

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÜREOLİTİK BAKTERİLER İLE KALSİYUM KARBONAT
MİNERALİZASYONU VE ZEMİN İYİLEŞTİRMEDE
KULLANIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUĞBA ŞENSOY CANDOĞAN

DENİZLİ, ARALIK - 2015

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**ÜREOLİTİK BAKTERİLER İLE KALSİYUM KARBONAT
MİNERALİZASYONU VE ZEMİN İYİLEŞTİRMEDE
KULLANIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUĞBA ŞENSOY CANDOĞAN

DENİZLİ, ARALIK - 2015



KABUL VE ONAY SAYFASI

Tuğba Şensoy Candoğan tarafından hazırlanan “ÜREOLİTİK BAKTERİLER İLE KALSİYUM KARBONAT MİNERALİZASYONU VE ZEMİN İYİLEŞTİRMEDE KULLANIMI” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 03.12.2015 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN
Pamukkale Üniversitesi


.....

.....

Eş Danışman
Doç. Dr. Erdal AKYOL
Pamukkale Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. Ömer BOZKAYA
Pamukkale Üniversitesi


.....

Üye
Doç. Dr. Özgür CEYLAN
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi


.....

Üye
Doç. Dr. Şevki ARSLAN
Pamukkale Üniversitesi


.....

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 30.12.2015 tarih ve ..49/25... sayılı kararıyla onaylanmıştır.


.....

Prof. Dr. Orhan KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**Bu tez alışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 2013FBE017 no'lu proje ile desteklenmiřtir.**

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

TUĞBA ŞENSOY CANDOĞAN



ÖZET

**ÜREOLİTİK BAKTERİLER İLE KALSİYUM KARBONAT
MİNERALİZASYONU VE ZEMİN İYİLEŞTİRMEDE KULLANIMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
TUĞBA ŞENSOY CANDOĞAN
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. NAZİME MERCAN DOĞAN)
(EŞ DANIŞMAN: DOÇ. DR. ERDAL AKYOL)
DENİZLİ, ARALIK - 2015**

Kalsiyum karbonat, mikrobiyal aktivite ile hem doğal hem de yapay yolla üretilen başlıca katılaştırma (çimentolaşma) maddesidir. Mikrobiyolojik kalsiyum karbonat çökmesi, kalsiyum açısından zengin çevrede karbonatın üretilmesi ile mikrobiyolojik aktivite sonucu çeşitli proseslerden oluşmaktadır.

Çalışmamızda Denizli Karcı Dağı'nda bulunan İsrail Dere'sinden alınan toprak numunelerinden izole edilen üreolitik aktiviteye sahip olan *Bacillus aerius* U2 ile kalsiyum karbonat mineralizasyonu üzerine farklı gelişme parametrelerinin etkisi (üre konsantrasyonu, sıcaklık ve başlangıç pH'sı) incelenmiş olup belirlenen parametrelerle optimizasyon sağlanmıştır. Ayrıca yapılan optimizasyon çalışmaları ile elde edilen numunelere Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), X-Işınları Kırınımı (XRD) ve Termogravimetrik (TGA) analizler uygulanarak suşun oluşturduğu mineralin yapısı, fiziksel özellikleri belirlenmiştir. Çalışmanın diğer kısmı olan zemin iyileştirme çalışmaları ise jeoteknik uygulamalarla belirlenmiştir.

Bacillus aerius U2 ile yapılan optimizasyon sonucunda en iyi veri 5. günde 300 mM üre konsantrasyonunda, 20 °C ve pH 5.5'te 2483,36±207,12 mg/L olarak belirlenmiştir. XRD verilerine göre; bakteriyel kalsiyum karbonat oluşumları çoğunlukla kristalin (kalsit ve vaterit), daha az da amorf (Ekstraselular Polimerik Substance: EPS) yapıya sahiptir. SEM analizi ile de oluşan yapının daha çok vaterit içerdiği doğrulanmıştır.

ANAHTAR KELİMELELER: *Bacillus*, KALSİYUM KARBONAT, ZEMİN İYİLEŞTİRME, OPTİMİZASYON

ABSTRACT

CALCIUM CARBONATE PRECIPITATION BY UREOLYTIC BACTERIA AND USE OF SOIL IMPROVEMENT

MSC THESIS

TUĞBA ŞENSOY CANDOĞAN

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BİOLOGY

(SUPERVISOR: Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN)

(CO-SUPERVISOR: Assoc. Prof. Dr. Erdal AKYOL)

DENİZLİ, DECEMBER 2015

Calcium carbonate is a solidification substance and it is produced by microbial activity both natural and artificial ways. Microbiological calcium carbonate precipitation is consisted of various processes in calcium rich environments.

In this study, *Bacillus aerius* U2 (a ureolytic bacterium) was used. It was isolated from calcium rich soil in Israfil Creek (Karcı mountain, Denizli). The effects of different growth parameters such as (urea concentration, temperature and initial pH) on calcium carbonate mineralization were examined and the mineralization parameters were optimized. Also, the type of carbonate minerals and properties of physical were determined by XRD and TGA. The other parts of the work that soil improvement works were determined by geotechnical applications.

According to results of optimization, the maximum calcium carbonate amount was 2483.36 ± 207.12 mg / L in 300 mM urea concentrations on day 5 at 20°C and pH 5.5. Pure calcium carbonate sample was analysed by XRD and it was found that bacterial calcium carbonate were consisted of crystalline structure (types of calcite and vaterite minerals) and amorphous (extracellular polymeric Substance: EPS). SEM analysis was proved that the calcium carbonate content was vaterite.

