 3 saat süre ile verilmiştir. Sonrasında 500 mL kalsiyum klorür ve üre (0,3 M 1:1 oranında) 9 saat çevrim şeklinde uygulanmıştır. Birinci çevrimden sonra (bakteri ve üre-kalsiyum klorür solüsyonu) taze bakteri solüsyonu ve üre kalsiyum klorür solüsyonu günde 2 tekrar şeklinde 7 gün boyunca uygulanmıştır. Numuneler üzerinde serbest basınç dayanımı, yarmada çekme dayanımı, permeabilite testi ve kalsiyum karbonat içeriği deneyi yapılmıştır. Kalsiyum karbonat içeriğinde küçük miktarlardaki (%0,4 ve %0,8) fiber eklenmesiyle birlikte artışlar gözlenmiştir. Permeabilite sonuçlarında fiber eklenmesiyle birlikte düşüşler görülmüştür. Buna kalsiyum karbonat içeriğindeki artışında yardımcı olduğu düşünülmüştür. Fiber artışıyla birlikte serbest basınç dayanımı sonuçları da artış göstermiştir.

Dhami *et al.* (2016) yapmış oldukları çalışmada bakteriler kullanılarak farklı çaplardaki zeminlerin iyileştirilmesinde etkili faktörleri araştırmışlardır. Bakteri olarak kireçli zemin (pH 10,5) içerisinden izole edilerek alınan *Bacillus megaterium* kullanılmıştır. Bakteri kullanımdan önce nutrient broth (Peptone 10 g/L, Beef extract 10 g/L, Sodium chloride 5 g/L) ile muhafaza edilmiştir. Kalsiyum karbonat çökeltisi oluşumu için kültür ortamı %2 üre (w/v) ve 25 mM CaCl₂ ile oluşturulmuştur. Yer yer temiz, kuru, iyi derecelenmiş doğal nehir kumu (çakıl %2, kum %95, silt %2, kil %1, özgül ağırlık 2,67, kuru yoğunluk 1,67 g/cm³, porozite %37, pH 8,6) kullanılmıştır. Zemin 0,1 mm, 0,2 mm, 0,5 mm, 0,75

mm, 1 mm, 1,5 mm, ve 2 mm çaplı eleklerden geçirilerek 0,2; 0,5; 1 ve 1,5 mm olarak ayrılmış ve otoklavda steril edilmiştir. Bakteri, 100 mL %2 üre (pH 8,0) eklenmiş nutrient broth içerisine aşılanarak 37°C sıcaklıkta 24 saat çalkalayıcıda inkübe edilmiştir. Sonrasında bakteriler 5000 rpm hızında 10 dakika sürede ve 4°C sıcaklıkta çökeltilmiş ve tuzlu çözeltide yıkanmıştır. Bakteriler 50 mL olarak her bir numune için uygulanmıştır. Zeminler 38 mm çapında 76 mm yüksekliğinde plastik tüpler içerisine yerleştirilmiştir. Numunelerin alt kısımları Whatman filtre kâğıdı ile kapatılmıştır. Numunelere üst kısımdan sürekli aynı oranda ve günlük 30 mL olacak şekilde 10 gün boyunca oda sıcaklığında MICP ortamı damlatılarak verilmiştir. Her bir numune için sadece besiyeri verilerek de kontrol oluşturulmuştur. Akış hızlarındaki değişim 10 gün boyunca kaydedilmiş ve ilk anlarda bakterili numunelerin ve kontrol numunelerinin akışlarının aynı olduğu görülmüştür. Başlangıç akış hızı 0,2 mm tane çapına sahip zeminlerde 1,5 mm tane çapına sahip zeminlere göre %70 daha az olarak tespit edilmiştir. Tane çapının azalmasıyla akışa direncin arttığı gözlemlenmiştir. Kontrol numunelerinde 10 günlük sürede yaklaşık %5'lik bir akış hızı düşüşü vardır. Bakteri uygulanan zemin numunelerinde ise MICP uygulaması şiddetli bir akış kısıtlanmasına sebep olmuştur. Bakteri uygulanan numunelerdeki akış hızı düşüşünün, aşamalı olarak kalsiyum karbonatın birikimi sonucunda oluşmuş olabileceğini düşünmüşlerdir. 0,2 mm tane çapına sahip zeminlerde dört günde akış 10,2 ml/dk'dan 5,8 ml/dk'ya (%43 azalma) on günde ise 3,4 ml/dk'ya (%66 azalma) düşmüştür. 0,5 mm tane çapına sahip zeminlerde ise 10 günlük düşüş 1,4 ml/dk (%88 azalma) olarak belirlenmiştir. Kontrol numunelerinde ise akış hızının 10 günlük sürede 13,3 ml/dk'dan 12,6 ml/dk (%5,2 azalma) değerine düştüğü görülmüştür. İri taneli zemin örneklerinde akış düşüşü ilk zamanlarda az oranda artmış ancak daha sonra akış hızı düşüşünde artış hızlanmıştır. 1,5 mm tane çapına sahip zeminlere bakıldığında akış davranışı 1 mm'lik tane çapına sahip zeminlere 2 gün, 0,5 mm tane çapına sahip zeminlere 4 gün, 0,2 mm tane çapına sahip zeminlere 5 gün içerisinde benzerlik göstermiştir. 0,5 mm tane çapına sahip zeminlerde akış hızı 0,2 mm tane çapına sahip zeminlerin akış hızına göre daha hızlı düşüş göstermiştir. 24 saat ara ile yapılan pH takibinde kontrol numunelerinin pH değeri sürekli 8,2 de sabit kalırken bakteri uygulanan numunelerde artış görülmüştür (pH 8,5-8,9) ve buda ürenin hidrolizinden kaynaklanmıştır. Numunelerde kalsiyum karbonat oluşumu en çok üstte daha sonra ortada ve en az alt kısımda tespit edilmiştir. Küçük taneli zemin

numunelerinde birikim başlangıçta daha fazla olmuştur fakat depolama artış hızı yavaş olmuştur. İri taneli zeminlerde ise başlangıç birikimi azdır ancak daha hızlı bir artış gözlemlenmiştir.

Helmi *et al.* (2016) yapmış oldukları çalışmada kalsiyum karbonat oluşumunu literatürden farklı bir bakteri ile *Bacillus licheniformis* bakterisi ile yapmayı amaçlamışlardır. İçeriği aşağıda verilen 5 farklı besiyeri kullanmışlardır.

- 20 g L⁻¹ yeast extract, 20 g L⁻¹ üre ve 50 g L⁻¹ CaCl₂ den oluşan Ye-Ur-CaCl₂
- 2.1 g L⁻¹ nutrient broth, 1.48 g L⁻¹ NaHCO₃, 7 g L⁻¹ NH₄Cl, 7 g L⁻¹ üre ve 25 mM CaCl₂ den oluşan Broth media
- 2.5 g L⁻¹ Calcium acetate [Ca(C₂H₃O₂)₂], 4 g L⁻¹ yeast extract, 10 g L⁻¹ glucose C₆H₁₂O₆ dan oluşan B4
- 20 g L⁻¹ yeast ve 20 g L⁻¹ üreden oluşan YE-Ur
- 20 g L⁻¹ yeast, 20 g L⁻¹ üre ve 50 g L⁻¹ saf kalsiyumdan oluşan YE-Ur-Ca.

Sıvı besiyerleri otoklavlandıktan sonra filtre ile steril edilen üre ile karıştırılmıştır. Besiyerleri 150 rpm hızında 30°C sıcaklıkta 24 saatte inkübe edilmiştir. Kristal formlarını incelemek için her bir kültür ortamından 100 mL hazırlanarak inkübasyonu yapılmış ve oluşan kristaller kirlilikleri gidermek için saf su ile yıkanmış ve 37°C sıcaklıkta havada kurutulmuştur. Deneyler pH, sıcaklık ve üreaz enzimi gibi bakteriyel çökelmeyi etkileyen önemli faktörlere dayandırılarak hazırlanmıştır. Her bir test için 20 mL kültür ortamına 50 µL bakteri eklenerek 24 saatliğine inkübasyonu yapılmış ve 35°C’de farklı pH larda (7, 8, 9, 10, 11, 12), pH=8 de farklı sıcaklıklarda (30, 35, 40, 45, 50°C), pH=8 sıcaklık 35°C’de farklı üreaz enzim konsantrasyonlarında (1, 5, 10 mg mL⁻¹) uygulamalar yapılmıştır. Tüm kültür ortamı sonuçlarına bakıldığında yüksek kalsiyum karbonat üretimi kalsiyum partikülleri içeren ortamda oluşmuştur. En düşük kalsiyum karbonat çökelişi ise B4 besiyerinde görülmüştür. Kalsiyum karbonat çökelişi için en mükemmel sıcaklığı ise 35°C olarak belirlemişlerdir. Üreaz enzim miktarı arttıkça da kalsiyum karbonat çökelişiminin tüm kültür ortamlarında arttığını gözlemlemişlerdir.

Maleki *et al.* (2016) yapmış oldukları çalışmada biyolojik olarak iyileştirilmiş zemin üzerinde rüzgâr tüneli analizi yapmışlardır. Bakteri olarak *S. Pasteurii* ve kültür ortamı olarak 10 g/L yeast extract, 5 g/L NH_4Cl ve 1,3 mg/L NiCl_2 içeren pH değeri 8,5 olarak ayarlanan besiyerini kullanmışlardır. Deneylerde %95 kum ve %5 silt içeren zemin örneği kullanmışlardır. Rüzgâr hızı olarak 10-55 km/saat uygulanmıştır. Çimentolanma solüsyonu 4 farklı molarlarda MICP_1 (0,1 M üre – 0,1 M CaCl_2), MICP_2 (0,2 M üre – 0,25 M CaCl_2), MICP_3 (0,5 M üre – 0,5 M CaCl_2), MICP_4 (1 M üre – 1 M CaCl_2) şeklinde uygulanmıştır. MICP uygulamasında 50 mL bakteri süspansiyonu ve 50 mL çimentolanma solüsyonu (üre- CaCl_2) karıştırılarak zemine yüzeyden spreyle üniform şekilde verilmiştir. Uygulama yapılan numuneler laboratuvar şartlarında yaklaşık 4 gün süre ile havada kurutulmuş ve sonrasında rüzgâr tüneli deneyi uygulanmıştır. Numuneler üzerinde 5 dakika süre ile farklı rüzgâr hızlarında uygulama yapılmış ve ağırlık kaybı ölçülmüştür. Ayrıca SEM ve XRD analizleri yapılmıştır. Sonuçlar MICP uygulamasında farklı konsantrasyonların kaybedilen zemin miktarları üzerinde önemli bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. Yüksek konsantrasyondaki bakteri karışımlarında ağırlık kaybının miktarının göz ardı edilebilir boyutta olduğunu bakteri karışımı konsantrasyonu düştükçe ağırlık kaybı miktarında artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Sadece su uygulanan kontrol numunelerinde hızın 35 km/saat'den 55 km/saat'e çıkmasıyla zemin kaybı 20 g'dan 840 g'a keskin bir şekilde artmıştır. MICP_3 uygulaması sonucunda 55 km/saat hız uygulanan numunelerde yaklaşık 4 g zemin kaybı yaşanmıştır. Zemin yüzeyine yapılan biyolojik uygulamanın erozyon miktarını özellikle yüksek hızlarda etkili bir şekilde düşürdüğü görülmüştür.

Muthukkumaran and Shashank (2016) yapmış oldukları çalışmada biyolojik zemin iyileştirme metodunu farklı zemin sınıfları üzerinde uygulamışlardır. Bakteri olarak *Sporosarcina pasteurii* ve zemin olarak da SP (kötü derecelenmiş kum), SC (killi kum) ve SM (siltli kum) kullanmışlardır. Bakteri kültür ortamı içeriğinde 1 Litre için 20 g/L yeast extract, 10 g/L amonyum sülfat ve 0,13 M tris buffer bulunmaktadır. Bakteri inkübasyonu 30°C sıcaklıkta 24 saat süre ile 120 rpm hızında çalkalanarak yapılmıştır. Sonrasında 3500 rpm hızında santrifüjlenerak elde edilen kültür 100 mL yeni besiyeri içerisinde süspanse edilmiştir. Hücre yoğunluğunun $3-5 \times 10^7$ cfu/mL arasında olduğu

belirlenmiştir. Uygulamada zeminler 40 mm çapında 110 mm yüksekliğinde akrilik kalıplara yerleştirilmiş üst kısımda bulunan tanktan zeminin üst kısmına uygulama yapılmış ve alttan süzülenler bir kap içerisinde toplanmıştır. Uygulama öncesinde zeminler aynı üniform doygunluğa getirebilmek için yıkanmıştır. Bakteri süspansiyonu zeminlere süzülerek uygulanmıştır. Bakterilerin zemine tutunması için bakteri süspansiyonu 2 saat süresince uygulanmıştır. 2 saat sonunda 0,5 M üre solüsyonu ve 0,5 M kalsiyum klorür solüsyonu 24 saat süresince uygulanmıştır. Bu süreç 15 gün boyunca devam etmiştir. Uygulama yapılan zeminlerin analizinde serbest basınç dayanımı, hidrolik iletkenlik, kesme parametreleri ve yorulma kullanılmıştır. 15 uygulama göz önüne alındığında SC ve SM zeminler SP zemine göre daha yüksek serbest basınç dayanımına sahip olmuşlardır. SC ve SM zeminlerde hidrolik iletkenlik değeri daha düşük olmuştur ve bu dayanımdaki fark sonuçlarını da desteklemiştir. Yorulma davranışı SP sınıf zemine göre SC ve SM zeminlerinde daha iyi sonuçlar vermiştir. Bunun her iki zemininde benzer yoğunluk ve dane dağılımına sahip olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir.

Sharma and Ramkrishnan (2016) yapmış oldukları çalışmada *Bacillus pasteurii* bakterisini ile iki farklı ince taneli zemini biyolojik olarak iyileştirmeyi amaçlamışlardır. Birinci zemin içeriğinde (CL) %0,3 çakıl, %47,1 kum ve %53,6 silt + kil bulunmaktadır. İkinci zemin içeriğinde (CH) %0,24 çakıl, %17,48 kum ve %82,28 silt + kil bulunmaktadır. Bakteriler üç farklı yoğunlukta (1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 cfu/ml) hazırlanmıştır. Çimentolanma reaksiyonu bileşenlerinden nutrient broth 3 g/L olarak sabit tutulmuştur. Üre ve kalsiyum klorür eşit molarlarda hazırlanmıştır. Ayrıca molar değerleri 0,25 M, 0,5 M, 0,75 M, 1,0 M olarak ayarlanmıştır. Öncelikle bakteri zemine düzgün bir şekilde karıştırılarak uygulanmış ve sonrasında çimentolanma ayraçları eklenmiştir. 0, 3, 7 günlük kür ya da uygulama süresince bir parametre olan bakteriyel ve molar konsantrasyonlar uygulanmıştır. Uygulama süresi kimyasalların reaksiyonu yani bunun da ötesinde kalsiyum karbonat çökmesinin gerçekleştiği yeterli zamanı belirlemek için kullanılmıştır. Numuneler 20-30°C sıcaklık arasında muhafaza edilmiştir. Uygulama süresinin artması serbest basınç dayanımı değerlerini de artırmıştır. Birinci zemin örneğinde optimum sonuçlar 1×10^7 cfu/ml ve 0.5 M çimentolanma ayraçlarında alınmıştır

ve bu 7 günlük sürede serbest basınç dayanım değerini 0.99 kg/cm^2 den 2.24 kg/cm^2 ye çıkarmıştır. İkinci zemin örneğinde de 7 günlük kürede $1 \times 10^7 \text{ cfu/ml}$ bakteri yoğunluğunda ve 0.5 M çimentolanma ayıraç değerinde maksimum 3.72 kg/cm^2 serbest basınç dayanım değeri elde edilmiştir.

Rowshanbakht *et al.* (2016) yapmış oldukları çalışmada farklı bağıl yoğunluklardaki (%40, %70, %85) zeminlerin iyileştirilmesini araştırmışlardır. Bakteri olarak *Sporosarcina pasteurii* kullanılmıştır. Sıvı besiyeri seçiminde NiCl_2 kullanılarak ve kullanılmadan denemeler yapılmış ve NiCl_2 'nin gelişme hızını artırdığı tespit edilmiştir. Bakteri oksijenli ortam şartlarında geliştirilmiş ve sıvı besiyeri olarak 20 g/L yeast extract, 10 g/L NH_4Cl , $10 \text{ } \mu\text{mol/L}$ NiCl_2 ve 8.5 pH kullanılmıştır. Zeminler (SP sınıfı) çapı 36 mm yüksekliği 20 cm olan kalıplara 3 farklı sıklıkta (%40, %70, %85) tokmaklanarak yerleştirilmiştir. Kalıplar düşey olarak yerleştirilmiş sıvı akışı yukarıdan aşağıya doğru ayarlanmıştır. Akışın düzgün olabilmesi için üst kısma bulaşık süngeri (Scotch-Brite) hemen altına çakıl tabakası uygulanmıştır. Uygulama sonuçlarını optik yoğunluk, üre aktivitesi, amonyum konsantrasyonu, serbest basınç deneyi, SEM ve XRF analizleri ile değerlendirmişlerdir. Serbest basınç deneyi sonucunda örnekler 100 ila 500 kPa arasında dayanım göstermişlerdir. Maksimum dayanım %85 sıklıktaki örnekten elde edilmiştir ve kalsit içeriğinde enjeksiyon yapılan noktaya yakın yerlerde daha homojen dağılım olduğundan daha iyi sonuçlar görülmüştür. Sıklık arttıkça permeabilitenin azaldığı, kalsit çökmesinin azaldığı ve serbest basınç mukavemetinin arttığı tespit edilmiştir. Kalsit çökmesindeki azalmanın, boşluk hacminin düşmesi ve bakteri ile çimentolanma sıvısının azalması ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir.

Choi *et al.* (2017b) yapmış oldukları çalışmada farklı bir kalsiyum kaynağının zeminlerin biyolojik iyileştirmesine etkisini araştırmışlardır. Bakteri olarak *Sporosarcina pasteurii* (ATCC 11859) kullanılmıştır. Kültür ortamı içeriğinde 20 g/L yeast extract, 10 g/L amonyum sülfat ve 0.13 M Tris buffer ($\text{pH} = 9$) bulunmaktadır. Kültür ortamına bakteri ekimi yapıldıktan sonra 2 gün süre ile 30°C sıcaklıkta 130 rpm hızında çalkalanmıştır. Çalışmalarında farklı kalsiyum kaynağı kullanarak maliyetin düşürülmesi düşünülmüştür. Kalsiyum iyon solüsyonu, kireçtaşı tozunun zengin asetik asit

solüsyonunda çözülmesiyle elde edilmiştir. Bu kireçtaşı tozu USA, Iowa Ames’de yer alan Martin Marietta kireçtaşı ocağından elde edilmiştir. Bu toz 2,70 özgül ağırlığa sahip 200 nolu (0,075 mm den küçük) elekten geçen bir malzemeden oluşmaktadır. Kireçtaşı ana yapı olarak %50,7 CaO ve küçük miktarlarda SiO₂ (%2,39), Al₂O₃ (%0,85) ve Fe₂O₃ (%0,35) içermektedir. Zengin asetik asit USA, Iowa Ames’de yer alan Iowa State Üniversitesi Bioeconomy Enstitüsünden alınmıştır. İçeriğinde ise %7 (w/v)’den fazla asetik asit nispeten küçük miktarda asetol (%5,06), %5,06 toplam fenolik ve %1,22 formik asit bulunmaktadır. Kalsiyum iyonlarının oluşumunda şu aşamalar izlenmiştir: $\text{CaCO}_3 + 2\text{CH}_3\text{COOH} \Rightarrow \text{Ca}^{2+} + 2(\text{CH}_3\text{COO})^- + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$. Asetik asit kireçtaşı oranının optimizasyonunda 100 g kireçtaşı tozu farklı miktarlardaki asetik asit solüsyonu ile (200, 400, 800 ve 1200 mL) farklı oranlarda (1:2, 1:4, 1:8 ve 1:12 w/v) karıştırılmıştır. 5 gün oda sıcaklığındaki reaksiyon sonrasında kireçtaşı/asetik asit karışımının kalsiyum konsantrasyonu ve pH değeri belirlenmiştir. 5 günün sonunda kalsiyum iyonları 0,83 M ile 0,64 M arasında pH ise 5,2 ile 4,8 arasında değerler almışlardır. MICP sürecinde kullanılmak üzere 800 mL’lik asetik asit solüsyonu seçilmiştir. 800 mL’lik asetik asit solüsyonuna saf su katılarak final kalsiyum konsantrasyonu değeri 0,3 M olarak ayarlanmıştır. Solüsyonun pH değeri 4,5 g sodyum hidroksit kullanılarak 7,0 -7,5 arasında ayarlanmıştır. Solüsyon üst fazını elde etmek için 20 dakika süre ile 4000 rpm hızında santrifüjlenmiştir ve final kalsiyum iyon solüsyonu hem boş solüsyon hem de kum kolon testinde kullanılmıştır. Boş solüsyon testinde UPB kültür sıvı besiyeri (30 mL) 2 gün süreyle inkübe edilmiş 1:1 (v/v) oranında 0,3 M üre solüsyonu (30 mL) ile karıştırılmıştır. Bu karışım (pH 7,0-7,5) beherde 1 gün süre ile bekletilmiş ve sonrasında 30 mL kalsiyum solüsyonu belirlenen prosedüre göre eklenmiştir. Kalsiyum iyonları eklendiğinde çökelen materyal hemen gözlenmiştir. Çökelen bu materyal FG/C filtre kâğıdı kullanılarak filtre edilmiş ve 115°C sıcaklıkta 1 gün bekletilmiştir. Kuruyan materyal üzerinde XRD analizleri uygulanmıştır. İkinci uygulama olan kum kolon testinde 6 adet kolon kullanılmıştır. Kumlar 5 cm çapında 10 cm yüksekliğindeki PVC silindir içerisine yoğunluğu 1,70 g/cm³ olacak şekilde 10 katman olarak yerleştirilmiştir. Filtre olarak iki parça 3 M Scotch-Brite bulaşık süngeri alt ve üst kısımlara yerleştirilmiştir. PVC silindirin huni kısmına çakıl yerleştirilmiştir. Altan süzülen kısım çevrim şeklinde üstten tekrar verilmiştir. MICP uygulamasında 80 mL UPB alttaki kaba koyulmuş ve peristaltik pompa vasıtası ile devir daim edilmiştir. Pompa hızı 1,5-2,0

mL/dk olarak ayarlanmıştır. Kolonun her yerine ulaşması için UPB solüsyonu 3 saat süre ile devir daim edilmiştir. Sonrasında alttaki kaptaki sıvı yerine 30 mL taze UPB, 0,3 M 150 mL üre solüsyonu ve 0,3 M 150 mL kalsiyum solüsyonu koyulmuştur. Bu solüsyon 9 saat süre ile devir daim edilmiştir. Sonra bu prosedür (3 saat UPB, 9 saat UPB/üre/kalsiyum solüsyonu) günde 2 defa olmak üzere 7 gün boyunca devam ettirilmiştir. Bir 3 gün daha devir daim prosedürü devam ettirilmiştir. Toplam 10 günlük uygulama sonunda kolunun alt kısmı tamamıyla tıkanmıştır. Çimentolanmış kum kolonlarının değerlendirilmesinde serbest basınç dayanımı, çekme dayanımı, mikroyapısal görsel ve kalsiyum karbonat içeriği analizleri uygulanmıştır. Çimentolanmış kumlarda kalsiyum karbonat içeriği %5,67 ile %8,19 aralığında değerler almıştır. Permeabilite katsayısı uygulama yapılmayan kum zeminde 1×10^{-4} m/s iken uygulama yapılan zeminde $8,17-1,52 \times 10^{-6}$ m/s değerine düşmüştür. Hem serbest basınç dayanımında hem de çekme dayanımında kalsiyum karbonat içeriği arttıkça dayanımda artış göstermiştir. Farklı kalsiyum kaynağıyla yapılan bu uygulamada diğer kalsiyum kaynağından daha uygun maliyetle iyileştirme yapılabilmiştir.

Cui *et al.* (2017) yapmış oldukları çalışmada bakteri ile iyileştirilmiş zemin üzerinde izotropik konsolidasyonlu drenajlı basınç testi (CIUC), kalsit kütle ağırlığı ve SEM analizleri gerçekleştirmişlerdir. CIUC testi ile farklı çimentolanma seviyelerindeki biyolojik çimentolanmış kum numunelerinin kesme dayanımını elde etmişlerdir. Kalsit kütle ağırlık testi ile kalsit kristallerinin ağırlığı elde edilmiştir. SEM testleri ile biyolojik çimentolanmış zeminin mikro yapısı gösterilmiştir. Çalışmada zemin olarak özellikleri $C_u=5,08$, $C_c=1,05$, özgül ağırlığı 2,65, $D_{max}=2,5$ mm, $D_{10}=0,13$ mm, $D_{50}=0,52$ mm, maksimum kuru yoğunluğu $1,924 \text{ g/cm}^3$ ve minimum kuru yoğunluğu $1,662 \text{ g/cm}^3$ olan CHINA ISO standart kumu kullanılmıştır. Bakteri olarak *Sporosarcina pasteurii* (ATCC 11859) kullanılmıştır. Uygulama öncesinde bakterinin istenilen yoğunluğa gelmesi için ammonium-yeast extract ile inkübasyonu sağlanmıştır. 20 g/L yeast extract, 10 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ve 0,13 M tris buffer (pH=9) bileşenleri otoklavda steril edildikten sonra karıştırılmış ve içerisine bakteri ekimi yapıldıktan sonra istenilen yoğunluğa gelene kadar 150 rpm ve 30°C sıcaklıkta çalkalayıcıya bırakılmıştır. Numuneler 39,1 mm çapında ve 80 mm yüksekliğinde kalıplara gevşek ve sıkı olarak (bağıl yoğunluk %30 ya da %80)

yerleştirilmiştir. Numuneler kalıba yerleştirildikten sonra zemin saf su ile doymun hale getirilmiştir. Kalsit dağılımında üniform olmayan bir yapıda düşük kesme dayanımları ortaya çıkmıştır. Kalsit dağılımının iyileştirilmesi için 2 aşamalı biyolojik enjeksiyon metodu uygulamışlardır. Belirlenmiş bir hacimde (başlangıç boşluk oranının 0,4 katı kadar) saf bakteri solüsyonu kum numunelere peristaltik pompa ile 5 mL/dk akış hızında verilmiştir. Sonrasında istenilen hacimde (başlangıç boşluk oranının 0,6 katı kadar) karıştırılmış bakteri solüsyonu aynı akış hızında numunelere verilmiştir. Saf bakteri solüsyonu ammonium-yeast extract medium (ATCC 1376) ile hazırlanmıştır. Karıştırılmış bakteri solüsyonunda CaCl_2 miktarı 0,5 mol/L ve saf bakteri solüsyonunda CaCl_2 miktarı 1:10 oranındadır. Her kum numunesi için toplam saf bakteri solüsyonu ve karıştırılmış bakteri solüsyonu miktarı eşit miktardadır ve başlangıç boşluk oranı kadardır. Bakteri solüsyonunun numuneye enjeksiyonu yapıldıktan sonra 8 saat süre ile bekletilerek bakterilerin kum partiküllerine tutunması sağlanmıştır. Beklemenin sonunda çimentolanma solüsyonu (üre ve kalsiyum klorür solüsyonu) 0,5 mol/L konsantrasyonunda 10 mL/dk akış hızında peristaltik pompa ile verilmeye başlanmıştır. Farklı uygulama tekrarları kullanılarak araştırma yapılması sağlanmıştır. Oluşan kalsit kütlelerine bakıldığında uygulama tekrarı arttıkça numunede oluşan kalsit miktarında da artış gözlemlenmiştir. 2 aşamalı uygulama sonucunda oluşan kalsit kütlesi numunede üniform bir dağılım göstermiştir. Bu yöntemle saha uygulamalarında üniform dağılmayan kalsit kristallerinin sebep olduğu potansiyel sorunların üstesinden gelinebileceği düşünülmüştür. Biyolojik çimentolanmış kumun kesme karakteristiklerinin (makro boyut perspektifi), kalsit kristalleri (mikro boyut perspektifi) ile yakından ilişkili olduğunu ve kalsit kristallerinin oluşum mekanizması araştırılırsa MICP uygulamasının geliştirilmesine yardımcı olabileceğini düşünmüşlerdir. Oluşan kalsit kristallerini incelendiklerinde kalsit kristallerini etkili kalsit kristalleri ve etkisiz kalsit kristalleri olarak ikiye ayırmışlardır. Kum tanelerini birbirine bağlayan kalsit kristallerine etkili kalsit kristalleri kum tanesi üzerine tutunan kristallere ise etkisiz kalsit kristalleri adını vermişlerdir. Numunede oluşacak dayanım artışında etkili kalsit kristallerinin önemli olduğunu vurgulamışlardır. Biyolojik çimentolanmış kum numunelerinde efektif sürtünme açısı ve efektif kohezyon kalsit miktarı ile birlikte düzgün ve üstel bir form ile artış göstermiştir. Biyolojik çimentolanmış kumda çimentolanma seviyesinin stres yolu ve gevrek davranış üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir.

Çimentolanma seviyesi arttıkça oluşan kalsit kristali kümelerinin giderek büyüdüğünü belirlemişlerdir. Bu süreçte etkisiz kalsit kristallerinin etkili kalsit kristallerine dönüşebileceğini düşünmüşlerdir.

Dadda *et al.* (2017) yapmış oldukları çalışmada biyolojik olarak iyileştirilmiş zeminlerin X-ray synchrotron microtomography ile üç boyutlu analizini yapmışlardır. Biyolojik çimentolanma için hazırlanmış iki çözümle süreci oluşturmuşlardır. Birincisi zemin partiküllerinin bakteriye tutunmasını artırmak amacıyla 3 g NaCl 1 litrelik suda çözündürülmüş ve 10D₆₀₀ optik yoğunluğa sahip *Sporosarcina pasteurii* ile bakteri çözeltisi hazırlanmış ve ikinci olarak 1,4 mol üre ve aynı miktarda kalsiyum klorid içeren reaktant solüsyonu (kalsifiye solüsyon) hazırlanmıştır. Çalışmada Fontainebleau kumu (NE34) kullanılmıştır. 68 mm çapa sahip farklı yüksekliklerde (4 tanesi 560 mm ve 4 tanesi 300 mm) 8 adet plastik tüple kum kolonları hazırlanmıştır. Kum kolonları %80 bağıl yoğunlukta yerleştirilmiş ve sıvı akışının homojen olması için iki adet 20 mm iri kum ile filtre oluşturulmuştur. Tüm sayısal ve deneysel sonuçlar biyolojik çimentolanma sürecinde kum partikülleri üzerinde ince bir kalsit tabakası oluştuğunu göstermiştir. Sonuç olarak, 3D görselleri ve deneysel dataların sayısal sonuçları karşılaştırılarak hesaplar yapılmıştır. Bu karşılaştırmalar, tüm kalsit hacim kesri aralığı araştırıldığında basit mikro yapıların biyolojik olarak çimentolanmış zeminlerdeki fiziksel özelliklerin ve mikro yapıların başlıca gelişimlerini tahminde kullanılabileceğini göstermiştir.

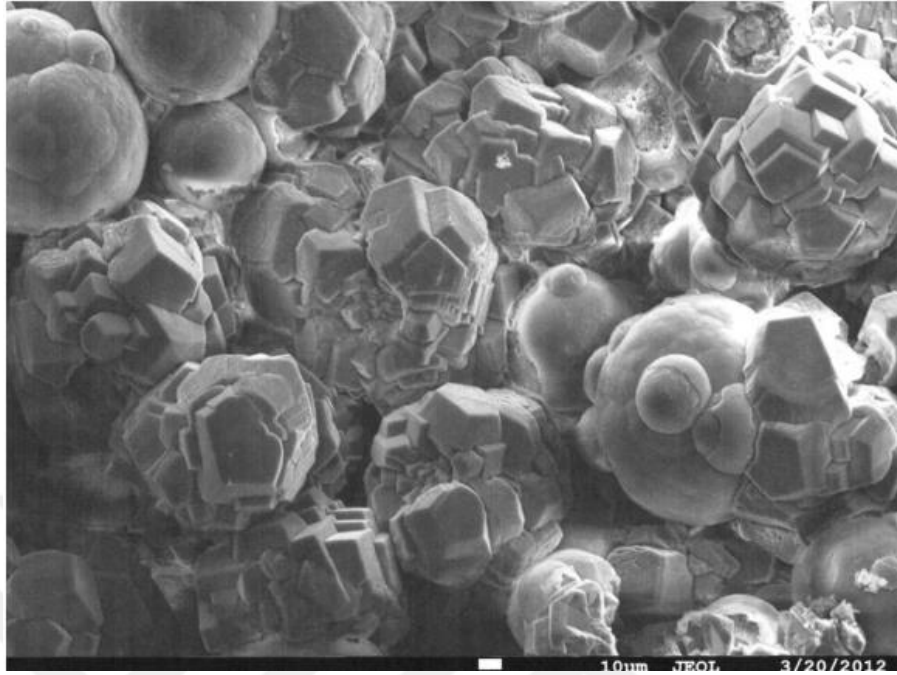
Saffari *et al.* (2017) yapmış oldukları çalışmada biyolojik olarak iyileştirilmiş zeminlerin kesme mukavemetini incelemiştir. İçeriğinde %70 siltli kum, %15 kaolinit ve %15 bentonit bulunan plastisite değeri 18,5 ve şişme basıncı %4,7 olan şişen zemin kullanılmıştır. ASTM D2487 standartlarına göre zemin sınıfı düşük plastisiteli kil (CL) olarak belirlenmiştir. Bakteri olarak *Bacillus sphaericus* kullanılmıştır. Kültür ortamı olarak 2,12 g/L sodyum bikarbonat, 3 g/L nutrient broth, 10 g/L amonyum klorür, 20 g/L yeast extract ve 10 g/L üre kullanılmıştır. Uygulama solüsyonunda ise bakteri solüsyonu ve çöktürme kimyasalı (CaCl₂) bulunmaktadır. Çalışmada toplam biyolojik uygulama solüsyonunun yarısı bakteri solüsyonu ve kültür ortamından geri kalan kısmı ise CaCl₂ içermektedir. Aynı ortam şartlarını muhafaza edebilmek adına kontrol ve uygulama

örnekleri %14 nem içeriğinde sabit tutulmuştur. Direk kesme testi kontrol numuneleri ve uygulama yapılan numuneler üzerinde ASTM D3080 standartlarına uygun olarak yürütülmüştür. Homojen bir yapının oluşması amacıyla zemin ve uygulama solüsyonu üniform dağılım oluşana kadar dikkatli bir şekilde karıştırılmıştır. Numuneler yoğunluk değeri $1,7 \text{ g/cm}^3$ (kalıp hacmi 72 cm^3 , her bir örnekte 17,5 g biyolojik uygulama solüsyonu ve 122,4 g zemin kullanılmıştır) olacak şekilde sıkıştırılmıştır. Kompaksiyon hızı 2 mm/dk olacak şekilde zemin örnekleri statik kompaksiyon tekniği ile sıkıştırılmıştır. Örnekler optimum su içeriğinde sıkıştırılmış, 3 gün süre ile küre tabi tutulmuş ve dört farklı düşey strese (40, 94, 201 ve 345 kPa) sabit su koşullarında kesilmiştir. Daha yüksek bakteriyel konsantrasyonlarda daha yüksek kesme dayanımları elde edilmiştir. Biyolojik uygulama hem içsel sürtünme açısından hem de kohezyonda artış sağlarken en çok zemin kohezyonunda etkili olmuştur. Sadece kültür ortamı ve CaCl_2 (bakteri olmadan) daha az etki göstermiştir.

Sharaky *et al.* (2018) yapmış oldukları çalışmada zeminlerde biyoçimentolanma üzerine araştırma yapmışlardır. Zemin olarak silika içeren kum (SiO_2 : %96,12) bakteri olarak da *Sporosarcina pasteurii* kullanmışlardır. Zeminler iç çapı 5 ve 7,5 cm uzunluğu 15 ve 40 cm olan sert plastik borulara yerleştirilmiştir. Zemine uygulama üst kısımdan yapılmış ve uygulama sıvısı yerçekimi ile süzülerek alt kısımdan çıkmıştır. Kültür ortamı içeriğinde 20 g/L yeast extract ve 10 g/L amonyum klorür bulunmaktadır. Kültür ortamı pH değeri 4 N NaOH kullanılarak 9 değerine ayarlanmıştır. Çimentolama solüsyonu 1 mol (50,06 g/L) üre ve 1 mol (147,02 g/L) susuz kalsiyum klorürün 2 L saf suda çözülmesiyle hazırlanmış ve tespit solüsyonu olarak litrede 0,05 mol (7,35 g/L) susuz kalsiyum klorür saf suya eklenmiştir. Biyoçimentolama uygulamasında farklı metotlar uygulanmıştır. Sonuçlar göstermiştir ki bakteri aktivitesi kum taneleri arasında kohezyona neden olmuş ve bu kumda bozulmaya karşı direnç sağlamıştır. Bakteriyel aktivite yada çökelen kalsit miktarı steril edilmeyerek oluşturulan kültür ortamı ile yapılan uygulamadan etkilenmemiştir. SEM ve XRD analizleri ile uygulama sonucunda oluşan yapıların kalsit olduğu ve tanelerin birbirine bağlandığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak kullanılan *S. pasteurii* bakterisinin kumların biyoçimentolanma sürecinde ticari olarak başarılı bir şekilde kullanılabileceği değerlendirilmiştir.

Biyodesatürasyon: He *et al.* (2013) yapmış oldukları çalışmada azot salan bakteriler ile mikrobiyal olarak oluşan gaz kabarcıklarını kullanarak kum zeminlerde sıvılaşmanın azaltılması üzerine araştırma yapmışlardır. Kumun doygunluğunu ufak inert nitrojen gaz kabarcıkları oluşturarak %100'den %80-95 aralığına düşürmek için azot salan bakteri kullanılmıştır. Bakteriyel süspansiyon ve besin substratları düşük viskoziteye sahip olduklarından kum içerisinde rahatlıkla dağıtılabilmektedir. Bu şekilde üretilen gaz toprağa enjekte edilecek gazdan daha üniform bir yapıya eğilimlidir. Farklı doygunluklarda hazırlanan örnekler üzerinde yapılan deneylerde doygün numunelerde $a_{max}=0,5 \text{ m/s}^2$ nin altındaki gevşek durumlarda ve $a_{max}=0,5 \text{ m/s}^2$ nin altındaki orta sıkı durumlarda sıvılaşma görülmüştür. Ancak biyogaz desatüre örneklerde benzer bağıl yoğunluklarda benzer ivme girişlerinde sıvılaşma meydana gelmemiştir. Boşluk suyu basınç oranı bu testlerde birçok durumda 0,5 den düşük olmuştur, zemin oturması ve hacimsel deformasyonda aynı derecede düşmüştür. Çalkalamalı tabla (sarsma tablası) deneyi dataları boşluk suyu basıncı oranının sıvılaşma potansiyelinin tanımlanmasında iyi bir parametre olduğunu göstermiştir. Bu model testi biyogaz metodunun, doygün kum tabakalarının sıvılaşma potansiyelinin önemli derecede düşürülmesinde ve doygünluk derecesinin azaltılmasında etkili olduğunu ispat etmiştir.

Biyokapsüllenme: Ivanov *et al.* (2015) yapmış oldukları çalışmada yumuşak deniz kilini biyokapsüllenme tekniğini kullanarak iyileştirmeyi amaçlamışlardır. Bakteri olarak *Bacillus* sp. VS1, zemin olarak 2,70 özgül ağırlığa sahip yumuşak deniz kili kullanmışlardır. Şekil 2.6'da biyokapsüllenen kil kümesinin yüzey yapısındaki kalsit kristalleri görülmektedir.



Şekil 2.6. Biyoçimentolama sonrasında kil kümesinin kalsit kristal kabuğu (Ivanov *et al.* 2015)

Biyokapsüllenen kil kümesi Şekil 2.7’de gösterilmiştir. Çökelen kalsiyum karbonat oranı %15 ($w w^{-1}$) olan 5 mm çapındaki biyokapsülllenmiş deniz kili kümesinin serbest basınç dayanımı 2176 kPa olarak belirlenmiştir. Bu kümenin dayanımının temelde kabuktan geldiğini belirtmişlerdir. Kabuktaki ürenin hidrolizi sırasında suyun kullanımından dolayı biyokapsüllenme sonrasında deniz kili kümesinin su içeriği %55 den %37-41 aralığına düşmüştür. Su içeriğindeki bu düşüş serbest basınç dayanım değerini sıfırdan 35-40 kPa’a kadar çıkarmıştır. Farklı kil agrega boyutları üzerinde yapılan uygulama sonucunda agrega boyutlarının artmasının serbest basınç değerinin azalmasına neden olduğu belirlenmiştir. Biyokapsüllenme metodunun yumuşak zeminlerde geleneksel olarak kullanılan zemin çimento ön karıştırma metoduna bir alternatif olabileceğini belirtmişlerdir.



Şekil 2.7. Kil kümesini kaplayan kalsiyum karbonat kabuğu (Ivanov *et al.* 2015)

Biyoremediasyon: Zhan and Qian (2016) yapmış oldukları çalışmada Zn^{2+} kirliliğinin karbondioksitin tutulması ve kullanılması temelinde mikrobiyal olarak iyileştirilmesini araştırmışlardır. Bakteri olarak *Paenibacillus mucilaginosus* kullanılmıştır. Öncelikle bakterinin enzimatik aktivitesi sonucunda karbondioksit absorbe edilmiş ve karbondioksit bikarbonat iyonlarına dönüşmüştür. Sonrasında bikarbonat iyonları alkali ortam şartlarında karbonat iyonlarına dönüşmüştür. Solüsyondaki Zn^{2+} kirliliği bakteri duvarının negatif yüklü olmasından dolayı bakteri duvarına tutunmuştur. Sonunda Zn^{2+} kirliliği bakteri yüzeyindeki karbonat partikülleri ile çökelerek mineralleştirilmiştir. Bu yeni metodun, eşzamanlı olarak Zn^{2+} kirliliğinin iyileştirilmesinde ve karbondioksitin faydalı hale getirilmesinde yeni bir yol sağlayabileceğini belirtmişlerdir.

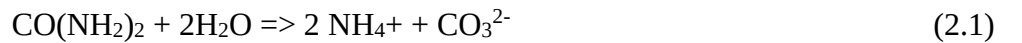
Mikrobiyal karbonat çökmesinin önemi büyük miktarda yayına yansımıştır ve bazı çalışmalarda mikrobiyal karbonat çökmesi gerçek uygulamalarla test edilmiştir. Web of Science veri tabanında “carbonate precipitation” ya da “calcite precipitation” yada “calcification” ve microb* yada microorganisms başlıklı araması ile 8412 sonuç görülmüştür. Bir anahtar kelime “technology” daha eklenerek arama yapıldığında 75 makale görülmüştür. Anahtar kelimenin değiştirilmesiyle microb* yada microorganisms ile birlikte photosynth*, ureoly*, denitrification*, ammonification, “sulfate reduction” ve “methane oxidation” araştırma yapıldığında sırasıyla 1128, 120, 34, 5, 11 ve 44 makale

görülmüştür. Bu doğal ortamda en çok çalışılan kalsifikasyon proseslerinin fotosentez ve üreoliz yoluyla yapıldığını göstermektedir. Bunlara “technology” eklenmesiyle sırasıyla 13, 19, 3, 1, 2 ve 0 makaleye ulaşılmıştır. Bu üreolizin diğer metabolizmalar arasında en çok gelişen teknoloji olduğunu ve bunu fotosentezin takip ettiğini gösterir. “Sulfate reduction” ise yaygın çalışılmasına rağmen mühendislik projesinden yararlanılması daha az olasıdır (Zhu and Dittrich 2016).

Bu kısma kadar biyomineralizasyon teknikleri ve bu tekniklerin kullanım alanları literatürdeki mevcut çalışmalar üzerinden açıklanmaya çalışılmıştır. Tez çalışmamızda Zhu and Dittrich (2016) belirttiği üzere en çok gelişen teknoloji olan üreoliz tekniği ile zemin iyileştirmesi amaçlanmıştır. MICP (Mikrobiyal aracılı kalsit çökmesi) reaksiyonu, reaksiyonu etkileyen faktörler ve bu reaksiyon sonucunda oluşan yapıların zeminlerin mühendislik özelliklerine etkilerine bu kısmın devamında değinilmiştir.

2.1.3. MICP (Mikrobiyal aracılı kalsit çökmesi)

Mikrobiyal aracılı kalsit çökmesi bir dizi reaksiyon sonucunda gerçekleşmektedir. Bu teknik zemine yüksek üreaz enzimine sahip aerobik olarak yetiştirilen bakterinin dahil edilmesiyle üreaz enziminin üreyi hidroliz etmesi sonucunda amonyum ve karbonat iyonlarının oluşmasını ihtiva etmektedir. Bu süreçteki kimyasal reaksiyon eşitlik 2.1’de verilmiştir.



Kalsiyum kaynağının varlığında (sıklıkla kalsiyum klorür, CaCl_2), eşitlik 2.2’de verilen kimyasal reaksiyonda olduğu gibi zemin matrisi boyunca kalsiyum karbonat (CaCO_3 , kalsit) oluşmaktadır (Cheng *et al.* 2013).



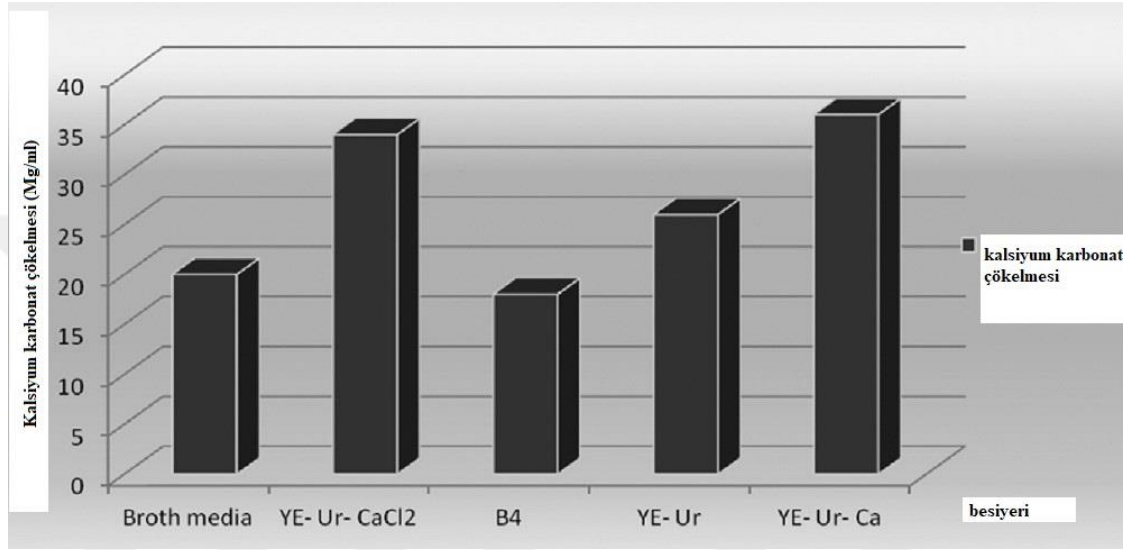
Yapılan çalışmalarda kalsiyum karbonat reaksiyonunu etkileyen birçok faktör bulunmuştur. Bunları pH, sıvı besiyeri, sıcaklık, üre aktivitesi, bakteri, zemin türü vb. şeklinde sıralayabiliriz. Bunların dışında uygulamanın şeklinin de reaksiyonu belirgin şekilde etkilediği yapılan çalışmalardan anlaşılmaktadır.

Bakteri türü olarak genelde üreaz üretim kapasitesi olanlar kullanılmaktadır (Anbu *et al.* 2016). Kalsiyum karbonat oluşumunda literatürde yapılan çalışmalarda çoğunlukla *Bacillus pasteurii* (*Sporosarcina pasteurii*) bakterisi kullanılmıştır (Fischer *et al.* 1999; Bang *et al.* 2001; Ramachandran *et al.* 2001; DeJong *et al.* 2006; Whiffin *et al.* 2007; Okwadha and Li 2010; Li 2013). Bu bakterinin dışında farklı mikroorganizmalar kullanılarak yapılan çalışmalarda mevcuttur (Tiano 1995; Tiano *et al.* 1999; Le Metayer-Levrel *et al.* 1999; Rodriguez-Navarro *et al.* 2003; Tiano *et al.* 2006; Dick *et al.* 2006; Jiménez-López *et al.* 2007; Jonkers and Schlangen 2008; De Muynck *et al.* 2008; Ariyanti *et al.* 2011).