KEYWORDS: *Bacillus*, CALCIUM CARBONATE, GROUND IMPROVEMENT, OPTIMIZATION

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	10
2. LİTERATÜR TARAMASI	12
2.1 Mikrobiyal Metot	17
2.1.1 Mikrobiyal İndüklü Kalsiyum Karbonat Çökmesi (MICP)	19
2.2 Yüksek lisans tezinin amaçları	28
3. MATERYAL VE METOD	29
3.1 Mikrobiyolojik Analizler	29
3.1.1 Toprak örnekleri	29
3.1.2 Bakteri İzolasyonu ve İdentifikasyonu	29
3.1.2.1 Toprak örneklerinin hazırlanması	29
3.1.2.2 Bakteri izolasyonu.....	30
3.1.2.3 Bakterilerin stoklanması.....	31
3.1.3 Bakterilerin tanımlanması.....	31
3.1.4 Kalsiyum karbonat mineralizasyonu	31
3.1.4.1 Mineralizasyon ortamı	31
3.1.4.2 Kalsiyum karbonat miktarının belirlenmesi.....	32
3.1.4.3 EDTA titrimetrik yöntemi.....	32
3.1.4.4 Kalsiyum Karbonat Çökmesine Etki Eden Şartlar	33
3.2 Mineralojik Analizler	33
3.2.1 Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizleri.....	33
3.2.2 X- Işınları Kırınımı (XRD)	34
3.2.3 Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Termogravimetrik analiz (TGA)	34
3.3 Biyoenjeksiyon ve Jeoteknik Çalışmalar	34
4. BULGULAR	36
4.1 MİKROBİYOLOJİK ANALİZLER	36
4.1.1 Bakteri İzolasyonu ve İdentifikasyonu	36
4.1.1.1 Bakteri İzolasyonu	36
4.1.1.2 Bakterilerin İdentifikasyonu.....	39
4.1.2 Kalsiyum Karbonat Mineralizasyonu	41
4.1.2.1 Üreolitik Bakterilerin Taranması	41
4.1.2.2 Optimizasyon Çalışmaları	43
4.1.2.2.1 Üre Konsantrasyonu	43
4.1.2.2.2 Sıcaklık	44
4.1.2.2.3 pH.....	45
4.1.2.3 Kalsiyum karbonat mineralizasyonu optimum şartları	46
4.2 Mineralojik Analizler	47
4.2.1 X-Işınları Kırınımı (XRD) İncelemeleri	47

4.2.2	Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) İncelemeleri.....	49
4.2.3	Termo Gravimetrik Analiz (TGA) İncelemeleri.....	51
4.3	Jeoteknik Uygulamalar.....	53
5.	TARTIŞMA	57
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	62
7.	KAYNAKLAR.....	63
8.	ÖZGEÇMİŞ	71



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Bakteriyel kalsiyum karbonat çökelişi (Achal ve diğ. 2015).....	20
Şekil 2.2: Bakteri hücre duvarında kalsiyum karbonat oluşumu (Siddique ve Chahal 2011)	21
Şekil 2.3: (A) kalsit, (B) aragonit, (C) vaterit (Lipmann 1973)	22
Şekil 4.4: Üreaz pozitif ve negatif kontrol bakterilerin Üre Agar'daki görünüşleri. A: <i>Proteus vulgaris</i> (pozitif kontrol, pembe), B: <i>Micrococcus flavus</i> (negatif kontrol, sarı).....	36
Şekil 4.5: Üre agarına ekilen toprak örneklerinde üreaz aktivitesi olan koloniler.	37
Şekil 4.6 : Bakterilerin Nutrient Agar'da koloni görünüşleri	39
Şekil 4.7: 37 °C ve pH 6,5'de inkübasyon sonrası erlen cidarında kalsiyum karbonat halkaları	41
Şekil 4.8: EDTA titrimetrik yöntemi uygulanan KMO'da <i>Paenibacillus favisporus</i> U3. (A) Titrasyon öncesi indikatör maddenin oluşturduğu pembe renk, (B) Titrasyon sonrası gerçekleşen renk değişimi.	42
Şekil 4.9: <i>Bacillus aerius</i> U2 bakterisi tarafından üretilen kalsiyum karbonatlı ürünlerin inkübasyon sürelerine göre X-ışınları kırınımı desenleri. Gri alanlar amorf fazı (EPS) temsil etmektedir.	48
Şekil 4.10: <i>Bacillus aerius</i> U2 için uygulanan farklı inkübasyon süresi ve üre konsantrasyon koşullarının kalsiyum karbonat konsantrasyonları (mg/ml) üzerine etkisi.	49
Şekil 4.11: Mikrobiyal karbonat oluşumlarının SEM mikrofotografı. (a) Trigonal kalsitler (C), yuvarlağımsı vateritler (V) ve ince taneli polimerik (EPS) oluşumları, (b-e) Elipsoyidal bakteriler (1µm) yuvarlağımsı vateritler (V) ve ince taneli EPS oluşumları, (f) elipsoidal bakteriler ve tüpsü koloni oluşumları.	50
Şekil 4.12: Bakteriyel karbonat ürünlerinin inkübasyon süresine bağlı olarak (a) DTA ve (b) TGA eğrilerinin değişimi.....	52
Şekil 4.13: Doğal zemin örneği.....	53
Şekil 4.14: Deney düzeneği.....	54
Şekil 4.15: Peristaltik pompa kullanımı	54
Şekil 4.16: Kohezyonlu güçlendirilmiş zemin	55
Şekil 4.17: Güçlendirilmiş zeminde yapılan tek eksenli basma deneyi örnekleri	56

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: Zemin iyileştirme metotlarının sınıflandırılması (Che ve diğ. 2009)	13
Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan toprak örnekleri.....	30
Tablo 4.3: Toprak örnekleri, izole edilen bakterilerin kodları ve üreaz aktivitesi taraması.	38
Tablo 4.4: 16S rRNA sekans analizleri sonucu identifiye edilen bakteri suşları.	40
Tablo 4.5: İdentifiye üreolitik bakterilerin KMO besiyerinde kalsiyum karbonat kapasiteleri (mg/L).	42
Tablo 4.6 : Farklı üre konsantrasyonlarında Bacillus aerius U2 bakterisinin kalsiyum karbonat çökeli mi (mg/L, 37 C, pH:6.5).	44
Tablo 4.7: Bacillus aerius U2 bakterisinin kalsiyum karbonat (m/L) çökeli mine sıcaklığın etkisi (300 mM üre, pH:6,5).	45
Tablo 4.8: Bacillus aerius U2 bakterisinin kalsiyum karbonat (mg/L) mineralizasyonuna pH'ın etkisi (300 mM üre, 20 °C).	46
Tablo 4.9: Bacillus aerius U2 bakterisinin en iyi kalsiyum karbonat çökeli mi yaptığı parametreler.....	46

SEMBOL LİSTESİ

°C	: Santigrad derece
µm	: Mikrometre
Ar	: Argon
Ca²⁺	: Kalsiyum iyonu
CaCO₃	: Kalsiyum karbonat
cm	: Santimetre
cm³	: Santimetre küp
CO(NH₂)₂	: Üre
CO₂	: Karbondioksit
CO₃²⁻	: Karbonat İyonu
dH₂O	: Distile su
dk	: dakika
DTA	: Diferansiyel Termal Analiz
EDS	: Enerji dağılımı spektrometresi
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
EPS	: Ekstrapolisakkarit
g	: Gram
H⁺	: Hidrojen iyonu
H₂CO₃	: Karbonik asit
H₂O	: Su
HCO₃⁻	: Bikarbonat iyonu
kg	: Kilogram
KMO	: Kalsiyum mineralizasyonu ortamı
kN	: Kilonewton
kPa	: Kilopaskal
L	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
mm³	: milimetreküp
Mpa	: Megapaskal
NH₃	: Amonyak
NH₄⁺	: Amonyum iyonu
OH⁻	: Hidroksil iyonu
PVC	: Polivinil klorür
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SM	: Alüvyonlu kum
SP-SM	: Kötü derecelenmiş alüvyonlu kum
TGA	: Termo-Gravimetrik Analiz
XRD	: X ışınları Kırınımı Analizi
NaCl	: Sodyum klorür

ÖNSÖZ

2013-2015 yılları arasında Pamukkale Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN'ın tez danışmanlığı ve Doç. Dr. Erdal AKYOL'un eş danışmanlığı altında yürütülen bu çalışma, yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Tez çalışmamın başından sonuna kadar maddi ve manevi destek ve yardımlarını hiçbir zaman benden eksik etmeyen, bizim için yeni bir çalışma olmasına rağmen çalışmalarda bana sonsuz güvenen ve hoşgörülü davranan, araştırmalarda bana destek olan ve kendisiyle çalıştığım için her zaman şanslı hissettiğim, tecrübe ve eşsiz bilgilerinden yararlandığım, titiz ve disiplinli çalışması ile bir çok deneyim kazandıran değerli hocam Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN'a,

Çalışmamın Jeolojik kısmında bana yol gösteren ve güvenen, yardımlarını esirgemeyen, hem teorik hem de pratik açıdan bilgisini aktaran, ayrıca tezimin jeolojik uygulamalar kısmını yürüten eş danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Erdal AKYOL'a,

Minerolojik çalışmalarda uygulanan SEM, XRD ve TGA basamaklarını yürüten, tez çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Ömer BOZKAYA'ya,

Yüksek lisans tezim boyunca bilgisi ve deneyimiyle laboratuvar çalışmalarımda çok şey öğrendiğim, manevi olarak desteğini gördüğüm değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Gülümser ACAR DOĞANLI'ya

Yüksek lisans serüvenim başladığından bu yana teorik ve pratik alanda bana hep yoldaş olan, her anlamda desteğini hiçbir zaman eksik hissetmediğim ve hissetmeyeceğim, beraber gülüp beraber ağladığım, yeri geldiğinde karpisimi çeken, fikirlerine güvendiğim, tezyoldaşım, iyi ki yollarımız kesismiş dediğim candan öte candostum Dicle ARAR'a

Yine iyi ki yollarımız kesismiş dediklerimden biri olan, narin, düşünceli, her anlamda desteğini hiçbir zaman eksik hissetmediğim ve hissetmeyeceğim, yeri geldiğinde karpisimi çeken, yüzü gibi kalbi güzel dostum Kübra Betül SOLMAZ'a

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bilgi alışverişi yaptığım, manevi açıdan desteğini gördüğüm, yol arkadaşım Nur BOZBEYOĞLU'na

Yüksek Lisansa başlamadan önce Nazime Hocamıza "Beni unutmayın" deyip gerçekten kendini unutturmayacak olan yüksek enerjisini bizimle paylaşan güzel insan Özlem ÇETİN'e

İlkokuldan bu yana ayrı düşmediğimiz, her anımız bir olan, iyi-kötü her daim yanımda olan güzel insanlar, canlarım, dostlarım Türkan KEÇİLİ, Muradiye Özen, Halime SAVAR'a

Yüksek Lisans serüvenimde benimle beraber bu yolu birlikte yürümekten asla yorulmayan, kendinden çok beni düşünen en büyük destekçim, olmazsa olmazım, canım eşim Nazmi CANDOĞAN'a

Ve en değerlilerim, yaşamım boyunca bir dediğimi iki etmeyen gece gündüz demeyip yüksek lisans çalışmalarımda bana maddi, manevi destek olan GENİŞ ve GÜZEL ailem'e en derinden teşekkürlerimi borç bilirim.



1. GİRİŞ

Son yıllarda endüstri, sanayi ve inşaat sektöründeki hızlı gelişmeler sonucunda imara yeni yerler açılmış, inşaat sahaları genişlemiş böylece problemler zeminler üzerine yapılar inşa edilmek zorunda kalmıştır. Bu zayıf zeminler beraberinde birçok sorunu gündeme getirmiştir. Zeminlerin, yapıdan gelen yükleri güvenle taşıyabilmesi için projede değişikliklere gidilmesi, mevcut zeminin taşıma gücü yüksek bir zeminle yer değiştirilmesi, zeminlerin iyileştirilmesi gibi yöntemlere başvurulmuştur. Yer seçimi, mevcut zeminin değişimi gibi seçenekler fazla maliyet gerektirdiğinden zeminlerin iyileştirilmesi binlerce yıldır kullanılmaktadır. Genelde zeminlerde sıvılaşma, şişme, dolgu ve şev stabilitesi, erozyon kontrolü, oturma ve mukavemet gibi özelliklerinin iyileştirilmesi amaçlanmaktadır. Zeminlerin iyileştirilmesinde her yöntem zemine ait farklı parametreleri iyileştirmeye yöneliktir. Ön yükleme, kompaksiyon, zemin kazıkları, mevcut zeminin değiştirilmesi, katkı malzemeleri kullanarak iyileştirme, ısıtma işlemleri gibi birçok uygulama zeminin özelliklerinin iyileştirilmesi için kullanılmaktadır.