Kalsiyum karbonat reaksiyonunda üre aktivitesi oluşacak kütlenin miktarında önemli bir etkindir. Üre aktivitesi aynı ortam şartlarında farklı bakterilerde değişiklik gösterebilmektedir (Whiffin 2004). Üre aktivitesi sonucunda oluşan kütle, ortam şartlarından da etkilenmektedir. Kütle oluşumunda ortamda kirlilik oranı arttıkça kütle oluşumu olumsuz etkilenebilmektedir (Whiffin 2004; DeJong *et al.* 2006).

Oluşacak kütle ortamda bulunan karbonat ile kalsiyumun reaksiyonu sonucunda oluştuğundan kalsiyumun artması ile oluşacak kütle miktarı da artacaktır (Okwadha and Li 2010). Bir diğer etkende sıvı besiyeri ve ortam pH değeridir. Ortam pH değeri de üre aktivitesi üzerinde etkili olmaktadır (Whiffin 2004). Birçok bakteri kendi mikrobiyal aktivitesi ile üreaz enzimi üretebilecek kapasitededir (Moblely *et al.* 1995). Ancak sıvı besiyeri kullanılarak bu işlemi hızlandırmak mümkündür. Besinler bakterilerin enerji kaynaklarıdır dolayısıyla besinler kalsit üreten bakteriler için önemli bir yere sahiptir. Zemine uygulama ve kültür aşaması süresince bakteri için besin sağlanmalıdır (Ng *et al.* 2012). Bakteri için gerekli besinler genel olarak CO₂, N, P, K, Mg, Ca, Fe vd. içermektedir (Mitchell and Santamarina 2005). Helmi *et al.* (2016) çalışmasında

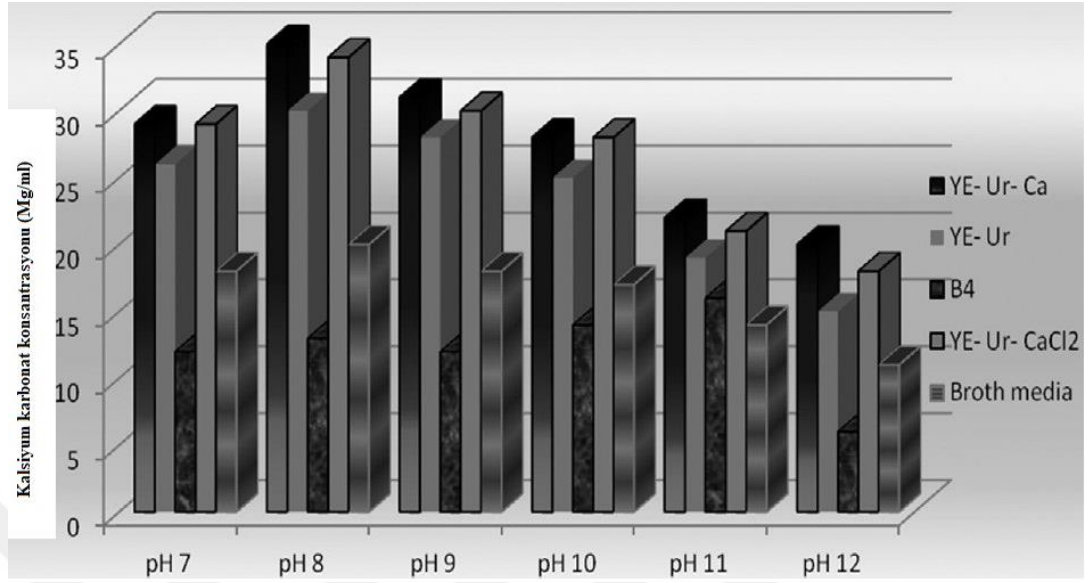
kullanılan sıvı besiyerlerine ait kalsiyum karbonat çökmesine ait sonuçlar Şekil 2.8’de verilmiştir. Yapılan çalışmada Ye-Ur-Ca besiyerinde bulunan saf kalsiyum kaynağı çok kısa süre içerisinde yüksek miktarda kalsiyum karbonat oluşumunu sağlamıştır (Helmi *et al.* 2016).



Şekil 2.8. 24 saatlik inkübasyon sonucunda farklı kültür ortamlarında oluşan kalsiyum karbonat çökmesi miktarları

(a) 20 g L⁻¹ yeast extract, 20 g L⁻¹ urea ve 50 g L⁻¹ CaCl₂ den oluşan Ye-Ur-CaCl₂ (b) 2.1 g L⁻¹ nutrient broth, 1.48 g L⁻¹ NaHCO₃, 7 g L⁻¹ NH₄Cl, 7 g L⁻¹ urea ve 25 mM CaCl₂ den oluşan Broth media (c) 2.5 g L⁻¹ Calcium acetate Ca(C₂H₃O₂)₂, 4 g L⁻¹ yeast extract, 10 g L⁻¹ glucose C₆H₁₂O₆ dan oluşan B4 (d) 20 g L⁻¹ yeast ve 20 g L⁻¹ urea den oluşan YE-Ur (e) 20g L⁻¹ yeast, 20 g L⁻¹ urea ve 50 g L⁻¹ saf kalsiyumdan oluşan YE-Ur-Ca (Helmi *et al.* 2016).

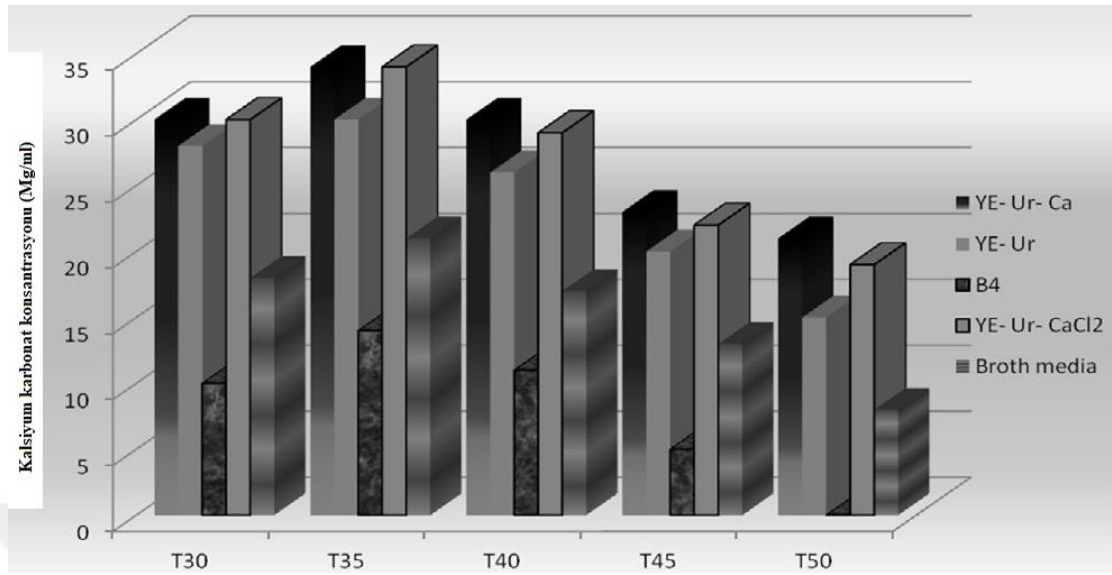
Şekil 2.9’da görüldüğü gibi en yüksek çökme miktarı pH 8 değerinde olmaktadır. Kültür ortamı pH değeri arttığında yani ortam bazik olduğunda kalsiyum karbonat çökelişi azalmaktadır. Sadece B4 besiyerinde artış görülmektedir. Bunun nedeni kalsiyum asetatın hidrolizi sonucunda kalsiyum ve asetik asit oluşması ve bunun sonucunda asetik asidin pH değerini azaltmasıyla üreaz enziminin üretilmemesidir. B4 kültür ortamında pH 10 değerine artış olduğunda üreaz enzimi üretimi olduğundan kalsiyum karbonat çökelişi miktarında da artış meydana gelmektedir (Helmi *et al.* 2016).



Şekil 2.9. Farklı kültür ortamlarında 24 saatlik inkübasyon sonucunda oluşan kalsiyum karbonat çökmesine pH değerinin etkisi

(a) 20 g L⁻¹ yeast extract, 20 g L⁻¹ urea ve 50 g L⁻¹ CaCl₂ den oluşan Ye-Ur-CaCl₂ (b) 2.1 g L⁻¹ nutrient broth, 1.48 g L⁻¹ NaHCO₃, 7 g L⁻¹ NH₄Cl, 7 g L⁻¹ urea ve 25 mM CaCl₂ den oluşan Broth media (c) 2.5 g L⁻¹ Calcium acetate Ca(C₂H₃O₂)₂, 4 g L⁻¹ yeast extract, 10 g L⁻¹ glucose C₆H₁₂O₆ dan oluşan B4 (d) 20 g L⁻¹ yeast ve 20 g L⁻¹ urea den oluşan YE-Ur (e) 20g L⁻¹ yeast, 20 g L⁻¹ urea ve 50 g L⁻¹ saf kalsiyumdan oluşan YE-Ur-Ca (Helmi *et al.* 2016).

Şekil 2.10’da görüldüğü gibi en iyi sıcaklık 35°C’de elde edilmiştir. Ayrıca tüm kültür ortamları 45-50°C gibi sıcaklıklara kadar yüksek tolerans göstermiştir. Fakat B4 besiyerinde 50°C sıcaklıkta kalsiyum karbonat çökelişi olmamıştır (Helmi *et al.* 2016). Sıvı besiyeri, ortam sıcaklığı ve pH değerinin biyolojik iyileştirmede önemli faktörler arasında yer aldığı anlaşılmaktadır.

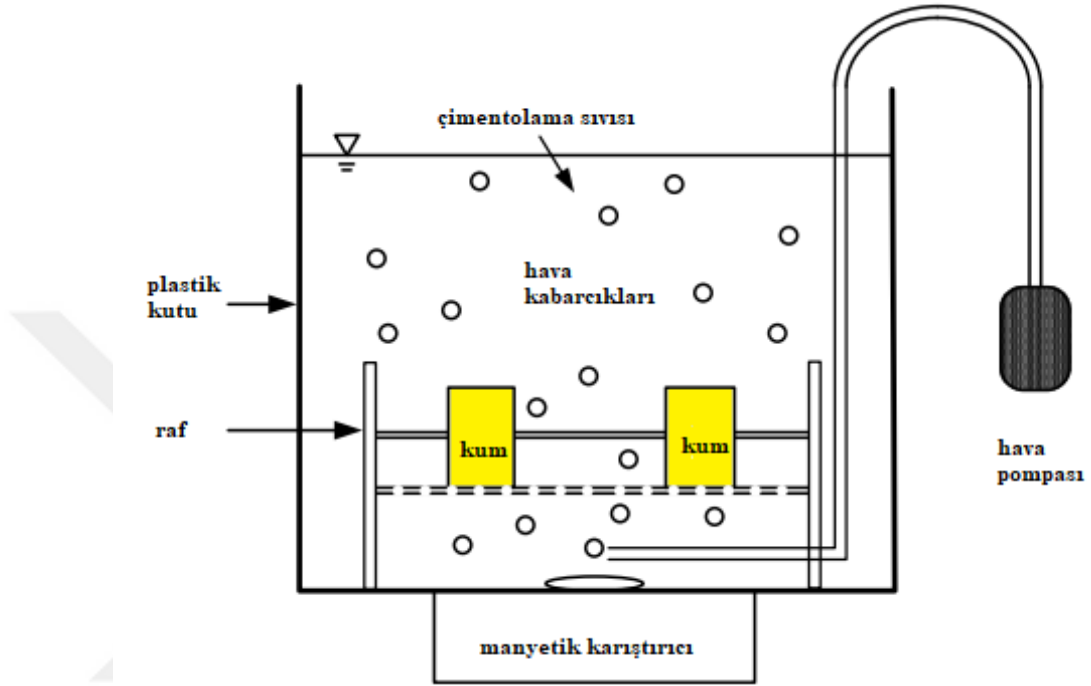


Şekil 2.10. 24 saatlik inkübasyon sonucunda oluşan kalsiyum karbonat çökelmesine farklı sıcaklıkların etkisi

(a) 20 g L⁻¹ yeast extract, 20 g L⁻¹ urea ve 50 g L⁻¹ CaCl₂ den oluşan Ye-Ur-CaCl₂ (b) 2.1 g L⁻¹ nutrient broth, 1.48 g L⁻¹ NaHCO₃, 7 g L⁻¹ NH₄Cl, 7 g L⁻¹ urea ve 25 mM CaCl₂ den oluşan Broth media (c) 2.5 g L⁻¹ Calcium acetate Ca(C₂H₃O₂)₂, 4 g L⁻¹ yeast extract, 10 g L⁻¹ glucose C₆H₁₂O₆ dan oluşan B4 (d) 20 g L⁻¹ yeast ve 20 g L⁻¹ urea den oluşan YE-Ur (e) 20g L⁻¹ yeast, 20 g L⁻¹ urea ve 50 g L⁻¹ saf kalsiyumdan oluşan YE-Ur-Ca (Helmi *et al.* 2016).

Uygulamanın nasıl yapılacağı zeminde homojen bir yapının elde edilmesi açısından önemlidir. Zeminlere üstten süzülerek yapılan uygulamalarda kütle oluşumu zemin içerisinde homojen bir yapıya sahip olmamıştır (Whiffin *et al.* 2007; Cheng and Cord-Ruwisch 2012). Zemine daldırılarak uygulama yapılmasında ise daha iyi sonuçlar alınmıştır ve bunun sebebinin de kalsiyum karbonat reaksiyonunun zemin içerisinde devam etmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür (Cheng and Cord-Ruwisch 2012). Süzülerek yapılan uygulamada homojen bir yapı elde edilemediğinden derinlik arttıkça porozite değişkenlik göstermiştir (Whiffin *et al.* 2007). Kültür ortamı seviyesi zeminin yüzeyinin altında olduğunda tüm numunede üstten aşağı azalacak şekilde kalsit oluşumu gözlemlenmiş ancak kültür ortamı seviyesi zemin yüzeyinin üzerinde tutularak yapılan iyileştirmede reaksiyonun büyük bir bölümü zeminin üst yüzeyinde olmuş ve kabuk şeklinde bir kalsit yapısı oluşmuştur (Chu *et al.* 2012). Li *et al.* (2015) yapmış oldukları çalışmada zemin numunelerini homojen bir dağılım sağlamak amacıyla geotekstil kalıplara yerleştirmiş ve uygulamayı bir tank içerisinde karıştırıcıyla ve sürekli hava ekleyerek yapmıştır. Buna rağmen kalsiyum karbonat dağılımlarında farklılıklar

gözlenmiş ve buda serbest basınç dayanımlarını etkilemiştir. Deney düzeneği Şekil 2.11’de gösterilmiştir.



Şekil 2.11. Deney ortamı (Li *et al.* 2015)

Maleki *et al.* (2016) çalışmalarında MICP uygulamasını yüzeye spreyci şeklinde uygulamış ve rüzgâr tüneli analizi yapmışlardır. Sonuç olarak özellikle yüksek hızlarda zeminlerin rüzgâr erozyonu kontrolünde yüzey uygulamasının etkili bir alternatif olduğunu belirlemişlerdir.

Kalsiyum kaynağının miktarı da reaksiyonu etkileyen önemli parametrelerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Chen *et al.* (2016) yapmış olduğu çalışmada maksimum basınç dayanımı değerini 45 mM Ca^{2+} konsantrasyonunda elde ederken 60 mM konsantrasyonuna artırdığında dayanımda hafif düşüş gözlemlemiştir. Bu azalmanın yüksek konsantrasyondaki Ca^{2+} nedeniyle üreaz aktivitesinde yavaşlamadan kaynaklı olabileceğini düşünmektedir.

MICP uygulamasında üreaz üreten bakterinin geometrik uyumu zemin içerisinde bakterinin transferi için önemlidir. Zemin karışımı ve bakterinin boyutlarına bağlı olarak küçük boşluklardan rahat geçiş sınırlanabilir (Ng *et al.* 2012). Bakteri boyutları 0.3 ile 2 µm arasında ve zemin boyutları 0,05 ile 2.00 mm arasında olursa bakteri zemin içerisinde rahat hareket edebilir (Maier *et al.* 2009). Zemin içerisinde kil ve silt oranı arttıkça zemin dayanımının düştüğü görülmektedir (Li 2013).

Biyolojik zemin iyileştirilmesinde kritik faktörler pH, oksijen miktarı, metabolik durum, mikrop konsantrasyonu, kalsiyum iyonları ve aşılama sayısı şeklinde sıralanabilir (DeJong *et al.* 2006).

2.1.4. MICP sonucunda oluşan yapıların zeminlerin mühendislik özellikleri üzerine etkileri

Biyolojik iyileştirme ile zemin tanelerinin arasında oluşan yapılar sayesinde geçirimsizliğin azaltılması, dayanımın artırılması gibi birçok iyileştirme sağlanabilmektedir. Literatürdeki bazı MICP uygulamalarının sonuçları Çizelge 2.3'te verilmiştir.

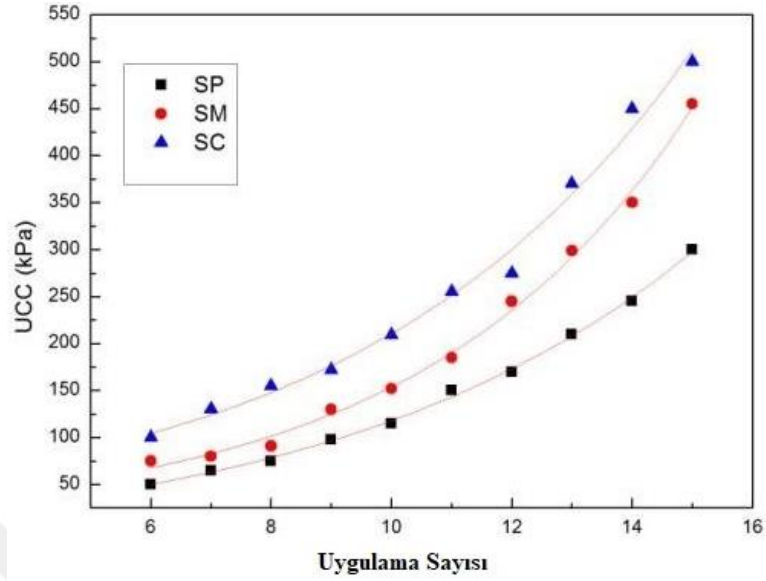
Çizelge 2.3. Literatürdeki bazı MICP çalışmalarından raporlar (Shahrokhi-Shahraki *et al.* 2015)

Referans	Zemin Tipi	Çimentolanma konsantrasyonu:M	Enjeksiyon döngü sayısı	UCS: kPa	Permeabilite düşüşü: %
Whiffin <i>et al.</i> (2007)	Itterbeck kum, D ₅₀ =0,165 mm	1:1	1	0-500	22-75
Yasuhara <i>et al.</i> (2011)	Kum	0.5, 1.0	UCS için 4-8, permeabilite için 1-4	373-1500	60-70
Van Paassen (2011)	Çakıl	Bildirilmemiş	1-4	15-40	Bildirilmemiş
Palmén (2012)	Quartz kum, D ₅₀ = 0,85 mm	Bildirilmemiş	1	200	Bildirilmemiş
			5	2600	
Soon <i>et al.</i> (2013)	Kum, D ₅₀ = 0,52 mm	0.25	8	50	90

Shahrokhi-Shahraki *et al.* (2015) yapmış oldukları çalışmada kum zemin üzerinde yapılan uygulama sonucunda farklı üre ve kalsiyum çimentolanma kombinasyonları kullanarak permeabilitede %50-94 arasında düşüş elde etmişlerdir. En fazla düşüşü en yüksek üre-kalsiyum kombinasyonundan elde etmişlerdir.

Biyolojik iyileştirme sonucunda zemin dayanımları da artmaktadır. Yapılan çalışmalarda farklı uygulamalar sonucunda farklı dayanım artışları elde edilmiştir. Şekil 2.12’de görüldüğü gibi farklı zemin sınıflarında aynı uygulama şekillerinden farklı serbest basınç dayanımları elde edilmiştir. SP sınıfı zemin SM ve SC sınıfı zeminlerle karşılaştırıldığında daha düşük dayanım değerleri göstermiştir.

Literatürde mevcut çalışmalarda organik zeminlerinde biyolojik olarak iyileştirilebileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Sidik *et al.* 2014; Canakci *et al.* 2015a; Canakci *et al.* 2015b).



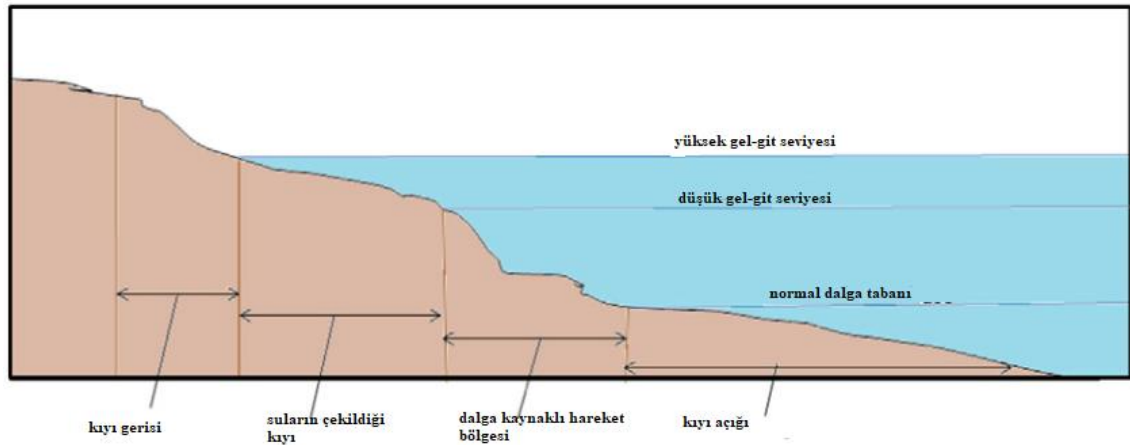
Şekil 2.12. Uygulama yapılan zeminlerin serbest basınç dayanımları (Muthukkumaran and Shashank 2016)

MICP uygulaması sonucunda serbest basınç dayanımı değerleri CL sınıf zeminde 1.45-2.26 kg/cm² arasında değişirken CH sınıfı zeminde biraz daha yükselerek 1.5-2.91 kg/cm² değerlerini almıştır (Sharma and Ramkrishnan 2016). Cheng *et al.* (2018) yaptıkları çalışmada farklı bir enjeksiyon modeli oluşturmuşlar ve 6 uygulama sonucunda serbest basınç deneyinde 2,5 MPa dayanım elde etmişlerdir. Mahawish *et al.* (2018) yapmış oldukları çalışmada tane boyutu dağılımının serbest basınç dayanımı sonuçlarını nasıl etkilediğini araştırmışlardır. 5 farklı zemin üzerinde yaptıkları iyileştirmede en yüksek serbest basınç dayanımını %75 kaba agrega, %25 ince agrega içeriğine sahip zeminde 575 kPa olarak belirlemişlerdir. Shahrokhi-Shahraki *et al.* (2015) çalışmalarında en yüksek serbest basınç dayanımını en düşük bakteri konsantrasyonundan (6×10^7 hücre/ml) ve en yüksek üre ve kalsiyum çimentolanma kombinasyonundan (1.85 M Üre, 1.00 M CaCl₂) elde etmişlerdir.

MICP çimentolamasının artması, MICP uygulanmış zeminlerde kesme dayanımında ve rijitliğinde önemli ölçüde bir artış sağlamıştır (Montoya and DeJong 2015).

Sıvılaştırmanın oluşmasını engellemenin geleneksel yollarından biri kumun bağl yoğunluğunu artırmaktır. Bu dinamik kompaksiyon gibi enerji tüketen bir zemin iyileştirme metoduna ihtiyaç duymaktadır. Biyogaz metodu sıvılaştırmanın azaltılmasında etkili olabilir. Ayrıca geleneksel yöntemlere göre daha ucuzdur (Chu *et al.* 2015).

(Salifu *et al.* 2016) yapmış oldukları çalışmada suların çekildiği kıyılarda oluşan aşınmanın (Şekil 2.13) stabilizasyonu için biyolojik zemin iyileştirmesi uygulaması yapmışlardır. Sonuç olarak stabilite ve erozyon kontrolünde MICP uygulanan zemin uygulama yapılmayan zemine göre stabilite yönünden önemli ölçüde gelişme göstermiştir (Salifu *et al.* 2016).



Şekil 2.13. Suların çekildiği kıyı, gelgit düzeyi ve diğer kıyılarda tipik kıyı/ırmak ağzı anatomisi görseli (Salifu *et al.* 2016)

(Chen *et al.* 2016) çalışmalarında bakterisiz kültür ortamının zemine uygulanması sonucunda basınç dayanımını 11.9 kPa olarak belirlemişlerdir. Bu dayanım artışının inorganik iyonların kristalizasyonu ile oluşmuş olabileceğini ancak güçlü rüzgar erozyonunda bu kristal yapının zayıf ve dirençsiz olduğunu belirtmişlerdir. Bakterisiz kültür ortamının uygulandığı kum numuneleri 0° yada 30° açılarında 10 saniye 33 m s⁻¹ rüzgara maruz kaldıklarında tamamen havaya uçmuşlardır. Bakterili kültür ortamı ile yapmış olduğu çalışmada kum zeminde maksimum serbest basınç dayanımını 21 kPa olarak bulmuştur. Buradan sadece kültür ortamı kullanılarak yapılacak zemin iyileştirmesinin başarılı olamayacağı anlaşılmaktadır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bakteri

Kalsiyum Karbonat reaksiyonunun gerçekleşmesi için yüksek üreaz aktivitesine sahip presipitasyonda rol aldığı bilinen gram pozitif *in vitro* kalsiyum karbonat çöktürebilen *Viridibacillus arenosi* K64 (GenBank ID:KR873397) izolatu kullanılmıştır. İlgili izolat 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. Bakteri yoğunluğu TSB besiyeri içerisinde spektrofotometre analizi ile 1×10^9 cfu/ml olarak tespit edilmiştir.

3.1.2. Sıvı besiyeri

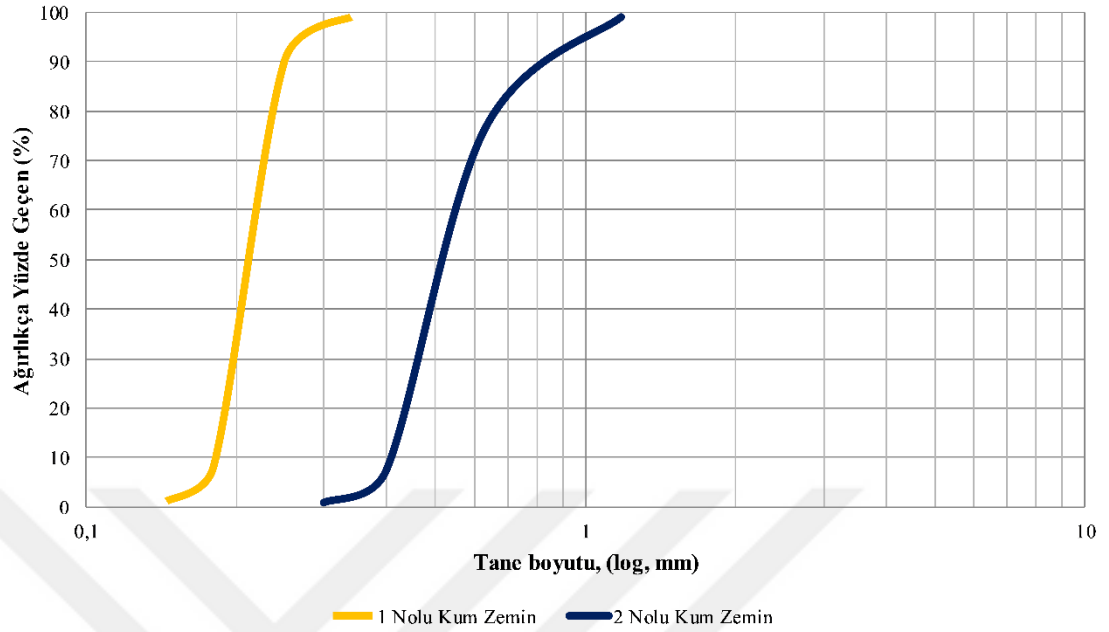
Sıvı besiyeri olarak Li (2015) çalışmasında kullanılan ve içeriğinde Tryptic Soy Broth, 30 g/L; üre, 20 g/L; $MnSO_4 \cdot H_2O$, 12 mg/L; $NiCl_2 \cdot 6H_2O$, 24 mg/L (çalışmanın sonrasında anlatımda kolaylık olması amacıyla TSB olarak kısaltma kullanılmıştır) bulunan sıvı besiyeri kullanılmıştır. Bu sıvı besiyeri hazırlanırken üre hariç diğer kimyasallar otoklavda steril edilmiştir. Üre 0,45 µm filtreden geçirilerek karışıma eklenmiştir. Karışım 1 L olacak şekilde malzemeler tartılmış ve sonradan aseptik ortamda birleştirilmiştir. Diğer besiyerleri ile karşılaştırma yapmak için Çizelge 3.1’de bulunan 4 farklı besiyeri kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonunda kullanılan farklı sıvı besiyerleri (Muynck *et al.* 2010).

İsim	Bileşim	pHa	Referanslar	
	Besleyici Öğeler	Konsantrasyon		
SF ^{b,c}	Nutrient broth	3 g L ⁻¹	6	Stocks-Fischer <i>et al.</i> (1999)
	Üre	20 g L ⁻¹		
	CaCl ₂ .2H ₂ O	1,4-5,6 g L ⁻¹		
	NH ₄ Cl	10 g L ⁻¹		
	NaHCO ₃	2,12 g L ⁻¹		
Growth Medium (DB)	Maya özütü	20 g L ⁻¹	7	Whiffin (2004)
	Üre	20 g L ⁻¹		
Biodeposition (DB)	Üre	20 g L ⁻¹	7	De Belia and De Muynck (2008)
	CaCl ₂ .2H ₂ O	50 g L ⁻¹		
TSB	Tryptic Soy Broth	30 g/L		Li (2015)
	Üre	20 g/L		
	MnSO ₄ •H ₂ O	12 mg/L		
	NiCl ₂ •6H ₂ O	24 mg/L		

3.1.3. Zemin

Literatürdeki çalışmalarda çoğunlukla 1 nolu kum zemin (ticari silis kumu) kullanılmıştır. Çalışmamızda 1 nolu kum zemin ile birlikte farklı bir kum zemin (dere kumu) daha kullanılmıştır. 1 nolu ve 2 nolu kum zemin için ASTM E 11 standardına göre yapılan elek analizine göre tane çapı dağılım eğrisi Şekil 3.1’de ve elek analizi sonuçları Çizelge 3.2’de verilmiştir. Her iki zeminde USCS zemin sınıflandırma sistemine göre SP (kötü derecelenmiş kum zemin) olarak belirlenmiştir. Kullanılan farklı zeminlere ait görsel Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.1. 1 ve 2 nolu kum zeminlere ait granülometri eğrisi

Çizelge 3.2. Zeminlere ait analiz sonuçları

	1 nolu Kum Zemin	2 nolu Kum Zemin
Özgül ağırlık ^a	2,65	2,65
e max	0,86	1,22
e min	0,61	0,87
Rölatif Sıkılık (%)	35	35
D ₁₀ ^b	0,18	0,41
D ₃₀ ^b	0,2	0,46
D ₆₀ ^b	0,22	0,55
Uniformluluk katsayısı, Cu ^b	1,22	1,34
Derecelenme katsayısı, Cc ^b	1,01	0,94
Zemin Sınıflandırması (USCS)	SP	SP

^aASTM D854-14, ^bASTM D2487-11



Şekil 3.2. Kullanılan zeminlere ait görsel a: 2 nolu kum zemin (dere kumu), b: 1 nolu kum zemin (ticari silis kumu)

3.2. Yöntem

Tez çalışmamızda kullanılan yöntem özetle Şekil 3.3'te verilmiştir.

YÖNTEM

Tez çalışmamızda kullanılan yöntem özetle aşağıdaki gibidir.



SIVI BESİYERİNİN SEÇİMİ

Kullanılacak sıvı besiyerinin belirlenmesi amacıyla aşağıda bulunan sıvı besiyerleri üzerinde spektrofotometre cihazı ile analizler yapılmış ve bakteri için en iyi kültür ortam koşulları belirlenebilmiştir.

- SF
- Growth Medium (DB)
- Biodeposition (DB)
- TSB (Li (2015))



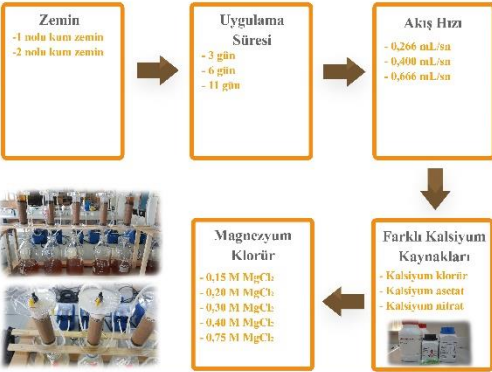
UYGULAMA YÖNTEMİNİN BELİRLENMESİ

Kültür ortamının zemine uygulanmasında farklı metodlar denenmiş ve en iyi sonuç veren (mukavemet) uygulama şekli ile çalışmaya devam edilmiştir. Uygulama şekli belirlenmesinde iki temel üzerinde farklı şekillerde kültür ortamı zemine uygulanmıştır. Birincisinde kültür ortamı santrifüj vasıtasıyla çöktürülmüş ve uygulanmış ikincisinde ise kültür ortamı belirlenen sürede zemine çevrim şeklinde uygulandıktan sonra uygulama solüsyonu zemine verilmiştir. Alınan mukavemet sonuçlarına göre yöntem belirlenmiş ve farklı zeminler üzerinde bu yöntem kullanılarak iyileştirme çalışmaları yapılmıştır.



DENEYLER

Ön deneyler sonucunda belirlenen kültür ortam koşulları ve zemine uygulama yöntemi kullanılarak farklı 2 zemin üzerinde ve 3 farklı uygulama süresinde ve 3 farklı akış hızı kullanılarak iyileştirme çalışmaları yapılmıştır. Bu süreçte uygulama solüsyonunda kalsiyum kaynağı olarak literatürde mevcut birçok çalışmaya benzer olarak kalsiyum klorür kullanılmıştır. Sonrasında en iyi sonuç veren uygulama şekli kullanılarak farklı kalsiyum kaynaklarının sonuçları nasıl etkilendiği araştırılmıştır. Bu süreçte farklı kalsiyum kaynağı olarak kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat kullanılmış ve sonuçları kalsiyum klorür uygulaması ile karşılaştırılmıştır. Sonrasında belirlenen optimum iyileştirme koşullarında kalsiyum klorürle birlikte yada sadece magnezyum klorür (farklı molarlarda) uygulanarak magnezyumun sonuçlara etkisi araştırılmıştır.



YAPILAN ANALİZLER

Bazı analizler deney esnasında bazılarıda deney sonucunda oluşan zemin örnekleri üzerinde uygulanarak iyileştirme sonuçları değerlendirilmeye çalışılmıştır. Yapılan bu analizlere aşağıda değinilmiştir.

Sızma Hızı ile Permeabilite Deneyi

Deney esnasında alttan süzülen miktarlar ölçülerek sabit düzeyli permeabilite prensibinde zeminlerin geçirimsizlikleri hesaplanmıştır.



Kalsiyum Karbonat Yüzdesi Deneyi

Uygulama sonucunda numunelerde oluşan kalsit belirlenebilmesi amacıyla her bir numunenin üst, orta ve alt kısımlarından örnekler alınmış ve kalsit yüzdesi belirlenmiştir.



pH takibi

Deney öncesinde kültür ortamının ve deney esnasında alttan süzülen sıvının pH ölçümleri 24 saat ara ile yapılarak pH değişimleri izlenmiştir.



Spektrofotometre Analizi

Ön deneylerde kullanılacak besiyerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.



Serbest Basınç Deneyi

Deney sonrasında oluşan zemin örneklerinin mukavemetlerini belirlemek amacıyla standartlara uygun şekilde yürütülmüştür.



Kesme Kutusu Deneyi

Optimum deney sonuçlarına göre oluşturulan silis kum numunelerin kesme mukavemetlerini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.



SEM-EDS-Line Profil Analizi

Uygulama yapılan örneklerde oluşan yapıların belirlenebilmesi amacıyla SEM-EDS ve Line profil analizleri yürütülmüştür.



XRD (X-Ray Diffraction) Analizi

Uygulama sonrasında oluşan yapıların belirlenebilmesi amacıyla yürütülmüştür.



Şekil 3.3. Yöntem

3.2.1. Deney ortamının hazırlanması

Zeminler kalıplara %35 rölatif sıkılıkta yerleştirilmiştir. Serbest basınç deneyinde zeminler 38 mm çapında 150 mm yüksekliğindeki PVC kalıplara yerleştirilmiştir. Kesme kutusu deneyinde ise zeminler yaklaşık 63 mm çapında 80 mm yüksekliğindeki PVC kalıplara yerleştirilmiştir. Zemin numunesinin altında ve üstünde homojen dağılım olması için filtre olarak sünger ve çakıl (yaklaşık 10 mm) kullanılmıştır. Her bir numune için bir kalıp hazırlanmış böylece zeminler örselenmeden çıkarılabilmektedir. Kalıpların hazırlanışına ait görsel Şekil 3.4'te, deney düzeneğine ait görsel ise Şekil 3.5'te verilmiştir. Deney esnasında kültür ortamı ve/veya stok solüsyon belirlenen peristaltik pompa hızında silikon hortumlar vasıtasıyla üstten verilmiş ve yerçekimi etkisiyle alttan süzölmüştür. Tıkanma başladığında üstten taşan kısım tekrar silikon hortumlar vasıtasıyla altta bulunan kaba iletilmiştir. Böylece çevrim yapılarak zeminin her yerine kültür ortamı ve/veya stok solüsyonun (kalsiyum kaynağı + üre) ulaşması amaçlanmıştır.



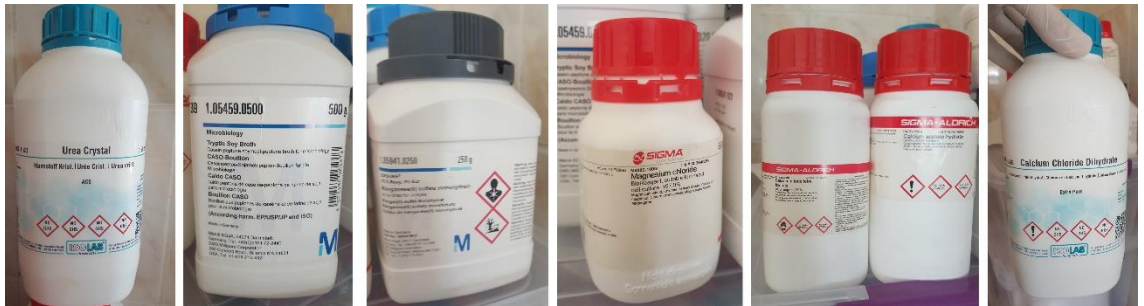
Şekil 3.4. Numune kalıplarının hazırlanması



Şekil 3.5. Deney düzeneği

3.2.2. Kültür ortamı ve uygulama solüsyonunun hazırlanması

Sıvı besiyeri ve uygulama solüsyonu (kalsiyum klorür + üre) hazırlanırken kullanılan bazı kimyasallara ait görsel Şekil 3.6’da verilmiştir.



Şekil 3.6. Kullanılan bazı kimyasallar

Sıvı besiyeri hazırlanırken kullanılacak kimyasallar tartılarak hacimleri saf su kullanarak tamamlanmıştır. Besiyerlerinin pH ayarlaması NaOH (sodyum hidroksit) ve HCl (hidroklorik asit) kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.7). Hazırlanan besiyerinde üre hariç

diğer kimyasallar otoklav cihazı (Şekil 3.8) kullanılarak steril edilmiştir. Sonrasında üre 0,45 µm filtreden geçirilerek aseptik ortamda karışıma dahil edilmiştir.

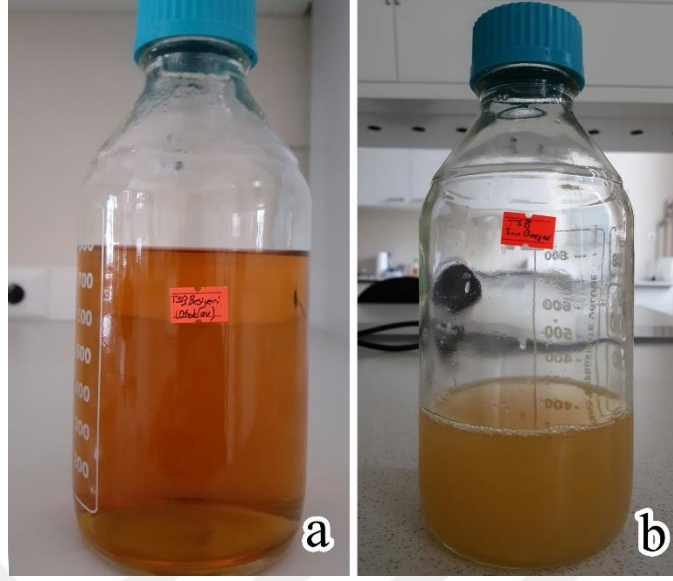


Şekil 3.7. pH cihazı



Şekil 3.8. Otoklav cihazı

Besiyeri steril edildikten sonra aseptik ortam şartlarında bakteriler sıvı besiyerine inoküle edilmiş ve çalkalayıcıda belirlenen sürede inkübe edilerek zemine uygulamaya hazır hale getirilmiştir. Sıvı besiyerinin bakteri eklenmeden önce ve eklendikten sonraki (48 saat) durumuna ait fotoğraf Şekil 3.9’da verilmiştir.

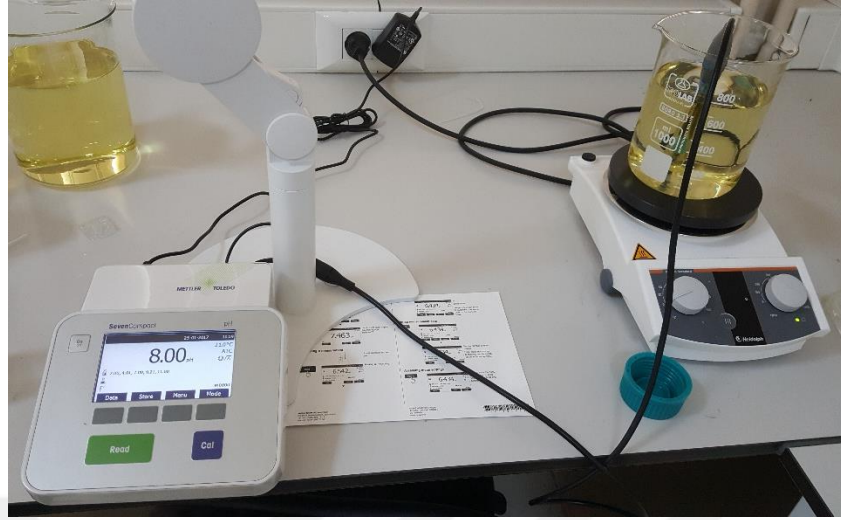


Şekil 3.9. (a) TSB sıvı besiyeri, (b) TSB sıvı besiyerine bakteri eklendikten sonra kültür ortamı (48 saat 110 rpm çalkalayıcıda)

3.2.3. Ön deneyler ve uygulama yöntemi

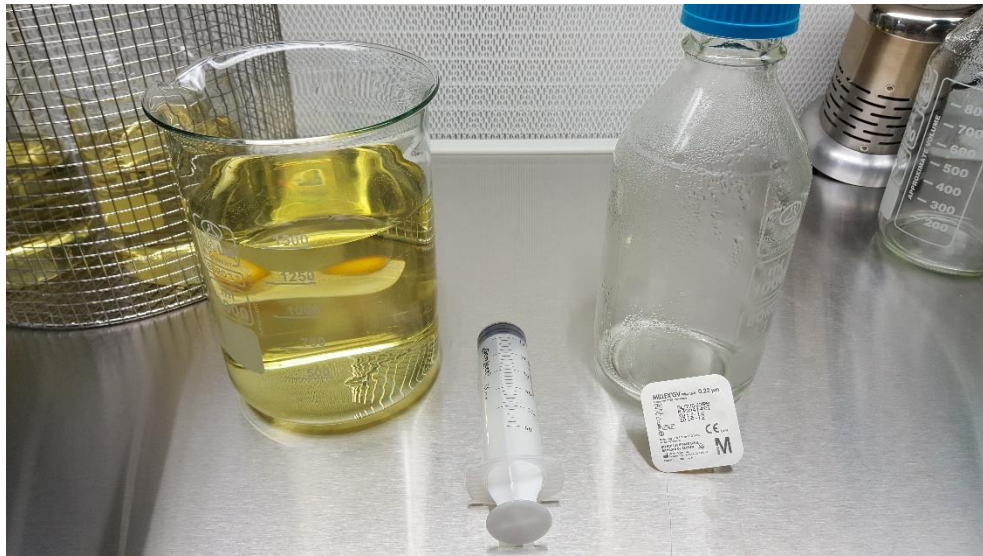
Yüksek lisans çalışmamızda (Akoğuz 2014) kullanılan ve *Viridibacillus arenosi* bakterisi ile sonuç alınan SF sıvı besiyeri kullanılarak ön deneylere başlanmıştır. Deneylerde peristaltik pompa kullanılarak sıvı besiyeri, kültür ortamı ve kullanılan diğer kimyasalların belirlenen süre içerisinde zeminde çevrimi sağlanmıştır. Böylece zemin ortamında sürekli taze sıvı besiyeri bulunacak homojenlik sağlanmış olacak ve sürenin uzamasıyla bakterilerin çalışması devam edebilecektir. Literatürde bu konuda birçok çalışma mevcuttur ancak *V. arenosi* bakterisi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır.

İlk olarak farklı iki zemin sınıfında numuneler hazırlanmıştır. Kullanılacak zeminlerden (önceki bölümde özellikleri verilmiştir) biri 1 nolu kum zemin diğeri 2 nolu kum zemin olarak belirlenmiştir. SF sıvı besiyeri kullanılmış ve besiyer steril edilmeden önce NaOH ve HCl kullanılarak pH değeri 8,0 olarak ayarlanmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Sıvı besiyeri pH ayarlanması

pH değeri ayarlanan sıvı besiyeri aseptik ortam şartlarında (Şekil 3.11) 0,45 µm filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Daha sonra besiyerine *V. arenosi* bakterisi eklenerek 72 saat çalkalayıcıda inkübe edilmiştir.



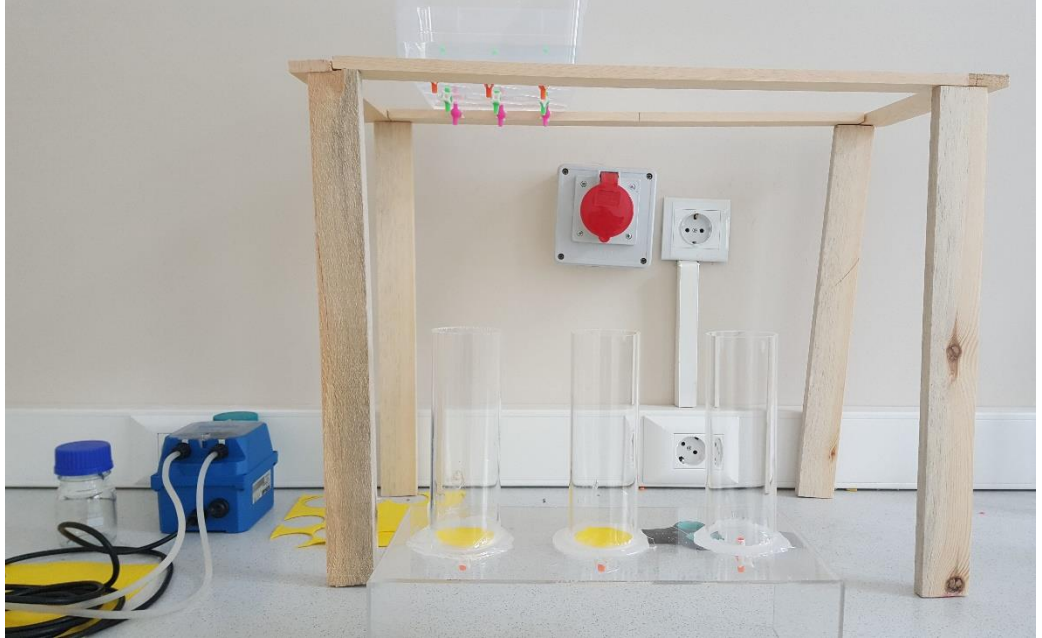
Şekil 3.11. Aseptik ortam

Zemin PVC kalıplara yerleştirilirken zeminin alt ve üst kısmına filtre yerleştirilmiş ve zeminin üst kısmına iri kumdan filtre yapılarak homojen dağılım elde edilmeye çalışılmıştır. Peristaltik pompa ile tek numunede çevrim yapılabileceğinden (Şekil 3.12)

numunelerin üst kısmına kap koyularak çevrimin birçok numunede gerçekleşmesi sağlanmıştır (Şekil 3.13).