Son yıllarda ise mikrobiyal çimentolama (mikrobiyolojik kalsiyum karbonat çökmesi) çalışmalarının hızla arttığını görmekteyiz. Özellikle, bakteriler gibi biyolojik ajanlar kullanılarak toprak ve sularındaki kirliliğin biyolojik olarak giderilmesinde, kalkerli taşların restorasyonunda, betonun güçlendirilmesinde kullanılmaktadır. Mikrobiyolojik kalsiyum karbonat çökmesi, kalsiyum açısından zengin çevrede karbonatın üretilmesi ile mikrobiyolojik aktivite sonucu çeşitli proseslerden oluşmaktadır.

Bakteri ve topraktaki besin konsantrasyonu düzenlenerek, mevcut toprak matrisinin kalsiyum karbonat tabakası, bakteriyel olarak indüklenmiş yeni bir mühendislik materyali olarak geliştirilmektedir. Özellikle günümüzde üzerinde durulan önemli çalışma konularından olan bu teknik, toprağın geçirgenlik ve sıkıştırılabilirlik özelliğini azaltmak ve toprak gücünü arttırmak için kullanılmaktadır. Kalsiyum karbonat çökmesi bakterilerin biyokimyasal prosesler sonucunda kalsit oluşturması durumudur. Oluşan kalsitler zeminde boşlukların

doldurulması, zemin tanelerinin birbirine bağlanması, tane yüzeylerinin filmle kaplanarak su geçirgenliğinin azalması gibi etkiler göstermektedir. Bunun sonucunda zeminin geçirgenlik, mukavemet, oturma gibi özellikleri iyileştirilmektedir. Günümüzde mikrobiyal kalsiyum çökmesi oldukça önem kazanmıştır. Yapılan çok sayıda araştırma, üreolitik bakterilerin kalsiyum çökme sürecinde etkili olduğunu göstermiştir.



2. LİTERATÜR TARAMASI

İnşaat mühendisliği uygulamalarında zemin koşullarının, mühendislik tasarımları ve yapım yöntemlerinin seçimi üzerinde önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Zemin koşulları bazı durumlarda projenin uygulanabilirliğini tayin edebilecek kadar problemlili olabilmektedir. Bu durumlarda zemin özelliklerinin iyileştirilmesi gerekebilir. Zemin iyileştirilmesi yapılması planlanan mühendislik uygulamalarına yönelik olarak zeminlerin belli özelliklerinin fiziksel, biyokimyasal ya da biyolojik yöntemler kullanılarak iyileştirilmesidir. Zeminlerin iyileştirilmesi yerine çoğunlukla ıslahı, stabilizasyonu ve modifikasyonu gibi eşanlamlı terimler kullanılmaktadır (Özaydın 2012). Yapıların inşası aşamasında ve sonrasında gelen yükler sonucunda zeminde oluşan gerilmeler, zemin tarafından güvenle karşılanmalıdır. Fakat zeminler her zaman bu gerilmeleri karşılamayabilir. Bu gibi durumlarda bazı önlemler alınması gerekir. Bunlar;

- Mevcut zemine göre proje üretmek,
- Zayıf zemin kaldırılarak yerine taşıma gücü yüksek zemin yerleştirilerek,
- Taşıma gücü düşük zemini geçip daha sağlam zeminlere inşa ederek,
- Zemin özelliklerini arazide iyileştirmek şeklinde sıralanabilir (Özdemir ve Özdemir 2006).

Zeminlerin iyileştirilmesinde hedeflenen başlıca amaçlar şunlardır:

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

- Çevresel etkiler (donma – çözülme, ıslanma – kuruma) sonucunda oluşabilecek fiziksel ve biyokimyasal etkilerin önlenmesi,

- Su geçirgenliği ve sızıntı sularının kontrolü,

- Erozyona karşı olan direncin artırılması,

- Deprem gibi yükler altında sınılaşma, dayanım gibi özelliklerinin güçlendirilmesi,

-Yüzey bozulmalarına karşı oluşan direncin artırılması (Özaydın 2012).

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

Tablo 2.1: Zemin iyileştirme metotlarının sınıflandırılması (Che ve diğ. 2009)

Kategori	Metot	Çalışma Prensipleri
A. Kohezyonsuz zeminlerde yada dolgularda katkısız zemin iyileştirilmesi	A1. Dinamik kompaksiyon	Granüler zeminlerin sıkılaştırılması için ağırlığın zemine serbestçe düşürülmesi.
	A2. Vibrokompaksiyon	Granüler zemin içerisinde vibrasyon aleti kullanılarak zeminin sıkılaştırılması.
	A3. Patlatmalı kompaksiyon	Granüler zeminlerde patlamanın oluşturduğu şok dalgaları ve titreşimler ile zeminin oturması.
	A4. Elektrik Titreşimli kompaksiyon	Elektrik akımı tarafından üretilen ultra-yüksek voltaj altında oluşan elektrik sinyalleri ve şok dalgaları kullanılarak zeminlerin sıkıştırılması.