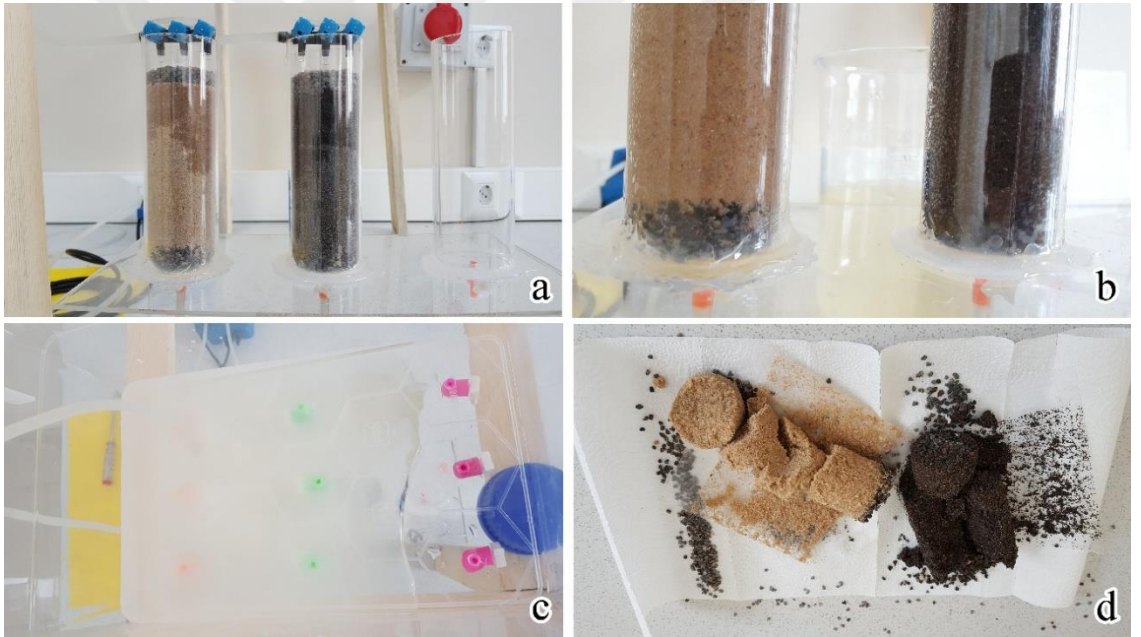
Şekil 3.12. Deney düzeneği



Şekil 3.13. Deney düzeneği

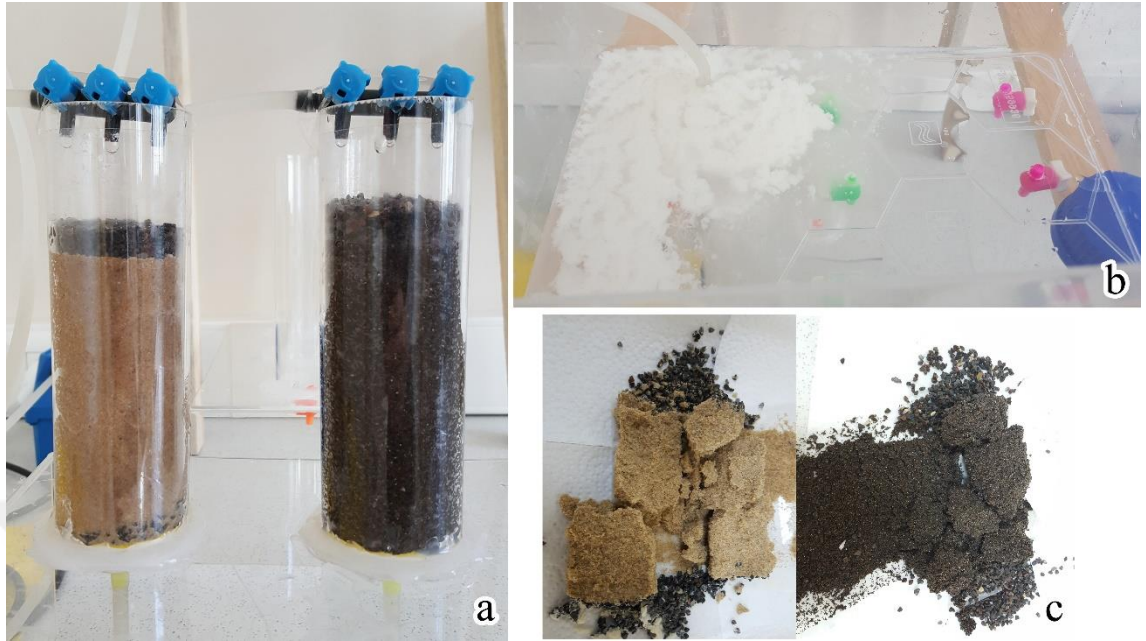
Daha sonra hazırlanan numuneler PVC kaplara yerleştirilmiş ve aşağıdaki gibi uygulama yapılmıştır.

- Hazırlanan numunelere öncelikle kültür ortamı eklenmiş ve yaklaşık 1 saat çevrimi yapılmıştır.
- Kültür ortamının süzülmesi tamamlandığında CaCl_2 (5 g/L) stok solüsyon ortama verilerek çevrimi başlatılmıştır.
- 6 saat stok solüsyon çevrimi yapıldıktan sonra çevrim durdurulmuş ve zemin kurumaya bırakılmıştır.
- Uygulama sonucunda elde edilen numuneler Şekil 3.14'te verilmiştir.



Şekil 3.14. Uygulama sonucu (a) kültür ortamı eklenmesi, (b) stok solüsyon eklenmesi ve altta görülebilen kalsiyum karbonat çökmesi, (c) kapta oluşan kalsiyum karbonat çökmesi, (d) Numune sonuçları

Yapılan denemede istenilen sonuca ulaşılamamıştır. CaCl_2 stok solüsyon yoğunluğu 140 g/L olarak ayarlanmış ve tekrar aynı şekilde uygulama yapılmıştır. Uygulama sonuçları Şekil 3.15'te verilmiştir.



Şekil 3.15. Uygulama sonuçları (a) kültür ortamı verilen numuneler, (b) stok solüsyon eklenmesi sonucunda oluşan çökelti, (c) numune sonuçları

Stok solüsyonda yapılan değişiklik sonucunda numune sonuçlarında bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak kapta oluşan kalsiyum karbonat çökelti miktarları arasındaki farklılardan yola çıkılarak stok solüsyon yüzdesinin artmasıyla, oluşan çökelti miktarının arttığı söylenebilir. SF sıvı besiyerinin pellet ile uygulanması sonucu yüksek lisans çalışmamızda (Akoğuz 2014) makul sonuçlar alınmıştır. Yapmış olduğumuz ön deneylerde farklı besiyerleri ve yöntemlerinde süreci etkilediği düşünüldüğünden farklı uygulamalar yapılarak sonuçları izlenmiştir.

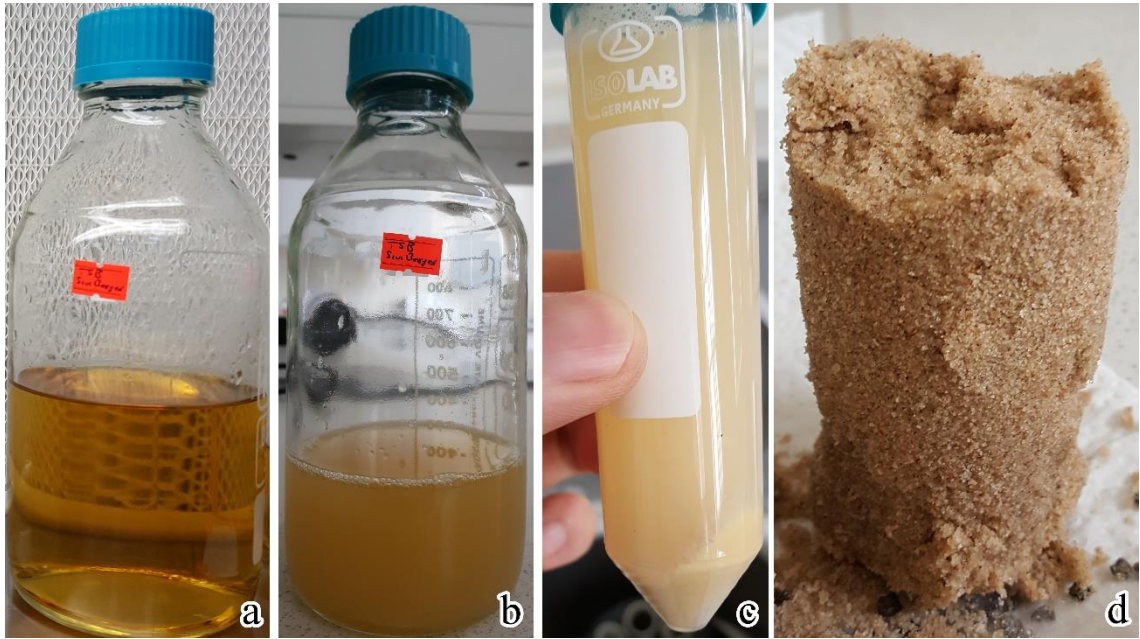
Literatürde uygulama süresinin uzatılmasının iyileştirme üzerinde olumlu etkisinin olduğu belirtilmiştir . Li (2015) *Bacillus pasteurii* bakterisini kullanarak zemin içerisinde 5 günde üre hidrolizini gerçekleştirmiştir. Ön denemelerde, Li (2015) çalışmasına benzer şekilde *V. arenosi* bakterisi ile uygulama yapılmıştır. Uygulama aşamaları aşağıdaki gibidir:

- Li (2015) çalışmasında kullanılan ve içeriğinde Tryptic Soy Broth, 30g/L; urea, 20 g/L; $MnSO_4 \cdot H_2O$, 12 mg/L; $NiCl_2 \cdot 6H_2O$, 24 mg/L besiyeri 1 L olarak hazırlanmıştır.

- 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda kültür ortamı 50 mL tüpler ile santrifüjde (3000 rpm, 4°C, 10 dk) çöktürülmüştür.
- Oluşan pellete 9 g/L NaCl eklenerek 50 mL'e tamamlanmıştır.
- Zemin ve 50 mL bakteri solüsyonu steril bir kap içerisinde karıştırılarak PVC kap içerisine yerleştirilmiştir.
- Yaklaşık olarak bir gün boyunca 200 mL 50 mM CaCl₂ peristaltik pompa ile çevrimi yapılmıştır.
- Sonrasında hazırlanan 240 mL (0,75 M CaCl₂ ve 1,5 M üre) solüsyonun 5 gün süre ile çevrimi yapılmıştır. Çevrim bittikten sonra numune kurumaya bırakılmış ve bu uygulama sonucunda numunelerde iyileşmeler görülmüştür (Şekil 3.16).

Ön deneylerde uygulama süresinin arttırılmasının sonuçlar üzerindeki olumlu etkisi gözlemlenmiş ve uygulama süresinin bir parametre olmasına karar verilmiştir.

Besiyeri analizlerinde TSB sıvı besiyerinin de içerisinde bulunduğu 4 farklı sıvı besiyeri üzerinde analizler yapılarak sıvı besiyeri seçimi yapılmıştır.



Şekil 3.16. Uygulama sonucu (a) sıvı besiyeri, (b) 48 saatlik kültür ortamı, (c) santrifüjde çöktürülen pellet, (d) uygulama sonucu

En olumlu sonuç veren sıvı besiyerinin belirlenmesi amacıyla Çizelge 3.1’de yer alan sıvı besiyerleri arasından spektrofotometre analiz sonuçlarına göre hangi besiyerin kullanılması gerektiği belirlenmiştir. Sonrasında zemine kültür ortamının ve stok solüsyonun uygulama şeklini belirlemek amacıyla Çizelge 3.3’te detayları verilen farklı uygulama şekilleri kullanılmıştır. Bu uygulamalar sonucunda en iyi sonucu veren uygulama şekli kullanılarak Çizelge 3.4’te detayları verilen farklı uygulama süreleri, akış hızları ile her bir zemin için optimum iyileştirme koşulları belirlenmiştir. Farklı kalsiyum kaynaklarının süreci nasıl etkilediğinin belirlenmesi amacıyla Çizelge 3.5’te detayları verilen uygulamalar yapılmıştır. Kalsiyum kaynakları haricinde detayları Çizelge 3.5’te verilen farklı molarlarda kalsiyum klorür ve/veya magnezyum klorür zeminlere uygulanmış ve magnezyum klorürün iyileştirme sürecine etkisi araştırılmıştır.

Çizelge 3.3. Kültür ortamının zemine uygulanma şekilleri

Numune No	Besiyeri	Kültür ortamının zemine aşılması	İlk Çevrim ve süresi	İkinci Çevrim ve süresi
1	TSB	Pellet	50 mM CaCl ₂ (24 saat)	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre (120 saat)
2	TSB	Pellet	1,5 M Üre (24 saat)	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre (120 saat)
3	TSB	Pellet	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre (120 saat)	
4	TSB	Kültür ortamı (çevrim)	Kültür ortamı + 50 mM CaCl ₂ (24 saat)	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre (120 saat)
5	TSB	Kültür ortamı (çevrim)	Kültür ortamı + 1,5 M Üre (24 saat)	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre (120 saat)
6	TSB	Kültür ortamı (çevrim)	Kültür ortamı (24 saat)	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre (120 saat)

Çizelge 3.4. Optimum akış hızı ve uygulama süresinin belirlenmesi için yapılan uygulamaların detayları

Uygulanacak Besiyeri	Uygulama Süresi	Zemin	Akış Hızı
TSB	11 gün	2 nolu kum zemin	1. Seviye
TSB	11 gün	2 nolu kum zemin	2. Seviye
TSB	11 gün	2 nolu kum zemin	3. Seviye
TSB	11 gün	1 nolu kum zemin	1. Seviye
TSB	11 gün	1 nolu kum zemin	2. Seviye
TSB	11 gün	1 nolu kum zemin	3. Seviye
TSB	6 gün	2 nolu kum zemin	1. Seviye
TSB	6 gün	2 nolu kum zemin	2. Seviye
TSB	6 gün	2 nolu kum zemin	3. Seviye
TSB	6 gün	1 nolu kum zemin	1. Seviye
TSB	6 gün	1 nolu kum zemin	2. Seviye
TSB	6 gün	1 nolu kum zemin	3. Seviye
TSB	3 gün	2 nolu kum zemin	1. Seviye
TSB	3 gün	2 nolu kum zemin	2. Seviye
TSB	3 gün	2 nolu kum zemin	3. Seviye
TSB	3 gün	1 nolu kum zemin	1. Seviye
TSB	3 gün	1 nolu kum zemin	2. Seviye
TSB	3 gün	1 nolu kum zemin	3. Seviye
Akış Hızları:	1. Seviye	2. Seviye	3. Seviye
	0,266 mL/sn.	0,400 mL/sn.	0,666 mL/sn.
TSB Besiyeri İçeriği:	Tryptic Soy Broth 30 g/L; Urea 20 g/L; MnSO ₄ •H ₂ O: 0,012 g/L; NiCl ₂ •6H ₂ O: 0,024 g/L		
Uygulama Solüsyonu	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre:		

Çizelge 3.5. Farklı kalsiyum kaynakları ve magnezyum klorür uygulanması programı

Uygulanacak Besiyeri	Uygulama Süresi	Zemin	Uygulama Solüsyonu İçeriği
TSB	11 gün	1 nolu kum zemin	0,75 M Kalsiyum Asetat + 1,5 M Üre
TSB	11 gün	1 nolu kum zemin	0,75 M Kalsiyum Nitrat + 1,5 M Üre
TSB	11 gün	1 nolu kum zemin	0,20 M $MgCl_2$ + 0,75 m $CaCl_2$ + 1,5 M Üre
TSB	11 gün	1 nolu kum zemin	0,40 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre
TSB	11 gün	1 nolu kum zemin	0,75 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre
TSB	11 gün	1 nolu kum zemin	0,15 M $MgCl_2$ + 0,60 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre
TSB	11 gün	1 nolu kum zemin	0,30 M $MgCl_2$ + 0,60 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre
TSB	11 gün	1 nolu kum zemin	0,75 M $MgCl_2$ + 1,5 M Üre
Akış Hızı:	0,40 mL/sn		
TSB:	Tryptic Soy Broth 30 g/L; Urea 20 g/L; $MnSO_4 \cdot H_2O$: 0,012 g/L; $NiCl_2 \cdot 6H_2O$: 0,024 g/L		

3.2.4. Serbest basınç deneyi

İyileştirme yapılan zeminler üzerinde serbest basınç deneyi yapılmıştır. Serbest basınç deneyleri ASTM D2166 esas alınarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. Kesme kutusu deneyi

Biyoçimentolama ve biyotıkanma teknikleri kullanılarak zeminlerin kesme dayanımlarında artış ve permeabilitelerinde düşüş elde edilebilir (Ivanov and Chu 2008).

Bu kapsamda en yüksek serbest basınç mukavemeti sonucu veren 1 nolu kum zemin üzerinde kesme kutusu deneyi için numuneler hazırlanmıştır. Uygulama yapılan ve yapılmayan 1 nolu kum zemin üzerinde kesme dayanımlarının belirlenmesi amacıyla yapılan kesme kutusu deneyi ASTM D3080 standartlarına uygun şekilde yürütülmüştür.

3.2.6. Sızma hızı ile permeabilite tespiti

Chu *et al.* (2012) yapmış olduğu çalışmada biyolojik iyileştirme sonucunda permeabilitedeki düşüşü değerlendirmek için sızma hızını kullanmıştır. Permeabilite testi ana esaslarda belirlenen standart kalıpların yerine uygulama yapılan PVC ile hazırlanan kalıpta sabit seviyeli geçirimsizlik prensibinde yürütülmüştür (Cheng *et al.* 2016). Ayrıca her iki zemin için uygulama yapılmayan numunelerde permeabilite katsayısı sabit düzeyli geçirimsizlik deneyi ile belirlenmiştir.

3.2.7. Kalsiyum karbonat yüzdesi deneyi

Kalsiyum karbonat içeriğinin belirlenmesinde asit uygulanması sonucu oluşan ağırlık kaybı tekniği kullanılmıştır. Kalsiyum karbonat yüzdesinin belirlenmesinde birçok farklı metot bulunmaktadır. Bu metodun seçiminde kolaylığı ve aparatların mevcut olması etkili olmuştur (Lee *et al.* 2013). Bu metotta 5 g numune 20 mL 1 M HCl asit ile karıştırılır. Sonra çözülmüş partiküller 200 nolu elek çapına sahip filtre kağıdı ile 10 dakika süreliğine saf su kullanılarak yıkanır. Yıkama süreci ile tüm çözünebilen kalsiyum kaynakları yıkanmış olur. Sonra kalan zemin daneleri tekrar elenir ve kurutularak tartılır. İlk numunenin ağırlığı (A) ve yıkanarak kurutulan numunenin (B) ağırlık farkı bize kalsiyum karbonat ağırlığını verir. Sonrasında kalsiyum karbonat yüzdesi aşağıdaki formülle hesaplanır (Choi *et al.* 2017a).

$$\text{Kalsiyum karbonat yüzdesi (\%)} = 100 - \left(\frac{B}{A}\right) \times 100 \quad (3.1)$$

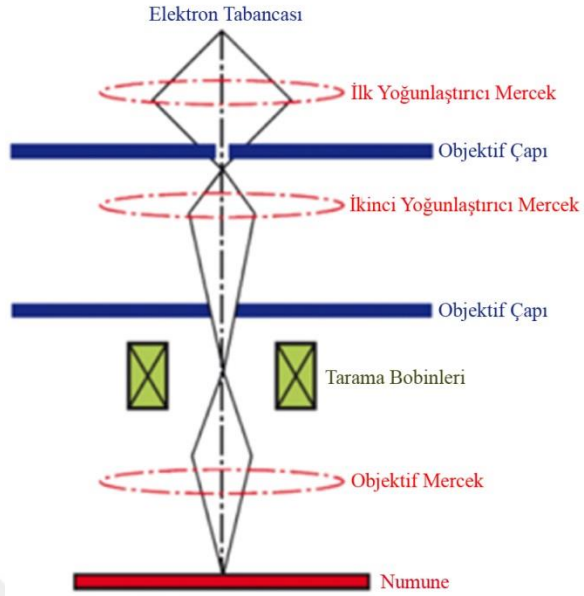
Ölçümlerde oluşabilecek hataları minimize etmek için uygulama yapılmamış numune içinde kontrol yapılmıştır (Lee *et al.* 2013). Uygulama düzeneğine ait görsel Şekil 3.10’da verilmiştir.



Şekil 3.17. Kalsit yüzdesi belirlenmesine ait deney görseli

3.2.8. SEM (Scanning Electron Microscopy) analizi

SEM (Scanning electron microscopy), yüzey üzerinde odaklanan elektron ışınları ile yapılan tarama (Şekil 3.18) sonucunda görüntü alabilmemizi ve ışın içerisindeki elektronların örnek ile etkileşime girerek yüzey topoğrafyası ve bileşenleri hakkında bilgi elde etmemizi sağlar (Anonymous 2014).



Şekil 3.18. SEM çalışma prensibi (Anonymous 2014)

Zeminin uygulama öncesindeki mevcut yapılar ve uygulamadan sonra oluşan yapılar Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi'nde bulunan SEM (Scanning Electron Microscopy) Quanta 450 FEG cihazı ile analiz edilmiştir (Şekil 3.19).



Şekil 3.19. Taramalı elektron mikroskobu (Quanta 450 FEG)

3.2.9. EDS (Energy-Dispersive- X-ray Spectroscopy) ve çizgi profil 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 Binali Yıldırım Üniversitesi'nde bulunan Quanta 450 FEG cihazı ile yapılmıştır. Çizgi profil analizi ile de belirlenen iki nokta arasında oluşan mineraller görüntülenmiştir.

3.2.10. 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 Binali Yıldırım Üniversitesi laboratuvarında bulunan Empryrean Series 2 X-ray Diffraction System (Şekil 3.20) cihazı kullanılmıştır. Kırılma açısı olarak 2theta kullanılmıştır.



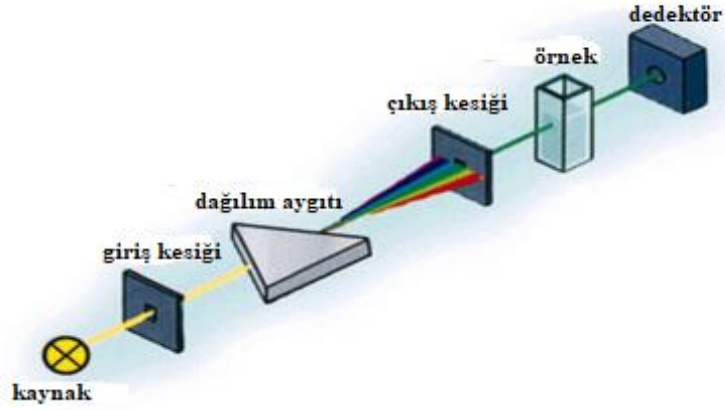
Şekil 3.20. X-ışını kırınım cihazı (Empyrean Series 2 X-ray Diffraction System)

3.2.11. Spektrofotometre analizi

Çalışmamızda kullanılacak sıvı besiyerinin belirlenmesi amacıyla farklı sıvı besiyerleri ile oluşturulan kültür ortamları üzerinde farklı sürelerde spektrofotometre analizi yapılmıştır. Bu analiz sonucunda hangi besiyerinin kullanılacağı ve hangi süre içerisinde zemine aşılacağına karar verilmiştir. Analizlerde DAYTAM (Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi)'da bulunan spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Cihazın çalışma prensibi aşağıda açıklanmıştır. Analiz sonuçları ön çalışmalar bölümünde yer verilmiştir.

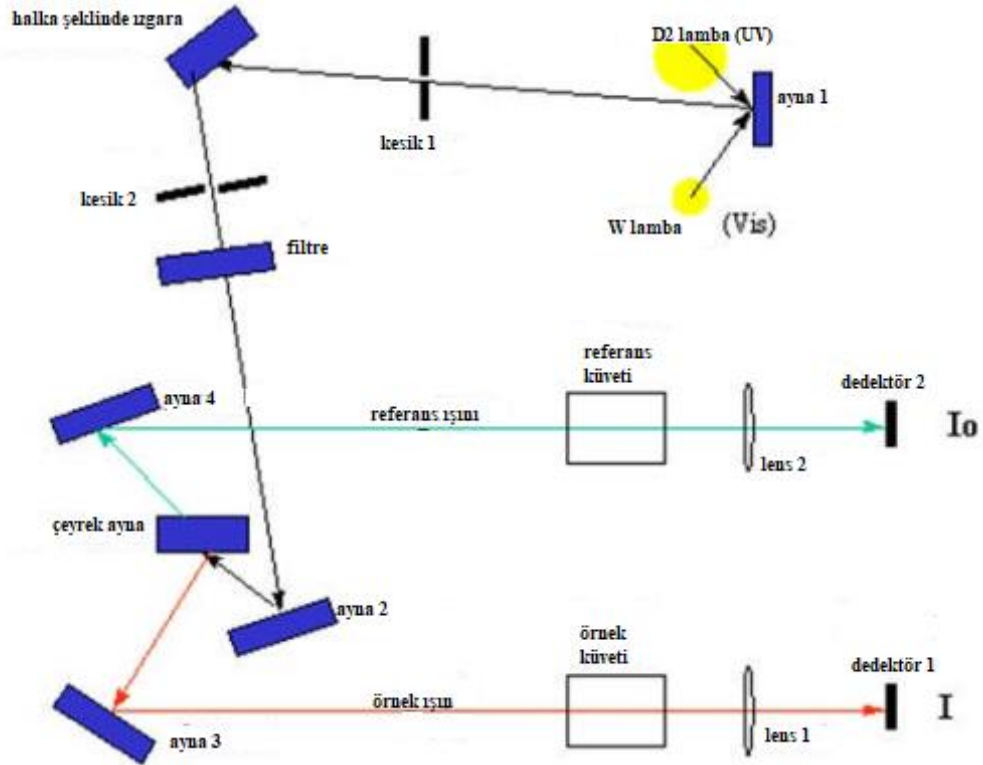
Spektrometreler (Şekil 3.21), madde renginin yoğunluğunun ölçülmesiyle madde miktarının veya konsantrasyonunun bulunmasını sağlayan cihazlardır (Anonim 2017).

Analiz edilen örnek üzerine ışık demetinin bir kısmını filtreler kullanarak ayıran ve gönderen aletler kolorimetre veya fotometre olarak adlandırılırken, yarıklar ya da prizmalar aracılığı ile bu seçiciliği yapan aletler (Şekil 3.22) spektrofotometre olarak adlandırılır (Anonim 2017).



Şekil 3.21. Spektrofotometre (Anonim 2017)

Spektrofotometrelerde konsantrasyonu bilinen bir standart çözeltinin absorpladığı ışık miktarı (absorbans, optik dansite) ile konsantrasyonu bilinmeyen çözeltinin absorpladığı ışık miktarı karşılaştırılır (Anonim 2017).



Şekil 3.22. Spektrofotometre ölçüm prensip şeması (Anonim 2017)

3.2.12. Üre aktivitesinin belirlenmesi ve pH takibi

Numunelerin başlangıçta ve uygulama süresince 24 saatte bir altta biriken kaptaki solüsyonlarının pH ölçümleri alınmıştır.

Hazırlanan sıvı besiyerine bakteri ekimi yapıldıktan 48 saat sonra kültür ortamına uygulama solüsyonu (1,5 M Üre + 0,75 M CaCl₂) eklenmiş ve 10 gün süre ile nessler metodu kullanılarak üre aktivitesi belirlenmiştir (Ningsih *et al.* 2018).



4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Sıvı Besiyerinin Seçimi

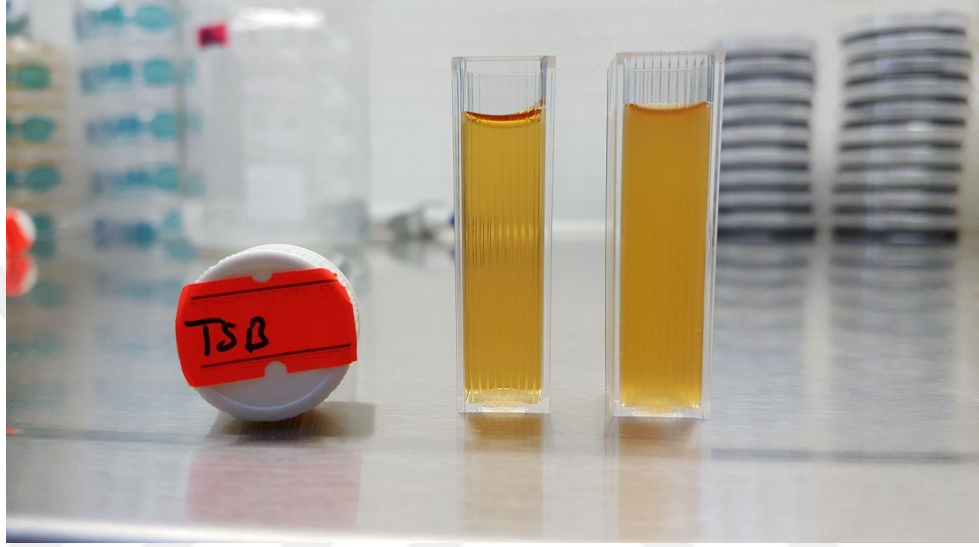
Yapılan ön deneyler sonucunda hangi sıvı besiyerinin kullanılacağını belirlemek için spektrofotometre analizi yapılmıştır. Kalantary and Kahani (2015) yapmış olduğu çalışmada reaksiyon hızının kontrolünü değerlendirebilmek için iki farklı sıvı besiyeri ve farklı ortam şartları kullanılmıştır. Helmi *et al.* (2016) çalışmasında ise 5 farklı sıvı besiyeri kullanılmıştır. Çalışmamızda 4 farklı sıvı besiyeri ve 6 farklı uygulama şekli kullanarak bunlar arasından en uygun besiyeri ve uygulama şekli analizler sonucunda belirlenmiştir.

İçerikleri Çizelge 3.1’de verilen Biodeposition (DB), Growth medium (DB), SF^{b,c} ve TSB sıvı besiyerleri kullanılmıştır. Hazırlanan sıvı besiyerlerine *V. Arenosi* aşılanmıştır (Şekil 4.1) ve 4 gün boyunca 24 saatte bir spektrofotometre ile yoğunlukları ölçülmüştür.



Şekil 4.1. Hazırlanan kültür ortamları (1 günlük durumu)

Analizlerde her besiyerden iki kap hazırlanmış birine kültür ortamı eklenmiş diğerine eklenmemiştir. Tüm besiyerleri çalkalayıcıya yerleştirildikten sonra 24 saatte bir besiyerler çıkarılmış ve aseptik ortam şartlarında tüplere doldurularak analizler yapılmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Spektrofotometre analizi için hazırlanan tüpler
(Sağdaki kültür ortamı, soldaki bakteri eklenmemiş (kör) sıvı besiyeri).

Aseptik ortamda hazırlanan tüpler spektrofotometre (Şekil 4.3) ile 4 gün süresince analiz edilmiş ve sonuçları aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.3. Spektrofotometre cihazı

Çizelge 4.1. Spektrofotometre analiz sonuçları

Besiyeri	1. Gün (%)	2. Gün (%)	3. Gün (%)	4. Gün (%)
Biodeposition (DB)	101,4	101,4	101,3	101,6
Growthmedium (DB)	97,2	48,5	53	55,3
SF^{bc}	99,5	97,7	95,6	100,2
TSB	7,2	13,4	15,9	17,5

Çizelge 4.1’de spektrofotometre analizi sonuçları görülmektedir. Analizler 4. günden sonra aynı yoğunlukta devam ettiğinden kesilmiştir. Analiz sonuçlarına bakıldığında en fazla bakteri yoğunluğunun TSB sıvı besiyerinde olduğu görülmektedir. Bu analizler sonucunda TSB sıvı besiyeri kullanılmasına karar verilmiştir.

4.2. Uygulama Yönteminin Belirlenmesi

Yapılan ön deneylerde ve spektrofotometre analizlerinde TSB besiyerindeki gelişimin diğer besiyerlerden çok daha yüksek olduğu görülmüştür. Zemine uygulama aşamasında santrifüj ile çöktürülen pellet uygulanarak başarılı sonuçlar alınmıştır. Ancak literatürde yapılan çalışmalar, uygulama şeklinin sonuçları etkilediğini göstermektedir. Üstten yapılan çevrim ve düşük akış hızından dolayı, üst bölge alt bölgeden çok daha fazla kimyasal maddeye maruz kalmakta ve bu kalsiyum karbonat profilini etkilemektedir. Daha homojen sonuçlar elde etmek için kaynağın ve çevrimin dengesinin birlikte değiştirilmesi gerekmektedir (Whiffin *et al.* 2007). Bu kapsamda pelletle uygulamanın haricinde 5 farklı uygulama yöntemi tasarlanmış ve Çizelge 3.3'te detayları verilmiştir.

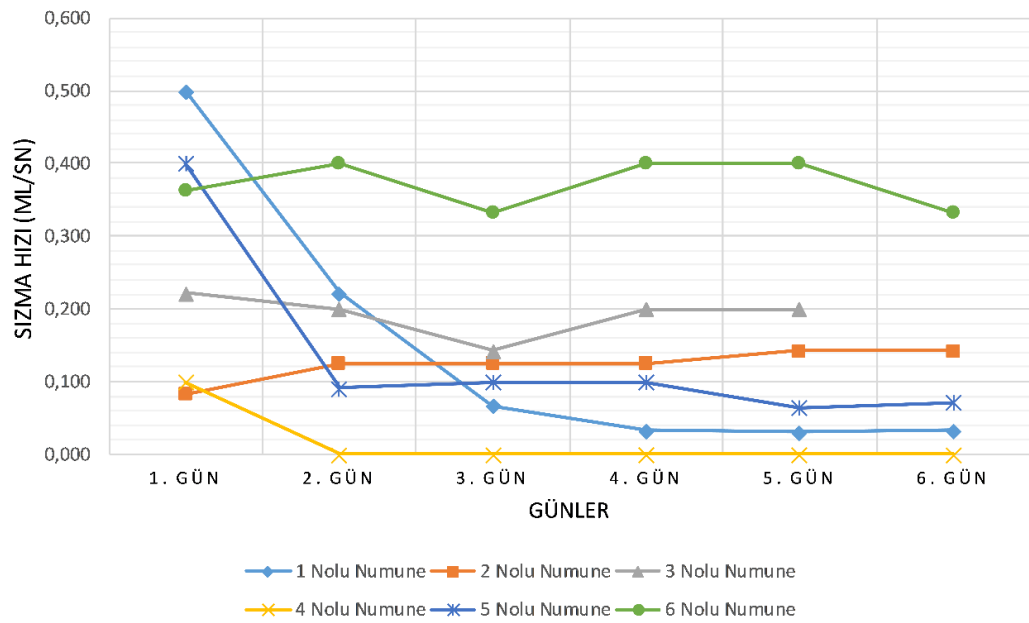
Zemine kültür ortamının nasıl aşılacağı ve çevrimlerin nasıl olması gerektiği hususunda Çizelge 3.3'te belirtilen farklı uygulamalar yapılmıştır. Pellet yazan uygulamalarda öncelikle zemine santrifüjde çöktürülen pellet uygulanmıştır (bir kap içerisinde karıştırılmıştır). Sonrasında kimyasallar belirtilen sürelerde peristaltik pompalarla çevrim şeklinde verilmiştir. Kültür ortamı yazan uygulamalarda öncelikle zemin kalıplara yerleştirilmiş ve Çizelge 3.3'te belirtilen miktar ve sürelerde kültür ortamı ve/veya kimyasallar çevrim şeklinde uygulanmıştır (0,40 mL/sn. akış hızında). Çizelge 3.3'te detayları verilen uygulamalara ait fotoğraf Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4. Çizelge 3.3.'te detayları verilen uygulamaya ait fotoğraf

Deney esnasında sızma hızları 24 saatlik olarak takip edilmiştir. Şekil 4.5'te sızma hızı sonuçları verilmiştir.

Günlük olarak takip edilen numunelerle ilgili görsel Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.5. Günlük sızma hızları (mL/sn)



Şekil 4.6. Uygulama yapılan deney numunelerinin uygulama süresince günlük değişimlerine ait görseller

6 farklı şekilde hazırlanan numuneler çevrimler tamamlandığında 60°C sıcaklığa ayarlanan etüve yerleştirilmiştir (Şekil 4.7).

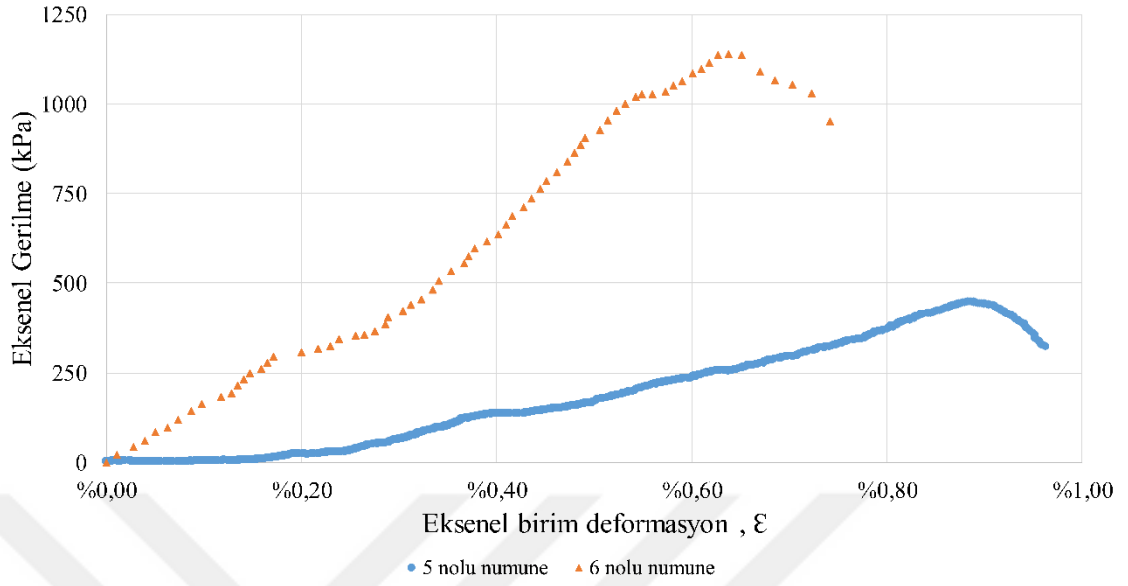


Şekil 4.7. Etüve yerleştirilen uygulama yapılmış zemin numuneleri

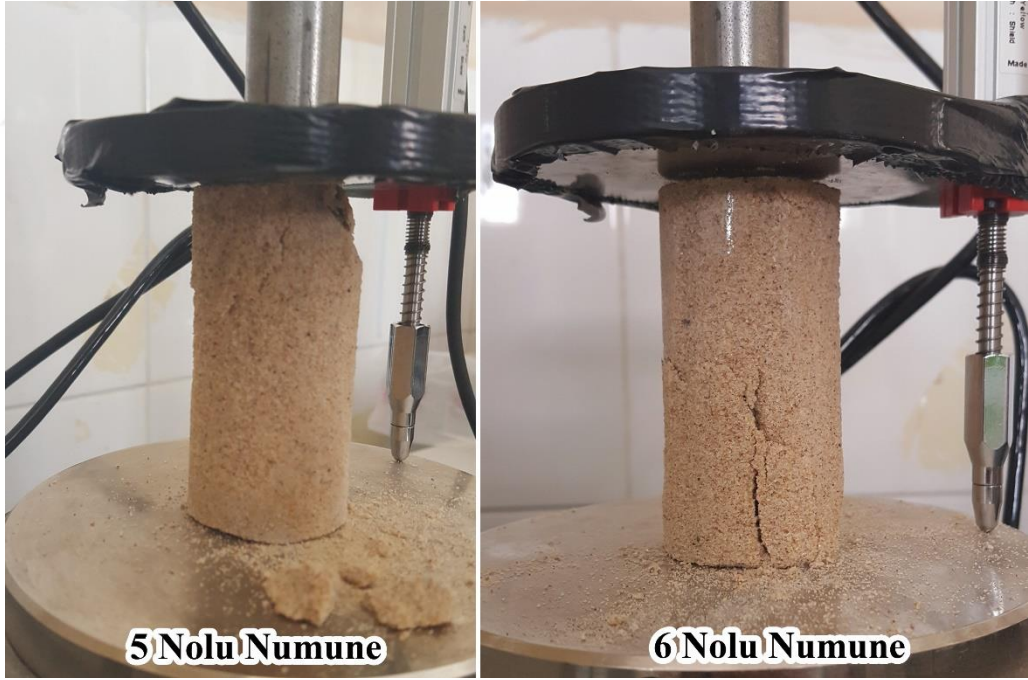


Şekil 4.8. Uygulama yapılan numunelere ait fotoğraf

Şekil 4.7’te görülen deney numuneleri 14 gün (60°C) etüvde bekletildikten sonra çıkarılmıştır (Şekil 4.8). Çizelge 3.3’te görüldüğü gibi 1-4, 2-5, 3-6 nolu numunelerde aynı miktarda ve akış hızlarında besiyeri verilmiştir. Ancak, kültür ortamının zemine aşılama yöntemi farklı olmuştur. 1, 2 ve 3 nolu numunede kültür ortamı santrifüjde pellet haline getirilmiş ve zeminle karıştırıldıktan sonra kalıplara yerleştirilmiştir. 4, 5 ve 6 nolu numunelerde ise zemin kalıba yerleştirilmiş ve sonrasında uygulamalar yapılmıştır. Sızma hızlarındaki değişime (Şekil 4.5) bakarak uygulama sonuçlarını incelediğimizde 1 nolu numune daha önce yapmış olduğumuz ön deneylere benzer sonuç göstermiştir. Ancak 4 nolu numune 1 nolu numune gibi kendini tutamamış ve hemen dağılmıştır. 4 nolu numunede 2. günde tıkanmanın gerçekleşmesi ile alttan sızma kesilmiştir ve zeminde homojen yapının oluşması engellenmiştir. 1 ve 4 nolu uygulama şekillerine göre 1 nolu uygulama ile daha iyi sonuç alınacağı düşünülmektedir. Ancak sızma hızlarına bakıldığında geçirimsizliğin azaltılması açısından 4 nolu uygulama şekli daha iyi sonuçlar vereceği söylenebilir. 4 nolu numunede üst kısımda oluşan kabuk bunun bir göstergesidir. 3 ve 6 nolu numuneleri karşılaştırdığımızda 3 nolu numunede sızma hızının ilk günde azalma gösterdiği sonraki günlerde ortalama olarak ilk gündeki değere benzer değerler gösterdiği görülmektedir. 6 nolu numune ile 3 nolu numunede sızma hızlarındaki azalma ve artmalar benzerlik gösterse de 6 nolu numune daha yüksek sızma hızı vermiştir. 3 nolu numune hemen dağılmış ancak 6 nolu numune 1140 kPa serbest basınç mukavemeti vermiştir. 2 ve 5 nolu numuneler incelendiğinde 2 nolu numunede pellet uygulamasından kaynaklı olarak ilk günde sızma hızı düşük değer almış ancak ikinci günde 5 nolu numune ile benzer sızma hızları görülmüştür. İyileştirme uygulaması sonucunda 2 nolu numune kendini tutamamış 5 nolu numune ise 447 kPa serbest basınç mukavemeti vermiştir.



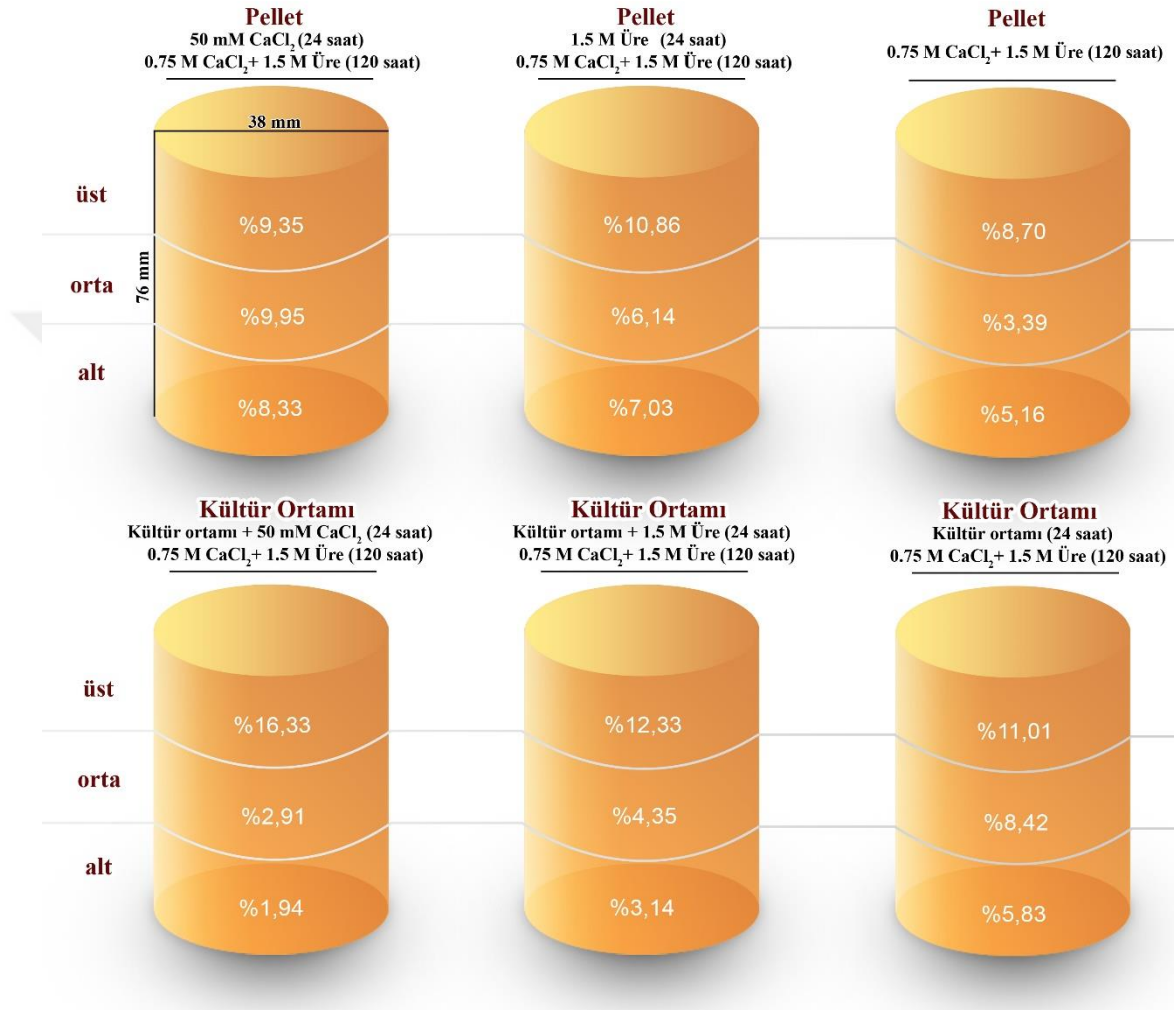
Şekil 4.9. Serbest basınç deney sonuçları



Şekil 4.10. Uygulama yapılan 5 ve 6 nolu numunelerin serbest basınç deneyi sonucunda kırılan numunelere ait fotoğraflar

Şekil 4.9’da 5 ve 6 nolu numuneye ait serbest basınç deneyi sonuçları ve Şekil 4.10’da 5 ve 6 nolu numunelerin deney sonucunda kırılmış halleri verilmiştir. Yapılan serbest

basınç deney sonuçlarına göre 6 nolu numune 1140 kPa ve 5 nolu numune 447 kPa basınç değerinde kırılmıştır.