	A5. Yüzey kompaksiyonu	Farklı kompaksiyon makineleri ile yüzey veya yüzeye yakın zemin veya dolguların sıkıştırılması.
B. Kohezyonlu zeminlerde katkısız zemin iyileştirilmesi	B1. Yerinden çıkarma, yerine koyma	Kötü zemini kazma yoluyla çıkarma veya zemin veya kayayla yer değiştirme. Bazı hafif malzemeler toprak basıncı ve yük azaltmak için kullanılabilir.
	B2. Dolgu ile önyükleme (düşey drenler kullanılarak)	Gelecekteki yükler altındaki sıkışabilirliği azaltmak için dolgularla zemin sıkılaştırılması.
	B3. Vakum kullanılarak ön yükleme	90 kPa basınçta uygulanan vakum ile prenkosolide sıkışabilir zeminlerde sıkışabilirliğin azaltılması.
	B4. Drenajlı dinamik konsolidasyon (vakum ile)	Dinamik kompaksiyon ile benzerdir ancak burada yatay ve düşey direnler (yada vakum ile) kullanılarak kompaksiyon boyunca boşluk basıncı oluşturulur.
	B5. Elektro-osmoz yada elektrokinetik konsolidasyon	Zemin sularına ya da solüsyonlarda, zemin içerisine yüklenen DC akım ile anotlardan katotlara doğru su akışının sağlanması.
	B6. Dondurma, ısıtma yolu ile termal stabilizasyon	Zeminin fiziksel yada mekanik özelliklerinin ısıtma yada dondurma yolu ile geçici yada kalıcı olarak değiştirilmesi.
	B7. Su fişkırtma kompaksiyonu	Çökebilir zeminlerin (lös) sondaj boyunca ıslatma ve patlatma ile sıkıştırılması.

C. Katkılar ya da dahil etmeler ile zemin iyileştirilmesi	C1. Titreşimli değiştirme ya da taş kolonlar	Yumuşak, ince taneli zeminlerde, yoğun çakıl ya da zeminlerin boşluklara doldurularak kolon oluşturulması.
	C2. Dinamik yer değiştirme	İnce ve iri agregaların yüksek enerji ile dinamik etki kullanılarak zemine yerleştirilmesi ve kolon oluşturulması. Bu dolgu ya kum, çakıl, taş ya da enkaz molozları olabilir.
	C3. Kum kompaksiyon kazıkları	Kumun zemin içerisine sondaj borusu ile vibrasyon ve dinamik etkiler altında yerleştirilmesi ve sıkıştırılması sonucunda kolon oluşturulması.
	C4. Geotekstil ile çevrelenmiş kolon	Altı kapalı silindirik geotekstil içerisine kum kullanılarak kolon oluşturulması.
	C5. Rijit dahil etme	Kolonlar, yarı sert yada sert cisimler yada kazıklar kullanılarak yumuşak zeminlerin güçlendirilmesi.
	C6. Geosentetik güçlendirilmiş kolonlar yada kazık destekli dolgular	Kazıklar, sert yada yarı sert kolonlar ve geosentetik kuşatmalar kullanılarak stabilitenin artırılması ve dolgularda oturmaların azaltılması.
	C7. Mikrobiyal metotlar	Mikrobiyal materyaller kullanılarak zeminlerin dayanımının artırılması ve permeabilitesinin azaltılması.
	C8. Diğer metotlar	Geleneksel olmayan metotlar.

D. Enjeksiyon katkısı ile zemin iyileştirme	D1. Partikül enjeksiyonu	Çimento yada diğer partiküllerin granüler zeminlere yada zeminlerin ve kayaların oyuk ve çatlaklarına enjeksiyonu ile zemin dayanımının artırılması yada permeabilitenin azaltılması.
	D2. Biyokimyasal enjeksiyon	Birden fazla biyokimyasalın zemin boşluklarında reaksiyona girerek jel oluşturması sonucunda zemin dayanımının artması ve permeabilitenin azalması.
	D3. Karıştırma metodları	Zayıf zemine çimento kireç gibi bağlayıcı maddelerin zemine katılmadan önce karıştırılarak uygulanması.
	D4. Jet enjeksiyon	Yüksek hızlı jetler ile zemine enjeksiyonu vererek kolon yada paneller oluşturulması.
	D5. Kompaksiyon enjeksiyonu	Çok katı enjeksiyonun zemin boşluklarına enjekte edilmesi ve geriye kalan homojen kütlelerin yoğunlaştırılması veya oturmuş zeminin kaldırılması.
	D6. Telafi enjeksiyonu	Orta-yüksek viskoziteli partikül süspansiyonunun zemin içerisine yer altı kazısı ile enjekte edilmesi ile devam etmekte olan kazının yapıda oluşturacağı oturmayı azaltmak yada etkisiz hale getirmek.
E. Yeryüzü	E1. Geosentetikler ve mekanik olarak sağlamlaştırılmış yüzey	Gerilme dayanımı kullanılarak farklı geosentetikler yada çelik materyaller ile, kesme

güçlendirilmesi		dayanımı, zemin ve yolların stabilizasyonu, temeller, şevler ve istinat duvarlarının kapasitesini arttırmak.
	E2. Zemin çivileri ile yüzey sabitleme	Ankraj ve gömülü çivilerin çekme gerilmesi kullanılarak istinat duvarlarının veya şevlerin stabilitesini arttırmak.
	E3. Bitkiler ile biyolojik metotlar	Bitki kökleri kullanılarak şev stabilitesini arttırmak

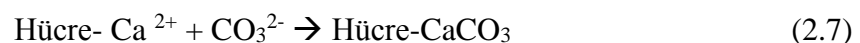
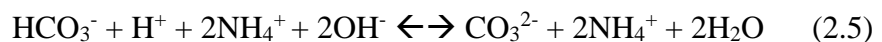
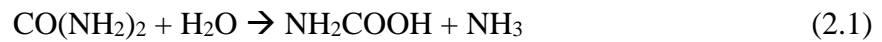
2.1 Mikrobiyal Metot

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

Üç ana grup mikroorganizmalar ile mikrobiyolojik kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyon süreci oluşturulabilir: (i) siyanobakteri ve yosun gibi fotosentetik mikroorganizmalarda CO₂ uzaklaştırılarak, (ii) katabolik sülfat indirgenmesinden sorumlu sülfat indirgeyen bakteri ile, (iii) nitrojen çevrimi ile ilişkili çeşitli mikroorganizmalar yardımıyla (Hammes ve Vestraete 2002; Castanier ve diğ. 1999).

Kalsiyum karbonat çökmesinde, en çok sucul çevrede bulunan mikroalg ve siyanobakteri gibi fotosentetik bakteriler araştırılmaktadır (Mc Connaughey ve diğ. 2000). Proteobakteri, gram pozitif bakteriler ve arkeler (Frankel ve Bazylinski 2003) sülfat indirgeyerek anaerobik olarak kalsiyum karbonat çökmesinde büyük rol

oyunlar. Sülfat indirgeyen bakteri olan *Desulfovibrio*, alçıdan sülfatı kaldırarak kalsit üretir (Atlas ve Rude 1998). Farklı çevrelerde kalsiyum karbonat çökmesine en önemli ilgiye sahip olan azot döngüsünde bulunan bakteri grubudur. Bu bakteriler kompleks biyobiyokimyasal tepkimelerin bir serisi olarak kalsiyum karbonat indükleyen üreaz enzimini (Üre amidohidrolaz; EC 3.5.1.5) üretir. Bu tepkime karbonat üretimi için başlıca kalsiyum kaynağına karşın substrat olarak üre gerektirir. Bakteriyal üreaz aktivitesi sırasında, harcanan 1 mol üre 1 mol amonyak ve karbamat (2.1) ve karbamatın hidrolizi ile de amonyak ve karbonik asit (2.2) oluşumuna katkıda bulunur. Bu ürünler daha sonra bikarbonat oluşturmak için suda dengelenir ve 2 mol amonyum ve hidroksit iyonları (2.3) ve (2.4) pH artışı ile sonuçlanarak sonunda karbonat iyonlarının oluşmasına sebep olan bikarbonat eşitliği değişir (2.5). Hücredeki pH artışı sonucu yüksek hücre dışı kalsiyum iyon konsantrasyonu ve düşük hücre dışı proton konsantrasyonu karbonat iyonlarının salgılanması için gerekmektedir. Bu durum altında, bakteriler protonların aşırı atılması ve kalsiyum birikmesinin akın etmesi sonucuyla elektrobiyokimyasal gradiyent sebebi ile stres altında kalır. Bu gibi durumlarda bakterinin hayatta kalması kayıp protonların telafisi ve aktif kalsiyum taşınması gibi faktörlerle bağlıdır. Bu aktivasyonlar için gereken enerji, kalsiyum karbonat çökmesini sağlayan mikro çevrede çözülmüş inorganik karbon seviyesindeki artışa katkıda bulunan metabolik CO₂ tarafından gerçekleştirilebilir (Hammes ve Verstraete 2002). Yüksek pH koşulu HCO₃⁻ 'den CO₃²⁻ oluşumunu tercih eder (Knoll 2003). Sonuç olarak, karbonat konsantrasyonu çözünen Ca²⁺ varlığında hücre etrafında CaCO₃ çökmesine neden olan çözünebilir seviyesinde bir artışın olmasıyla artacaktır (2.6) ve (2.7).



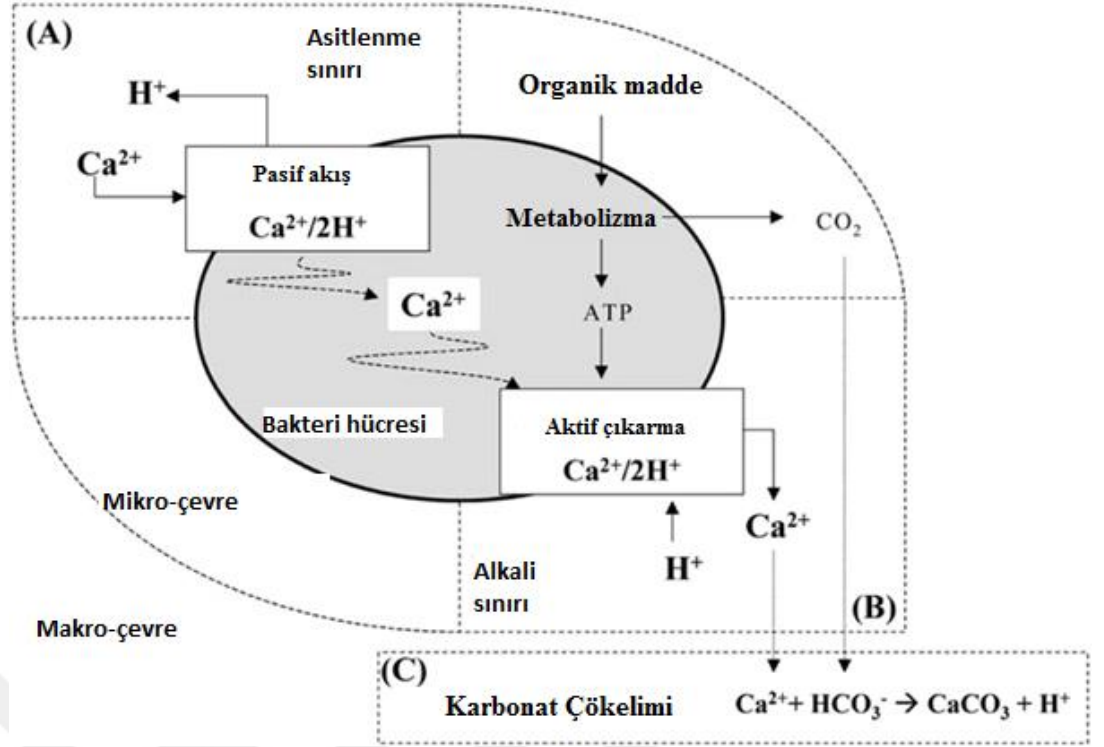
2.1.1 Mikrobiyal İndüklü Kalsiyum Karbonat Çökmesi (MICP)

Kalsiyum karbonat, mikrobiyal aktivite ile hem doğal hem de yapay yolla üretilen başlıca katılaştırma (çimentolaşma) maddesidir. Önerilen bakteriyal kalsiyum metabolizması şeması ve sonrasındaki CaCO₃ çökmesi Şekil 1'de gösterilmiştir.

Kısaca, MICP beş önemli faktör tarafından yönetilen basit bir biyokimyasal süreçtir: (a) kalsiyum konsantrasyonu, (b) çözünmüş inorganik karbon konsantrasyonu, (c) pH, (d) çekirdeklenme alanlarının ulaşılabilirliği ve (e) nikel içeren metalo enzim; üreaz.