Şekil 4.11. Ön deney numuneleri kalsit analizleri

Numunelerde oluşan kalsit yüzdeleri Şekil 4.11’de verilmiştir. Kalsit yüzdelere bakıldığında en yüksek kalsit yüzdesi 4 nolu numunenin üst kısmında (%16,33) oluşmuştur. Sızma hızı sonuçlarına bakıldığında (Şekil 4.5) uygulama sonucunda en düşük sızma hızına sahip numunenin 4 nolu numune olduğu görülmektedir. Üst kısımda oluşan kalsitin tıkanmayı gerçekleştirdiği buradan anlaşılmaktadır. Biyolojik tıkanma ile permeabilitenin düşürülmesinde 4 nolu numune ile başarılı sonuçlar alınabilir. Serbest

basınç dayanımı sonuçları alınan 5 ve 6 nolu numuneler karşılaştırıldığında 6 nolu numunede ortalama olarak %1,81 daha fazla kalsit oluşmuştur. Bu da dayanımda 693 kPa değerinde bir fark meydana getirmiştir. Ayrıca 6 nolu numunede tüm numune boyunca kalsit dağılımı 5 nolu numuneye göre daha homojen gerçekleşmiştir. Sızma hızlarına bakıldığında 6 nolu numunede sızma hızı düşüş göstermezken 5 nolu numunede 2. gün sızma hızında düşüş görülmüştür. Bu durumun 5 nolu numunenin üst kısmında 6 nolu numuneye göre daha fazla kalsit oluşmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bu sonuçlar uygulama şeklinin zeminlerin biyolojik iyileştirmesinde önemli olduğunu göstermektedir.

Biyolojik iyileştirmede önemli faktörlerden biriside uygulama süresidir. Yapılan uygulamada toplam 10 günlük çevrim sonucunda zemin kolonunun çıkış kısmı tamamen tıkanmıştır (Choi *et al.* 2017b). Bu kapsamda çalışmamızda farklı zeminlerde farklı uygulamaların daha iyi sonuç verebileceği düşünülmüş ve farklı uygulama süreleri (3, 6, 11 gün) kullanılarak iyileştirmeler yapılmıştır.

Lin *et al.* (2015) ve Cui *et al.* (2017) yaptıkları çalışmada akış hızı olarak 10 mL/dk (0,166 mL/sn) hızını seçmişlerdir. Yaptığımız çalışmada farklı akış hızları (0,266 mL/sn, 0,40 mL/sn, 0,666 mL/sn) denenerek uygulama sonuçlarına etkisi araştırılmıştır. Bu kapsamda 6 nolu uygulama şekli kullanılarak (en yüksek mukavemet değerine sahip olan numune) farklı zeminlerde, farklı akış hızlarında, farklı uygulama sürelerinde, farklı kalsiyum kaynakları ile uygulamalar yapılarak optimum iyileştirme şartları araştırılmıştır.

Uygulama yönteminin belirlenmesinden sonra seçilen iki farklı kum zemin üzerinde Çizelge 3.4'te verildiği gibi uygulamalar yapılmıştır.

Farklı uygulama süreleri, zeminler ve akış hızları kullanılarak iyileştirme üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Uygulama esnasında 24 saatte bir pH takibi, sızma hızı takibi yapılmıştır. Ayrıca uygulama yapıldıktan sonra her bir numunenin üst orta ve son kısımlarından örnekler alınarak kalsit yüzdesi deneyi yapılmıştır. Çizelge 3.4'te detayları verilen uygulamaya ait deney düzeneği Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.12. Çizelge 3.4’te detayları verilen uygulamanın deney düzeneği

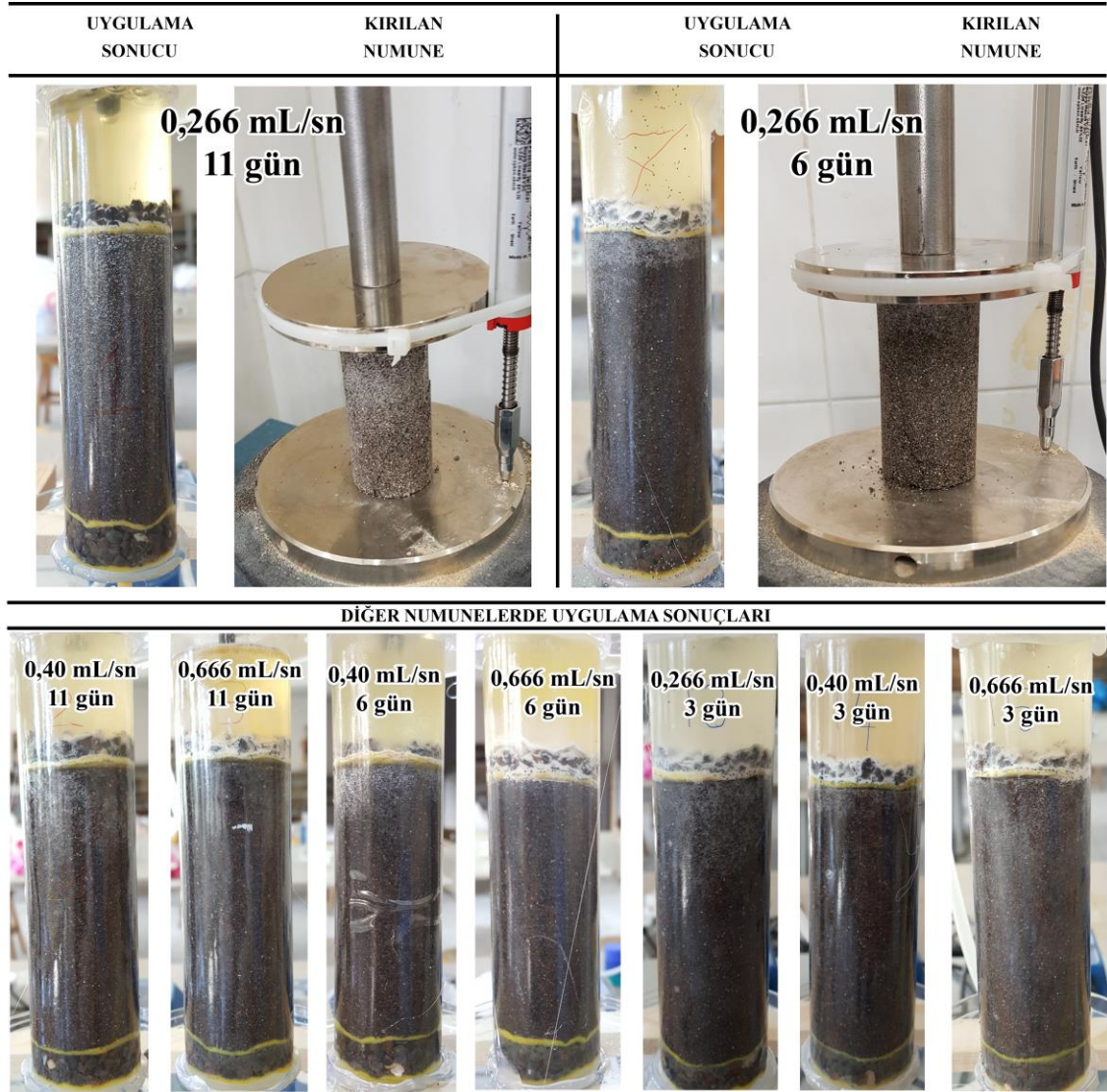
Çizelge 3.4’te belirtilen şekilde yapılan uygulamalarda kültür ortamı tüm numunelere 24 saat süre ile çevrim şeklinde uygulanmıştır. Sonra çizelgede belirtildiği sürelerde uygulama solüsyonu verilmiş ve numuneler üzerinde analizler yapılmıştır. Çizelgelerde yer alan uygulama süresi bakteri solüsyonu (24 saat çevrim) ve uygulama solüsyonunun verildiği sürelerin toplamıdır.

4.3. Serbest Basınç Deney Sonuçları

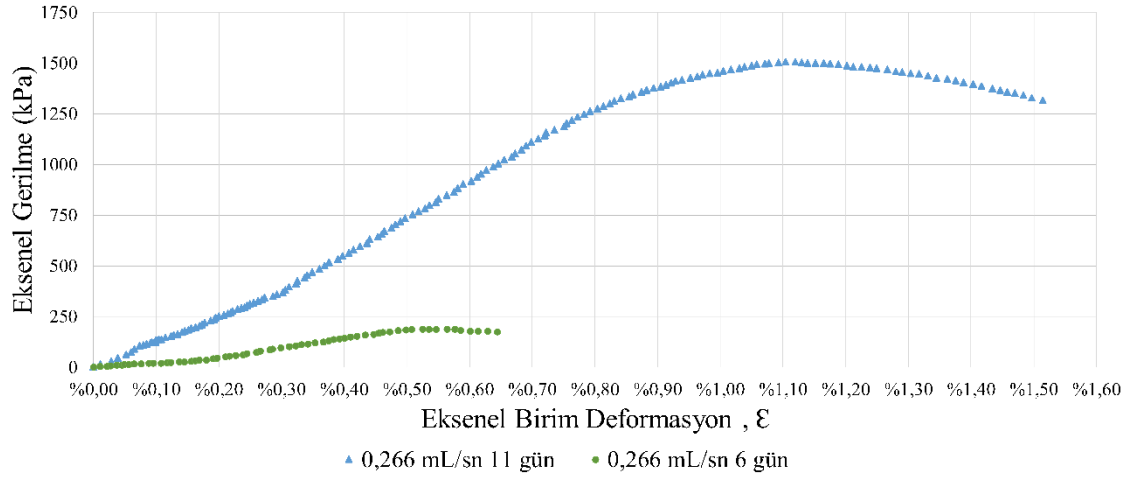
İyileştirme yapılan tüm zemin numunelerinin serbest basınç mukavemetleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Uygulama detayları Çizelge 3.4’te verilen iyileştirilmiş 2 nolu kum zemine ait görseller Şekil 4.13’te görülmektedir. 2 nolu kum zemin numuneleri üzerinde yapılan serbest basınç deneyi sonucunda elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafikleri Şekil 4.14’te verilmiştir.

Çizelge 4.2. Uygulama yapılan zeminlerin serbest basınç deney sonuçları

Zemin	Uygulama Solüsyonu	Akış Hızı (mL/sn)	Uygulama Süresi (gün)	Serbest Basınç Mukavemeti (kPa)
2 nolu kum zemin	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,266	6	187
2 nolu kum zemin	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,266	11	1504
1 nolu kum zemin	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,266	3	1245
1 nolu kum zemin	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,266	6	495
1 nolu kum zemin	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,266	11	1251
1 nolu kum zemin	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,4	3	737
1 nolu kum zemin	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,4	6	1009
1 nolu kum zemin	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,4	11	2406
1 nolu kum zemin	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,666	3	1599
1 nolu kum zemin	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,666	6	1413
1 nolu kum zemin	0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,666	11	1190
1 nolu kum zemin	0,20 M MgCl ₂ + 0,75 m CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,4	11	1624
1 nolu kum zemin	0,75 M MgCl ₂ + 0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,4	11	1582
1 nolu kum zemin	0,15 M MgCl ₂ + 0,60 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	0,4	11	1160
1 nolu kum zemin	0,75 M Kalsiyum Asetat + 1,5 M Üre	0,4	11	64
1 nolu kum zemin	0,75 M Kalsiyum Nitrat + 1,5 M Üre	0,4	11	2435



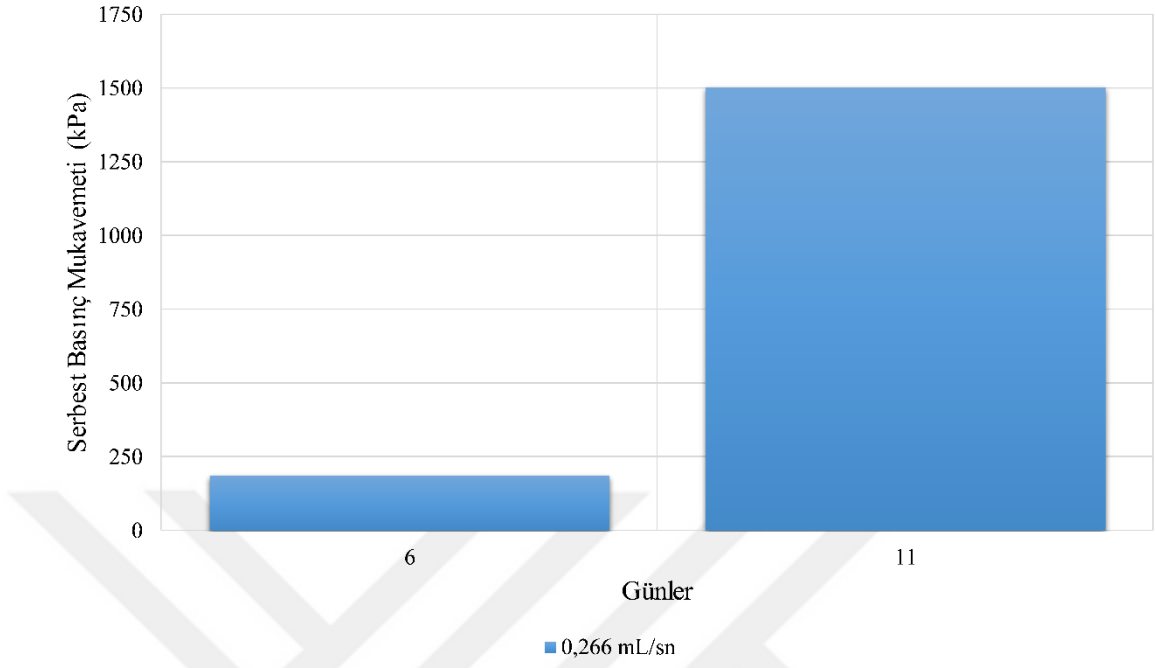
Şekil 4.13. 2 nolu kum zemin üzerinde yapılan uygulama sonucunda oluşan numuneler ve yapılan serbest basınç deneylerine ait görseller



Şekil 4.14. İyileştirilen 2 nolu kum zemin üzerinde yapılan serbest basınç deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği

2 nolu kum zemin numuneleri üzerinde yapılan serbest basınç deneyi sonuçlarına göre en yüksek serbest basınç mukavemeti 11 günlük 0,266 mL/sn akış hızına sahip numunelerde 1504 kPa olarak ölçülmüştür. 6 gün süre ile 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan numunelerde ise serbest basınç mukavemeti 187 kPa olarak ölçülmüştür. Diğer numuneler kalıplardan çıkarıldıktan sonra dağılmış ve dayanım göstermemiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre 0,266 mL/sn akış hızında uygulama süresi arttığında serbest basınç mukavemetide artmıştır (Şekil 4.15).

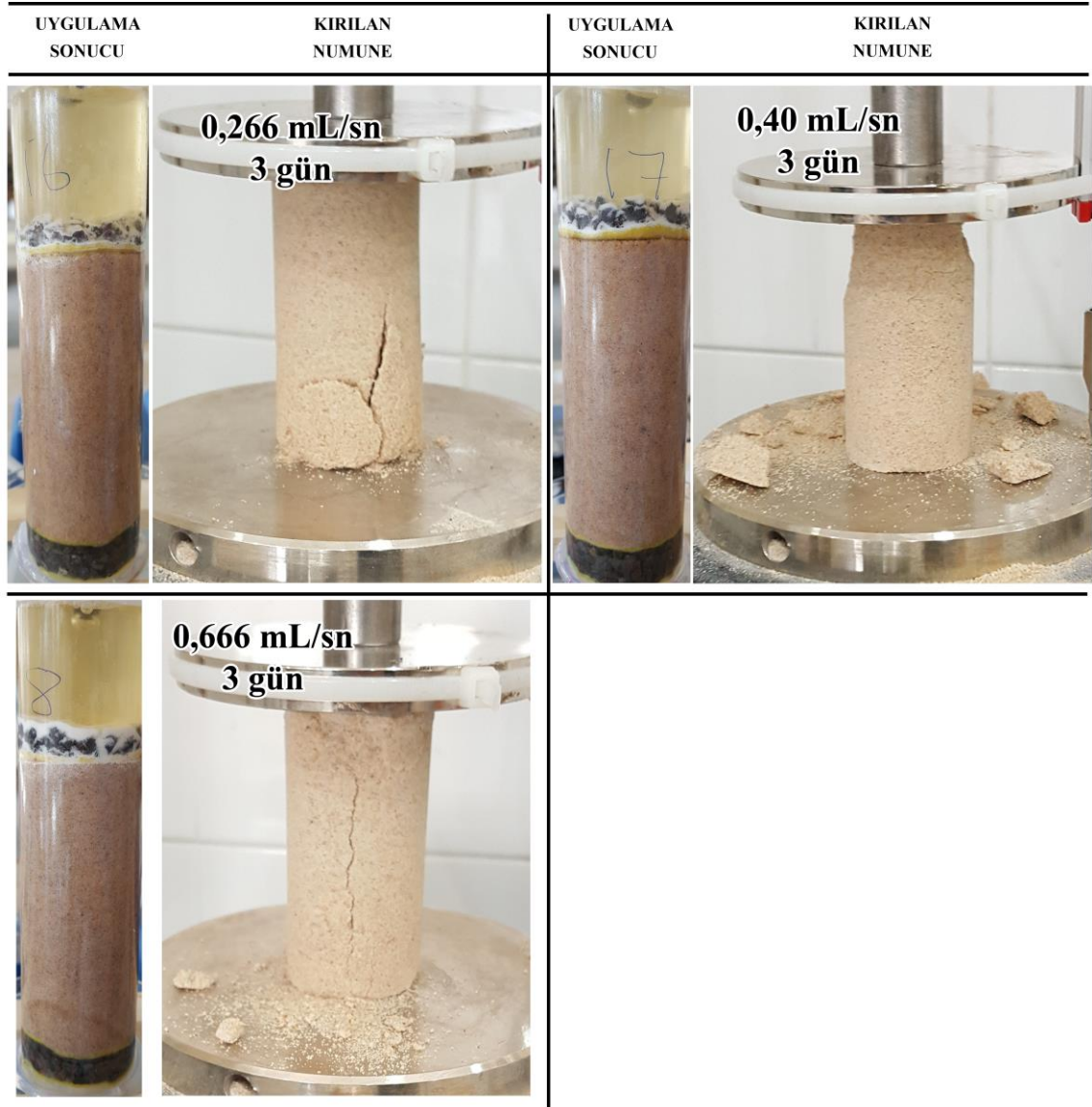
Soon *et al.* (2013) çalışmalarında çalışmamızda kullanılan kum zemine benzer bir zemin kullanmışlar ve 8 enjeksiyon döngüsü sonucunda serbest basınç dayanımını 50 kPa olarak belirlemişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise bir döngü ve 11 günlük uygulama sonucunda 2 nolu kum zeminin serbest basınç mukavemeti 1504 kPa olarak belirlenmiştir. Serbest basınç mukavemetindeki bu farklılığın kullanılan bakteri, uygulama şekli, uygulama süresi vb. nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.15. 2 nolu kum zeminler üzerinde 6 ve 11 günlük uygulama süresi sonrasında elde edilen serbest basınç mukavemetleri (akış hızı 0,266 mL/sn)

UYGULAMA SONUCU	KIRILAN NUMUNE	UYGULAMA SONUCU	KIRILAN NUMUNE
	 0,266 mL/sn 11 gün		 0,40 mL/sn 11 gün
	 0,666 mL/sn 11 gün		 0,266 mL/sn 6 gün
	 0,40 mL/sn 6 gün		 0,666 mL/sn 6 gün

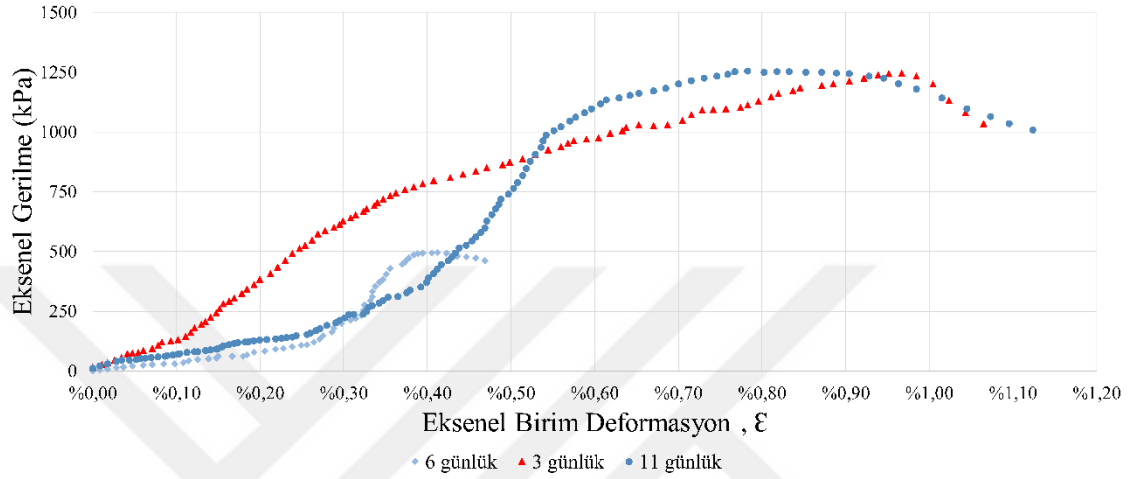
Şekil 4.16. 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan uygulama sonucunda oluşan numuneler ve yapılan serbest basınç deneylerine ait görseller



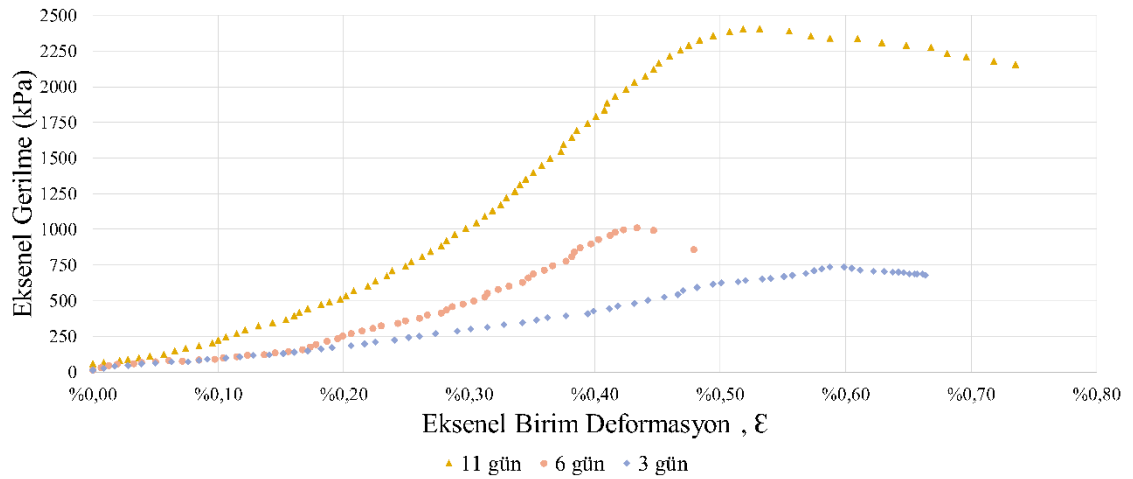
Şekil 4.17. 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan uygulama sonucunda oluşan numuneler ve yapılan serbest basınç deneylerine ait görseller

Uygulama detayları Çizelge 3.4’te verilen iyileştirilmiş 1 nolu kum zemine ait görseller Şekil 4.16 ve Şekil 4.17’de verilmiştir. Uygulama sonucunda tüm numunelerden mukavemet elde edilmiştir. 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numuneleri üzerinde yapılan serbest basınç deneyi sonucunda elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafikleri Şekil 4.18’de, 0,40 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numuneleri üzerinde yapılan serbest basınç deneyi sonucunda elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafikleri Şekil 4.19’da ve 0,666 mL/sn

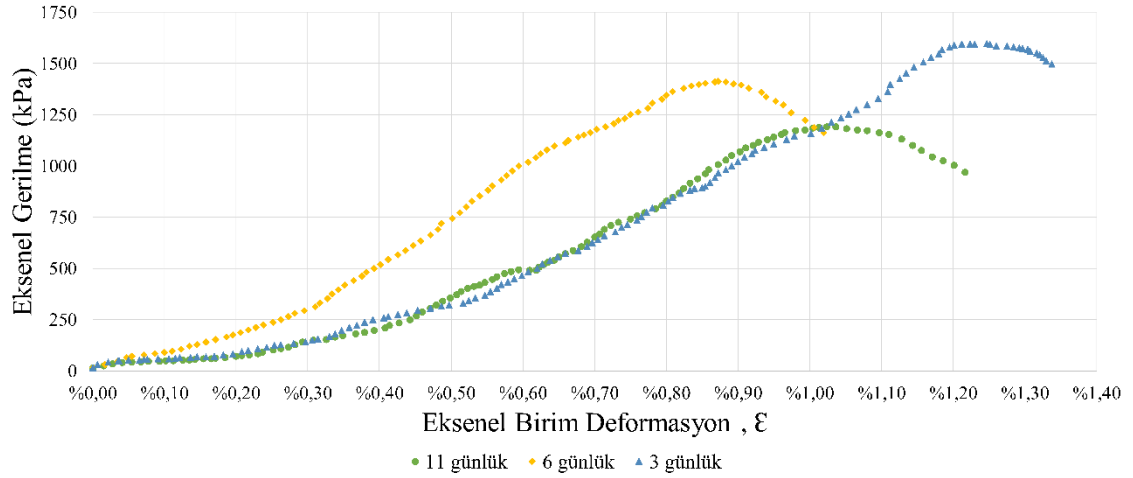
akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numuneleri üzerinde yapılan serbest basınç deneyi sonucunda elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafikleri Şekil 4.20’de verilmiştir.



Şekil 4.18. 0,266 mL/sn akış hızı ile uygulama yapılarak iyileştirilen 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan serbest basınç deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği



Şekil 4.19. 0,40 mL/sn akış hızı ile uygulama yapılarak iyileştirilen 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan serbest basınç deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği

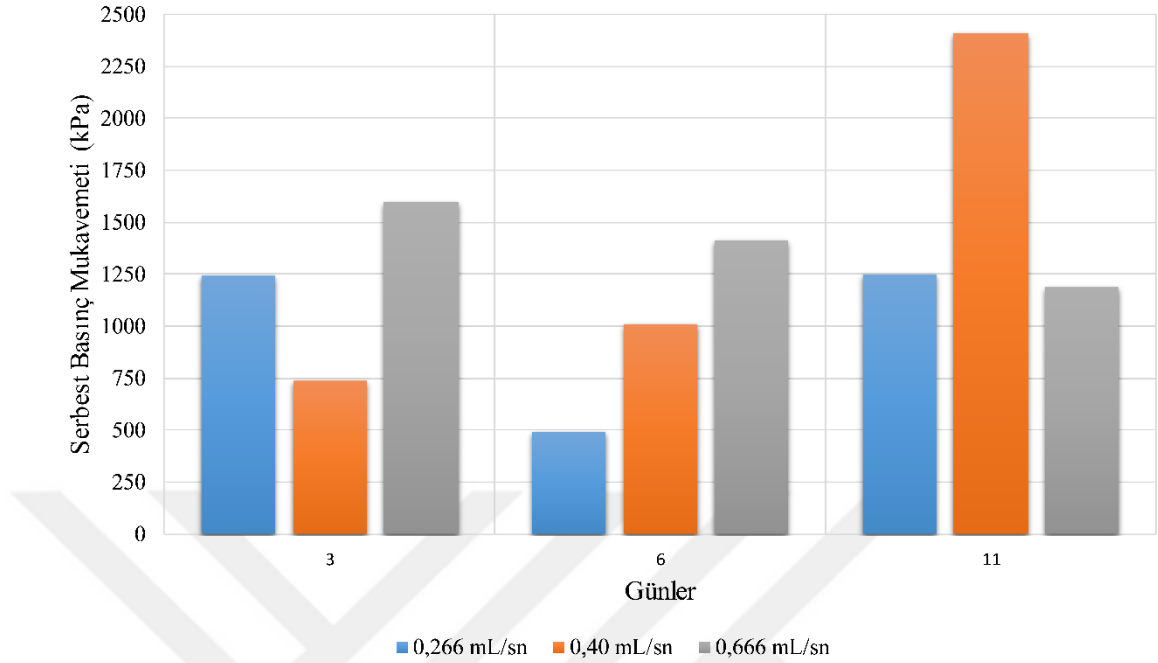


Şekil 4.20. 0,666 mL/sn akış hızı ile uygulama yapılarak iyileştirilen 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan serbest basınç deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği

1 nolu kum zemin üzerinde yapılan uygulama sonucunda elde edilen iyileştirilmiş numuneler üzerinde serbest basınç deneyi yapılmıştır. En yüksek serbest basınç mukavemet değerinin 2406 kPa olarak 0,40 mL/sn akış hızında 11 gün yapılan uygulamadan elde edildiği görülmektedir. En düşük serbest basınç mukavemet değeri ise 0,266 mL/sn akış hızında 6 günlük uygulamada 495 kPa olarak belirlenmiştir. Şekil 4.21'e bakıldığında 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan numunelerde 3 günlük ve 11 günlük sonuçlar benzerlik gösterirken 6 günlük sonuçlar daha düşük çıkmıştır. 0,40 mL/sn akış hızında yapılan uygulamada uygulama süresi arttıkça mukavemet değerleri de artış göstermiştir. 0,666 mL/sn akış hızındaki numunelerde ise 0,40 mL/sn akış hızı uygulanan numunelerin tam tersi uygulama süresi arttıkça mukavemette azalmalar gözlenmiştir.

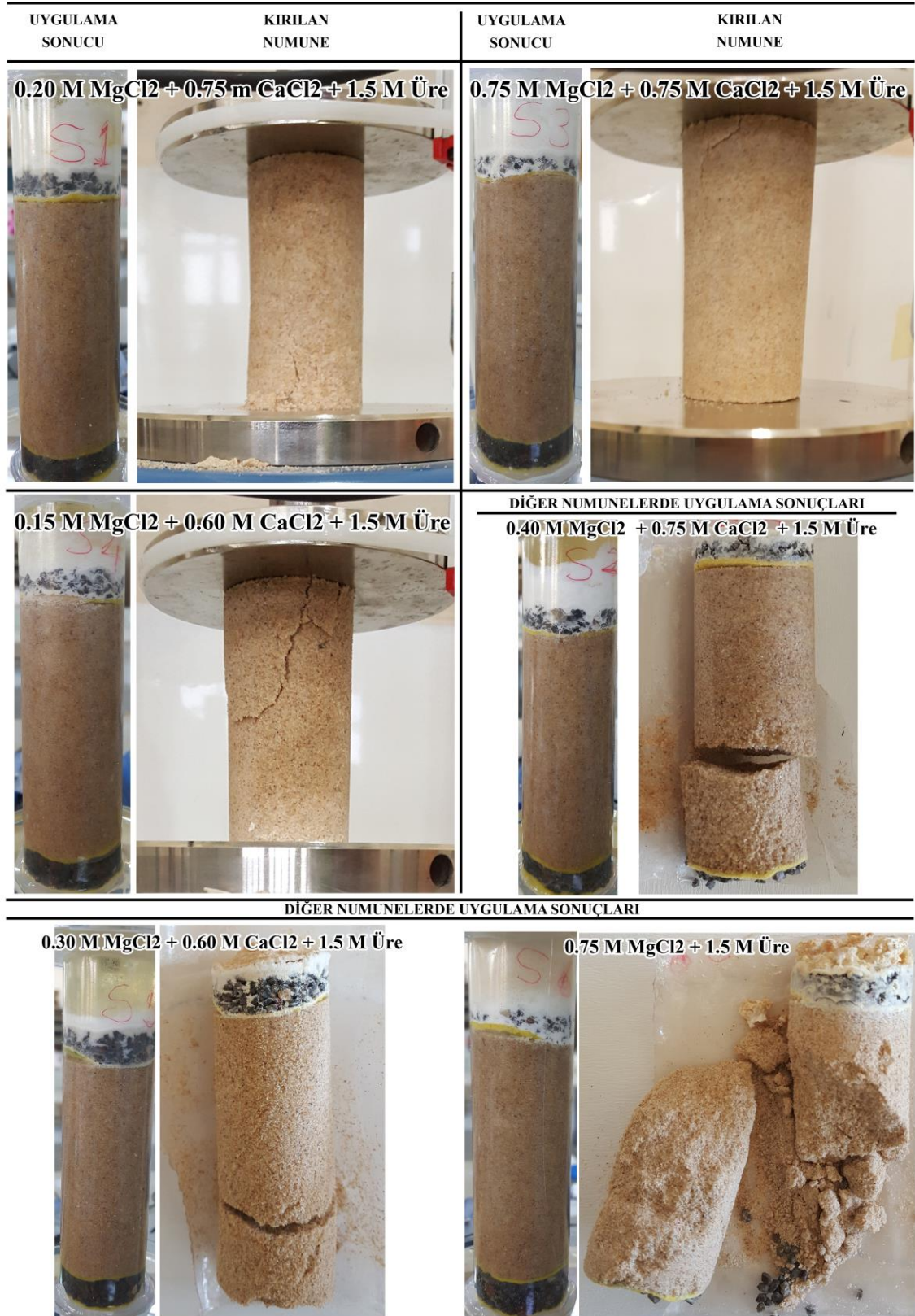
Sharma and Ramkrishnan (2016) yaptıkları çalışmaya göre uygulama süresinin artması ile serbest basınç dayanımı değerleri de artırmıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada da bazı akış hızlarında benzer artışlar görülürken bazılarında farklı sonuçlar elde edilmiştir. Uygulama süresinin artmasının mukavemet üzerinde etkisinin akış hızıyla doğrudan bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Yüksek akış hızında uygulama süresine bağlı olarak mukavemette düşüşler görülmektedir. İleride açıklanacak kalsit yüzdesi sonuçlarında bu durum açıklanmıştır.

Rowshanbakht *et al.* (2016) yapmış oldukları uygulamada serbest basınç deneyi sonucunda 100 ila 500 kPa arasında dayanım elde etmişlerdir ve maksimum mukavemet %85 rölatif sıklıktaki örnekten elde edilmiştir ve kalsit içeriğinde enjeksiyon yapılan noktaya yakın yerlerde daha homojen dağılım olduğundan daha iyi sonuçlar görülmüştür. Rölatif sıklık arttıkça permeabilitenin azaldığı, kalsit çökmesinin azaldığı ve serbest basınç mukavemetinin arttığı tespit edilmiştir. Ön deneylerde aynı şekilde uygulama yapılan 6'nolu numunenin (rölatif sıklık %50) 6 günlük çevrim sonucunda elde edilen serbest basınç mukavemeti değeri 1140 kPa olarak ölçülmüştür. Sonrasında uygulama yapılan 6 günlük numunede (rölatif sıklık %35) ise serbest basınç mukavemeti değeri 1009 kPa olarak ölçülmüştür. Buradan da sıklık arttıkça serbest basınç mukavemetinin arttığı görülmektedir. Benzer şekilde boşluk büyüklüğü daha fazla olan 2 nolu kum zeminde aynı uygulama koşullarında 1 nolu kum zeminden daha düşük dayanım değerleri elde edilmiştir. Boşluk yapısına göre uygulama yapılmasının sonuçları etkileyeceği anlaşılmaktadır. 0,400 mL/sn ve 0,666 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunelerinde ise dayanım elde edilememiştir. Tez çalışmamızda kullanılan kum zeminler üniform yapıda olduklarından zemin dane çapı arttıkça taneler arasındaki boşlukların büyüklüğü de artmaktadır. Boşluk büyüklüğünün fazla olduğu zeminlerde daha düşük akış hızları (0,266 mL/sn den küçük) seçilerek uygulama yapılmasının boşluk büyüklüğü daha az olan zeminlerde ise orta akış hızlarının (0,266 mL/sn - 0,400 mL/sn arasında) uygulanmasının daha iyi sonuçlar verebileceği değerlendirilmektedir. Uygulama esnasında ise boşluk büyüklüğü azaldıkça akış hızının artırılmasının daha uygun olabileceği değerlendirilmektedir.



Şekil 4.21. Farklı akış hızında uygulama yapılan 1 nolu kum zemin numunelerin 3, 6 ve 11 günlük serbest basınç mukavemetleri

Uygulama detayları Çizelge 3.5'te detayları verilen magnezyum klorür uygulanarak iyileştirilmiş 1 nolu kum zemine ait görseller Şekil 4.22'de görülmektedir. Şekil 4.23'de ise magnezyum klorür uygulaması sırasındaki çökeltiler görülmektedir. Bu çökelmeler sonucunda bazı numunelerde akış kesilmiştir. Sonuç olarak uygulama sonucunda kalıptan serbest basınç dayanımına uygun şekilde çıkan numuneler üzerinde serbest basınç deneyi yürütülmüş, diğer numunelerde ise kalsit yüzdesi oluşumu incelenerek sonuçları analiz edilmiştir. Magnezyum klorür uygulanarak iyileştirilen 1 nolu kum zemin numuneleri üzerinde yapılan serbest basınç deneyi sonucunda elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafikleri Şekil 4.24'te verilmiştir.



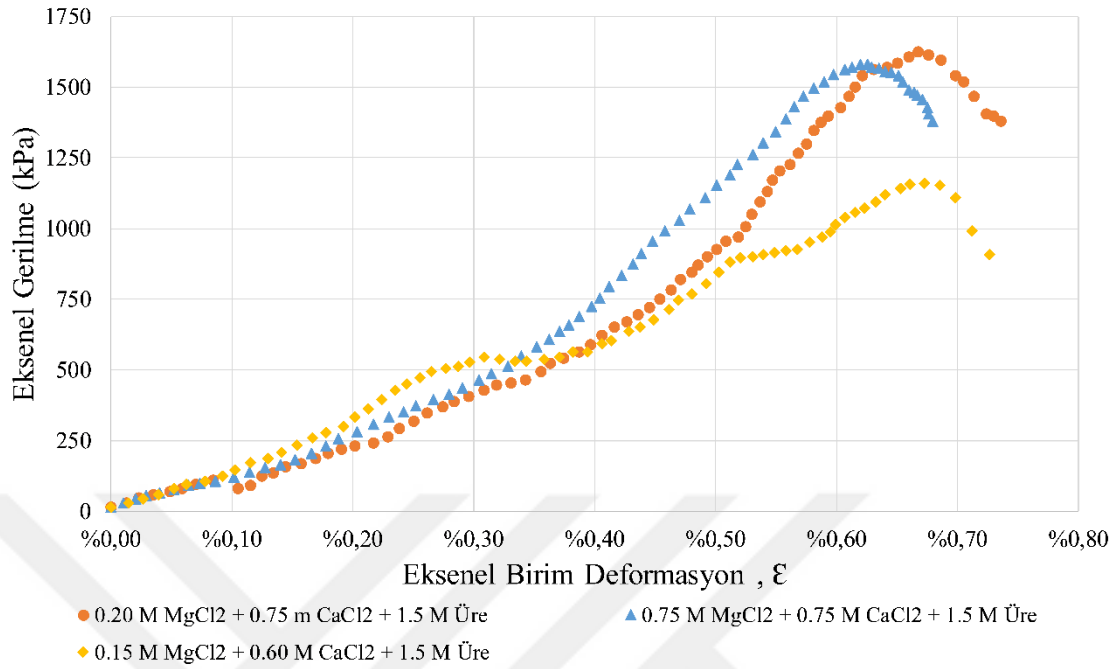
Şekil 4.22. 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan magnezyum klorür uygulaması sonucunda oluşan numuneler ve serbest basınç deneylerine ait görseller



Şekil 4.23. Magnezyum klorür uygulamasında oluşan çökelti

Magnezyum klorür ve/veya kalsiyum klorür uygulanan numunelere ait serbest basınç mukavemeti sonuçlarına bakıldığında en yüksek mukavemet 1624 kPa olarak 0,20 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre uygulanan numunede görülmüştür. En düşük değer ise 1160 kPa olarak 0,15 M $MgCl_2$ + 0,60 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre uygulanan numunelerde görülmüştür. 0,75 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre uygulanan numunelerde serbest basınç mukavemeti deneyi sonucunda 1582 kPa mukavemet değeri elde edilmiştir.

Magnezyum uygulaması sonucunda hem geçirimsilikte düşüşler elde edilmiş hem de mukavemet artışı sağlanabilmektedir. Ayrıca şişme potansiyeline sahip kil zeminlerde magnezyum klorür solüsyonu kullanılarak etkin bir iyileştirme sağlanabilmektedir (Türköz vd 2011). Çalışmamızda kum zeminlerin iyileştirilmesi amaçlanmıştır.

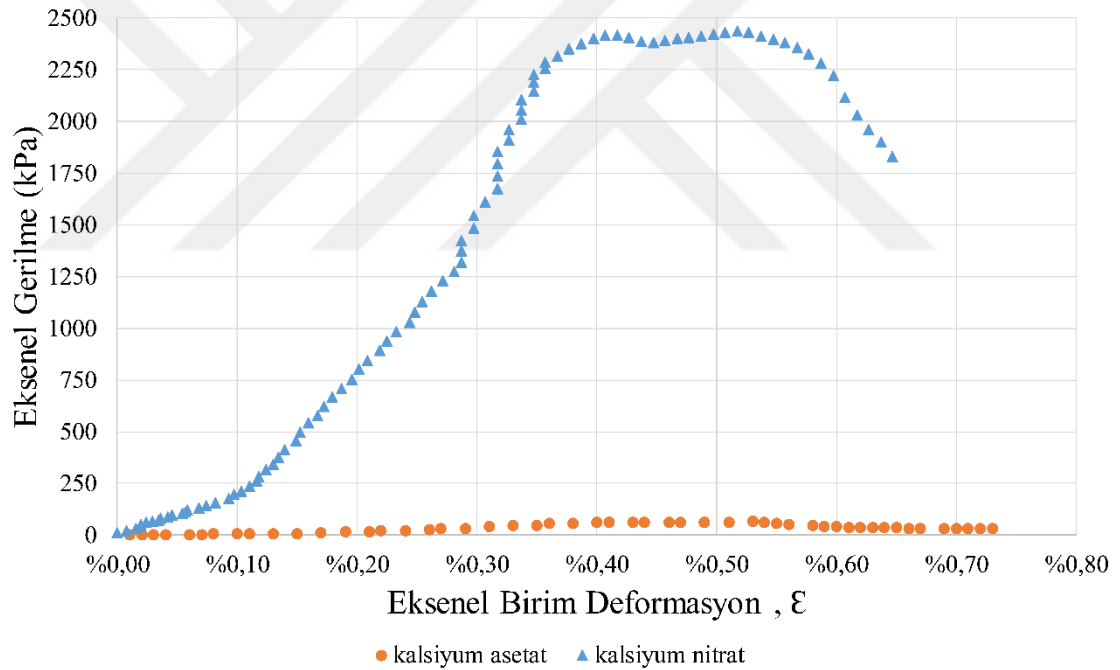


Şekil 4.24. Magnezyum klorür ve kalsiyum klorür uygulanan numunelerde serbest basınç mukavemeti deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği

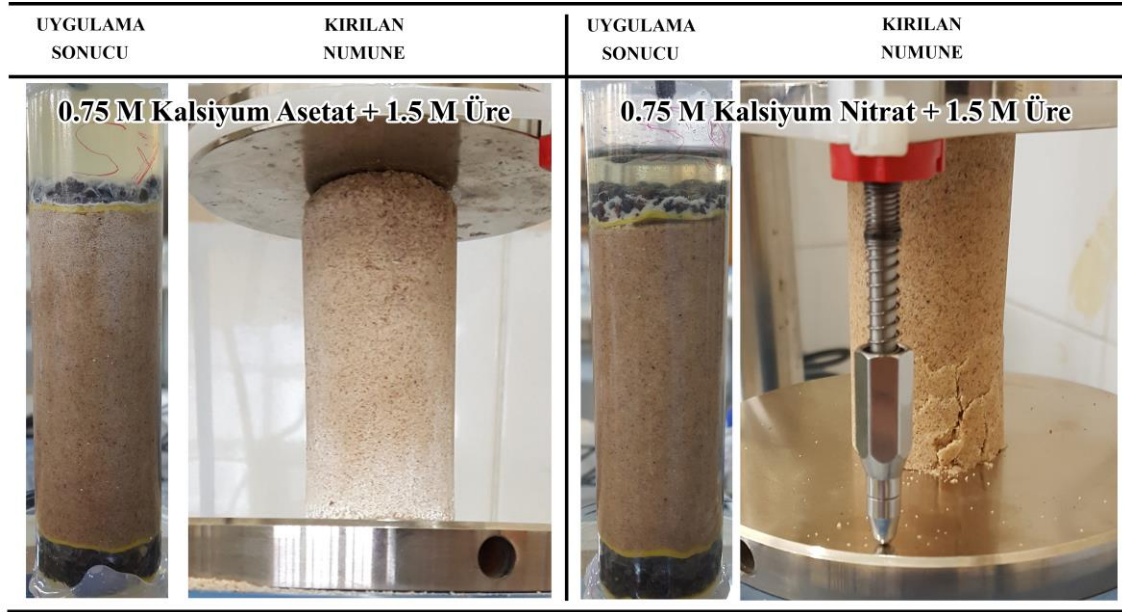
Kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat uygulanarak iyileştirilen 1 nolu kum zeminler üzerinde yapılan serbest basınç deneyi sonucunda elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafikleri Şekil 4.25'te verilmiştir. Uygulama detayları Çizelge 3.5'te verilen kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat uygulaması ile iyileştirilen 1 nolu kum zeminlere ait görseller Şekil 4.26'da verilmiştir. Bu uygulama sonucunda elde edilen serbest basınç dayanımı sonuçlarına ait grafik Şekil 4.25'te verilmiştir. Kalsiyum klorürle alınan optimum sonuçlara göre benzer şekilde yapılan bu farklı kalsiyum kaynakları uygulaması sonucunda kalsiyum asetat uygulanan numunelerde serbest basınç mukavemeti 64 kPa, kalsiyum nitrat uygulanan numunelerde ise 2417 kPa ölçülmüştür. Benzer uygulamada kalsiyum klorür (2406 kPa) ile kalsiyum nitrat benzer serbest basınç mukavemeti verirken kalsiyum asetat bu değer oldukça düşük görülmüştür.

Zhang *et al.* (2015) yaptıkları çalışmada serbest basınç dayanımı sonuçlarına göre kalsiyum asetatın kalsiyum kaynağı olarak diğer kalsiyum kaynaklarına (kalsiyum klorür ve kalsiyum nitrat) göre daha pozitif sonuçlar gösterdiğini belirtmişlerdir. En kayda değer fark mikro analizlerde tespit edilmiştir. Kalsiyum asetatın boşluklarda oluşturduğu yapı

genele bakıldığında daha uniform görülmüştür. Kalsiyum asetatın mukavemet artışındaki rolü de büyük ölçüde aregonit oluşumu ile iyi derecelenmiş boşluk yapısı olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak MICP uygulamasında kalsiyum asetatın genel olarak kullanılan diğer kalsiyum kaynaklarından daha iyi olduğunu düşünmüşlerdir. Ancak yapmış olduğumuz kalsiyum asetat uygulamasında XRD analiz sonuçlarına göre daha çok vaterit yapısına rastlanmıştır. Ayrıca kalsiyum asetat uygulaması sonucunda serbest basınç deneylerinde diğer kalsiyum kaynaklarından çok daha düşük serbest basınç mukavemet değerleri elde edilmiştir. Bunun yapılan çalışmalardaki sonuçlardaki farklılıkların bakteri farklılığı, uygulama sayısı, uygulama süresi vb. nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.25. Kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat uygulanarak iyileştirilen 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan serbest basınç deneyinde elde edilen eksenel gerilme – eksenel birim deformasyon grafiği



Şekil 4.26. 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat uygulamaları sonucunda oluşan numuneler ve serbest basınç deneylerine ait görseller

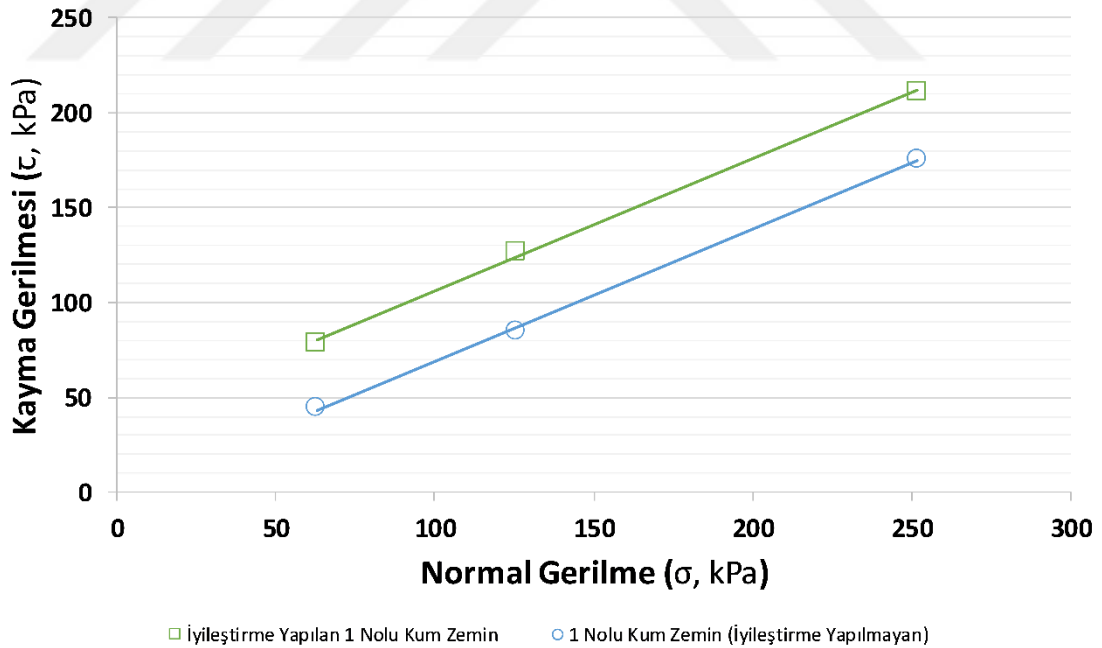
Kalantary and Kahani (2015) yaptıkları uygulama ile serbest basınç mukavemeti deneyi sonucunda 100-400 kPa'a kadar mukavemet elde etmişlerdir. Elde edilen bu mukavemet sonuçlarının sıvılaşma riskinin azaltılması için yapılan zemin iyileştirme deneylerine göre yeterli olduğunu belirtmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada 1 nolu kum zeminlerde yapılan uygulama sonucunda serbest basınç mukavemeti 495-2406 kPa, 2 nolu kum zeminlerde ise 187-1504 kPa aralığında değerler elde edilmiştir. Bu mukavemet değerleri göz önünde bulundurulduğunda sıvılaşma riskinin azaltılması uygulamalarında kullanılabileceği düşünülmektedir.