Üreaz aktivitesi farklı mikroorganizma gruplarında yaygın olmasına karşın, üreaz genleri en fazla *Bacillus pasteurii* (daha sonra *Sporosarcina pasteurii* olarak adlandırıldı) gibi *Bacillus* cinsi bakterilerde çalışılmıştır (Hammes ve diğ. 2003). MICP aktif kalsiyum metabolizması potansiyel olarak benzersiz çökme koşulları yaratan mikrobiyal kalsiyum metabolizması altında doğal bir olgudur ve karbonat çökmesi biyokimyasal olarak bakterinin hayatta kalması ve çoğalması için gereklidir (Perito ve Mastromei 2011).

Üreazın yanı sıra başka bir enzim olan karbonik anhidraz da, MICP'de önemli rol oynar. Bununla birlikte, bu enzimin rolü detaylı olarak çalışılmamıştır. Karbonik anhidraz (CA) E.C. 4.2.1.1 1, bakterilerde her zaman bulunur ve fotosentez, solunum, CO₂ ve iyon taşınması, kalsifikasyon ve asit-baz dengesini içeren birçok biyolojik proseslerde esastır (Smith ve Ferry 2000).



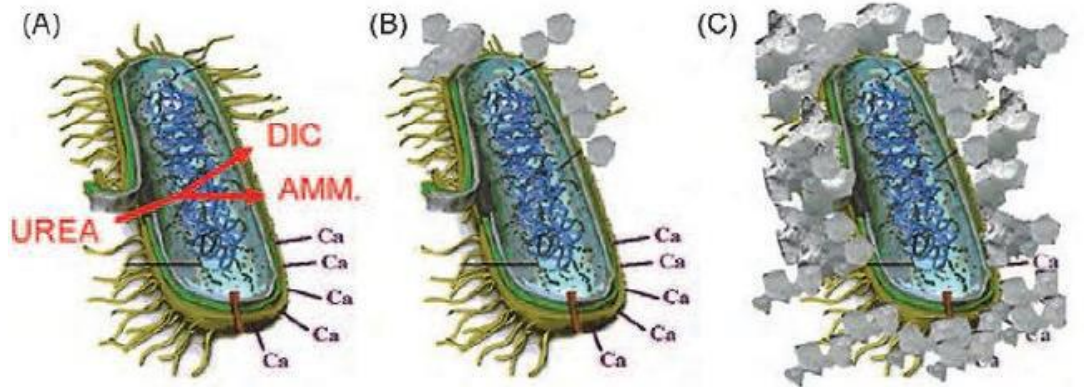
Şekil 2.1: Bakteriyel kalsiyum karbonat çökelişi (Achal ve diğ. 2015)

Kalsiyum karbonat çökmesi, hücre içi veya dışı inorganik bileşikler ve kısmen çözülmüş organik ürünler tarafından seçici katılışmadaki katkılarından dolayı önemli biyojenik karbonat çökelmelerinden biri olarak kabul edilir. Böyle bir bileşik "biyoçimento" terimine neden olan çimentolu bir malzeme olarak işlev görür. Biyoçimento fazla dikkat çekmiştir çünkü mikrobiyal indüklü kalsiyum karbonat çökmesine dayanan gerçek bir 'yeşil malzeme'dir (Rong ve Qian 2012). Günümüzde üzerinde durulan ve mikrobiyoloji mühendisliğinin doğmasına neden olan biyo-çimento tekniği, bina yapılarında dayanıklılık arttırmak için uzun vadeli iyileştirme aracı olarak son derece umut vericidir (Achal ve Mukherjee 2015; Achal ve diğ. 2011^{a,b}, 2012a; Jonkers ve diğ. 2010; Park ve diğ. 2010; De Muynck ve diğ. 2008^{a,b}; Ghosh ve diğ. 2005; Bang ve diğ. 2001; Ramachandran ve diğ. 2001). MICP başarısı bu prosesin çeşitli alanlardaki keşfine önderlik etmiştir. Ağır metallerin ve radyonüklidlerin biyoremediyasyonunda (Achal ve diğ. 2012^{b,c}; Fujita ve diğ. 2004), petrol rezervlerinden petrol geri kazanımının geliştirilmesinde (Nemati ve Voordouw 2003) ve kum sütunlarının güçlendirilmesinde (Qian ve diğ. 2010; Achal ve diğ. 2009a; De Jong ve diğ. 2006) başarıyla uygulanabildiği rapor edilmiştir.

Kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonu, bir dizi biyokimyasal prosesler sonucunda gerçekleşmektedir. Sıvı besiyerinde bakteri aracılığı ile gerçekleşen reaksiyon sonucunda amonyum ve karbonat oluşmaktadır (2.8) (Cheng ve Cord-Ruwisch 2013).

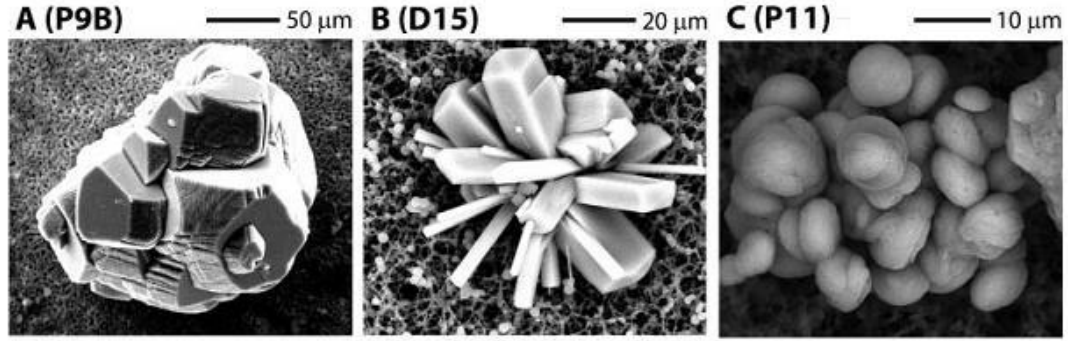


Kültür ortamına CaCl_2 stok çözelti eklendiğinde (Şekil 2.2) gerçekleşen reaksiyon sonucunda oluşan karbonat iyonları kalsiyum ile reaksiyona girerler ve pH değerinin yükselmesi ile kalsiyum karbonat çökmesi meydana gelir (2.9) (Cheng ve Cord-Ruwisch 2013).