Whiffin and Paassen (2007) çalışmalarında bir enjeksiyon döngüsü sonucunda 500 kPa'a kadar serbest basınç mukavemeti elde etmişlerdir. Yasuhara *et al.* (2011) çalışmalarında 4-8 enjeksiyon döngü sayısı ile 373 ila 1500 kPa arasında serbest basınç mukavemeti değerleri elde etmişlerdir. Van Paassen (2011) çalışmalarında 1-4 enjeksiyon döngüsü sonucunda 15-40 kPa serbest basınç mukavemeti değerleri elde etmişlerdir. Palmen (2012) çalışmalarında bir enjeksiyon döngüsü sonucunda 200 kPa, 5 enjeksiyon döngüsü sonucunda ise 2600 kPa serbest basınç mukavemeti sonuçlarını elde etmişlerdir. Literatürde mevcut bu çalışmalarda farklı zeminler, farklı uygulama yöntemleri,

enjeksiyon döngü sayıları vb. değişkenler kullanıldığından farklı mukavemet değerleri elde edilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise bir döngü sonucunda ve 11 gün uygulama süresinde 1 nolu kum zeminde 2406 kPa, 2 nolu kum zeminde 1504 kPa serbest basınç mukavemeti değerleri elde edilebilmiştir. Literatürde yapılan biyolojik iyileştirme çalışmalarında elde edilen serbest basınç mukavemetleri arasındaki bu farkın enjeksiyon döngü sayısı, uygulama süresi, uygulama şeklinin vb. etkili olduğu düşünülmektedir.

4.4. Kesme Kutusu Deney Sonuçları

Uygulama yapılan ve yapılmayan 1 nolu kum zemine ait kesme kutusu deney sonuçları Şekil 4.27’de verilmiştir. Kesme kutusu deneyi sonucunda elde edilen kohezyon ve içsel sürtünme açısı değerleri Çizelge 4.3’te verilmiştir. İyileştirilen 1 nolu kum zemin numunelerine ait görsel Şekil 4.28’de verilmiştir.



Şekil 4.27. İyileştirilen ve iyileştirilmeyen 1 nolu kum zemin kesme kutusu deney sonuçları



Şekil 4.28. Uygulama yapılan zemin örnekleri

Çizelge 4.3. 1 nolu kum zemin kesme kutusu deney sonuçları

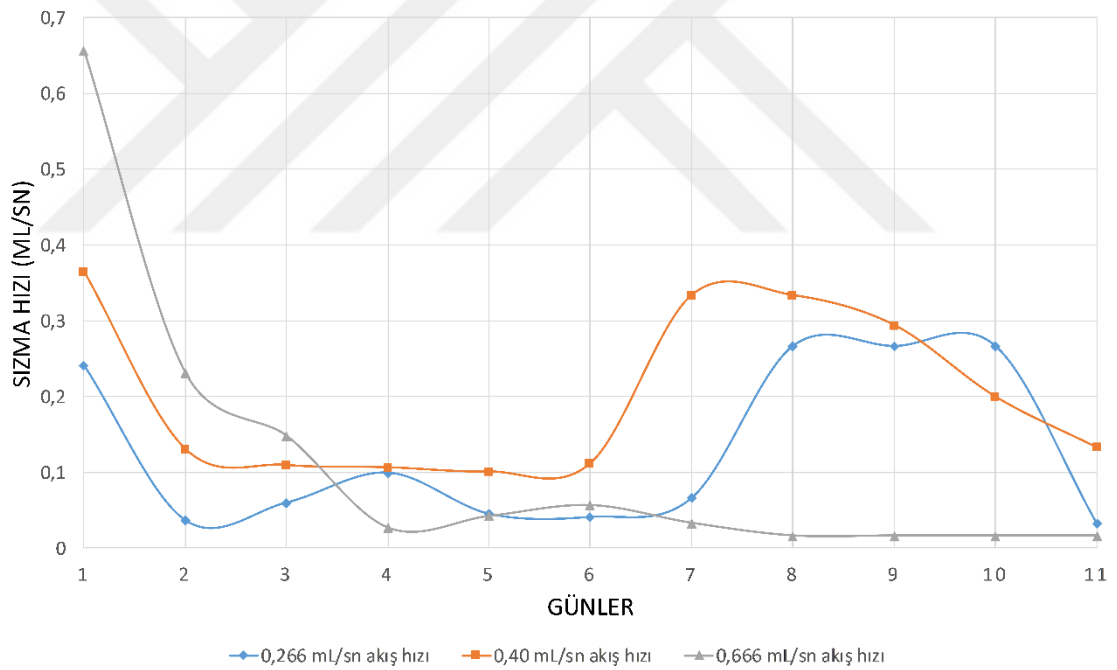
Numune Adı	c (kPa)	ϕ (°)
İyileştirilmeyen 1 nolu kum zemin	0	34
İyileştirilen 1 nolu kum zemin	36	34,9

Biyolojik zemin iyileştirme uygulaması sonucunda hem kohezyonda hem de içsel sürtünme açısında artışlar meydana gelmiştir. Saffari *et al.* (2017) yapmış oldukları çalışmada farklı bakteri yoğunluklarının kesme kutusu deney sonuçlarına etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında siltli kum, kaolin ve bentonit içeren ve USCS sınıflandırma sistemine göre CL sınıfında bulunan zemin kullanmışlardır. Uygulama yapılmayan zemine ait kohezyon değerini 17,9 kPa ve içsel sürtünme açısını 26° olarak belirlemişlerdir. Sonuç olarak farklı uygulamalar sonucunda zeminlerde en yüksek kohezyon değerini 49,5 kPa ve içsel sürtünme açısı değerini 29,8° olarak bulmuşlardır. Bizim yapmış olduğumuz uygulamada 1 nolu kum zemin üzerinde yürütülen kesme kutusu deneylerinde iyileştirme yapılmayan zeminde kohezyon değeri 0 içsel sürtünme açısı değeri ise 34° olarak belirlenmiştir. Uygulama yapılan zeminde ise kalsiyum karbonat çökmesi sonucunda zemine ait kohezyon değeri 34 kPa içsel sürtünme açısı değeri ise 34,89° olarak belirlenmiştir. Saffari *et al.* (2017) çalışmasında uygulama sonrasında kohezyonda 31,6 kPa içsel sürtünme açısında ise 3,8° artış sağlamıştır. Biyolojik uygulama hem içsel sürtünme açısında hem de kohezyonda artış sağlarken en çok zemin kohezyonunda etkili olmuştur. Çalışmamızda da kohezyonda 36 kPa içsel sürtünme açısında yaklaşık 1° artış görülmüştür.

4.5. Sızma Hızı Sonuçları

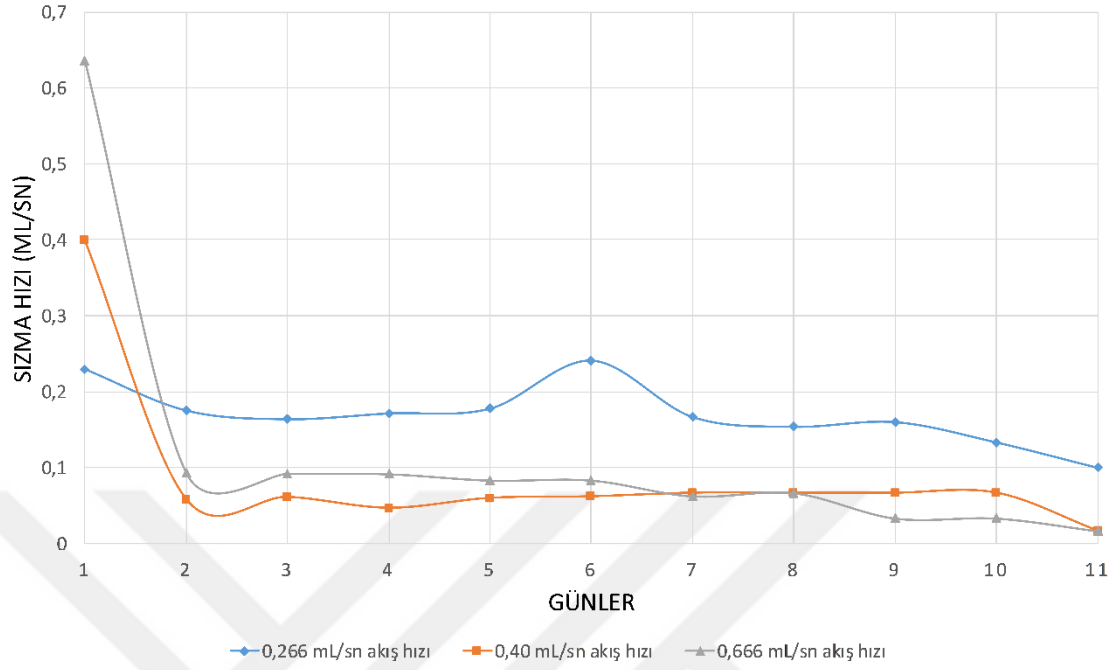
Uygulama yapılan numunelerde alt kısımdan süzülen miktarlar 24 saat ara ile ölçülerek sızma hızları takip edilmiştir.

2 nolu kum zemin üzerinde deneyler esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri Şekil 4.29’da verilmiştir. 11 günlük uygulama süresince 0,266 mL/sn ve 0,40 mL/sn akış hızı uygulanan numunelerde sızma hızları benzer özellikler gösterirken daha yüksek akış hızına sahip (0,666 mL/sn) numunelerde ilk günden itibaren belirgin düşüşler görülmüştür.

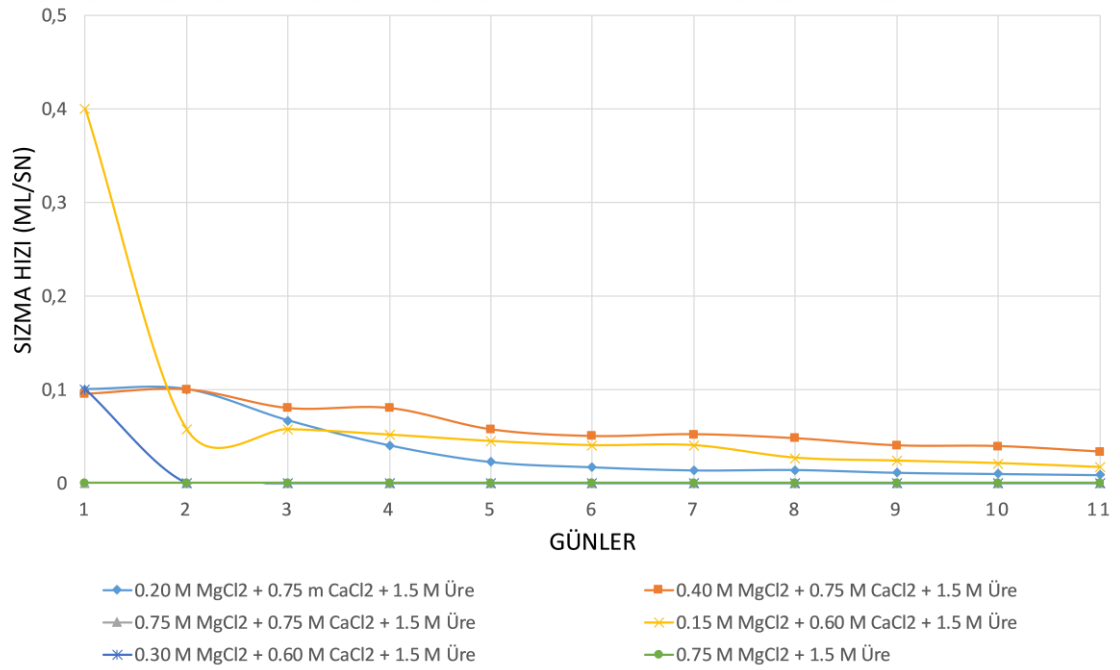


Şekil 4.29. 2 nolu kum zemin üzerinde deneyler esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri

1 nolu kum zemin üzerinde deneyler esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri Şekil 4.30’da verilmiştir. 0,40 mL/sn ve 0,666 mL/sn akış hızına sahip numunelerde benzer sızma hızları görülürken 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan numunelerde daha yüksek sızma hızları görülmüştür.

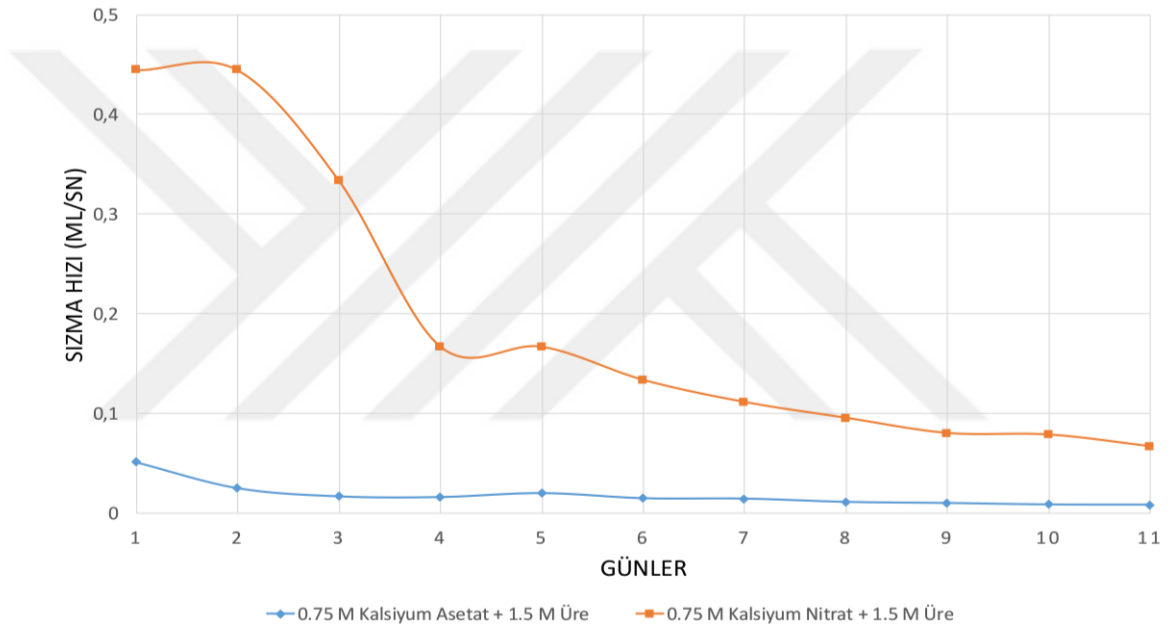


Şekil 4.30. 1 nolu kum zemin üzerinde deneyler esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri



Şekil 4.31. 1 nolu kum zemin üzerinde kalsiyum klorür ve/veya magnezyum klorür uygulamasında deneyler esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri (akış hızı 0,400 mL/sn)

1 nolu kum zemin üzerinde kalsiyum klorür ve/veya magnezyum klorür deneyleri esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri Şekil 4.31’de verilmiştir. Neredeyse tüm numunelerde ilk günden sızma hızlarında belirgin düşüşler görülmüştür. 0,20 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre, 0,40 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre, 0,15 M $MgCl_2$ + 0,60 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre uygulanan numunelerde sızma uygulama süresince devam ederken diğer numunelerde sızma hızları uygulama solüsyonu verildikten sonraki ilk günün sonunda kesilmiştir.



Şekil 4.32. 1 nolu kum zemin üzerinde kalsiyum asetat kalsiyum nitrat uygulamalarında deneyler esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri (0,400 mL/sn)

1 nolu kum zemin üzerinde kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat deneyleri esnasında sabit akış hızına karşılık sızma hızı değişimleri Şekil 4.32’de verilmiştir. Kalsiyum asetat uygulanan 1 nolu kum zemin numunelerinde sızma hızı ilk günden azalma göstermiş kalsiyum nitrat uygulanan numunelerde ise uygulama süresince doğrusal bir azalma görülmüştür.

Dhami *et al.* (2016) bakteri uygulanan zemin numunelerinin alt kısmından süzülen sıvının akış hızının MICP uygulaması ile şiddetli bir şekilde kısıtlandığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda da uygulama solüsyonu (kalsiyum klorür ve üre) verildikten sonra sızma

hızlarında benzer şekilde ani düşüşler görülmüştür. Ayrıca çalışmalarında küçük taneli zeminlerde MICP sonucunda akışın hızlı bir şekilde düştüğünü ve iri taneli zeminlerde ise akışın tanelerin arasının dolmasıyla aşamalı olarak gerçekleşebileceğini belirtmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada farklı akış hızları, bakteri vb. kullanıldığından aynı uygulama yönteminde mevcut literatürden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin 0,266 mL/sn uygulanan 2 nolu kum zemin ve 1 nolu kum zeminlerde 1 nolu kum zeminin dane çapı daha küçük olmasına rağmen sızma hızı daha büyük tane çapına sahip 2 nolu kum zeminden daha fazla olmuştur. Uygulama sonucunda 2 nolu kum zeminin geçirimsizliği daha küçük taneli 1 nolu kum zeminden daha düşük değer almıştır. Buradan akış hızının sonuçları ne kadar etkilediği anlaşılmaktadır. Farklı zemin ortam koşullarında farklı uygulamalara ihtiyacın olduğu ve bunların dikkate alınmasıyla yapılacak iyileştirmenin daha başarılı sonuçlar verebileceği düşünülmektedir.

4.6. Permeabilite Deney Sonuçları

Sabit düzeyli permeabilite deney sonuçlarına göre uygulama yapılmayan 1 nolu kum zeminin permeabilite katsayısı 0,01375 cm/sn, 2 nolu kum zemin de ise 0,0222 cm/sn olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Uygulama yapılan numunelerde permeabilite katsayısındaki yüzdelik azalmalar

Numune Adı	Permeabilitede Azalma (%)
2 nolu kum zemin 0,266 mL/sn	76,2
2 nolu kum zemin 0,40 mL/sn	4,9
2 nolu kum zemin 0,666 mL/sn	88,1
1 nolu kum zemin 0,266 mL/sn	0,00
1 nolu kum zemin 0,40 mL/sn	80,8
1 nolu kum zemin 0,666 mL/sn	80,8
0,20 M MgCl ₂ + 0,75 m CaCl ₂ + 1,5 M Üre	90,4
0,40 M MgCl ₂ + 0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	61,5
0,75 M MgCl ₂ + 0,75 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	99,0
0,15 M MgCl ₂ + 0,60 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	80,8
0,30 M MgCl ₂ + 0,60 M CaCl ₂ + 1,5 M Üre	99,0
0,75 M MgCl ₂ + 1,5 M Üre	99,0
0,75 M Kalsiyum Asetat + 1,5 M Üre	90,4
0,75 M Kalsiyum Nitrat + 1,5 M Üre	23,0

Çizelge 4.4'te 11 günlük uygulamalar sonucunda permeabilite katsayısında meydana gelen yüzdelik düşüşler verilmiştir. 1 nolu kum zemin numunelerinde permeabilitede en çok azalma 0,75 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre, 0,30 M $MgCl_2$ + 0,60 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre ve 0,75 M $MgCl_2$ + 1,5 M Üre uygulamalarında meydana gelmiştir. Bu numunelerin azalma değerleri alttan sızma tamamen kesildiğinden %99 olarak gösterilmiştir. Diğer numunelerde sızma olduğundan ilk permeabilite katsayısına göre düşüşler hesaplanmıştır. 2 nolu kum zemin numunelerinde ise permeabilitede en çok azalma 0,666 mL/sn 11 günlük uygulama sonucunda gerçekleşmiştir. Kalsiyum asetat, kalsiyum nitrat ve kalsiyum klorür uygulanan numunelerde permeabilitedeki azalma karşılaştırıldığında kalsiyum asetat da daha fazla azalma meydana gelmiştir.

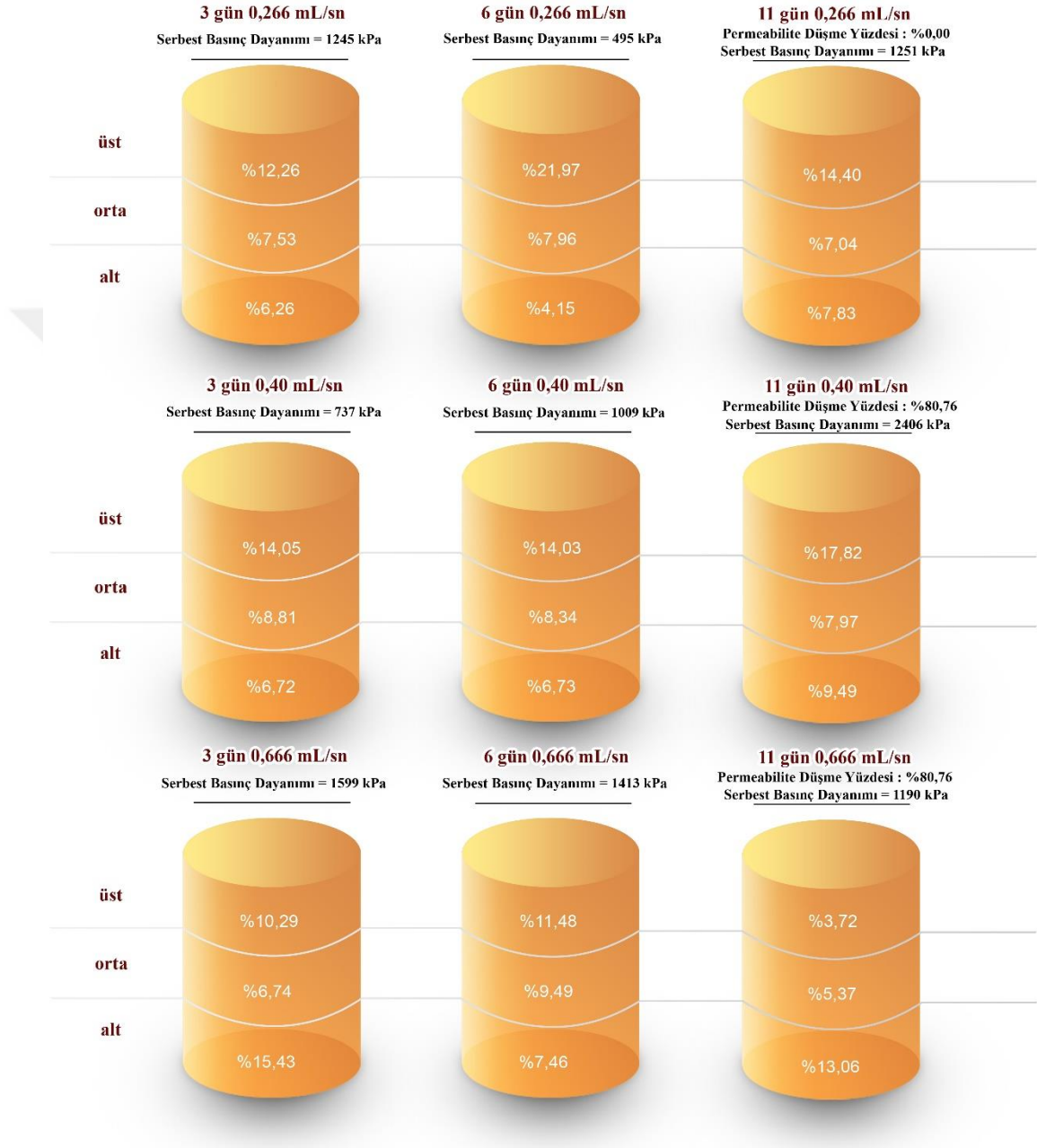
Magnezyum uygulanan numunelerde mukavemet artışı elde edilmiştir ancak permeabilitenin düşürülmesinde daha başarılı sonuçlar alınmıştır. Çok hızlı bir şekilde çökme oluşan bu numunelerde yüksek oranda tıkanmalar meydana gelmiştir. Choi *et al.* (2017b) yaptıkları çalışmadaki toplam 10 günlük çevrim şeklinde yapılan uygulama sonucunda kolonun çıkış kısmının tamamen tıkanıldığını belirtmişlerdir. Magnezyum ile yapılan uygulamada çok daha kısa sürede bu tıkanma gerçekleşebilmektedir. Geçirimsizliğin hızlı bir şekilde düşürülmesi istenilen durumlarda magnezyum klorür ve kalsiyum klorürün birlikte kullanılarak uygulama yapılmasının daha uygun olacağı düşünülmektedir.

0,666 mL/sn 11 gün uygulama yapılan 2 nolu kum zeminde mukavemet değeri elde edilemezken bir enjeksiyon döngüsü sonucunda %88,1'lik bir permeabilite düşüşü gerçekleşmiştir. Soon *et al.* (2013) çalışmalarında benzer bir kum zemin kullanmışlar ve 8 enjeksiyon döngüsü sonucunda %90'lık bir permeabilite düşüşü elde etmişlerdir. Çalışmamızla karşılaştırıldığında benzer düşüşler elde edildiği görülmektedir ancak yapmış olduğumuz uygulamada bir enjeksiyon döngüsünde elde edilen bu değer diğer çalışmada 8 enjeksiyon döngüsü sonucunda elde edilebilmiştir. Arada oluşan bu farkın bakteri, uygulama farklılıkları vb. nedenlerden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

4.7. Kalsit Yüzdesi Sonuçları

Uygulama yapılan numunelerin üst, orta ve alt kısımlarından alınan zemin örneklerinin kalsit yüzdeleri belirlenmiştir. Böylece uygulama sonrasında zemin içerisinde oluşan kalsit yüzdelерinin dağılımları belirlenmiştir. Kalsiyum karbonat yüzdeleri farklı zeminlerde farklı yüzdelere sahip olmuşlardır. Kalsiyum karbonat içeriğinin farklı çıkması kum kolonu içerisindeki akış profili, her bir kum kolonundaki yüzey alanları vb. deneysel değişkenlerden dolayıdır (Choi *et al.* 2017b). Kültür ortamı uygulanmayan kontrol numunelerinde ise 1 nolu kum zeminde kalsit yüzdesi %0,36, 2 nolu kum zeminde ise %2,04 olarak belirlenmiştir. Uygulama yapılmayan zeminlerin farklı kalsit yüzdelерine sahip olmasının zemin cinsinden ve zeminlerin yıkanmasında partiküller arasında kalan kireç vb. farklı maddelerden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. 1 nolu kum zemine ait kalsit yüzdeleri ve diğer analizlere ait sonuçlar Şekil 4.33'te verilmiştir.

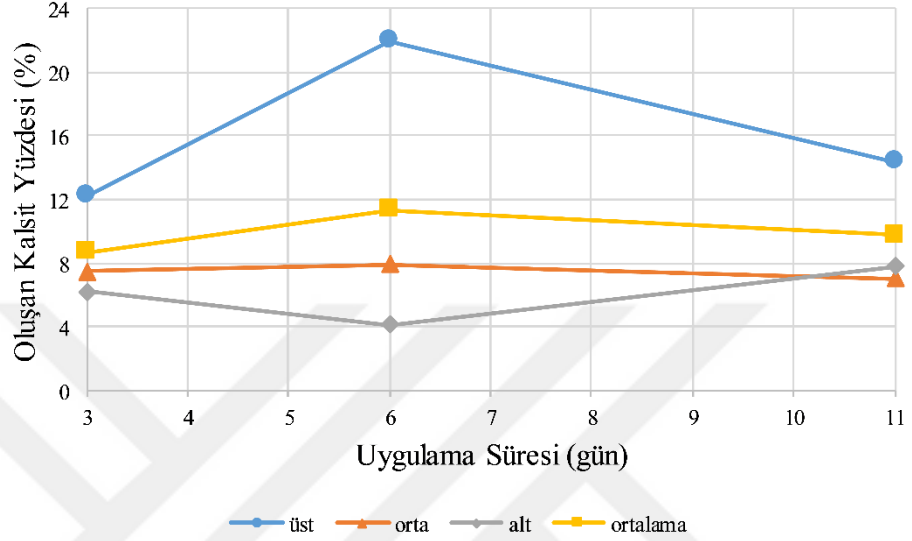
1 NOLU KUM ZEMİN DENEY SONUÇLARI



Şekil 4.33. 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri

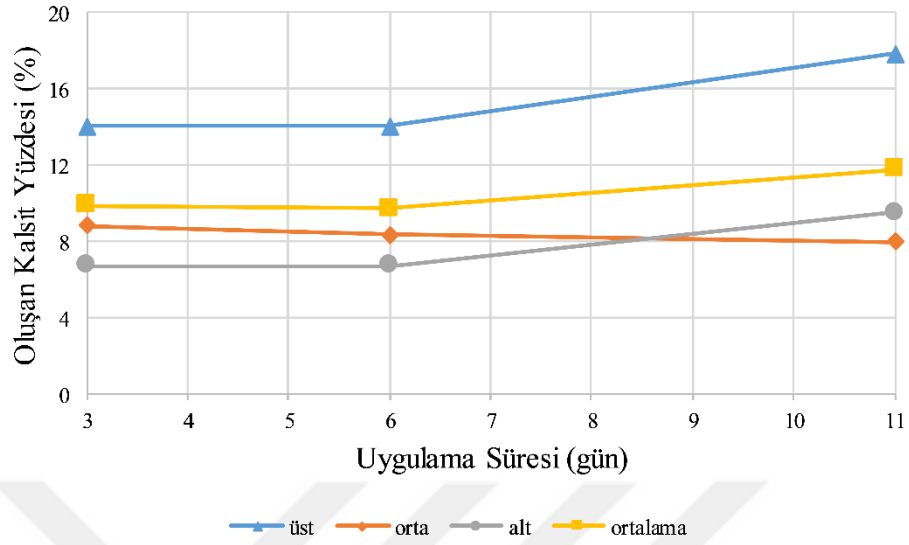
0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin kalsit yüzdesi sonuçları Şekil 4.34'te verilmiştir. Kalsit yüzdeleri üst ve orta kısımda 6. güne kadar artış göstermiş daha sonra düşüş göstermiştir. Alt kısımda ise 3. güne kadar kalsit yüzdesi artmış 3. günden 6. güne

kadar kalsit yüzdesi azalmış sonra tekrar artmıştır. Ortalama kalsit yüzdesi ise 6. güne kadar artış göstermiş ancak sonrasında 11. güne kadar düşüş gözlenmiştir.



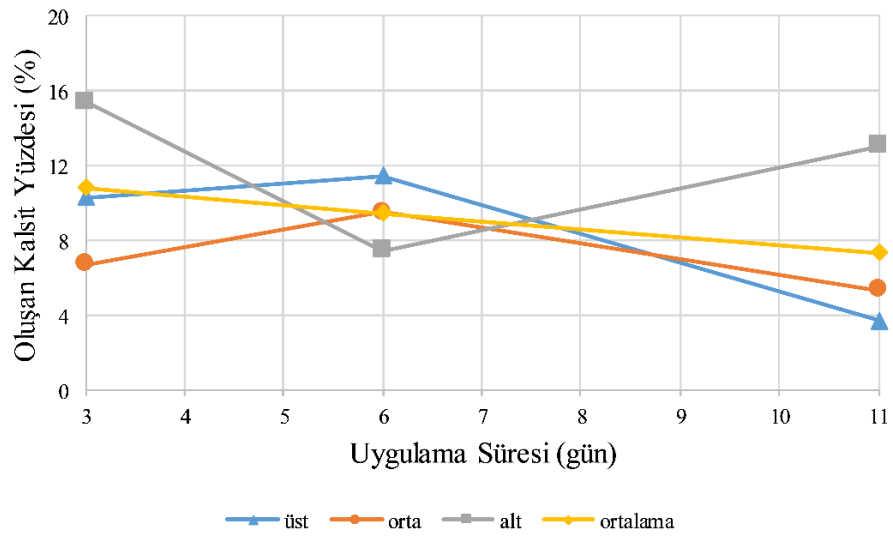
Şekil 4.34. 0,266 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri

0,40 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin kalsit yüzdesi sonuçları Şekil 4.35'te verilmiştir. Numunede uygulama süresince ortalama kalsit artış göstermiştir. Alt ve üst kısımlarda ortalama ile birlikte artmış ancak orta kısımda oluşan kalsit yüzdesi uygulama süresince düşüş göstermiştir.



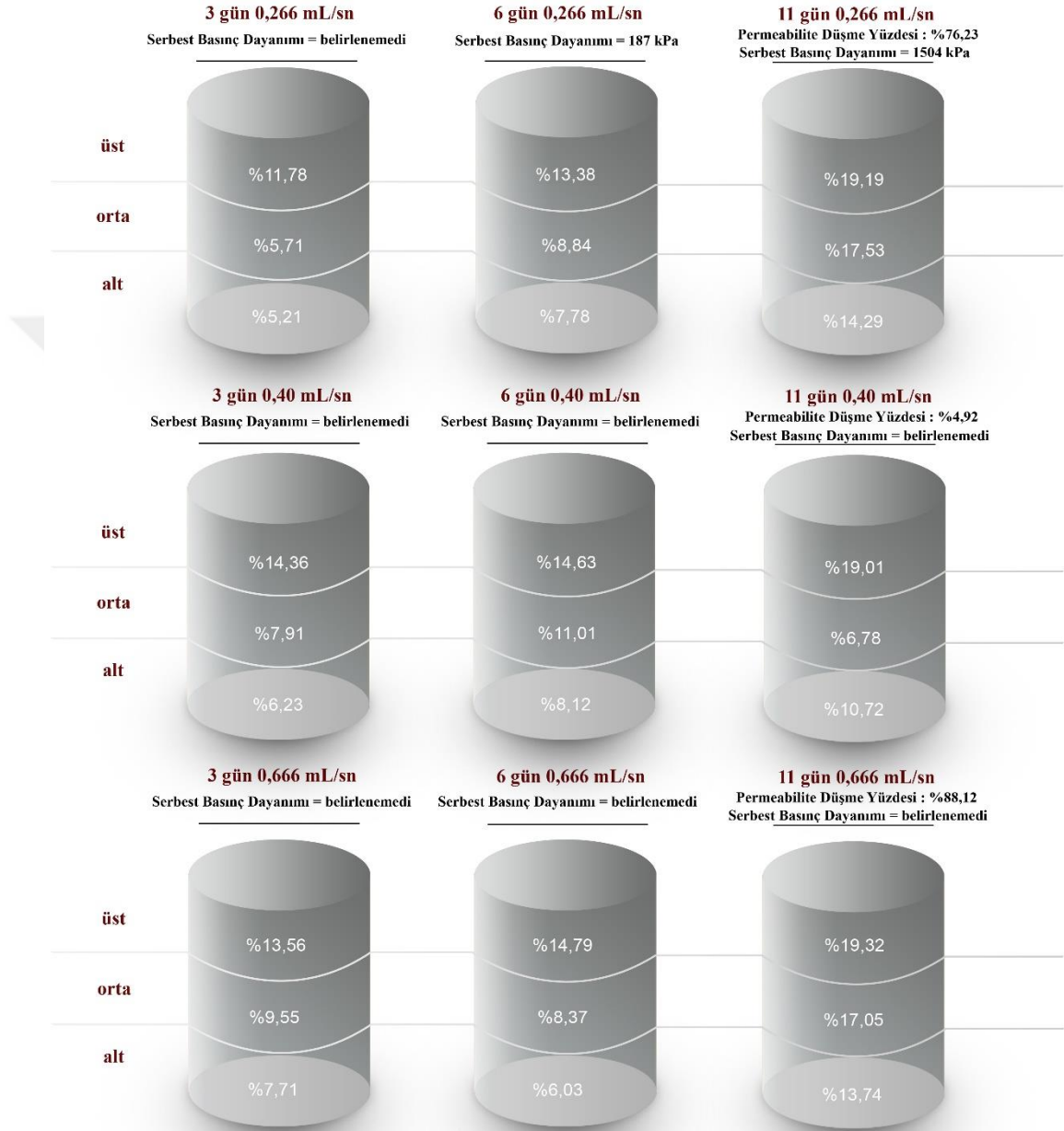
Şekil 4.35. 0,40 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri

0,666 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin kalsit yüzdesi sonuçları Şekil 4.36’da verilmiştir. Ortalama kalsit yüzdesi uygulama boyunca düşüş göstermiştir. 3. günden sonra üst ve orta kısımlarda kalsit yüzdeleri artarken alt kısımda azalmıştır. 6. günden sonra ise tam tersi gerçekleşmiş üst ve orta kısımlarda kalsit yüzdesi azalmış alt kısımda kalsit yüzdesi artmıştır.



Şekil 4.36. 0,666 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri

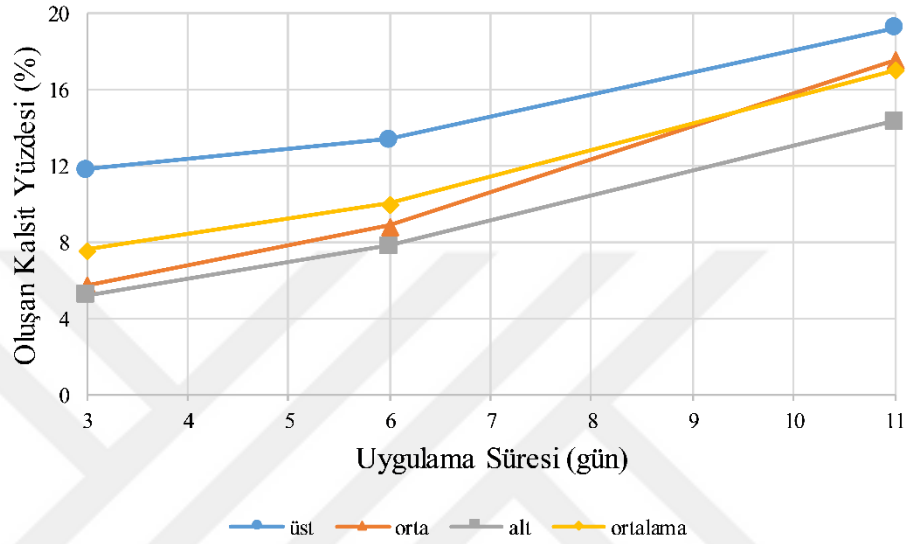
2 NOLU KUM ZEMİN DENEY SONUÇLARI



Şekil 4.37. 2 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri

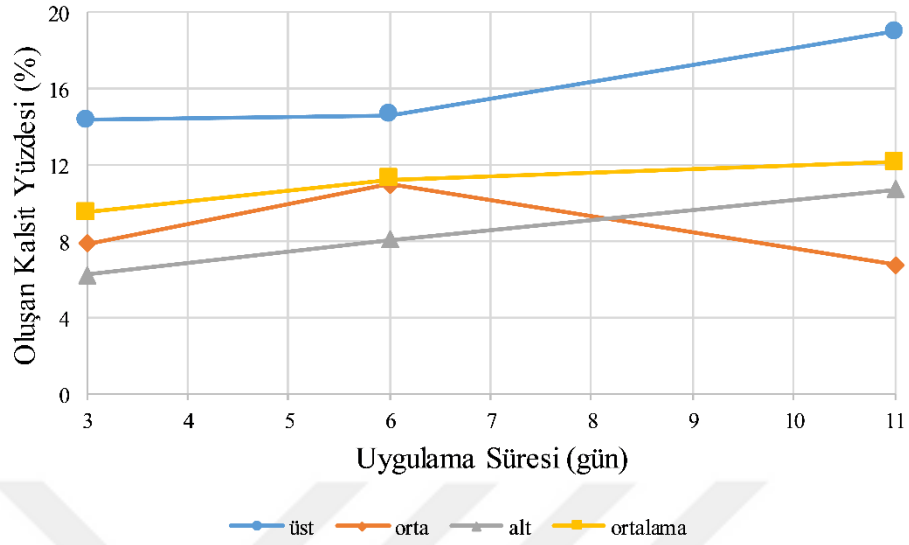
2 nolu kum zemine ait kalsit yüzdeleri ve diğer analizlere ait sonuçlar Şekil 4.37’de verilmiştir. 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan kum zemin kalsit yüzdesi sonuçları Şekil

4.38’de verilmiştir. Kalsit yüzdeleri uygulama süresince tüm bölgelerde artış göstermiştir. En fazla kalsit oluşumu üst kısımda en az kalsit oluşumu ise alt kısımda meydana gelmiştir.



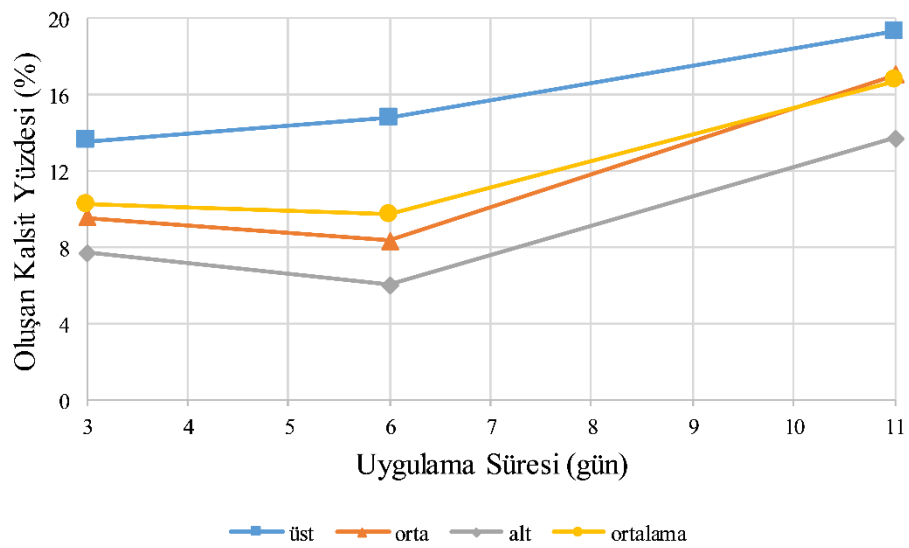
Şekil 4.38. 0,266 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 2 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri

0,40 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin kalsit yüzdesi sonuçları Şekil 4.39’da verilmiştir. Uygulama süresince kalsit yüzdesi artış göstermiştir. 6. güne kadar tüm bölgelerde kalsit yüzdelерinde artış görülürken 6. günden sonra sadece orta kısımda kalsit yüzdesi azalma göstermiştir.



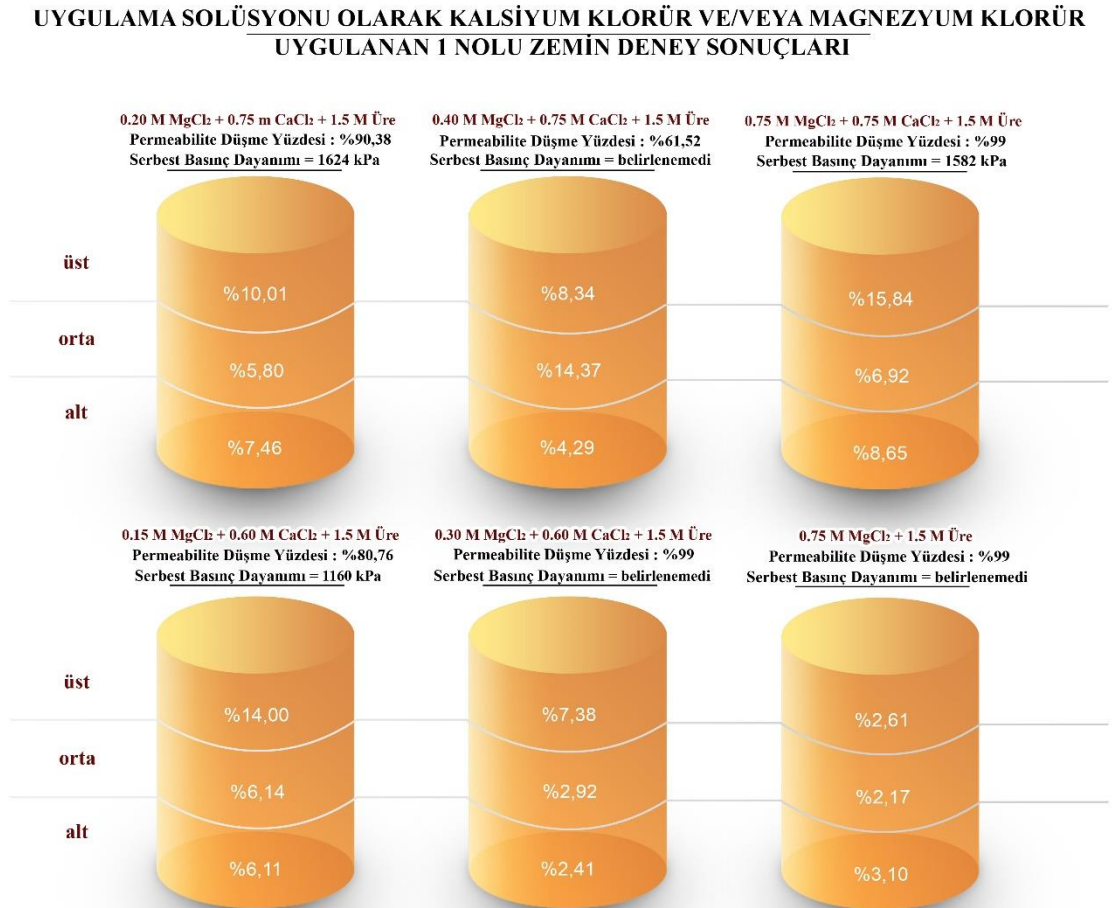
Şekil 4.39. 0,40 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 2 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri

0,666 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin kalsit yüzdesi sonuçları Şekil 4.40'da verilmiştir. Ortalama kalsit yüzdesi 3. günden 6. güne kadar azalmış sonrasında artış göstermiştir. Üst kısımda uygulama süresince artış meydana gelmiş alt ve orta kısımlarda ise 6. günden sonra kalsit yüzdeleri artmıştır.

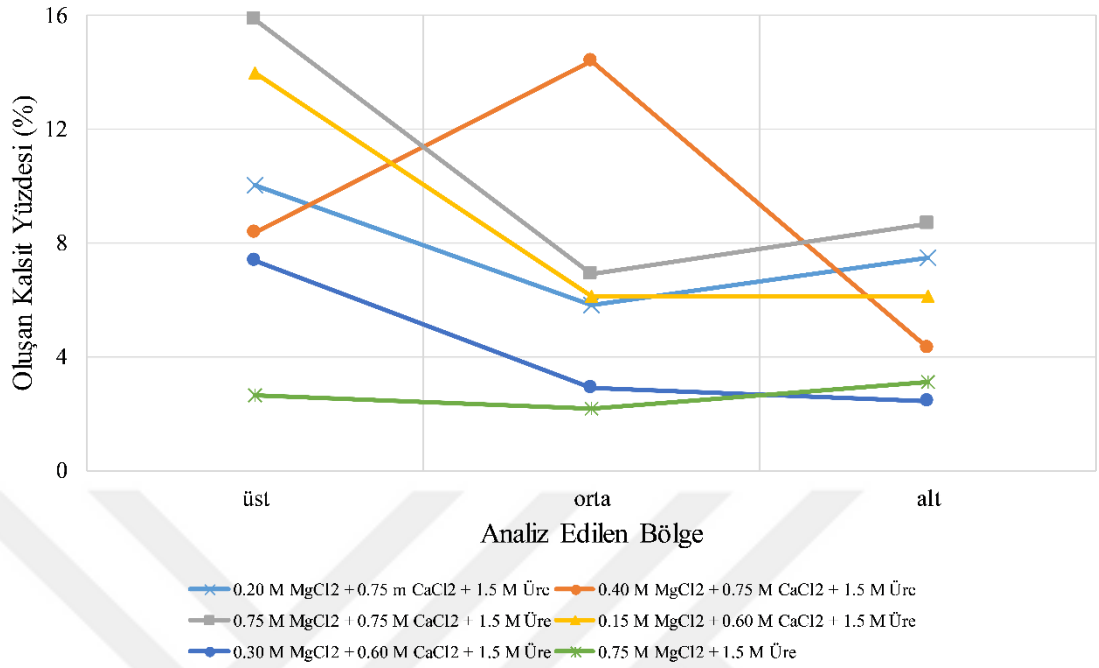


Şekil 4.40. 0,666 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 2 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri

Magnezyum uygulamasına ait kalsit yüzdeleri ve diğer analizlere ait sonuçlar Şekil 4.41’de verilmiştir. Farklı içeriklerde magnezyum uygulanan 1 nolu kum zemin kalsit yüzdesi sonuçları Şekil 4.42’de verilmiştir. 0,40 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre uygulanan numunede oluşan kalsit yüzdesi en fazla orta kısımda olurken diğer numunelerde üst bölgede oluşmuştur. Kalsiyum klorür olmadan uygulanan 0,75 $MgCl_2$ + 1,5 M Üre sonucunda ise kalsit yüzdeleri en düşük (ortalama %2,63) değerleri göstermiştir. Ortalama kalsit yüzdesi en fazla 0,75 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre uygulamasında %10,47 olarak elde edilmiştir.



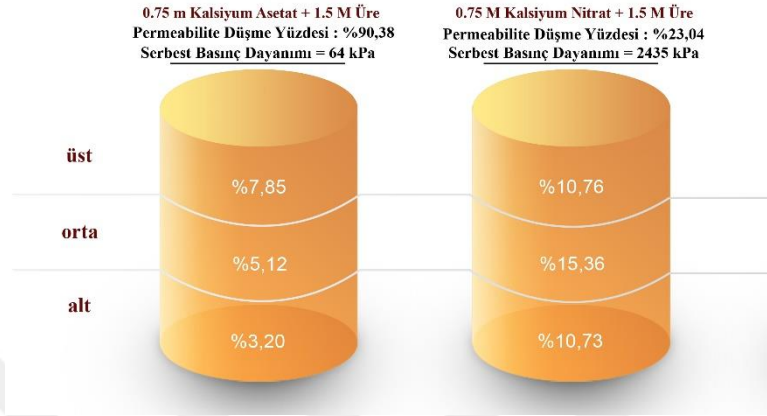
Şekil 4.41. 1 nolu kum zeminde uygulama solüsyonu olarak kalsiyum ve/veya magnezyum klorür uygulanması durumunda oluşan kalsit yüzdeleri



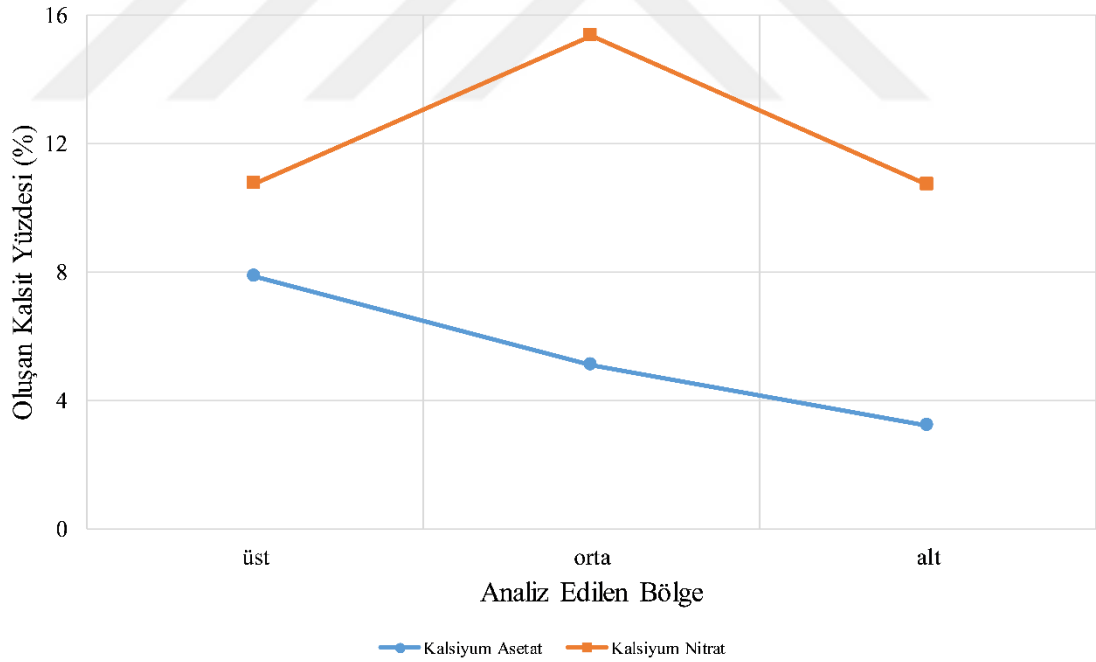
Şekil 4.42. Magnezyum uygulaması sonucunda 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri

Farklı kalsiyum kaynakları uygulamasına ait kalsit yüzdeleri ve diğer analizlere ait sonuçlar Şekil 4.43'te verilmiştir. Şekil 4.44'te farklı kalsiyum kaynakları uygulanan 1 nolu kum zemin numunelerinde oluşan kalsit yüzdeleri görülmektedir. Kalsiyum nitrat uygulama sonucunda ortalama olarak daha yüksek kalsit yüzdesi elde edilmiştir. Kalsiyum asetat uygulaması sonucunda en çok kalsit yüzdesi üst kısımda oluşurken kalsiyum nitrat uygulamasında orta kısımda oluşmuştur.

UYGULAMA SOLÜSYONU OLARAK KALSİYUM ASETAT VE KALSİYUM NİTRAT
UYGULANAN 1 NOLU KUM ZEMİN DENEY SONUÇLARI



Şekil 4.43. 1 nolu kum zeminde uygulama solüsyonu olarak kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat uygulanması durumunda oluşan kalsit yüzdeleri



Şekil 4.44. Kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat uygulaması sonucunda 1 nolu kum zeminde oluşan kalsit yüzdeleri

Kavazanjian and Hamdan (2015) yapmış oldukları çalışmada oluşan kalsiyum karbonatın %2,8-4,3 arasında olduğunu belirlemişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise kalsit

içerikleri kalsiyum klorür uygulaması sonucunda 1 nolu kum zeminlerde %4,15-21,97 arasında iken 2 nolu kum zeminlerde %5,21-19,32 aralığında değerler almıştır. Kalsiyum asetat uygulamasında kalsit içerikleri %3,20-7,85 aralığında değerler almış kalsiyum nitrat uygulamasında ise %10,73-15,36 aralığında kalsit oluşumu gözlenmiştir. Magnezyum uygulaması ile oluşan kalsit yüzdesinin %2,17-15,84 aralığında değerler aldığı belirlenmiştir.

1 nolu kum zeminlerde serbest basınç dayanımı ile oluşan kalsit yüzdesine bakıldığında 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan numunelerde üç günlük uygulamada ve 11 günlük uygulamada benzer mukavemet sonuçları alınmıştır. Sızma hızları ve kalsit yüzdelere bakıldığında 3 günlük numune ile 11 günlük numunede yine benzer sonuçlar görülmüştür. 6 günlük numunede ise kalsit yüzdesi üst kısımda artış göstermiş ancak alt kısımda azalmıştır. 0,266 mL/sn akış uygulanan numunelerde en yüksek kalsit yüzdesi 6. gün sonunda üst kısımda olmasına rağmen sızma hızında artış yaşanmış oluşan bu kalsit geçirimsizliği azaltmamıştır. Ayrıca en düşük serbest basınç dayanımı yine 6 günlük uygulamada elde edilmiştir. Diğer sonuçlarda göz önünde bulundurulduğunda 1 nolu kum zemin numunelerinde 0,266 mL/sn uygulamasının hem permeabilite hem de mukavemette başarılı olamayacağı görülmektedir. Ancak 2 nolu kum zemin üzerinde yapılan uygulamada sadece 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan numunelerde mukavemet sonucu alınabilmektedir. Ayrıca hem kalsit yüzdelere hem de serbest basınç mukavemetlerinde uygulama süresince doğrusal bir artış meydana gelmiştir. Ayrıca diğer uygulamalarla karşılaştırıldığında 2 nolu kum zemin numunelerinde hem mukavemet artışı hem de geçirimsizliğin düşürülmesinde en uygun akış hızının 0,266 mL/sn olduğu görülmektedir. Bu iki farklı zeminde 0,266 mL/sn akış hızı 1 nolu kum zemin numunelerinde doğrusal bir iyileşme artışı meydana getirmezken 2 nolu kum zemin numunelerinde permeabilite ve mukavemet açısından doğrusal olarak artan bir iyileşme sağlamıştır.

0,40 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numunelerinde uygulama süresince kalsit yüzdelere üst ve alt bölgede artış görülürken orta bölgede değişim çok az olmuştur. Diğer 1 nolu kum zemin numunelerinde ise tüm bölgelerde uygulama süresince

kalsit yüzdelерinde düzensizlikler görölmüştür. 0,40 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numunelerinde hem kalsit yüzdelерinde hem de mukavemet değерlerinde doğrusal bir artış yaşanmıştır. Ayrıca ortalama kalsit yüzdesine bakıldığında da en yüksek ortalama 0,40 mL/sn akış hızı uygulanan 11 günlük numunelerde görölmüştür. 2 nolu kum zemin numunelerine bakıldığında 0,40 mL/sn akış hızı uygulama süresince kalsit yüzdelерinin rastgele artış ve azalmalarına neden olmuştur. Bu akış hızında 2 nolu kum zemin numunelerinde mukavemet elde edilemezken geçirimsizlikteki azalmada diğer akış hızlarına göre daha düşük olmuştur. 2 nolu kum zemin numunelerinde 0,40 mL/sn akış hızının uygulanmasının hem mukavemet hem de geçirimsizlik açısından başarılı sonuçlar vermeyeceğı görölmektedir.

0,666 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numunelerinde 3 günlük uygulamada en yüksek dayanım elde edilirken uygulama süresi uzadıkça mukavemetin düştüğü görölmüştür. 3 günlük uygulamada oluşan kalsit yüzdeleri 6. gün sonunda bölgesel olarak değışmiş mukavemet de ise 3 ve 6 günlük numuneler benzer sonuçlar alınmıştır. Ortalama kalsit yüzdesi de 1 nolu kum zemin numunelerinde mukavemet sonuçlarıyla benzer şekilde uygulama süresince azalmıştır. 2 nolu kum zemin numunelerinde ise benzer akış hızında uygulama süresince kalsit yüzdeleri hem düzensiz bir değışim göstermiş hem de uygulama sonucunda mukavemet elde edilememiştir. 2 nolu kum zemin numunelerinde 0,266 mL/sn ve 0,666 mL/sn akış hızlarında 11 günlük numunelerde benzer kalsit yüzdeleri ve geçirimsizlik değерleri elde edilirken 0,666 mL/sn akış hızı uygulanan numunede dayanım elde edilememiştir. Hem 1 nolu kum zemin numunelerinde hem de 2 nolu kum zemin numunelerinde 0,666 mL/sn akış hızının uygulanmasının diğer akış hızlarına kıyasla mukavemet ve permeabilite açısından daha düşük sonuçlar sonuçlar verdiği görölmüştür.

Dhami *et al.* (2016) yapmış oldukları çalışma sonucunda numunelerde kalsiyum karbonat oluşumunun en çok üstte daha sonra ortada ve en az alt kısımda olduğunu tespit etmişlerdir. Küçük taneli zemin numunelerinde kalsit birikimi uygulama başlangıcında daha fazla olmuştur fakat kalsit depolama artış hızı yavaş olmuştur. İri taneli zeminlerde ise başlangıç birikimi daha az olmuştur ancak daha hızlı bir kalsit birikim artışı

bulunmaktadır. Çalışmamızda da benzer şekilde 3 günlük ve 11 günlük 1 nolu kum zemin numuneleri ve 2 nolu kum zemin numuneleri karşılaştırıldığında 1 nolu kum zemin numunelerinde genelde 3. gün sonucunda daha fazla kalsit birikimi meydana gelirken 11 gün sonucunda daha iri taneli olan 2 nolu kum zeminde daha fazla kalsit birikimi olduğu görülmektedir.

1 nolu kum zemin (0,40 mL/sn 11 gün) ve 2 nolu kum zeminde (0,266 mL/sn 11 gün) en yüksek serbest basınç dayanımı sonuçları veren numunelerde oluşan kalsit yüzdelere bakıldığında 2 nolu kum zemin numunelerinde çok daha fazla kalsit oluşmasına rağmen serbest basınç mukavemeti daha düşük değer almıştır. Bu durumun dane çapından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü dane çapı büyüdükçe boşluk yapısı da arttığından dolayı daha fazla kalsit oluşmuş ancak boşlukları tam dolduramamış ve mukavemet değerleri daha küçük çıkmıştır. Rowshanbakht *et al.* (2016) yapmış oldukları çalışmada kalsit çökmesindeki azalmanın, boşluk hacminin düşmesi ve bakteri ile çimentolanma sıvısının azalması ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir. 1 nolu kum zeminlerin boşluk hacminin 2 nolu kum zeminlerin boşluk hacminden daha düşük olduğu göz önünde bulundurulduğunda yapmış olduğumuz çalışmada 1 nolu kum zeminlerde genel olarak daha az kalsit oluşmasının nedeninin boşluk hacminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılacak farklı uygulamalarda zeminin boşluk yapısının, rölatif sıklığın vb. dikkate alınarak farklı molarlarda kalsiyum kaynağı ve farklı uygulama şekillerinin (akış hızı, uygulama süresi vb.) uygulanmasının iyileştirmede etkili olabileceği düşünülmektedir.

Cui *et al.* (2017) yaptıkları çalışma sonucunda oluşan kalsit kristallerini incelendiklerinde kalsit kristallerini etkili kalsit kristalleri ve etkisiz kalsit kristalleri olarak ikiye ayırmışlardır. Kum tanelerini birbirine bağlayan kalsit kristallerine etkili kalsit kristalleri kum tanesi üzerine tutunan kristallere ise etkisiz kalsit kristalleri adını vermişlerdir. Numunede oluşacak dayanım artışında etkili kalsit kristallerinin önemli olduğunu vurgulamışlardır. Çalışmamızda 11 gün 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunesi ile 11 gün 0,666 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunelerinde benzer kalsit oranları görülmüştür. Ancak 0,266 mL/sn uygulanan 2 nolu kum zemin numunesinde 1504 kPa basınç dayanımı elde edilirken 0,666 mL/sn

uygulanan 2 nolu kum zemin numunesinde dayanım elde edilememiştir. Bu sonuç farklılığının kalsit kristallerinin farklı akış hızında farklı şekilde tutunması sonucunda oluşabileceği düşünülmektedir. Yüksek akışta oluşan kalsit bağlarının düşük akışta oluşan kalsit bağlarından daha zayıf olduğu öngörülmüştür (Lee *et al.* 2013).

Alınan sonuçlar akış hızının biyolojik iyileştirmede ne kadar etkili bir faktör olduğunu göstermektedir. Çünkü uygulama sonuçlarından anlaşılaacağı üzere akış hızı hem permeabilite de hem de serbest basınç deneylerinde hem de oluşan kalsit yüzdelinde her iki zemin içinde belirleyici faktör olmuştur. Bununla birlikte uygulama süreside dikkate alındığında farklı zeminlerin farklı uygulama şekillerine ihtiyaç duyduğu açıkça görülmektedir.

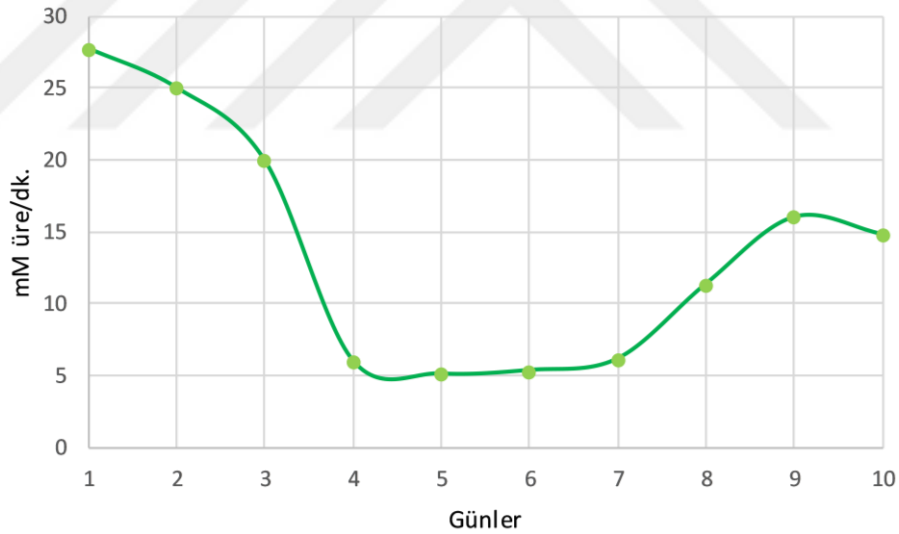
Kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat uygulamalarına bakıldığında kalsiyum asetatlı numunelerde daha düşük bir permeabilite değerine daha düşük bir kalsit yüzdesi ile ulaşılmıştır. Ancak mukavemet sonuçlarına bakıldığında kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum zeminlerde daha fazla mukavemet değeri elde edilmiştir ve kalsiyum klorürle benzer değerler alınmıştır. Ancak maliyet açısından kalsiyum klorürün kullanılması daha uygundur.

4.8. Üre Aktivitesi ve pH Ölçüm Sonuçları

Üre aktivitesi Ningsih *et al.* (2018) çalışmasında kullanılan Nessler metodu ile belirlenmiştir. Yapılan deney sonucunda elde edilen veriler Şekil 4.45'te verilmiştir. Çizelge 4.5'te ise literatürde mevcut bazı çalışmalarda elde edilen üreaz aktivitesi sonuçları verilmiştir. Çizelge 4.5'e bakıldığında farklı üre ve kalsiyum molaritelerinin kullanıldığı görülmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise üre 1500 mM ve kalsiyum klorür 750 mM olarak kullanılmıştır.

Çizelge 4.5. Mikrobiyal üre hidrolizi kullanılarak oluşturulan kalsiyum karbonat için reaksiyon şartları (Umar *et al.* 2016)

Uygulama	Üre (mM)	Ca ²⁺ (mM)	Üre aktivitesi (mM üre/dk)	Mikroorganizma	Zemin tipi	Referanslar
Biyoçimentolanma	1500	1500	4-18	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	Kum	Whiffin (2004)
Biyoçimentolanma	500	500	n/s	<i>Bacillus megaterium</i>	Kum/silt	Soon <i>et al.</i> (2014)
Biyoçimentolanma	500	500	5-20	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	Silika kum	Al Qabany <i>et al.</i> (2012)
Biyoçimentolanma	1000	1000	10	<i>Bacillus sphaericus</i>	Silika kum	Cheng <i>et al.</i> (2013)
Biyoçökelim	330	25	0,65	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	Kum	Achal <i>et al.</i> (2009a)
Biyoçimentolanma	500	500	0,67-1,33	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	Kum	van Paassen (2009)
CO ₂ sekestrasyonu	670	250	n/s	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	-	Okwadha and Li (2010)
Biyoçökelim	25	25	n/s	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	Kum	Achal <i>et al.</i> (2009b)
Biyotıkanma	1500	750	6,2	<i>Bacillus sp.</i>	Kum	Chu <i>et al.</i> (2012)
Atık sudan Ca ²⁺ uzaklaştırma	16	14	0,293	<i>Isolates closed to Bacillus sphaericus</i>	-	Hammes <i>et al.</i> (2003)
Çalışmamız	1500	750	5-28	<i>Viridibacillus arenosi</i>	-	-



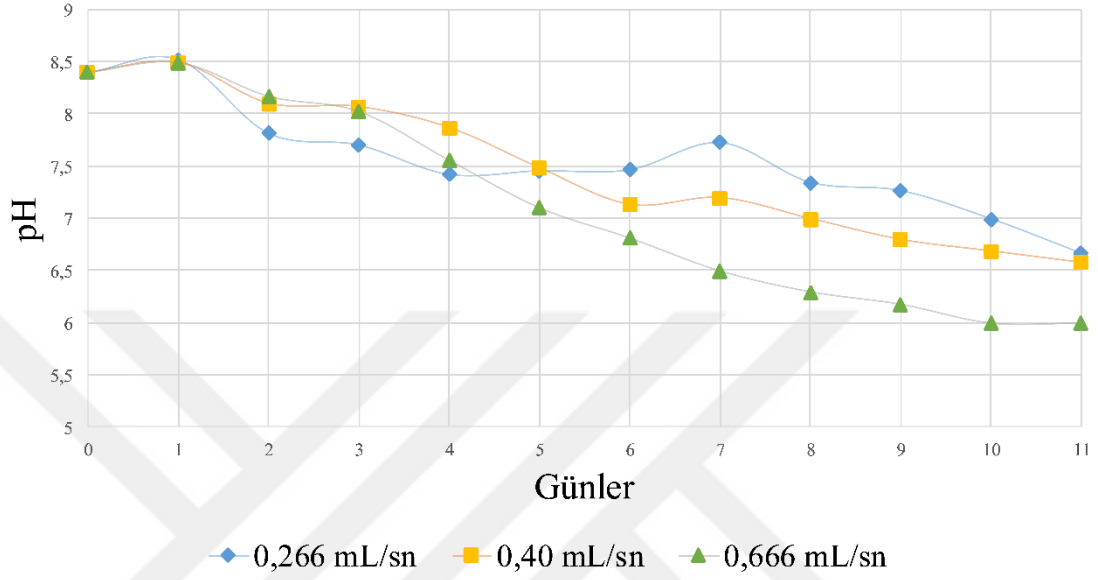
Şekil 4.45. Üre aktivitesi deney sonuçları

PH takibi uygulama süresince 24 saatte bir yapılmıştır. Uygulama öncesinde besiyeri pH değeri ölçülmüştür. Kültür ortamı pH değeri uygulama başlangıcında yaklaşık olarak 8,4 olarak belirlenmiştir. Ölçülen pH değerleri genel olarak uygulama süresince düşüş göstermiştir.

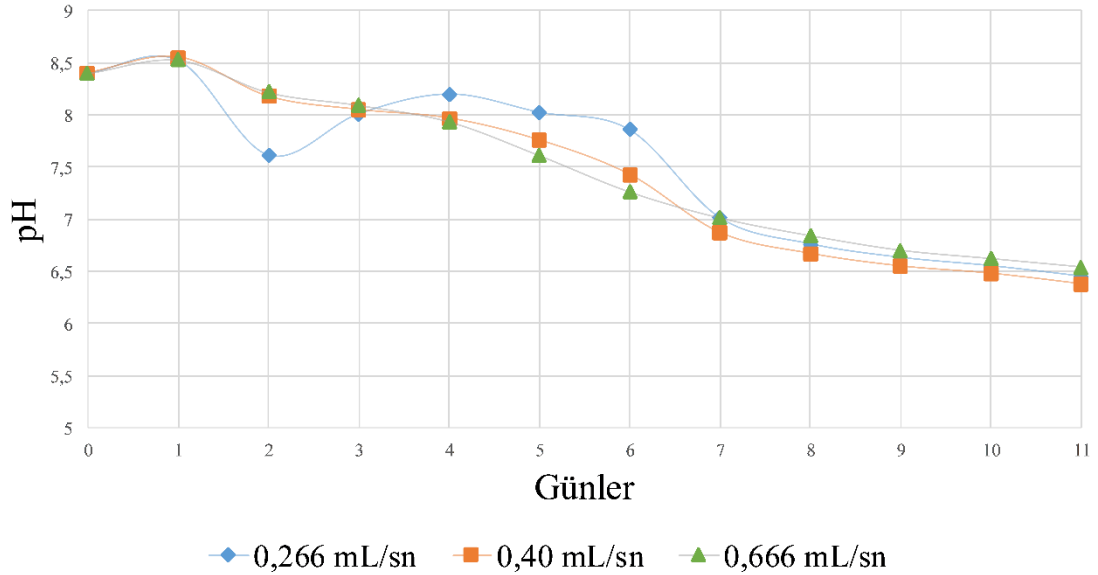
2 nolu kum zemin numunelerinde farklı akış hızlarında uygulama süresince alttaki kaptan ölçülen pH değerleri Şekil 4.46'da verilmiştir. 1 nolu kum zeminlerde farklı akış hızlarında uygulama süresince alttaki kaptan ölçülen pH değerleri ise Şekil 4.47'de verilmiştir. İki grafikte de yatay eksen 0 yazan uygulama yapılmadan önce kültür ortamı pH değerini 1 yazan değer ise kültür ortamının 24 saat süresince çevrimle zemine uygulanmasından sonraki pH değerini göstermektedir. İki zemin içinde pH değerleri uygulama süresince genel olarak düşme eğiliminde olmuştur. Her iki zemin içinde pompa hızlarının artması genelde pH derecesinin daha düşük olmasına neden olmuştur. Her iki zeminde 0,40 mL/sn ve 0,666 mL/sn akış hızlarında pH değişimi uygulama süresince doğrusal olarak azalırken 0,266 mL/sn uygulanan numunelerde artmalar ve azalmalar izlenmiştir. Magnezyum uygulamasına ait pH değişim grafiği Şekil 4.48'de ve farklı kalsiyum kaynakları uygulanan numunelerde oluşan pH değişimi ise Şekil 4.49'da verilmiştir. Magnezyum uygulanan numunelerde Şekil 4.48'de görüldüğü gibi pH doğrusal olarak azalmıştır ve final pH değerleri kalsiyum klorür uygulanan numunelerden daha yüksek değerler almıştır. Magnezyum uygulamasında 3 numunenin uygulamanın 1. gününün sonunda tamamen tıkanması ve alt kapta kıvamlı bir halde bulunması sebebiyle 1. günden sonra ölçümler alınamamıştır. Farklı kalsiyum kaynakları uygulanan numunelerde de magnezyum uygulamasına benzer şekilde nihai pH değerleri kalsiyum klorür uygulanan numunelerden daha yüksek olmuştur. Kalsiyum nitrat uygulanan numunelerde nihai pH değeri kalsiyum asetattan daha düşük kalsiyum klorürden daha yüksek değer almıştır.

Moravej *et al.* (2018) yapmış oldukları çalışmada bakteriyel kalsit çökelişi ve biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda pH değerinin giderek azaldığını belirlemişlerdir. PH düşüş hızının, kalsit partiküllerinin oluşumundan dolayı başlangıçta hızlı olduğunu ve zamanla azaldığını belirtmişlerdir (Şekil 4.50). Yapmış olduğumuz çalışmada pH değerlerinin genel olarak uygulama süresince düştüğü göz önünde bulundurulduğunda kalsit oluşumunun uygulama süresince devam ettiği anlaşılmaktadır. Serbest basınç deneyi, kalsit yüzdesi analizi, permeabilite deneyi sonuçlarına bakıldığında uygulama süresinin artırılmasının bazı akış hızlarında mukavemet, geçirimsizlik ve kalsit yüzdesi

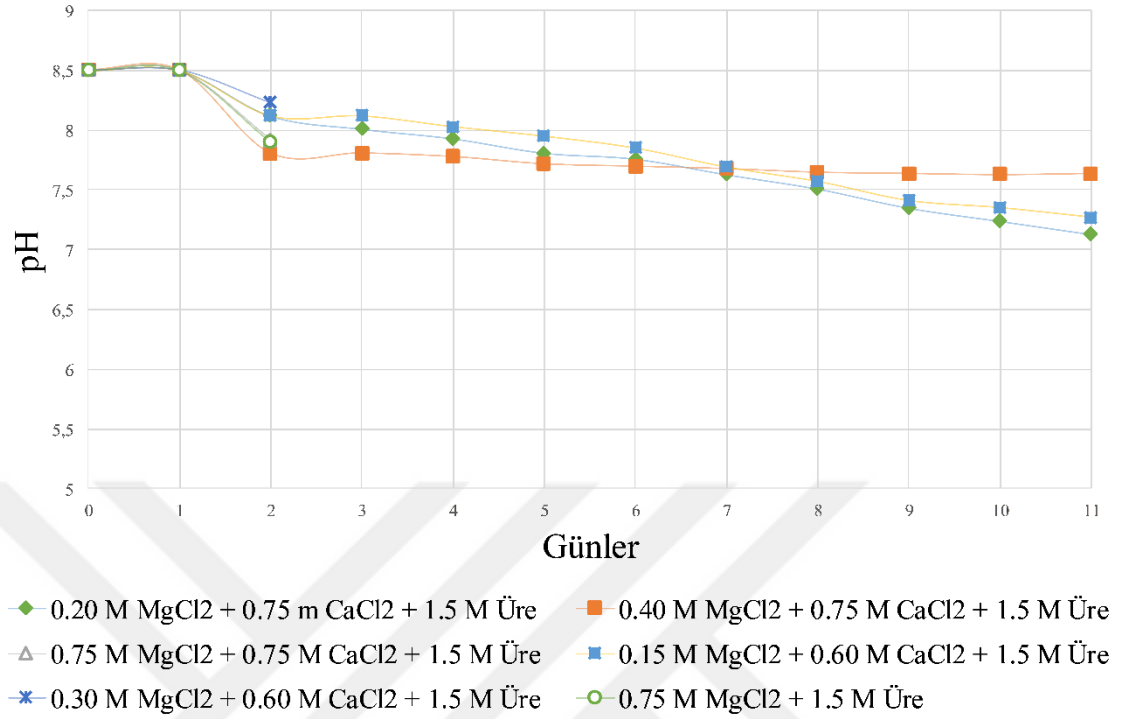
üzerinde olumlu etkisi olduğu görülmektedir. Sonuçlar arasındaki bu değişikliklerinin uygulama şeklinden (akış hızı, zemin cinsi, vb) kaynaklandığı düşünülmektedir.



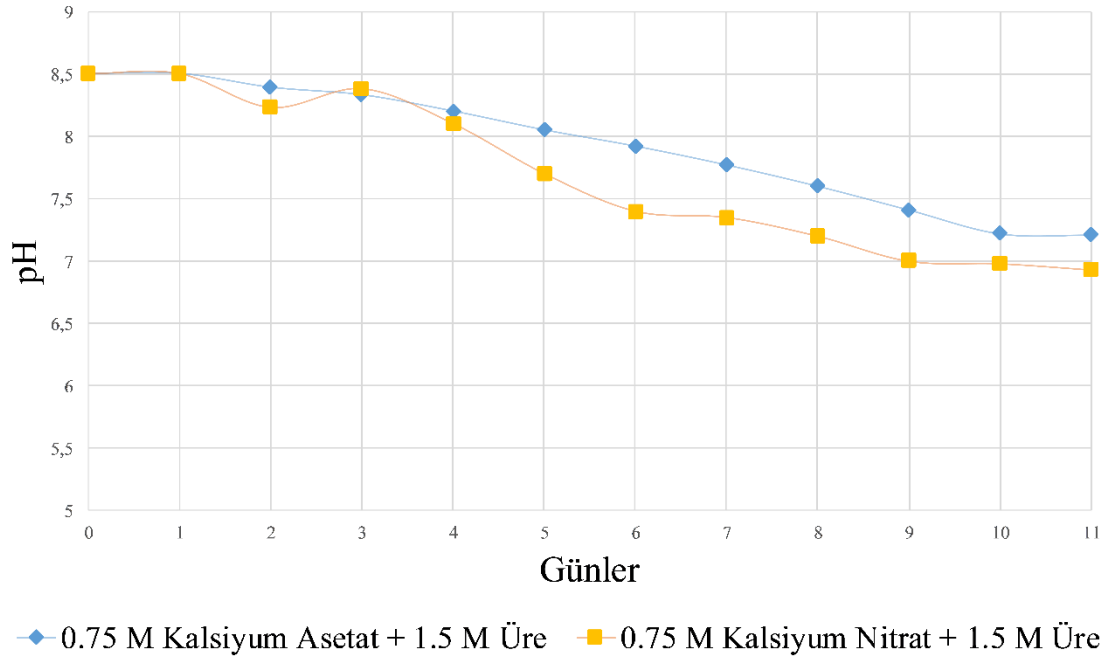
Şekil 4.46. 2 nolu kum zemin numunelerinde uygulama süresince pH değişimi grafiği



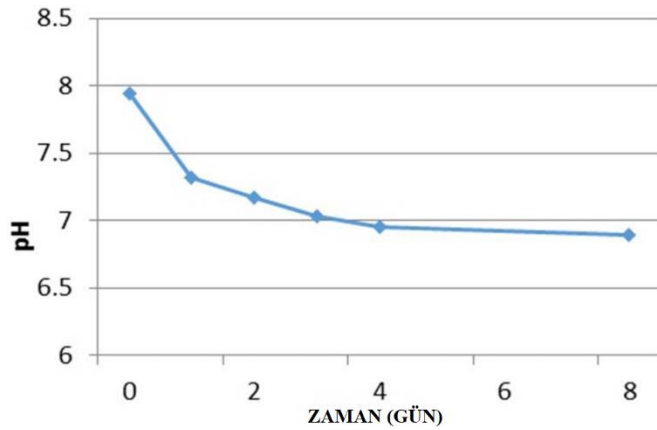
Şekil 4.47. 1 nolu kum zemin numunelerinde uygulama süresince pH değişimi grafiği



Şekil 4.48. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum klorür ve/veya magnezyum klorür uygulanan 1 nolu kum zeminlerde iyileştirme süresince pH değişimi grafiği



Şekil 4.49. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum klorür ve kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum zeminlerde iyileştirme süresince pH değişimi grafiği



Şekil 4.50. Kür zamanı ile zeminin pH değişimi (Moravej *et al.* 2018)

4.9. SEM (Scanning Electron Microscopy) Analiz Sonuçları

Uygulama yapılan zeminlerden yüksek dayanım elde edilmiş 11 gün süre ile 0,400 mL/sn akış hızında uygulama yapılan 1 nolu kum zemin numunesi, 11 gün süre ile 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunesi, farklı kalsiyum kaynakları uygulanan numuneler ve en yüksek mukavemet elde edilen magnezyum uygulanan numunelerin SEM, EDS ve çizgi profil analizleri ile oluşan yapılar ve bu yapıların bileşenleri belirlenmiştir.

11 gün 0,400 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numunelerine ait SEM analiz görüntüleri Şekil 4.51’de verilmiştir. Numuneden alınan genel görsele (Şekil 4.51 (a)) bakıldığında zemin danelerinin yüzeyleri ve boşluklarının oluşan yapı ile dolduğu tanelerin birbirine nasıl bağlandığı görülmektedir. Daha yakından alınan görsellerde ise (Şekil 4.51 (b), (c) ve (d)) zemin yüzeylerinin ne derecede kaplı olduğu ve oluşan bu yapının zemin danelerinin arasını nasıl doldurduğu daha iyi görülmektedir. Uygulama sonucunda oluşan bu yapı zeminde hem mukavemet artışı sağlamış hem de geçirimsizliğinin azalmasında etkili olmuştur.

Şekil 4.52’de 11 gün 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunesine ait SEM analiz görseli verilmiştir. Görselde oluşan bu yapının zemin yüzeylerini kapladığı

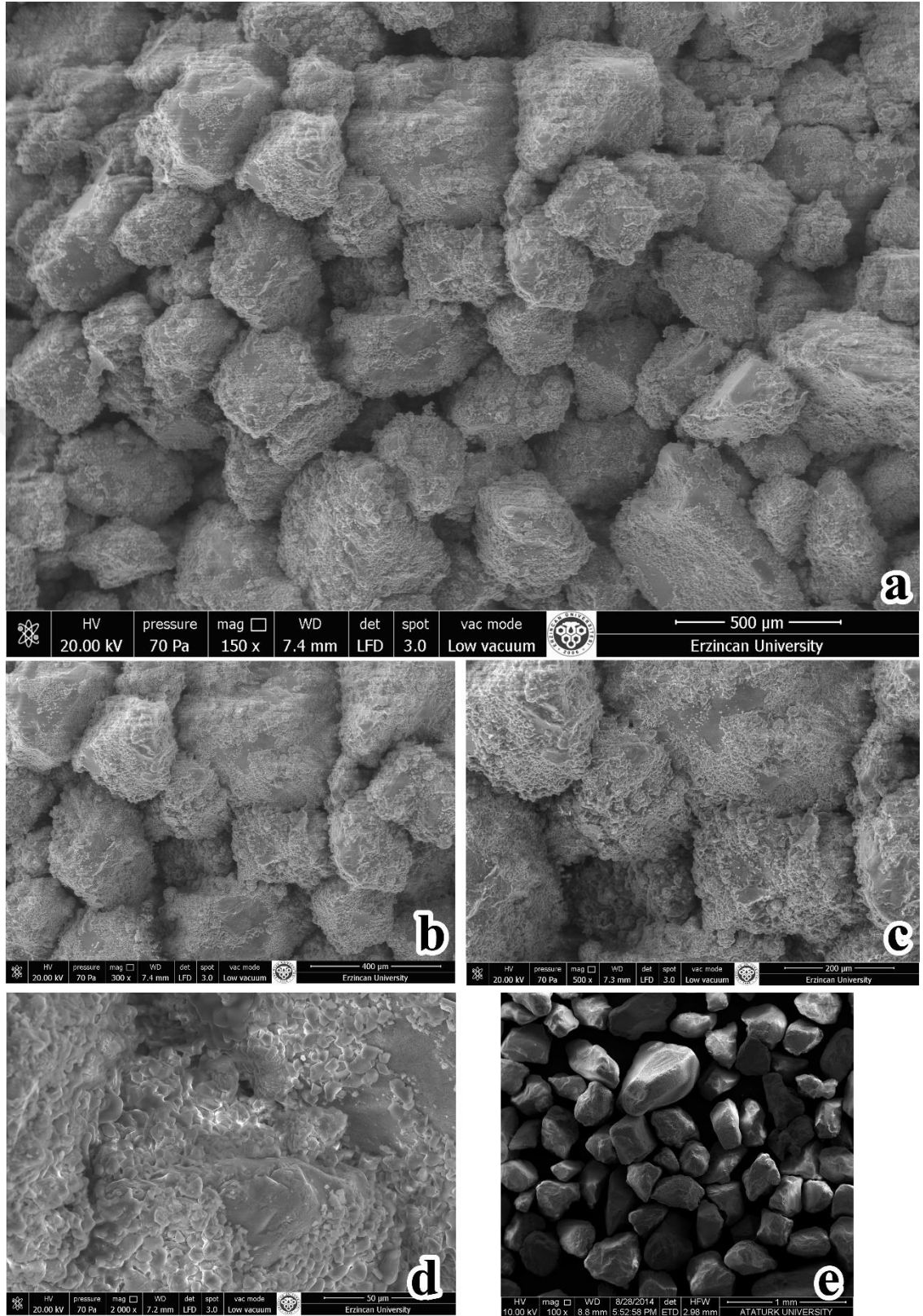
tanelerin arasındaki boşlukları doldurarak zemin tanelerini birbirine bağladığı görülmektedir.

Magnezyum uygulamasında en yüksek mukavemet sonucunu veren 0,20 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre uygulamasına ait SEM analiz görseli Şekil 4.53'te verilmiştir. SEM analiz görseline bakıldığında kalsiyum klorür uygulamalarından daha farklı bir yapı olduğu görülmektedir. Bu yapıda benzer şekilde zemin tanelerini kaplamış ve aralarını doldurarak birbirine bağlamıştır. Oluşan bu yapının içeriği hakkında yapılan analizler çalışmanın devamında verilmiştir.

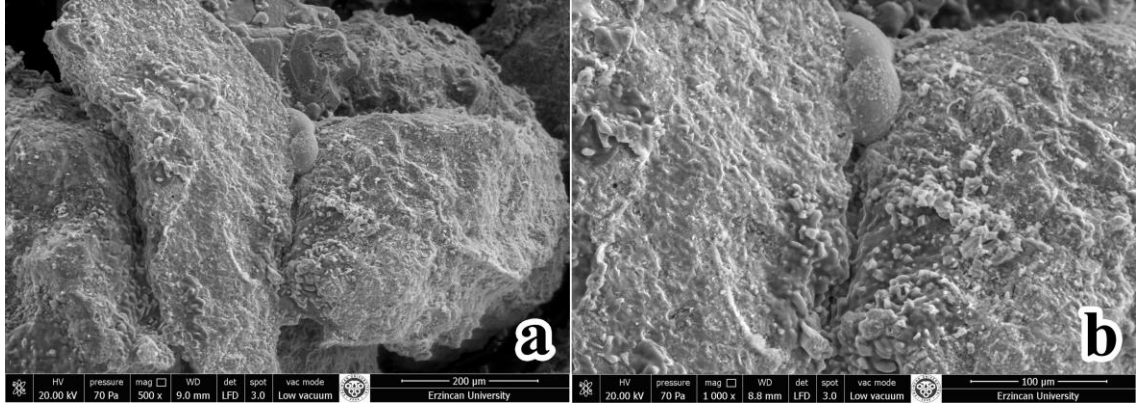
Kalsiyum asetat uygulanan numunelere ait SEM analizi görseli Şekil 4.54'de verilmiştir. Kalsiyum klorür uygulanan numunelerle benzer şekilde bu uygulamada da oluşan yapı ile zemin tane yüzeyleri kaplanmış ve zemin daneleri birbirine bağlanmıştır.

Kalsiyum nitrat uygulaması sonucunda oluşan yapıların SEM analiz görseli Şekil 4.55'te verilmiştir. Diğer uygulamalarla benzer şekilde oluşan yapılar zemin yüzeylerini kaplamış tanelerin arasını doldurarak zemin tanelerini birbirine bağlamıştır.

Shahrokhi-Shahraki *et al.* (2015) çalışmalarında SEM analizleri uygulayarak oluşan yapıları incelemişlerdir. Çalışmalarında yer alan görseller ile iyileştirme uyguladığımız 1 nolu kum zemine ait Şekil 4.51 görseli karşılaştırıldığında zemin aralarında ve yüzeylerde uygulamamızın daha başarılı sonuçlar verdiği görülmektedir. Çalışmalarında uygulama yapılan zeminlerden elde ettikleri en yüksek serbest basınç mukavemeti değeri 240 kPa olarak verilmiştir. Çalışmamızda ise Şekil 4.51'de SEM görseli verilen zemine ait serbest basınç mukavemeti değeri 2406 kPa olarak belirlenmiştir. SEM analizlerindeki bu farklılıklarının, serbest basınç mukavemeti sonuçlarında ortaya çıkan farklılıktan kaynaklandığı düşünülebilir.

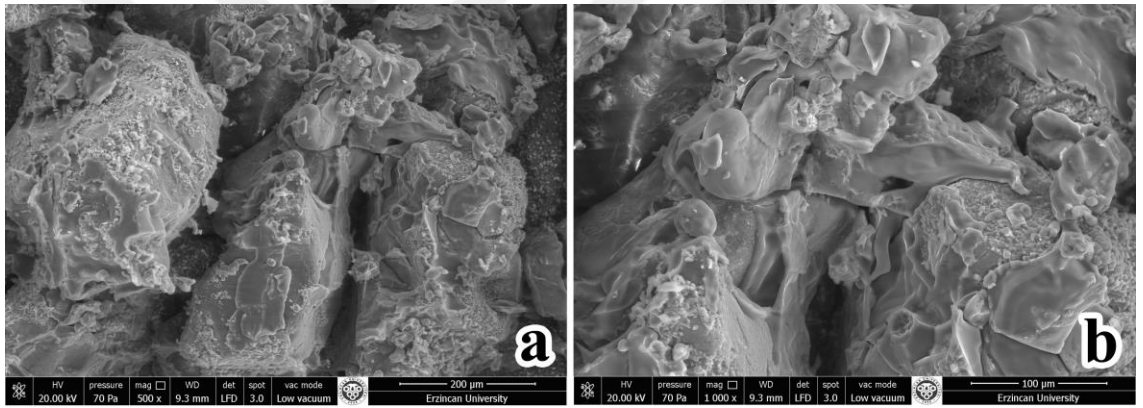


Şekil 4.51. 11 gün 0,400 mL/sn akış hızı uygulanan ve uygulama yapılmayan 1 nolu kum zemin numunesine ait SEM analiz görseli
(a) 150 x (b) 300 x (c) 500 x (d) 2000 x yakınlaştırma (e) uygulama yapılmayan zemin numunesi



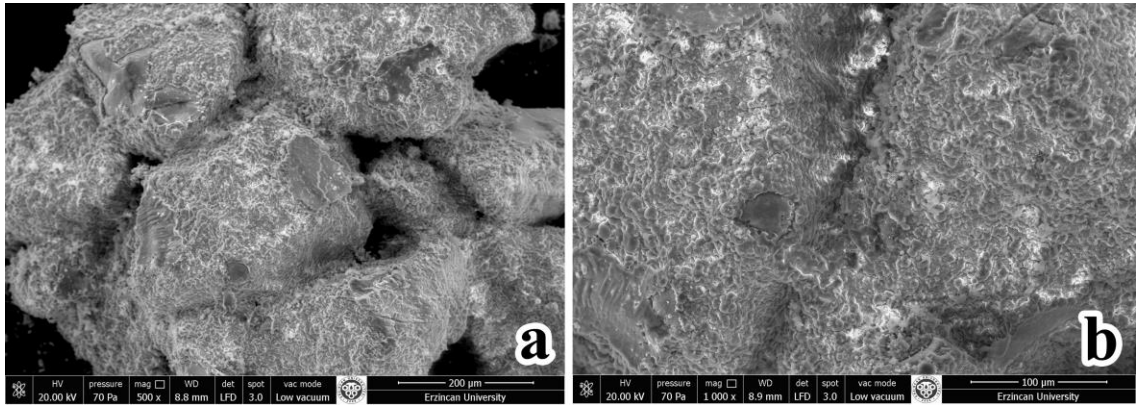
Şekil 4.52. 11 gün 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunesine ait SEM analiz görseli

(a) 500 x (b) 1000 x yakınlaştırma



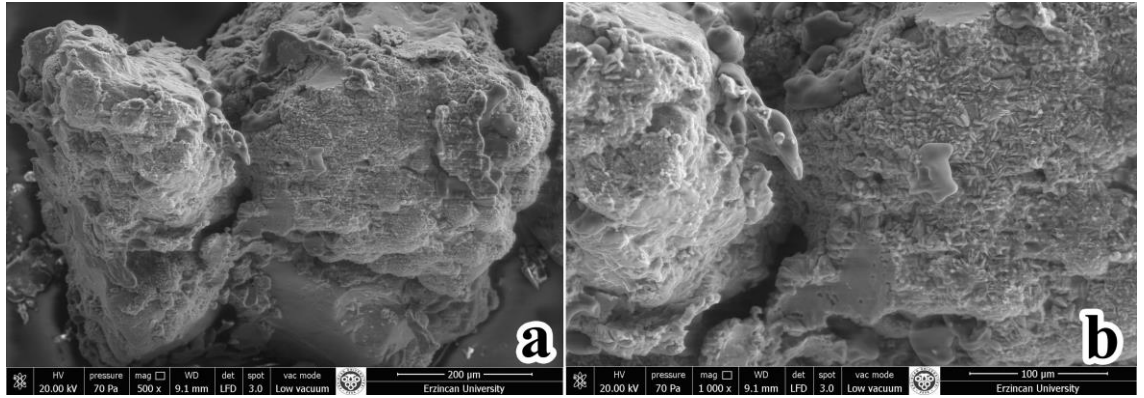
Şekil 4.53. 0,20 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi SEM analiz görseli

(a) 500 x (b) 1000 x yakınlaştırma



Şekil 4.54. Kalsiyum asetat uygulanan 1 nolu kum zemin SEM analiz görseli

(a) 500 x (b) 1000 x yakınlaştırma

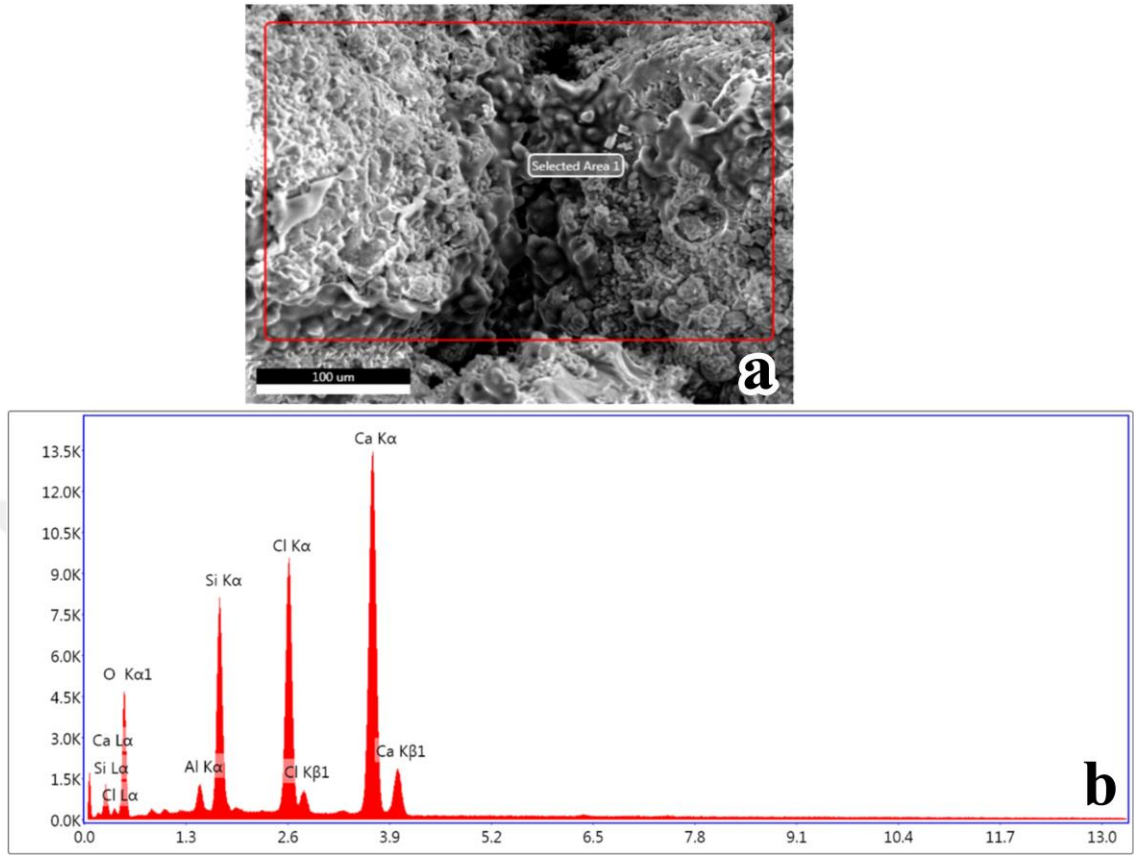


Şekil 4.55. Kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesine ait SEM analiz görseli

(a) 500 x (b) 1000 x yakınlaştırma

4.10. EDS (Energy-Dispersive- X-ray Spectroscopy) ve Çizgi Profili Analiz (Line Profile Analysis) Sonuçları

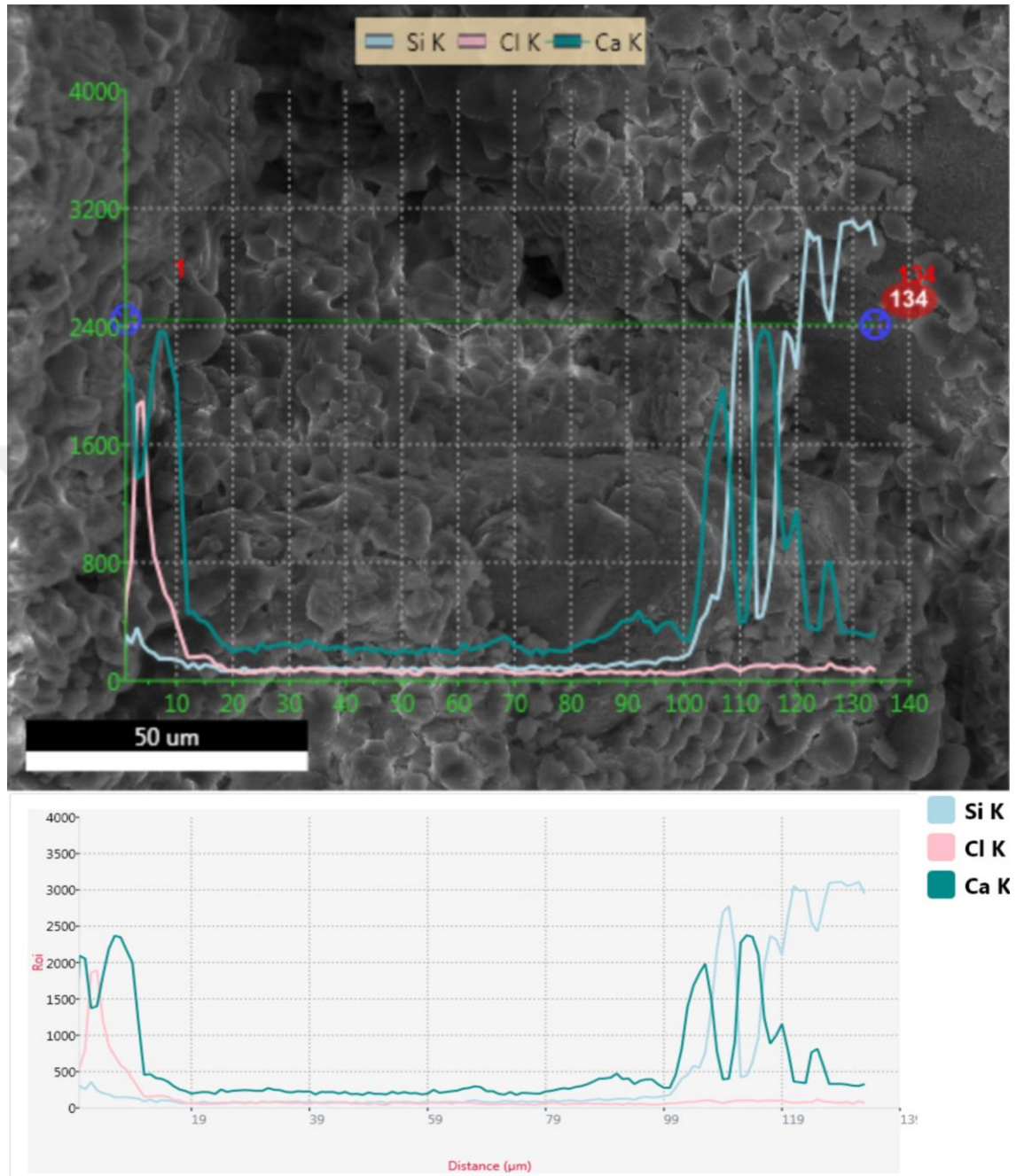
Uygulama yapılan numunelerde EDS analizi ile tarama yapılan bölgedeki mineral dağılımları çizgi profil analizi ile de belirlenen çizgi üzerinde oluşan mineral değişimleri belirlenerek zemin daneleri arasında oluşan yapı hakkında bilgi edinilmiştir.



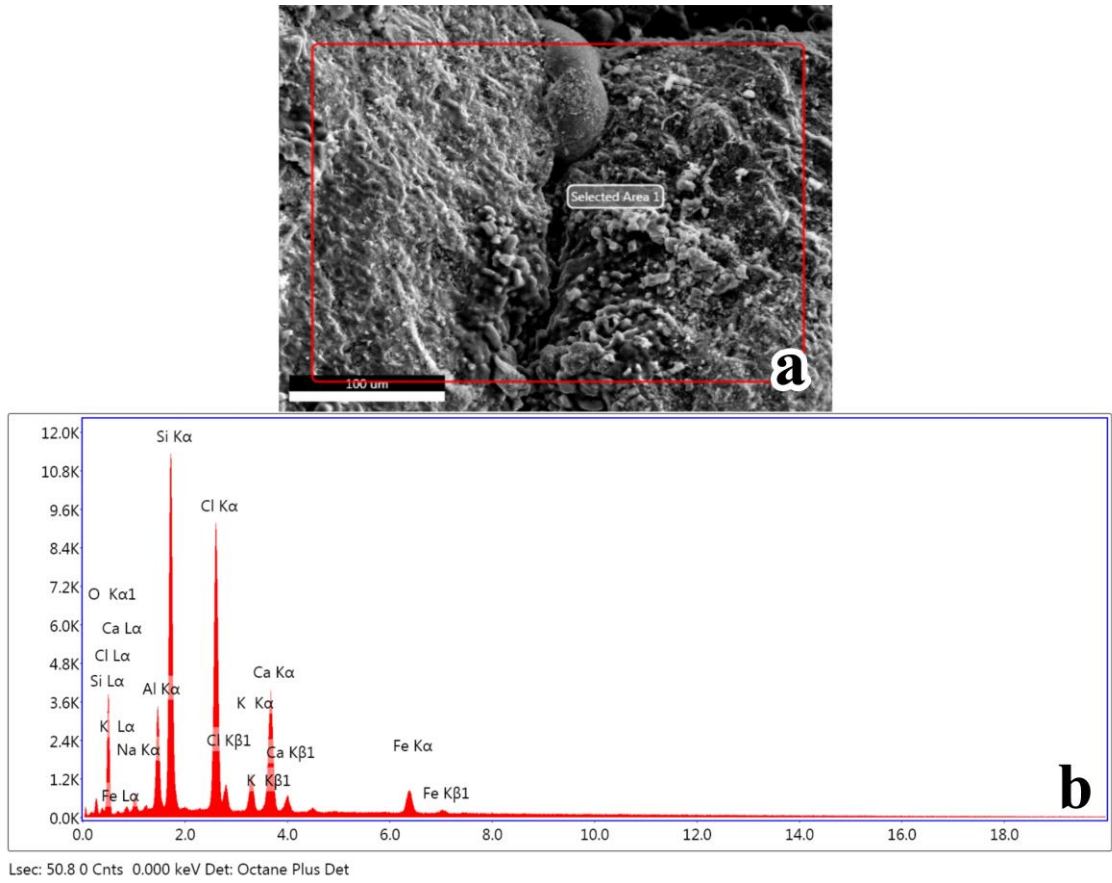
Şekil 4.56. 11 gün 0,400 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları

(a) seçilen bölge (b) seçilen bölgenin element analiz sonucu

11 gün 0,400 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numunesinde yapılan EDS analizi (Şekil 4.56) ile genel tarama yapılarak bölgedeki elementler belirlenmiş çizgi profili analizi (Şekil 4.57) ile de genel tarama yapılan bölgede belirlenen iki nokta arasındaki çizgi üzerinde bulunan elementlerle ilgili bilgi edinilmiştir. EDS analiz sonuçlarına bakıldığında oluşan kalsiyumlu yapıdan dolayı Ca, uygulama solüsyonunda bulunan kalsiyum klorürde bulunan klordan dolayı Cl, 1 nolu kum zemin yapıtaşından (SiO_2) dolayı Si ve O element pikleri görülmektedir. Çizgi profili analizinde yaklaşık 120 µm birim mesafeye kadar daneler arasında oluşan kalsitlerden dolayı Ca grafiklerinde artış görülürken 120 µm birim mesafeden sonra kum danesi yüzeyine gelindiğinden Si grafiğinde artış görülmüştür. Böylece daneler arasında oluşan yapının kalsiyum içeren yapılar olduğu anlaşılmaktadır.



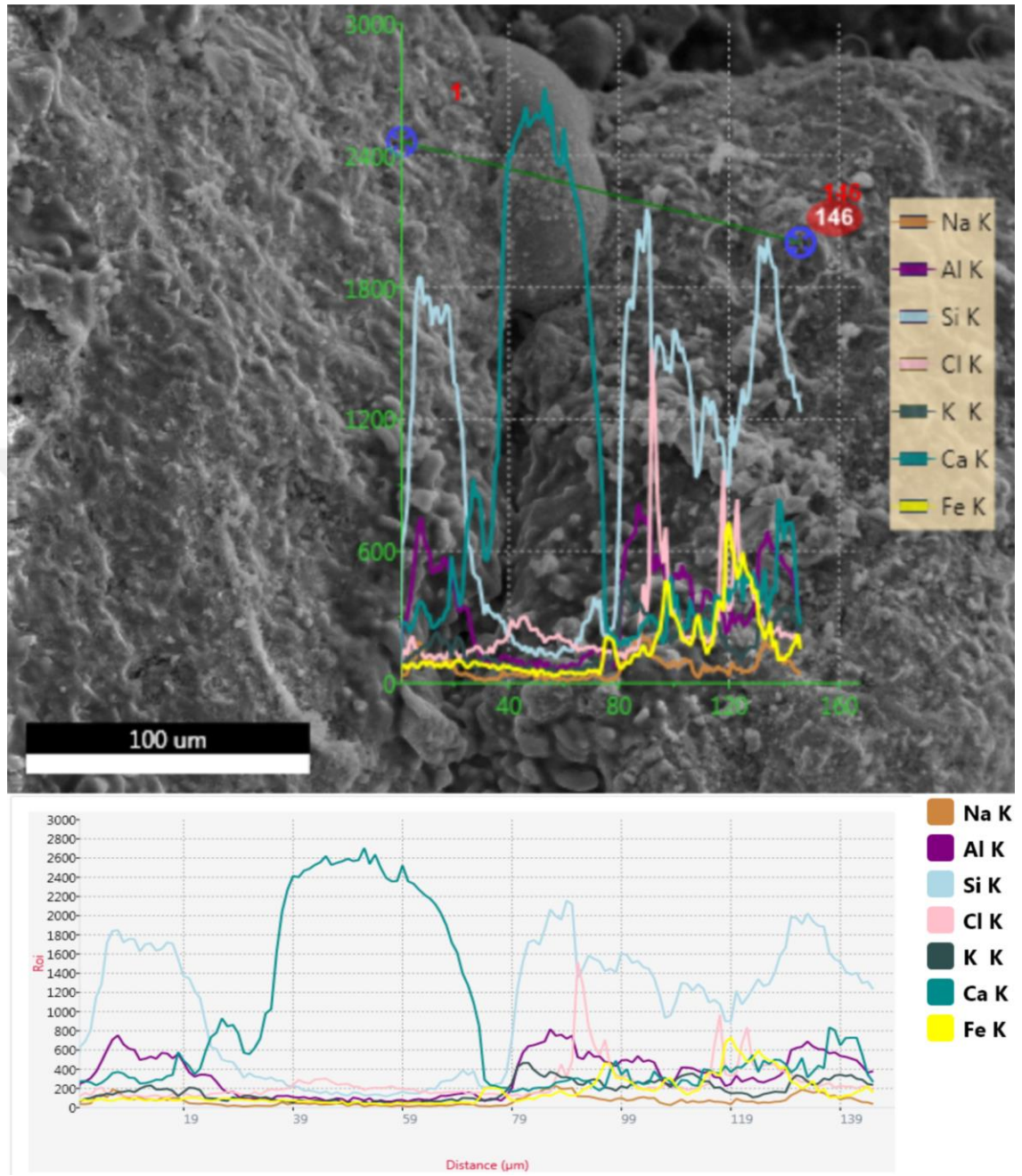
Şekil 4.57. 11 gün 0,400 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları



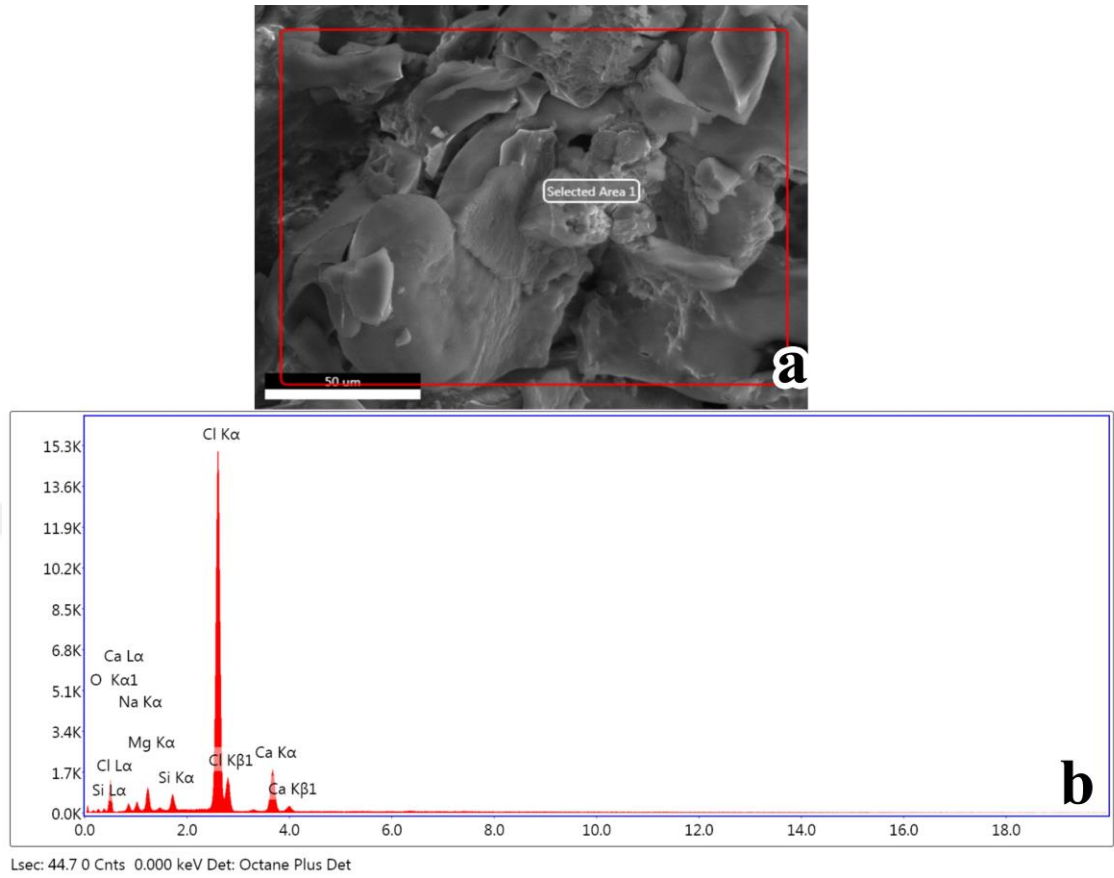
Şekil 4.58. 11 gün 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları

(a) seçilen bölge (b) seçilen bölgenin element analiz sonucu

11 gün 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunesi üzerinde yapılan EDS analizi (Şekil 4.58) ile genel tarama yapılarak bölgedeki elementler belirlenmiş çizgi profili analizi (Şekil 4.59) ile de genel tarama yapılan bölgede belirlenen iki nokta arasındaki çizgi üzerinde bulunan elementlerle ilgili bilgi edinilmiştir. EDS analiz sonuçlarına bakıldığında oluşan kalsiyumlu yapıdan dolayı Ca, uygulama solüsyonunda bulunan kalsiyum klorürde bulunan klordan dolayı Cl, zemin yapıtaşından dolayı Si ve O element pikleri görülmektedir. Çizgi profili analizinde 40-80 μm birim arasında daneler arasını bağlayan yapıda Ca elementi diğer kısımlarda ise zemin danesinden kaynaklı Si elementine rastlanmıştır. Diğer uygulamalar ile benzer şekilde daneler arasında oluşan yapının kalsiyumlu bileşiklerden kaynaklı Ca elementi olduğu görülmektedir. Burada diğer zeminden kaynaklanan farklı piklere de rastlanmıştır.

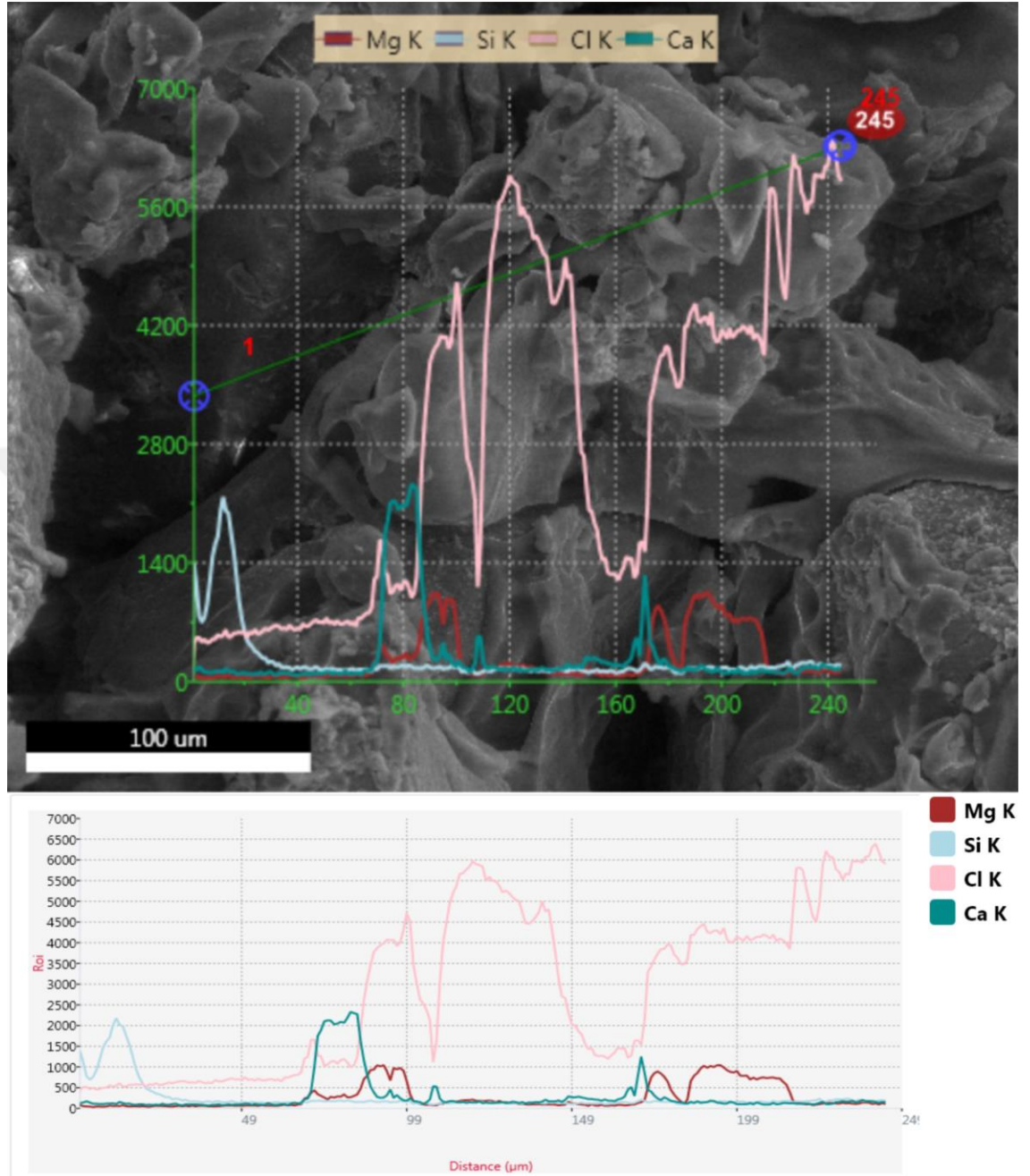


Şekil 4.59. 11 gün 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları

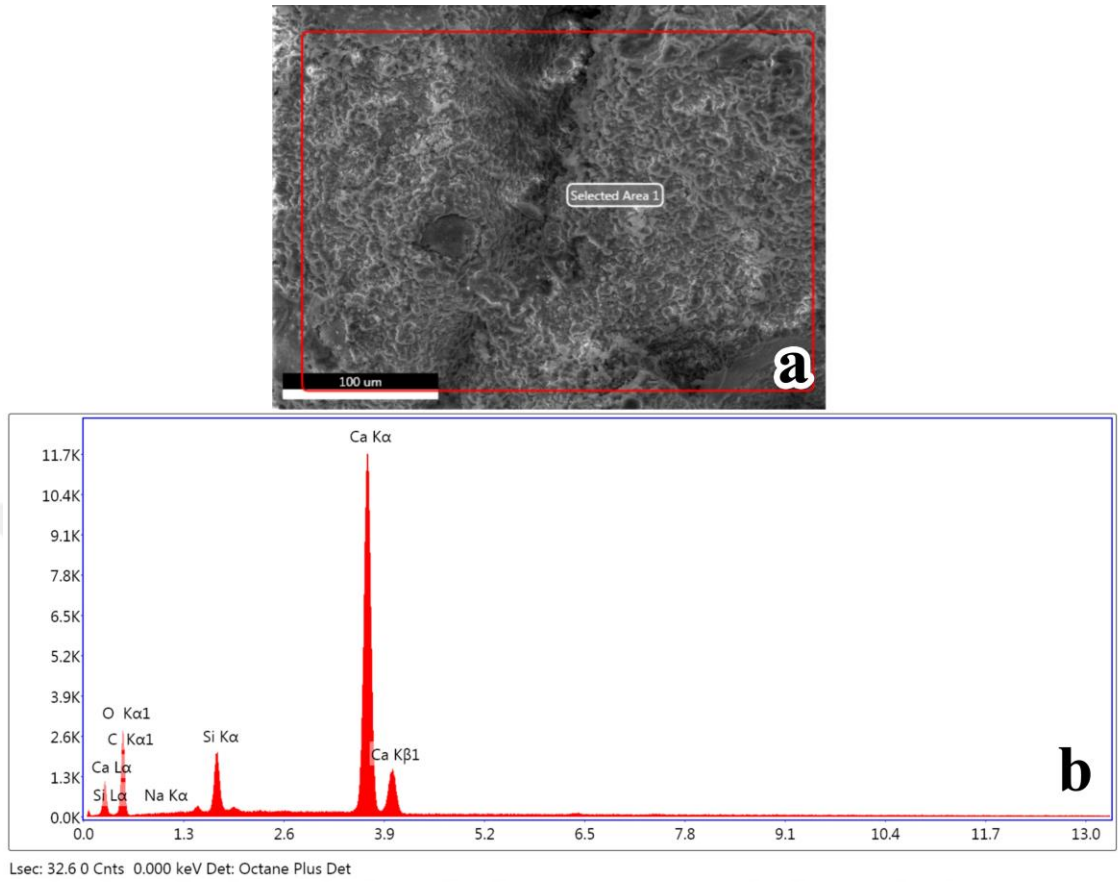


Şekil 4.60. Uygulama solüsyonu olarak 0,20 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları
(a) seçilen bölge (b) seçilen bölgenin element analiz sonucu

Uygulama solüsyonu olarak 0,20 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi üzerinde yapılan EDS analizi (Şekil 4.60) ile genel tarama yapılarak bölgedeki elementler belirlenmiş çizgi profili analizi (Şekil 4.61) ile de genel tarama yapılan bölgede belirlenen iki nokta arasındaki çizgi üzerinde bulunan elementlerle ilgili bilgi edinilmiştir. EDS analiz sonuçlarına bakıldığında Ca, Cl, Mg, Si elementlerinin bulunduğu görülmektedir. Oluşan kalsiyumlu yapıdan dolayı Ca, uygulama solüsyonunda bulunan kalsiyum klorürde bulunan klordan dolayı Cl, 1 nolu kum zemin yapıtaşından (SiO_2) dolayı Si ve O element pikleri görülmektedir. Çizgi profili analizinde tane yüzeyine gelen kısımlarda yine Si elementi 70-90 µm birim mesafeleri arasında Ca elementi ve diğer kısımlarda çoğunlukla Cl elementine rastlanmıştır. Bu farklı oluşumun uygulama solüsyonunda bulunan magnezyum klorürden kaynaklandığı düşünülmektedir.



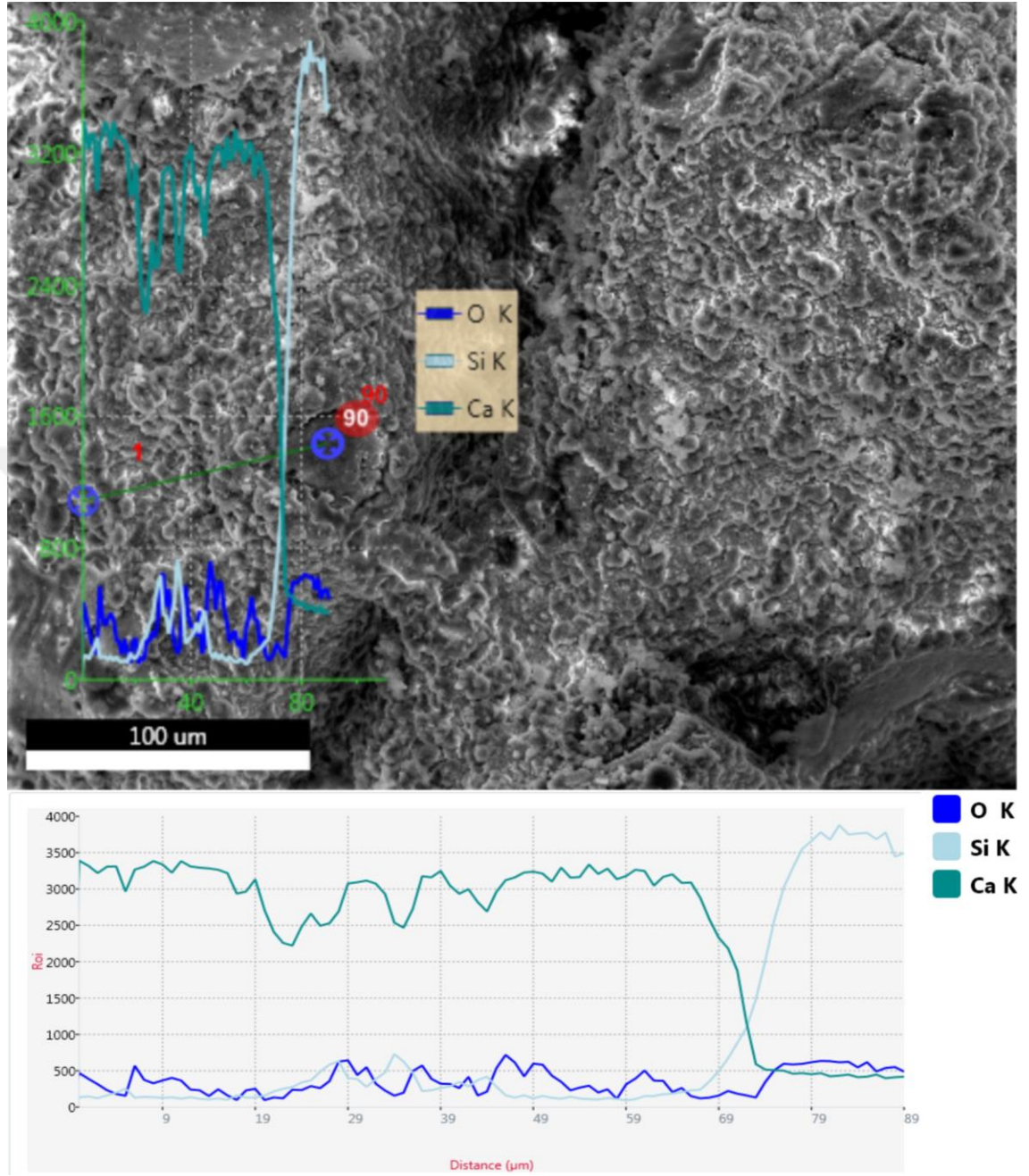
Şekil 4.61. Uygulama solüsyonu olarak 0,20 M MgCl_2 + 0,75 M CaCl_2 + 1,5 M Üre uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları



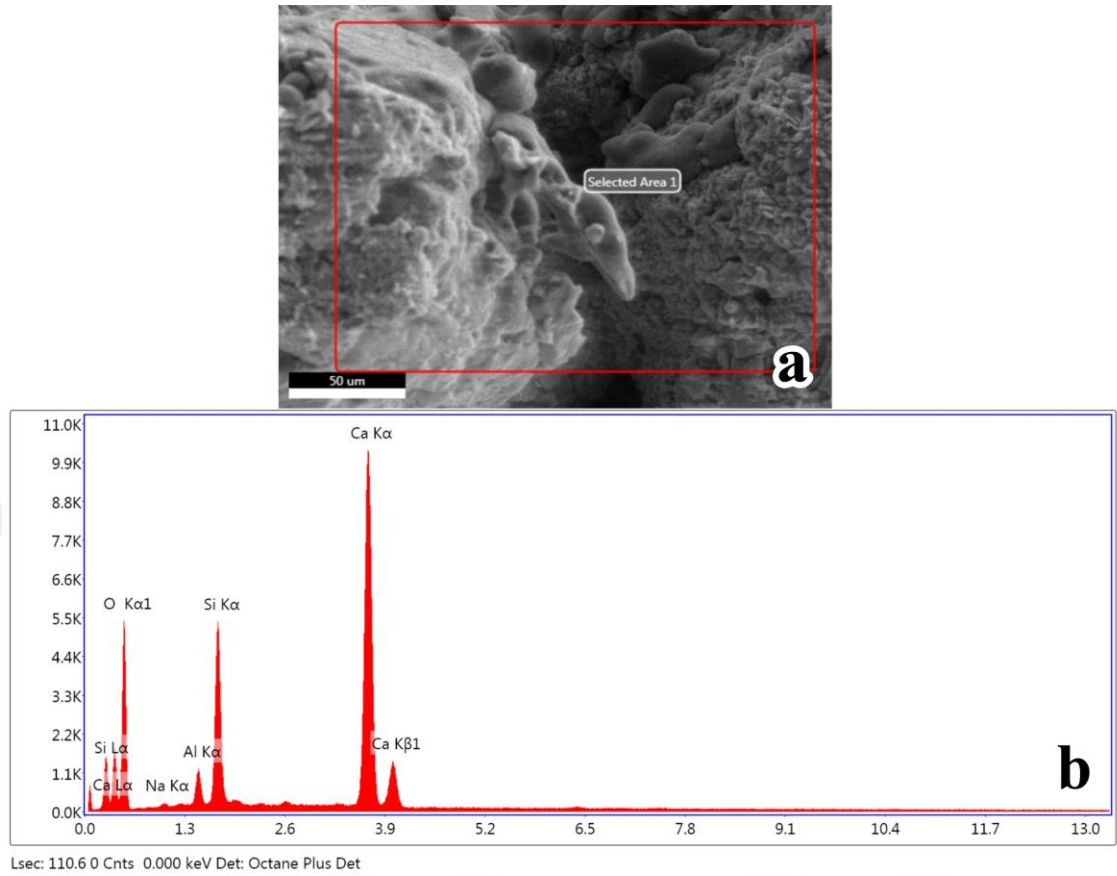
Şekil 4.62. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum asetat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları

(a) seçilen bölge (b) seçilen bölgenin element analiz sonucu

Uygulama solüsyonu olarak Kalsiyum asetat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi üzerinde yapılan EDS analizi (Şekil 4.62) ile genel tarama yapılarak bölgedeki elementler belirlenmiş çizgi profili analizi (Şekil 4.63) ile de genel tarama yapılan bölgede belirlenen iki nokta arasındaki çizgi üzerinde bulunan elementlerle ilgili bilgi edinilmiştir. EDS analiz sonuçlarına bakıldığında oluşan kalsiyumlu yapıdan dolayı Ca, 1 nolu kum zemin yapıtaşından (SiO_2) dolayı Si ve O element pikleri görülmektedir. Çizgi profili analizinde numune yüzeyine gelen kısımda Si elementi diğer kısımlarda Ca elementi olduğu görülmektedir. Sonuçlar kalsiyum klorür uygulaması ile benzer sonuçlar vermiştir.

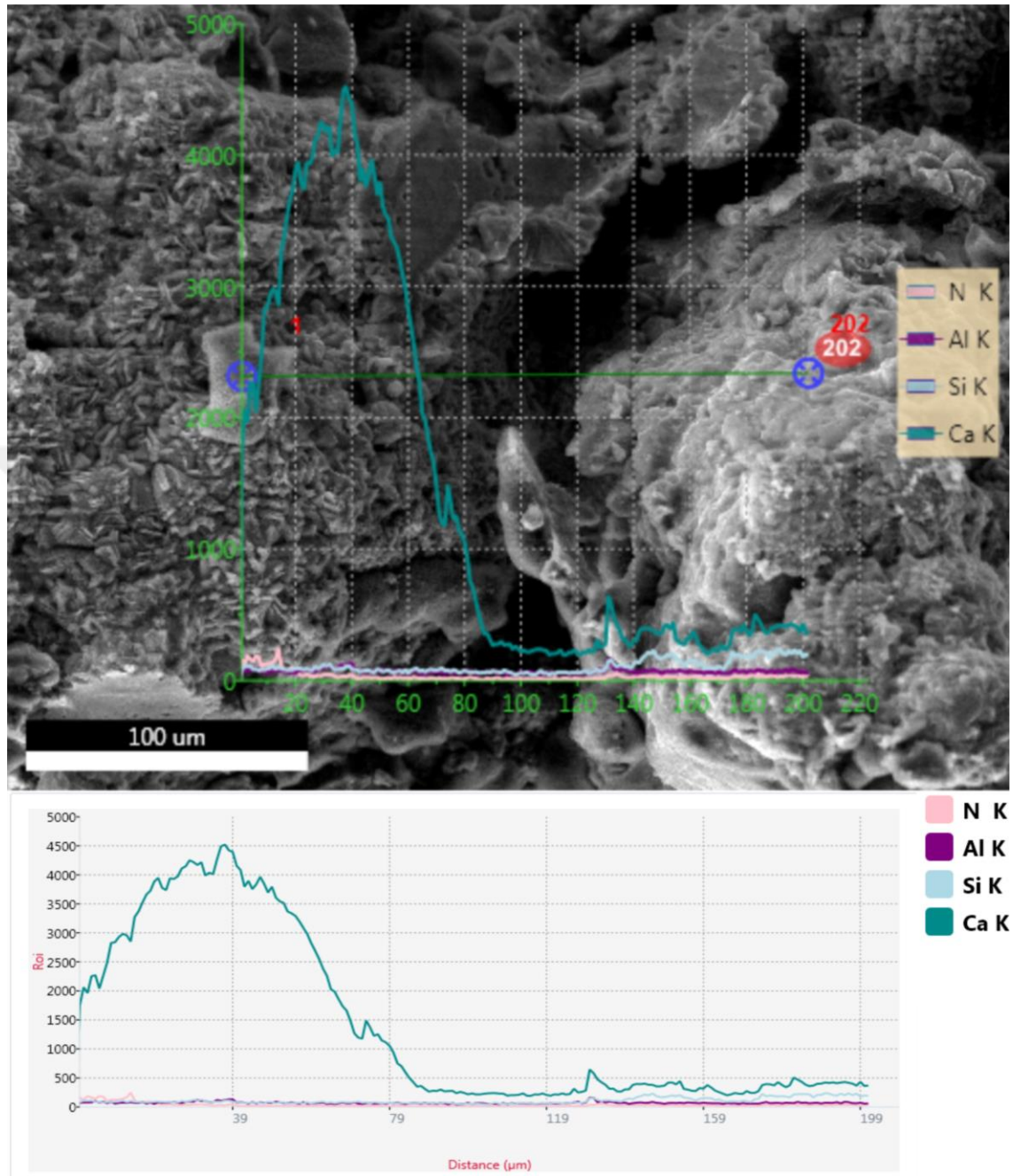


Şekil 4.63. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum asetat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları

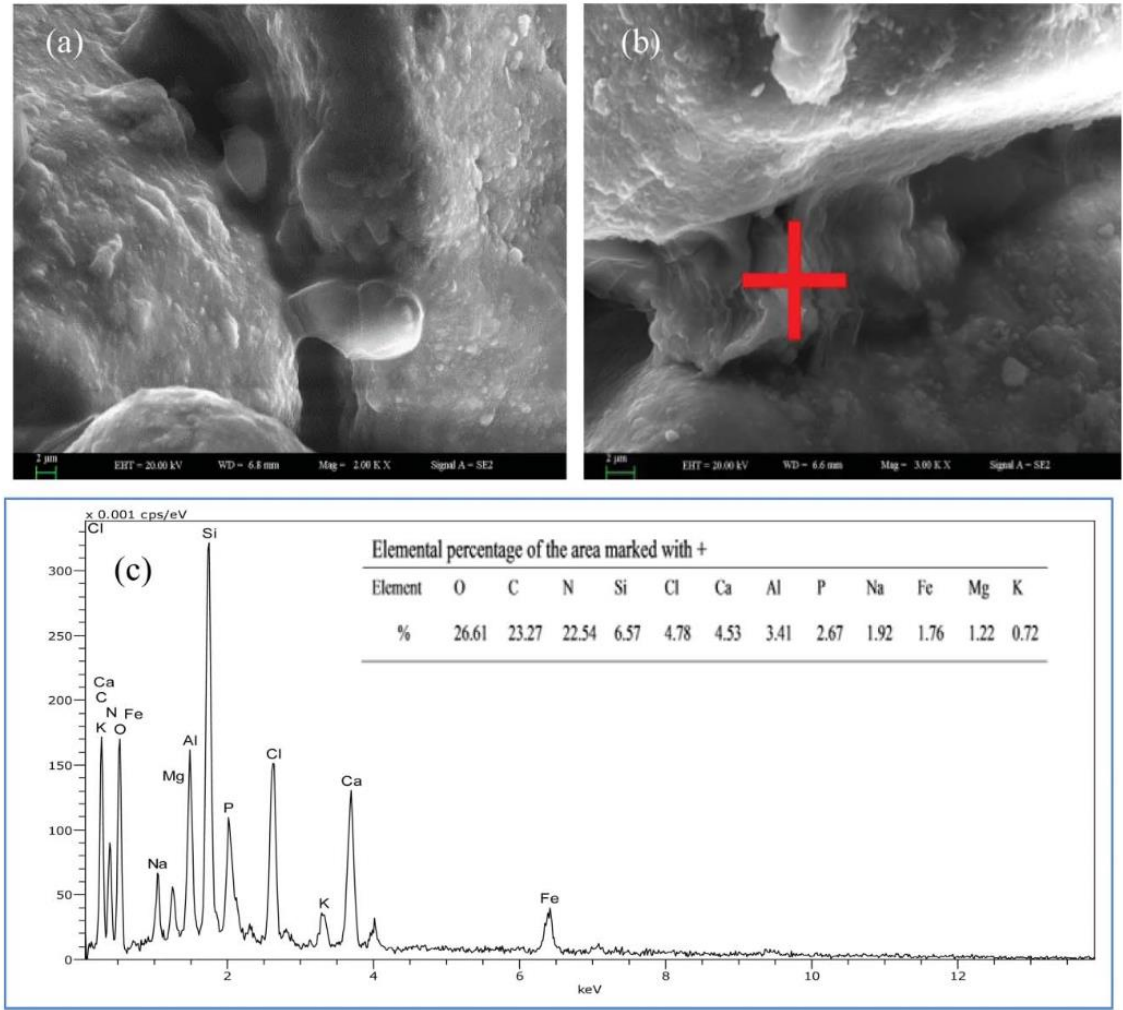


Şekil 4.64. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları
(a) seçilen bölge (b) seçilen bölgenin element analiz sonucu

Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi üzerinde yapılan EDS analizi (Şekil 4.64) ile genel tarama yapılarak bölgedeki elementler belirlenmiş çizgi profili analizi (Şekil 4.65) ile de genel tarama yapılan bölgede belirlenen iki nokta arasındaki çizgi üzerinde bulunan elementlerle ilgili bilgi edinilmiştir. EDS analiz sonuçlarına bakıldığında oluşan kalsiyumlu yapıdan dolayı Ca, 1 nolu kum zemin yapıtaşından (SiO_2) dolayı Si ve O element pikleri görülmektedir. Çizgi profili analizinde numune yüzeyine gelen kısım bulunmadığından tüm çizgi boyunca Ca elementine rastlanmıştır. Uygulama sonucunda oluşan yapı diğer kalsiyum kaynakları uygulanan numunelerdeki gibi Ca elementini göstermektedir.



Şekil 4.65. Uygulama solüsyonu olarak kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi EDS sonuçları



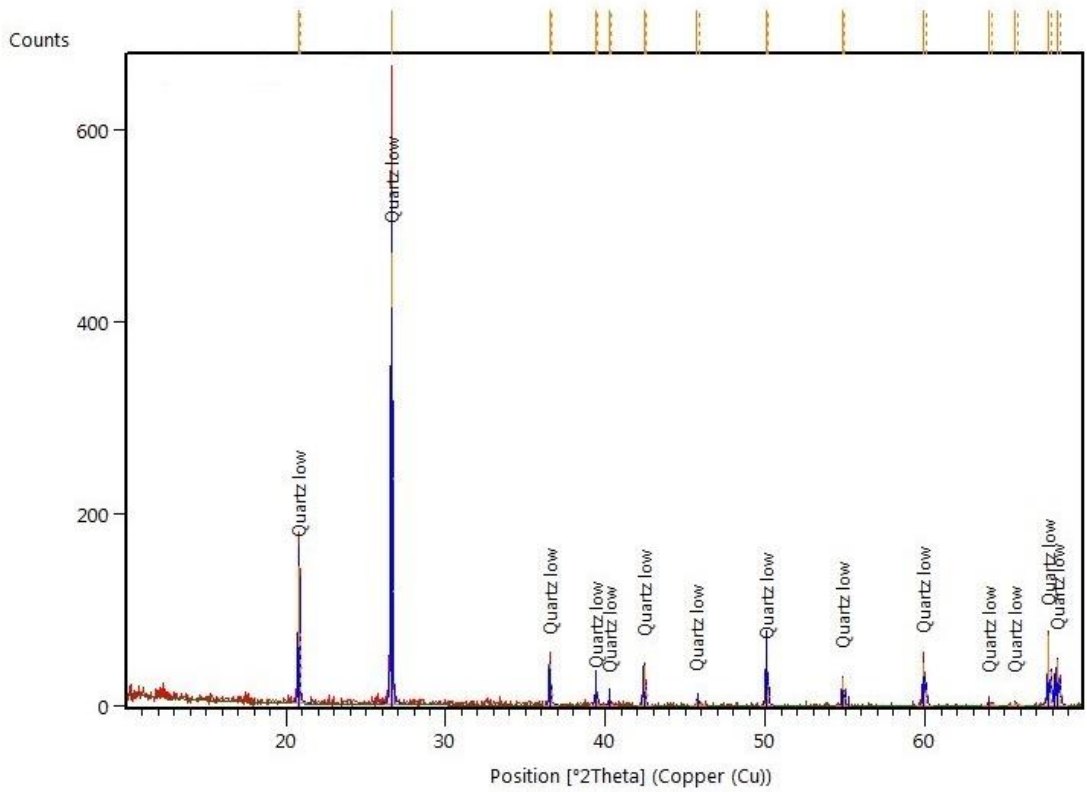
Şekil 4.66. (a,b) biyolojik iyileştirilmiş kumun SEM mikrografı, (c) bakteriyel karbonat çökeliiminin EDS spektrum analizi (Chen *et al.* 2016)

Şekil 4.66’da Chen *et al.* (2016) çalışmasında iyileştirilen zemine ait SEM ve EDS analizi sonuçları verilmiştir. Şekil 4.66 (c) de taneler arasında oluşan yapının EDS spektrum analizi yer almaktadır. Bu sonuçlarla yapmış olduğumuz çalışmada elde edilen bölgesel EDS analiz sonuçları benzer element pikleri vermiştir. Oluşan küçük farklılıkların bakteri, uygulama şekli vb. değişkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Farklı kalsiyum kaynakları ve magnezyum klorür uygulanan numunelerde ise daha farklı EDS analiz sonuçları gözlemlenmiştir. Bununda uygulamada kullanılan farklı kimyasallardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

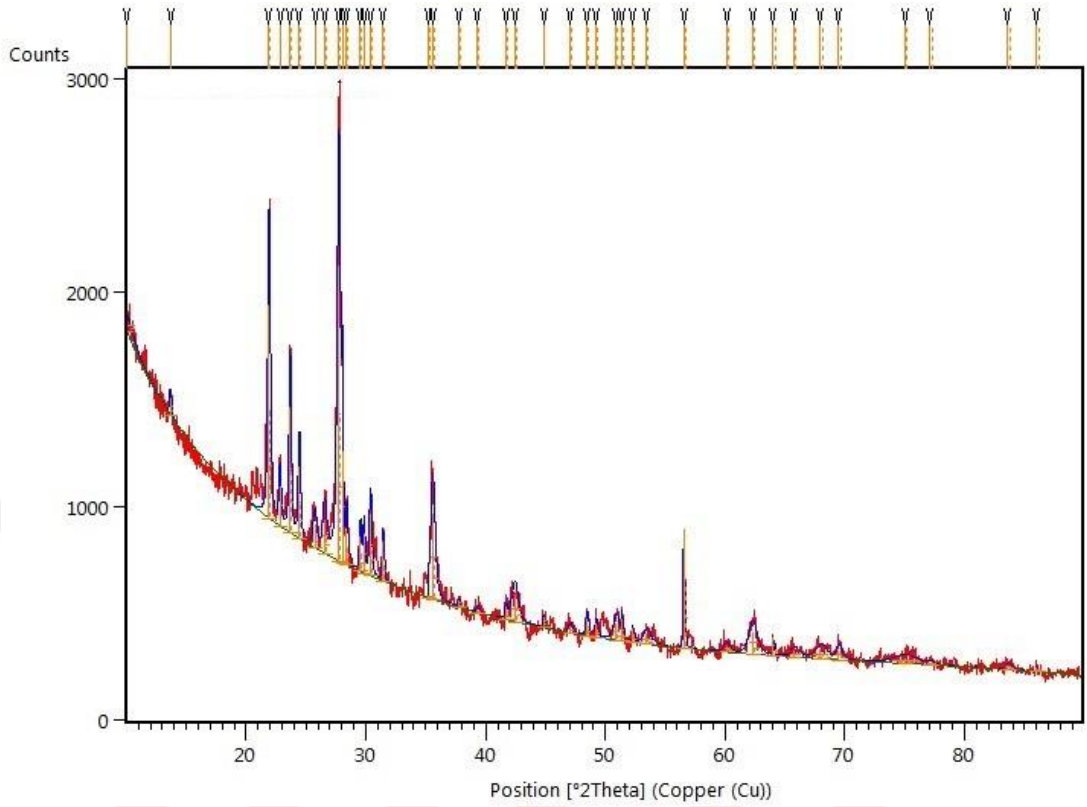
4.11. XRD (X-ray Diffraction) Sonuçları

Kalantary and Kahani (2015) uygulama sonucunda oluşan yapının kompozisyonunu belirleyebilmek için X-ray kırınımı (XRD) deneyini uygulamışlardır. Çalışmamızda da farklı uygulamalar sonucunda oluşan yapılar XRD analizleri ile belirlenmiştir.

Uygulama yapılan ve yapılmayan zeminler üzerinde yapılan XRD analizi ile oluşan yapıların bileşikleri belirlenmiş ve analiz yapılan cihazın kendi programı kullanılarak oluşan bileşikler piklerin üzerinde gösterilmiştir. Uygulama yapılmayan 1 nolu kum zemine ait XRD grafiği Şekil 4.67’de ve uygulama yapılmayan 2 nolu kum zemine ait XRD grafiği Şekil 4.68’de verilmiştir.



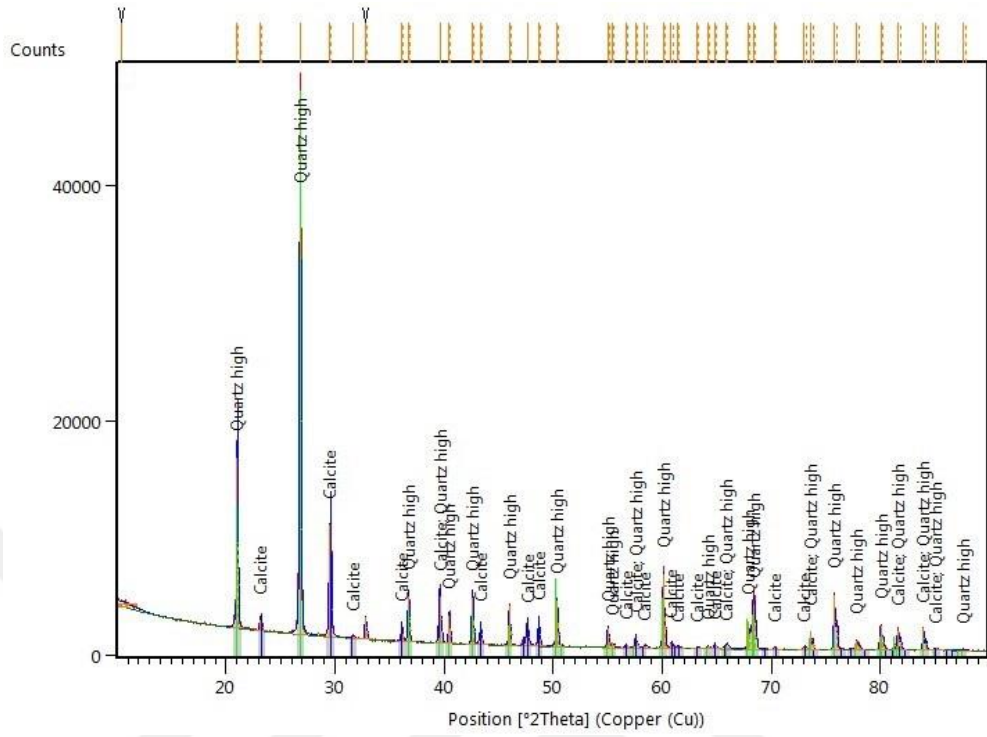
Şekil 4.67. Uygulama yapılmayan 1 nolu kum zemin XRD sonuçları



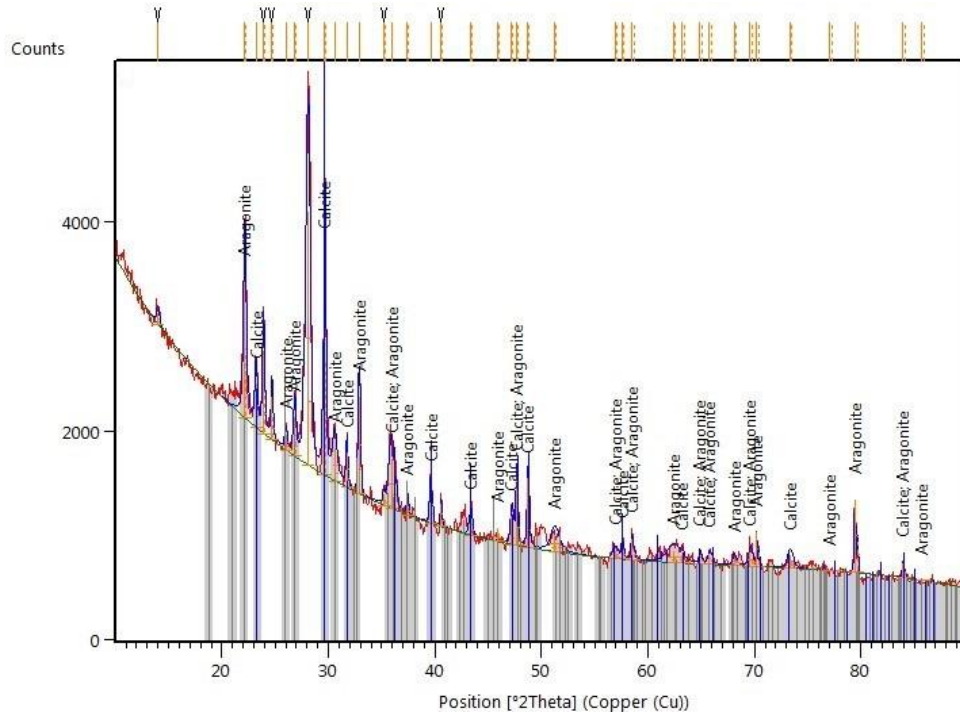
Şekil 4.68. Uygulama yapılmayan 2 nolu kum zemin XRD sonuçları

11 gün 0,400 mL/sn akış hızı uygulanan 1 nolu kum zemin numunesi üzerinde yapılan XRD analiz sonuçları Şekil 4.69’da verilmiştir. Uygulama yapılmayan 1 nolu kum zemin ile karşılaştırıldığında grafiğin üzerinde yer alan piklerin artışı görülmektedir. Yapılan analiz sonucunda bu piklerin kalsit olduğu belirlenmiştir.

11 gün 0,266 mL/sn akış hızı uygulanan 2 nolu kum zemin numunesi üzerinde yapılan XRD analiz sonuçları Şekil 4.70’de verilmiştir. Verilen grafikte uygulama sonrasında EDS analizinde oluşan kalsiyum elementinin XRD analiz sonucunda kalsit olduğu görülmektedir. Quartz pikleri diğer uygulamalarda olduğu gibi zemin danelerinden dolayı oluşan piklerdir. Ayrıca 1 nolu kum zeminden farklı olarak aragonit oluşumuna da rastlanmıştır. Bunun farklı zeminlerin farklı boşluk yapısına sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

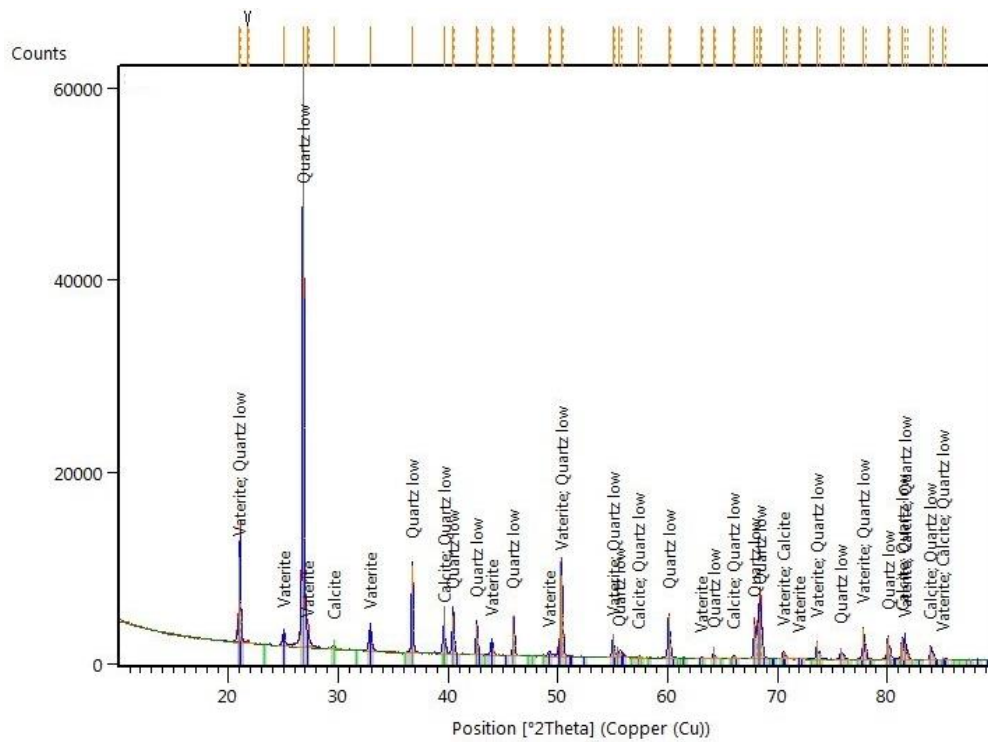


Şekil 4.69. 11 gün 0,400 mL/sn akış hızı ile uygulama yapılan 1 nolu kum zemin numunesine ait XRD analizi sonuçları

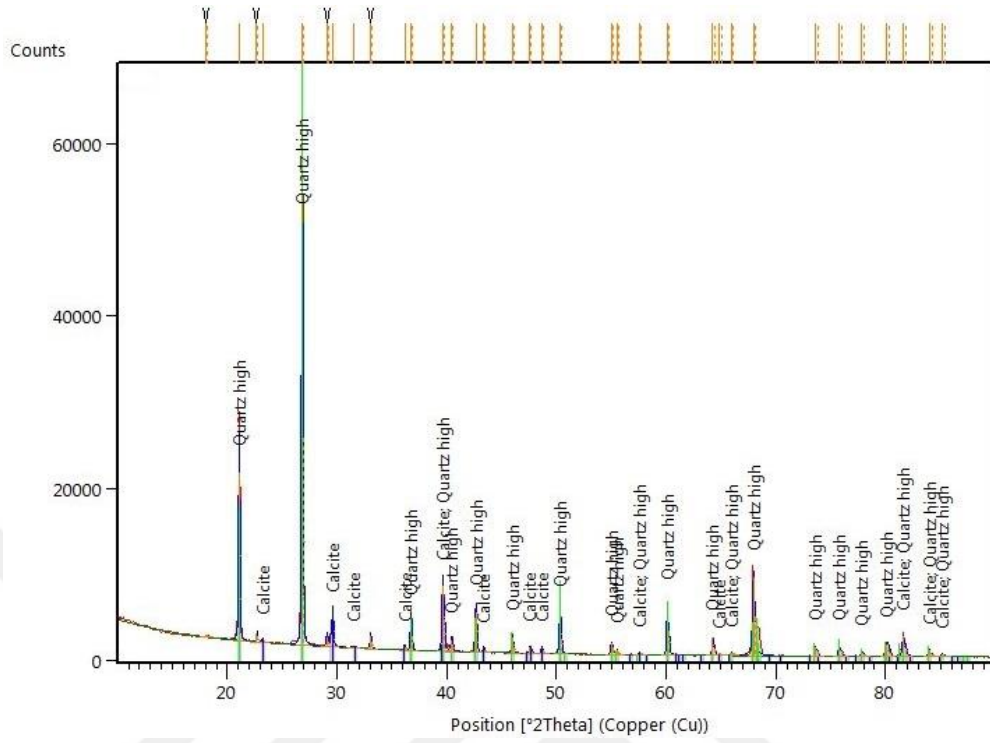


Şekil 4.70. 11 gün 0,266 mL/sn akış hızı ile uygulama yapılan 2 nolu kum zemin numunesine ait XRD analizi sonuçları

Kil 4.71. 0,20 M MgCl_2 + 0,75 M CaCl_2 + 1,5 M Üre uygulanan 1 nünunesine ait XRD analizi sonuçları



Şekil 4.72. Kalsiyum asetat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesine ait XRD analizi sonuçları



Şekil 4.73. Kalsiyum nitrat uygulanan 1 nolu kum zemin numunesine ait XRD analizi sonuçları

0,20 M $MgCl_2$ + 0,75 M $CaCl_2$ + 1,5 M Üre uygulanan numuneye ait XRD analiz sonuçları Şekil 4.71’de verilmiştir. Bu uygulama sonucunda oluşan yapının çoğunlukla kalsit ve daha az dolomit şeklinde olduğu grafikte görülmektedir. EDS bölge analiz sonuçlarına bakıldığında da magnezyum pikinin kalsite göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. XRD sonuçlarına göre magnezyum klorür uygulaması ile hem kalsit hem de dolomit oluşumuna rastlanmıştır.

Kalsiyum asetat uygulanan numuneye ait XRD analiz sonuçları Şekil 4.72’de verilmiştir. Bu uygulamada diğer kalsiyum kaynakları ile benzer olarak kalsit oluşumuna rastlanmış ancak farklı olarak vaterit oluşumu da görülmüştür. Zhang *et al.* (2015) çalışmalarında kalsiyum asetat uygulaması sonucunda XRD analizleri ile kalsit ve aragonit oluşumları belirlemişlerdir. Ancak yapmış olduğumuz uygulamada ise farklı olarak vaterit oluşumu görülmüştür. Farklı oluşan bu yapının farklı bakteri, uygulama şekli vb. değişkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kalsiyum nitrat uygulanan numuneye ait XRD analiz sonuçları Şekil 4.73'te verilmiştir. Bu uygulama sonucunda kalsit piklerinde artış olmuştur buda EDS analizi sonucunda görülen kalsiyumun kalsit içeriğinden kaynaklandığını göstermektedir.

Kalantary and Kahani (2015) yapmış oldukları çalışma sonucunda XRD analizlerinde kalsit, vaterit ve aragonit oluşumları tespit etmişlerdir. XRD sonuçlarımıza bakıldığında benzer şekilde yapıların oluştuğu görülmektedir. Farklı olarak magnezyum klorür uygulanan numunelerde dolomit pikleri de görülmüştür.

Chen *et al.* (2016) çalışmalarında uygulama yapılan zeminler üzerinde XRD analizi yapmışlar ve bu analiz sonucunda kalsit, aragonit ve silikat elde etmişlerdir. Çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ancak alınan piklerde farklılıklar görülmüştür. Bununda kullanılan bakteri, uygulama şekli ve zemin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca çalışmamızda farklı kalsiyum kaynakları ve magnezyum klorürde kullanıldığından uygulama sonucunda elde edilen zeminler üzerinde yapılan XRD sonuçları Chen *et al.* (2016) çalışmasından farklı olmuştur.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında *V. arenosi* bakterisi kullanılarak iki farklı kum zemin biyolojik olarak iyileştirilmiştir. Farklı uygulama şekilleri, zeminler, kalsiyum kaynakları, akış hızları, uygulama sürelerinin biyolojik zemin iyileştirmesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu parametrelerin iyileştirme üzerindeki etkileri serbest basınç, kesme kutusu, permeabilite deneyleri, pH, sızma hızı, kalsit yüzdesi, SEM, XRD, EDS, Line profil gibi analizlerle araştırılmıştır.

- Kültür ortam koşullarının belirlenebilmesi amacıyla farklı besiyerleri ile spektrofotometre analizleri yapılmış ve TSB besiyeri kullanılmasına karar verilmiştir.
- Uygulama yönteminin belirlenmesi amacıyla 6 farklı şekilde uygulamalar yapılmış, kültür ortamı ve kalsiyum klorür + ürenin zemine çevrim şeklinde verilmesinin daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür.
- 1 nolu kum zemin üzerinde yapılan uygulamalar sonucunda farklı akış hızlarında ve uygulama sürelerinde farklı mukavemet ve permeabilite sonuçları elde edilmiştir. Hem akış hızı hemde uygulama süresi 1 nolu kum zeminde belirleyici faktörler olmuşlardır. İyileştirme sonucunda 1 nolu kum zeminde serbest basınç deneyi sonucunda alınan mukavemet değerleri 495 – 2406 kPa arasında olmuştur. Permeabilitede ise iyileştirme sonucunda %0,00 - %80,8 aralığında düşüşler görülmüştür.
- 2 nolu kum zemin üzerinde yapılan iyileştirmede akış hızı ve uygulama süresi hem geçirimsizlikte hemde dayanımda etkili olmuştur. Yapılan uygulama ile 187-1504 kPa aralığında dayanım değerleri elde edilirken permeabilitede düşüş %4,9-88,1 aralığında gerçekleşmiştir.
- Farklı dane çapına sahip kum zeminler aynı rölatif sıklıkta (%35) yerleştirilerek tane çapının iyileştirmeye etkisi araştırılmıştır. Aynı akış hızlarında aynı uygulama sürelerinde

her bir zemin için farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu da dane çapının iyileştirmeyi etkilediğini göstermiştir. Dane çapı büyük olan numunelerde daha düşük akış hızlarında (0,266 mL/sn) daha fazla dayanım elde edilmiştir. Akış hızı zemin taneleri daha büyük olan numunelerde (2 nolu kum zemin) bakterinin ve uygulama solüsyonunun geçişini sınırlayacak alanın daha az olmasından dolayı oluşacak yapıyı etkilemiştir. Daha büyük dane çapına sahip zeminde düşük akış hızında (0,266 mL/sn) dayanım elde edilebilirken daha yüksek akış hızlarında (0,40 mL/sn, 0,666 mL/sn) dayanım elde edilememiştir. Dane çapı daha küçük olan zeminde (1 nolu kum zemin) ise yüksek akış hızında (0,666 mL/sn) sonuç alınmıştır ancak uygulama süresinin 3 günden 11 güne çıkarılmasıyla dayanım 1599 kPa'dan 1190 kPa değerine düşmüştür. Bu da akış hızının dane çapına bağlı olarak değişmesi gerektiğini göstermektedir. Dayanım sonuçlarında olduğu gibi permeabilite sonuçlarında da zemin dane çapı etkili olmuştur. Zeminde akış hızının boşluk hacmi arttıkça düşürülmesinin boşluk hacmi azaldıkça artırılmasının dayanımda daha iyi sonuçlar verebileceği değerlendirilmiştir. Böylece farklı boşluk hacimlerine sahip zeminlerde belirlenen optimum akış hızları ile daha iyi sonuçlar alınabileceği düşünülmektedir.

- İyileştirme sonuçları değerlendirildiğinde iyileştirme süresinin de biyolojik iyileştirmede belirleyici bir faktör olduğu belirlenmiştir. Uygulama süresi arttıkça farklı akış hızlarında farklı değişimler görülmüştür. Genelde uygulama süresi ile birlikte numunede oluşan ortalama kalsit yüzdeleri artış göstermiştir. 1 nolu kum zeminlerde uygulama süresinin artması ile daha düşük akış hızlarında (0,266 mL/sn, 0,40 mL/sn) genel olarak dayanım artışı meydana getirmiştir. Ancak yüksek akış hızında (0,666 mL/sn) uygulama süresinin kısa tutulması daha iyi dayanım sonuçları vermiştir, uygulama süresi arttıkça oluşan kalsit yüzdeleride genelde düşmüştür. 2 nolu kum zeminde uygulama süresi 6 günden 11 güne artırıldığında düşük akış hızında (0,266 mL/sn) dayanım 187 kPa'dan 1504 kPa değerine artırmıştır. Daha yüksek akış hızlarında (0,40 mL/sn, 0,666 mL/sn) ise uygulama süresi artsa da dayanım elde edilememiştir. Optimum uygulama süreleri zemin tane çapı ve akış hızına göre değişmektedir.

- Farklı kalsiyum kaynakları olarak kalsiyum asetat ve kalsiyum nitrat belirlenen optimum koşullar kullanılarak (0,40 mL/sn 11 gün) 1 nolu kum zemine uygulanmış ve sonuçların iyileştirmeye etkisi araştırılmıştır. Serbest basınç deneyi sonucunda kalsiyum klorür kullanılarak yapılan uygulama sonucunda elde edilen 2406 kPa mukavemet değeri kalsiyum asetat kullanımında 64 kPa kalsiyum nitrat kullanımında ise 2435 kPa olarak ölçülmüştür. Mukavemet sonuçları farklı kalsiyum kaynaklarının sonuçları etkilediğini göstermiştir. Kalsiyum nitrat uygulanması sonucunda kalsiyum klorürle benzer sonuçlar alınırken kalsiyum asetat uygulaması sonucunda çok daha düşük mukavemet elde edilmiştir. Oluşan kalsit yüzdesi ortalamalarına bakıldığında kalsit oluşumunun en çok kalsiyum nitratta sonrasında kalsiyum klorür ve en az kalsiyum asetat da olduğu görülmüştür.

- Permeabilite sonuçlarına bakıldığında kalsiyum kaynakları arasında en fazla permeabilitede düşüş kalsiyum asetat uygulamasında (%90,4), en az permeabilitede düşüş ise kalsiyum nitrat (%23) da olmuştur.

- SEM-XRD-EDS ve Çizgi profil analiz sonuçlarına bakıldığında dane aralarında oluşan yapıların kalsiyumlu bileşikler olduğu belirlenmiştir.

- SEM analiz sonuçlarında taneler arasında oluşan yapıların, tanelerin yüzeylerini kapladığı ve taneler arasındaki boşlukları doldurduğu belirlenmiştir.

- XRD sonuçlarında kalsiyum klorür ve kalsiyum nitrat uygulamalarında benzer şekilde daha çok kalsit görülürken kalsiyum asetat uygulaması sonucunda daha çok vaterite rastlanmıştır. 2 nolu kum zemin numunesinde ise aragonit de gözlemlenmiştir. Bunun boşluk yapısından kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir.

- Farklı kalsiyum kaynaklarının yanında magnezyum klorür kullanılarak da uygulamalar yapılmıştır. Kalsiyum klorürle birlikte magnezyumda kullanılarak farklı yapıların oluşumu araştırılmıştır. Sonuç olarak EDS analizlerinde magnezyum pikleri XRD analizlerinde de dolomit oluşumları gözlemlenmiştir.

- Magnezyumla birlikte kalsiyum klorür uygulanan numunelerde permeabilitede yüksek oranda düşüşler (%99) elde edilmiştir. Hızlı bir şekilde katı kıvama geçen bu karışım zemin numunesinin üst bölgesinde bir katman oluşturmuş ve permeabiliteyi büyük oranda düşürmüştür. Çoğu numunede alttan süzülme kesilmiştir. Magnezyum ile birlikte yapılacak uygulamaların permeabilitenin düşürülmesi istenilen durumlarda kullanılabileceği değerlendirilmektedir. Kalsiyum klorürle birlikte üre uygulamasına magnezyumunda dâhil edilmesi geçirimsizliğin azalmasını sağlamıştır.

İleride yapılacak çalışmalarla ilgili aşağıda önerilerimiz sunulmuştur:

- Ön deneylerde ve uygulama yönteminin belirlenmesinde kullanılan yöntemler değerlendirildiğinde yapılacak çalışmalarda kalsiyum karbonat reaksiyonunun zemin içerisinde gerçekleşmesinin daha iyi sonuçlar verdiği görülmektedir. Zemine kültür ortamının aşılmasından sonra zemine kalsiyum kaynağıyla birlikte üreninde verilmesinin reaksiyonu devam ettireceği böylece daha iyi sonuçlar alınabileceği görülmüştür.

- Elde edilen sonuçlar akış hızının iyileştirme üzerine önemli etkisinin olduğunu göstermektedir. 1 nolu kum zeminlerde tüm akış hızlarında mukavemet elde edilirken 2 nolu kum zeminlerde sadece yavaş akış hızı uygulanan numunelerde iyileşme görülmüştür. Yapılacak çalışmalarda seçilen her bir zemin için farklı akış hızı seçilmesinin ve deneylerde molarite, bakteri, rölatif sıklık gibi süreci etkileyen parametrelerin değişmesi ile akış hızının tekrar değiştirilmesinin daha iyi sonuçlar verebileceği düşünülmektedir.

- Zemin iyileştirmesi esnasında oluşan kalsitler boşluk yapısında değiştireceğinden iyileştirme süresince akış hızında yapılacak değişikliklerinde süreci etkileyebileceği düşünülmektedir.

- Zeminleri biyolojik olarak iyileştirirken uygulama süresinin iyi belirlenmesi gerekmektedir. Uygulama süresi ile çoğu akış hızında yapılan iyileştirme

uygulamalarında serbest basınç mukavemetleri artmıştır. Uygulama süresinin seçiminde akış hızı ile birlikte kullanılan uygulama solüsyonunun (kalsiyum klorür, kalsiyum asetat, kalsiyum nitrat, üre vb.) molaritesininde birlikte değerlendirilmesinin sonuçlarda olumlu etkisinin olacağı düşünülmektedir.

- Çalışmamızda elde edilen sonuçlara bakıldığında, daha büyük mukavemet değerleri elde edilen numunelerin bazılarında daha az permeabilite düşüşü görülmektedir. Özellikle permeabilitenin düşürülmesi istenilen durumlarda kalsiyum kaynakları ile beraber magnezyum klorür uygulanmasının daha iyi sonuçlar verdiği görülmektedir. Bu kapsamda farklı molarite, uygulama süreleri, akış hızları vb. değişkenler kullanılarak magnezyum klorürle iyileştirme uygulamalarında hem mukavemet hem de permeabilite de daha iyi sonuçlar alınabileceği değerlendirilmektedir.

- Yapılacak saha çalışmalarında zeminin boşluk yapısına göre akış hızının ve uygulama süresinin seçilmesinin daha uygun olacağı düşünülmektedir.

- Saha uygulamalarında kalsiyum klorür ve üre ile birlikte farklı molaritelerde magnezyum klorür kullanılması ile daha hızlı çökelim sağlanarak reaksiyon süresinin kısaltılabileceği böylece daha kısa sürede mukavemet alınabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak farklı parametreler kullanılarak yapılan iyileştirme uygulamaları ve yapılan analizler sonucunda zeminlerin biyolojik iyileştirmesinde sıvı besiyerinin, bakterinin, uygulama süresinin, uygulama solüsyonunun verildiği akış hızının, kalsiyum kaynaklarının, farklı zeminlerin, zemin dane çapının, uygulama solüsyonuna eklenen magnezyum klorürün, uygulama yönteminin, zemine kültür ortamının aşılama şeklinin, ortam sıcaklığının, sıvı besiyeri pH değerinin, uygulama sayısının iyileştirme süreci üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Literatürde yapılan araştırmalarda bu parametrelerin haricinde zeminlerin kirlilik düzeylerinin, rölatif sıklıklarının vb. süreci etkilediği belirtilmiştir. Yapılacak çalışmalarda belirtilen bu parametrelerinde dikkate alınmasıyla hem laboratuvar çalışmalarında hem de saha çalışmalarında başarılı sonuçlar alınabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Achal, V., Mukherjee, A., Basu, P. C., & Reddy, M. S., 2009a. Lactose mother liquor as an alternative nutrient source for microbial concrete production by *Sporosarcina pasteurii*. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 36(3), 433-438.
- Achal, V., Mukherjee, A., Basu, P. C., & Reddy, M. S., 2009b. Strain improvement of *Sporosarcina pasteurii* for enhanced urease and calcite production. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 36(7), 981-988.
- Akoğuz, H., 2014. Kum Zeminlerin Biyolojik İyileştirilmesinde *Bacillus Arenosi* Bakterisinin Kullanılabilirliğinin Araştırılması. Y.Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, TÜRKİYE
- Al Qabany, A., Soga, K., & Santamarina, C., 2011. Factors affecting efficiency of microbially induced calcite precipitation. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 138(8), 992-1001.
- Anbu, Periasamy, Chang-Ho Kang, Yu-Jin Shin, and Jae-Seong So., 2016. Formations of Calcium Carbonate Minerals by Bacteria and Its Multiple Applications. *Springerplus*, 5(1), 250.
- Anonim, 2010. Taramalı elektron mikroskopu bahar 2010. <http://www2.aku.edu.tr> (17.11.2014).
- Anonim, 2017. “Spektrofotometre Cihazları 523EO0253.” [http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Spektrofotometre Cihazları.pdf](http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Spektrofotometre%20Cihazlari.pdf). (10.12.2017).
- Anonymous, 2014. How an SEM Works. <http://www.nanoscience.com/products/sem/technology>. (17.11.2014).
- Ariyanti, D., Handayani, N. A., & Hadiyanto, H., 2011. An overview of biocement production from microalgae. *International Journal of Science and Engineering*, 2(2), 31-33.
- Bang, Sookie S., Johnna K. Galinat, and V. Ramakrishnan. 2001. Calcite Precipitation Induced by Polyurethane-Immobilized *Bacillus Pasteurii*. *Enzyme and Microbial Technology*, 28(4), 404–9.
- Basha, E. A., R. Hashim, H. B. Mahmud, and A. S. Muntohar. 2005. Stabilization of Residual Soil with Rice Husk Ash and Cement. *Construction and Building Materials*, 19(6), 448–53.
- Canakci, H., Sidik, W., & Kilic, I. H., 2015a. Effect of bacterial calcium carbonate precipitation on compressibility and shear strength of organic soil. *Soils and Foundations*, 55(5), 1211-1221.
- Canakci, H., Sidik, W., & Kilic, I. H., 2015b. Bacterail calcium carbonate precipitation in peat. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 40(8), 2251-2260.
- Chen, F., Deng, C., Song, W., Zhang, D., Al-Misned, F. A., Mortuza, M. G., ... & Pan, X., 2016. Biostabilization of desert sands using bacterially induced calcite precipitation. *Geomicrobiology Journal*, 33(3-4), 243-249.
- Cheng, L., & Cord-Ruwisch, R., 2012. In situ soil cementation with ureolytic bacteria by surface percolation. *Ecological Engineering*, 42, 64-72.
- Cheng, L., Cord-Ruwisch, R., & Shahin, M. A., 2013. Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of

- saturation. *Canadian Geotechnical Journal*, 50(1), 81-90.
- Cheng, L., Shahin, M. A., & Chu, J., 2018. Soil bio-cementation using a new one-phase low-pH injection method. *Acta Geotechnica*, 1-12.
- Cheng, L., Shahin, M. A., & Mujah, D., 2016. Influence of key environmental conditions on microbially induced cementation for soil stabilization. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 143(1), 04016083.
- Choi, S. G., Chu, J., Brown, R. C., Wang, K., & Wen, Z., 2017b. Sustainable biocement production via microbially induced calcium carbonate precipitation: use of limestone and acetic acid derived from pyrolysis of lignocellulosic biomass. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(6), 5183-5190.
- Choi, S. G., Park, S. S., Wu, S., & Chu, J., 2017a. Methods for calcium carbonate content measurement of biocemented soils. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 29(11), 06017015.
- Choi, S. G., Wang, K., & Chu, J., 2016. Properties of biocemented, fiber reinforced sand. *Construction and building materials*, 120, 623-629.
- Chu, J., Ivanov, V., He, J., Maeimi, M., & Wu, S., 2015. Use of biogeotechnologies for soil improvement. In *Ground Improvement Case Histories* (pp. 571-589). Butterworth-Heinemann.
- Chu, J., Ivanov, V., Lee, M. F., Oh, X. M., & He, J., 2009. Soil and waste treatment using biocement. In *Proceedings of the international symposium on ground improvement technologies and case histories, ISGI* (Vol. 9, pp. 165-170).
- Chu, J., Stabnikov, V., & Ivanov, V., 2012. Microbially induced calcium carbonate precipitation on surface or in the bulk of soil. *Geomicrobiology Journal*, 29(6), 544-549.
- Cui, M. J., Zheng, J. J., Zhang, R. J., Lai, H. J., & Zhang, J., 2017. Influence of cementation level on the strength behaviour of bio-cemented sand. *Acta Geotechnica*, 12(5), 971-986.
- Dadda, A., Geindreau, C., Emeriault, F., Du Roscoat, S. R., Garandet, A., Sapin, L., & Filet, A. E., 2017. Characterization of microstructural and physical properties changes in biocemented sand using 3D X-ray microtomography. *Acta Geotechnica*, 12(5), 955-970.
- Dapples, E. C., 1942. The effect of macro-organisms upon near-shore marine sediments. *Journal of Sedimentary Research*, 12(3), 118-126.
- De Belie, N., & De Muynck, W., 2008. Crack repair in concrete using biodeposition. In *Proceedings of the International Conference on Concrete Repair, Rehabilitation and Retrofitting (ICCRRR)*, Cape Town, South Africa (pp. 291-292).
- De Muynck, W., Cox, K., De Belie, N., & Verstraete, W., 2008. Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete. *Construction and Building Materials*, 22(5), 875-885.
- De Muynck, W., De Belie, N., & Verstraete, W., 2010. Microbial carbonate precipitation in construction materials: a review. *Ecological Engineering*, 36(2), 118-136.
- 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.
- DeJong, J. T., Mortensen, B. M., Martinez, B. C., & Nelson, D. C., 2010. Bio-mediated soil improvement. *Ecological Engineering*, 36(2), 197-210.
- DeJong, J., Proto, C., Kuo, M., & Gomez, M., 2014. Bacteria, biofilms, and invertebrates:

- the next generation of geotechnical engineers?. In *Geo-Congress 2014: Geo-characterization and Modeling for Sustainability* (pp. 3959-3968).
- Dhami, N. K., Reddy, M. S., & Mukherjee, A., 2016. Significant indicators for biomineralisation in sand of varying grain sizes. *Construction and Building Materials*, 104, 198-207.
- Dick, J., De Windt, W., De Graef, B., Saveyn, H., Van der Meeren, P., De Belie, N., & Verstraete, W., 2006. Bio-deposition of a calcium carbonate layer on degraded limestone by *Bacillus* species. *Biodegradation*, 17(4), 357-367.
- Grant, W. D., Boyer, L. F., & Sanford, L. P., 1982. The effects of bioturbation on the initiation of motion of intertidal sands. *Journal of Marine Research*, 40(3), 659-677.
- Hammes, F., Boon, N., de Villiers, J., Verstraete, W., & Siciliano, S. D., 2003. Strain-specific ureolytic microbial calcium carbonate precipitation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(8), 4901-4909.
- He, J., Ivanov, V., & Chu, J., 2013. Mitigation of liquefaction of saturated sand using biogas. *Geotechnique*, 63(4), 267-275.
- Helmi, F. M., Elmitwalli, H. R., Elnagdy, S. M., & El-Hagrassy, A. F., 2016. Calcium carbonate precipitation induced by ureolytic bacteria *Bacillus licheniformis*. *Ecological Engineering*, 90, 367-371.
- Ho, M. H., & Chan, C. M., 2011. Some mechanical properties of cement stabilized Malaysian soft clay. *World Acad. Sci. Eng. Technol*, 74, 24-31.
- Huat, B. B., 2006. Deformation and shear strength characteristics of some tropical peat and organic soils. *Pertanika J. Sci. Technol*, 14(1-2), 61-74.
- Ivanov, V., & Chu, J., 2008. Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7(2), 139-153.
- Ivanov, V., Chu, J., & Stabnikov, V., 2012. Iron-and calcium-based biogrouts for porous soils. *Construction Materials*, 167 (CM1), 36-41.
- Ivanov, V., Chu, J., Stabnikov, V., & Li, B., 2015. Strengthening of soft marine clay using bioencapsulation. *Marine Georesources & Geotechnology*, 33(4), 320-324.
- Jiménez-López, C., Rodríguez-Navarro, C., Piñar, G., Carrillo-Rosúa, F. J., Rodríguez-Gallego, M., & Gonzalez-Muñoz, M. T., 2007. Consolidation of degraded ornamental porous limestone stone by calcium carbonate precipitation induced by the microbiota inhabiting the stone. *Chemosphere*, 68(10), 1929-1936.
- Jones, S. E., & Jago, C. F., 1993. In situ assessment of modification of sediment properties by burrowing invertebrates. *Marine biology*, 115(1), 133-142.
- Jonkers, H. M., & Schlangen, E., 2008. Development of a bacteria-based self healing concrete. In *Proc. int. FIB symposium* (Vol. 1, pp. 425-430).
- Kalantary, F., & Kahani, M., 2015. Evaluation of the ability to control biological precipitation to improve sandy soils. *Procedia Earth and Planetary Science*, 15, 278-284.
- Kavazanjian, E., & Hamdan, N., 2015. Enzyme induced carbonate precipitation (EICP) columns for ground improvement. In *IFCEE 2015* (pp. 2252-2261).
- Le Metayer-Levrel, G., Castanier, S., Orial, G., Loubiere, J. F., & Perthuisot, J. P., 1999. Applications of bacterial carbonatogenesis to the protection and regeneration of limestones in buildings and historic patrimony. *Sedimentary geology*, 126(1-4), 25-34.

- Lee, M. L., Ng, W. S., & Tanaka, Y., 2013. Stress-deformation and compressibility responses of bio-mediated residual soils. *Ecological engineering*, 60, 142-149.
- Li, Bing., 2015. Geotechnical Properties of Biocement Treated Sand and Clay. Doctoral Thesis, School of Civil and Environmental Engineering, Nanyang Technological University .
- Li, M., Li, L., Ogbonnaya, U., Wen, K., Tian, A., & Amini, F., 2015. Influence of fiber addition on mechanical properties of MICP-treated sand. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 28(4), 04015166.
- Li, S., 2013. A laboratory study of the effects of bio-stabilization on geomaterials. M.S. Thesis, Iowa State University, Ames, Iowa.
- Lin, H., Suleiman, M. T., Brown, D. G., & Kavazanjian Jr, E., 2015. Mechanical behavior of sands treated by microbially induced carbonate precipitation. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 142(2), 04015066.
- Mahawish, A., Bouazza, A., & Gates, W. P., 2018. Effect of particle size distribution on the bio-cementation of coarse aggregates. *Acta Geotechnica*, 13(4), 1019-1025.
- Maier, R. M., Pepper, I. L., & Gerba, C. P., 2009. *Environmental microbiology* (Vol. 397). Academic press.
- Maleki, M., Ebrahimi, S., Asadzadeh, F., & Tabrizi, M. E., 2016. Performance of microbial-induced carbonate precipitation on wind erosion control of sandy soil. *International journal of environmental science and technology*, 13(3), 937-944.
- Mccall, P.L. & Tevesz, M.J.S. (Ed.), 1982 *Animul Sediment Relations. The Biogenic Alteration of Sediments*. Plenum Press, New York.
- Meadows, P. S., & Hariri, M. S. B., 1991. Effects of two infaunal polychaetes on sediment shear strength and permeability: an experimental approach. *The Environmental Impact of Burrowing Animals and Animal Burrows*, 63, 319-321.
- Meadows, P. S., & Meadows, A., 1991. *Environmental impact of burrowing animals and animal burrows*. Published for the Zoological Society of London by Clarendon Press.
- Meadows, P. S., & Tait, J., 1989. Modification of sediment permeability and shear strength by two burrowing invertebrates. *Marine Biology*, 101(1), 75-82.
- Meadows, P. S., & Tufail, A., 1986. Bioturbation, microbial activity and sediment properties in an estuarine ecosystem. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Section B: Biological Sciences*, 90, 129-142.
- Meadows, P. S., Tait, J., & Hussain, S. A., 1990. Effects of estuarine infauna on sediment stability and particle sedimentation. *Hydrobiologia*, 190(3), 263-266.
- Mitchell, J. K., & Santamarina, J. C., 2005. Biological considerations in geotechnical engineering. *Journal of geotechnical and geoenvironmental engineering*, 131(10), 1222-1233.
- Mobley, H. L., Island, M. D., & Hausinger, R. P., 1995. Molecular biology of microbial ureases. *Microbiological reviews*, 59(3), 451-480.
- Montoya, B. M., & DeJong, J. T., 2015. Stress-strain behavior of sands cemented by microbially induced calcite precipitation. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 141(6), 04015019.
- Moravej, S., Habibagahi, G., Nikooee, E., & Niazi, A., 2018. Stabilization of dispersive soils by means of biological calcite precipitation. *Geoderma*, 315, 130-137.
- Muthukkumaran, K., & Shashank, B. S., 2016. Durability of microbially induced calcite precipitation (micp) treated cohesionless soils. *Japanese Geotechnical Society*

- Special Publication, 2(56), 1946-1949.
- 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*, 62, 723-729.
- Ningsih, D. R., Fatoni, A., & Pertiwi, D. S., 2018. Determination of Urease Biochemical Properties of Asparagus Bean (*Vigna unguiculata* ssp *sesquipedalis* L.). In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 349, No. 1, p. 012073). IOP Publishing.
- Okwadha, G. D., & Li, J., 2010. Optimum conditions for microbial carbonate precipitation. *Chemosphere*, 81(9), 1143-1148.
- Özmen ve Timoçin, 2012. X-Işınları Kırınım Cihazı (XRD) ve Kırınım Yasası. <http://mersin.edu.tr/apbsuploads/1000470/FizikveTeknoloji/02XRDVeKirinim.pdf> (17.11.2014)
- Palmén, A., 2012. Stabilization of frictional soil through injection using CIPS (Calcite In-situ Precipitation System). M.S. Thesis, KTH Royal Institute of Technology, Stocholm.
- Ramachandran, S. K., Ramakrishnan, V., & Bang, S. S., 2001. Remediation of concrete using micro-organisms. *ACI Materials Journal-American Concrete Institute*, 98(1), 3-9.
- Reddy, M. S., 2013. Biomineralization of calcium carbonates and their engineered applications: a review. *Frontiers in microbiology*, 4, 314.
- Reuben, H. K., 2003. *Chemical Grouting and Soil Stabilization*. New Jersey, USA: Rutgem University.
- Rhoads, D. C., 1974. Organism-sediment relations on the muddy sea floor. *Oceanography and Marine Biology*, 12, 263-300.
- Rodriguez-Navarro, C., Rodriguez-Gallego, M., Chekroun, K. B., & Gonzalez-Munoz, M. T., 2003. Conservation of ornamental stone by *Myxococcus xanthus*-induced carbonate biomineralization. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(4), 2182-2193.
- Roeselers, G., & Van Loosdrecht, M. C. M., 2010. Microbial phytase-induced calcium-phosphate precipitation—a potential soil stabilization method. *Folia microbiologica*, 55(6), 621-624.
- Rowshanbakht, K., Khamsehchiyan, M., Sajedi, R. H., & Nikudel, M. R., 2016. Effect of injected bacterial suspension volume and relative density on carbonate precipitation resulting from microbial treatment. *Ecological engineering*, 89, 49-55.
- Saffari, R., Habibagahi, G., Nikooee, E., & Niazi, A., 2017. Biological stabilization of a swelling fine-grained soil: The role of microstructural changes in the shear behavior. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions of Civil Engineering*, 41(4), 405-414.
- Salifu, E., MacLachlan, E., Iyer, K. R., Knapp, C. W., & Tarantino, A., 2016. Application of microbially induced calcite precipitation in erosion mitigation and stabilisation of sandy soil foreshore slopes: a preliminary investigation. *Engineering geology*, 201, 96-105.
- Schmidt, W. J., 1924. *Die Bausteine Des Tierkörpers in Polarisiertem Lichte* (Bonn 1924).
- Shahrokhi-Shahraki, R., Zomorodian, S. M. A., Niazi, A., & O'Kelly, B. C., 2015. Improving sand with microbial-induced carbonate precipitation. *Proceedings of*

- the Institution of Civil Engineers-Ground Improvement, 168(3), 217-230.
- Sharaky, A. M., Mohamed, N. S., Elmashad, M. E., & Shredah, N. M., 2018. Application of microbial biocementation to improve the physico-mechanical properties of sandy soil. *Construction and Building Materials*, 190, 861-869.
- Sharma, A., & Ramkrishnan, R., 2016. Study on effect of microbial induced calcite precipitates on strength of fine grained soils. *Perspectives in Science*, 8, 198-202.
- Sidik, W. S., Canakci, H., Kilic, I. H., & Celik, F., 2014. Applicability of biocementation for organic soil and its effect on permeability. *Geomechanics and Engineering*, 7(6), 649-663.
- Soon, N. W., Lee, L. M., Khun, T. C., & Ling, H. S., 2014. Factors affecting improvement in engineering properties of residual soil through microbial-induced calcite precipitation. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 140(5), 04014006.
- Soon, N. W., Lee, L. M., Khun, T. C., & Ling, H. S., 2013. Improvements in engineering properties of soils through microbial-induced calcite precipitation. *KSCE Journal of Civil Engineering*, 17(4), 718-728.
- Stabnikov, V., Chu, J., Myo, A. N., & Ivanov, V., 2013. Immobilization of sand dust and associated pollutants using bioaggregation. *Water, Air, & Soil Pollution*, 224(9), 1631.
- Stabnikov, V., Ivanov, V., & Chu, J., 2015. Construction Biotechnology: a new area of biotechnological research and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(9), 1303-1314.
- Stabnikov, V., Naeimi, M., Ivanov, V., & Chu, J., 2011. Formation of water-impermeable crust on sand surface using biocement. *Cement and Concrete Research*, 41(11), 1143-1149.
- Stocks-Fischer, S., Galinat, J. K., & Bang, S. S., 1999. Microbiological precipitation of CaCO_3 . *Soil Biology and Biochemistry*, 31(11), 1563-1571.
- Tiano, P., 1995. Stone reinforcement by calcite crystal precipitation induced by organic matrix macromolecules. *Studies in Conservation*, 40(3), 171-176.
- Tiano, P., Biagiotti, L., & Mastromei, G., 1999. Bacterial bio-mediated calcite precipitation for monumental stones conservation: methods of evaluation. *Journal of microbiological methods*, 36(1-2), 139-145.
- Tiano, P., Cantisani, E., Sutherland, I., & Paget, J. M., 2006. Biomediated reinforcement of weathered calcareous stones. *Journal of Cultural Heritage*, 7(1), 49-55.
- Tufail, A., Meadows, P. S., & McLaughlin, P., 1989. Meso-and microscale heterogeneity in benthic community structure and the sedimentary environment on an intertidal muddy-sand beach. *Scientia Marina*, 53(2), 319-327.
- Türköz, M., Savaş, H., & Tosun, H., 2011. Problemlı kil zeminlerin magnezyum klorür solüsyonu ile iyileştirilmesi. *Gazi Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 26(1).
- Umar, M., Kassim, K. A., & Chiet, K. T. P., 2016. Biological process of soil improvement in civil engineering: A review. *Journal of Rock Mechanics and Geotechnical Engineering*, 8(5), 767-774.
- Van Paassen, L. A., 2009. Biogrout, ground improvement by microbial induced carbonate precipitation. PhD Thesis. Delft, Netherlands: Delft University of Technology.
- Van Paassen, L. A., 2011. Bio-mediated ground improvement: from laboratory experiment to pilot applications. In *Geo-Frontiers 2011: Advances in*

- Geotechnical Engineering (pp. 4099-4108).
- Weaver, P. P. E., & Schultheiss, P. J., 1983. Vertical open burrows in deep-sea sediments 2 m in length. *Nature*, 301(5898), 329.
- Weiner, S., & Dove, P. M., 2003. An overview of biomineralization processes and the problem of the vital effect. *Reviews in mineralogy and geochemistry*, 54(1), 1-29.
- Whiffin, V. S., 2004. Microbial CaCO₃ precipitation for the production of biocement. Doctoral dissertation, Murdoch University.
- Whiffin, V. S., van Paassen, L. A., & Harkes, M. P., 2007. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Geomicrobiology Journal*, 24(5), 417-423.
- Yasuhara, H., Hayashi, K., & Okamura, M., 2011. Evolution in mechanical and hydraulic properties of calcite-cemented sand mediated by biocatalyst. In *Geo-Frontiers 2011: Advances in Geotechnical Engineering* (pp. 3984-3992).
- Yıldırım, N., Gürtuğ, Y., & Sesal, C. 2016. Mikrobiyal kalsiyum karbonat oluşum mekanizmaları ve uygulama alanları. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, (2), 70-80.
- Zhan, Q., & Qian, C., 2016. Microbial-induced remediation of Zn²⁺ pollution based on the capture and utilization of carbon dioxide. *Electronic Journal of Biotechnology*, 19(1), 29-32.
- Zhang, Y., Guo, H. X., & Cheng, X. H., 2015. Role of calcium sources in the strength and microstructure of microbial mortar. *Construction and Building Materials*, 77, 160-167.
- Zhu, T., & Dittrich, M., 2016. Carbonate precipitation through microbial activities in natural environment, and their potential in biotechnology: a review. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 4, 4.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Erzincan’da doğdu. İlkokul ve lise eğitimini Erzincan’da, ortaokul eğitimini ise Yozgat’ta tamamladı. 2005 yılında başladığı Atatürk Üniversitesi İnşaat Mühendisliği bölümünden 2009 yılında mezun oldu. 2011 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans Eğitimine başladı ve 2014 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı. 2015 yılında doktora eğitimine başladı.