Şekil 2.2: Bakteri hücre duvarında kalsiyum karbonat oluşumu (Siddique ve Chahal 2011)

Reaksiyon sonucunda farklı kristal yapıya sahip kalsit (CaCO_3) oluşumunu tespit etmek amacıyla SEM ve XRD analizleri yapılmaktadır. SEM analizleri sonucunda bakterilerde kalsit, vaterit ve aragonit varlığı doğrulanmıştır (Şekil 2.3) (Lippmann 1973).



Şekil 2.3: (A) kalsit, (B) aragonit, (C) vaterit (Lipmann 1973)

Kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonu sonucunda zemin partikülleri arasında bulunan boşluklar dolarak biyolojik tıkanma, partiküllerin bir araya gelmesi ile de biyolojik çimentolanma meydana gelmektedir. Zemin çimentolanması ile kesme dayanımı artmakta, geçirgenlik azalmaktadır. Biyolojik tıkanma ile de zemin boşluklarının dolması sonucunda oturmalar azalmaktadır. Kalsiyum karbonat çökmesi reaksiyonu ile birçok zemin özellikleri iyileştirilebilmektedir (Akoğuz 2014).

Zeminlerin biyolojik iyileştirilmesi ile ilgili olarak literatürde çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Whiffin (2004) yapmış olduğu çalışmada, *Proteus vulgaris* ve *Sporosarcina pasteurii* bakterilerini, ekonomik ve kullanılabilirlik yönünden hangisinin daha uygun olduğunu karşılaştırmıştır. pH kontrolü, üreaz aktivitesi, zemin kirlilik oranı gibi faktörlerinin bakteriyel gelişimi etkilediğini saptamıştır. Çalışmada optimum bakteri büyüme pH değeri 9,25 olarak bulunmuş, ancak diğer pH değerlerinde de üreaz aktivitesi gözlemlenmiştir. Ancak araştırmacılar, üreaz aktivitesinin çok olmasının oluşacak kütlede de çok olacağı anlamına gelmediğini rapor ederek, üreaz aktivitesinde diğer faktörlerin de etkili olduğunu, sadece pH kontrolü ile kütle oluşumunun kontrol edilemeyeceğini göstermiştir. Zeminlerin kirlilik oranının da kütle oluşumunda etkili olduğunu kirlilik oranının %50'den fazla olması durumunda kütle oluşumunun olumsuz olarak etkilendiğini de bildirmişlerdir. Çalışmada *P. vulgaris* ve *S. pasteurii* aynı ortam şartlarında izlenmiş *S. pasteurii*'nin üreaz aktivitesinin *P. vulgaris*'den on kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. *P.*

vulgaris'in daha pahalı olması nedeniyle *S. pasteurii*'nin üre aktivitesi ve kütle oluşumu için daha uygun bir bakteri olduğu belirtilmiştir.

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

Jimenez-Lopez ve diğ (2007), *Myxococcus xanthus* bakterisi ile gözenekli kireçtaşlarını güçlendirmeyi hedeflemiştir. Kireç taşları Granada Cathedral tesislerinden büyük kütlelerde alınarak yüzeyleri temizlenmiş ve 2x5x0,5 cm boyutlarında elmas testereler ile numuneler elde edilmiştir. XRD analizi ile kireç taşının içeriğinde %95'den az kalsit, %5'den fazla quartz ve alçı taşı tespit edilmiştir. pH değerleri, kalsiyum konsantrasyonu, XRD ve SEM analizleri yapılmıştır. Numunelerde gözenek ve boşluk hacmi değişikliklerini izlemek için mercury intrusion porosimetry deneyi uygulanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda *M. xanthus* bakterisi inokule edilmiş ve inokule edilmemiş steril olmayan numunelerde mikrobiyal gelişim saptanmıştır. CaT(aq) analizinde, farklı kültür ortamları karşılaştırıldığında başlangıç ve son kalsiyum karbonat oranı yüksek olan M-3 kültür

ortamı olarak görülmüştür. SEM analizlerinde bakteri aşılansmış M-3 ve M-3P numunelerinin her ikisinde de kalsit oluşumu gözlenmiştir. Boşluk boyutları karşılaştırıldığında uygulama yapılmış numuneler ile uygulama yapılmayan numuneler arasında fazla bir fark gözlemlenmemiştir.

Whiffin ve diğ. (2007) da çalışmalarında bakteri ile zemin iyileştirmesini incelemiştir. Araştırmacılar, beş metrelik kum kolonu oluşturarak düşük bir akım hızında sürekli bakteri aşılması yapmışlardır. 5 metre boyunda olan PVC tüp, içerisindeki akıntının düzgün olması ve içerisinde yığılma olmaması için düşey olarak yerleştirilmiştir. 125-250 µm tane çapı aralığında (kum karakteristikleri: $d_{10}=110$ µm; $d_{50}=165$ µm; $d_{90}=275$ µm) ve kuru yoğunluğu $1,65$ g/cm³ (gözeneklilik %37,8) olan kum kullanılmıştır. Zemine aşılacak tüm maddeler üst kısımdan ilave edilmiştir. Mikroorganizma olarak *Sporosarcina pasteurii* kullanılmıştır. Üre aktivitesi, amonyum konsantrasyonu, kalsiyum karbonat içeriği saptanmıştır. Deney sonucunda basınç dayanımı, gözeneklilik, permeabilite gibi zemin özellikleri belirlenmiştir. Kalsiyum karbonatın varlığının gözenekliliği açık bir şekilde etkilediği görülmüştür. Maksimum kalsiyum karbonat içeriğinde %90'lık bir porozite düşüşü ölçülmüştür. Basınç ve permeabilite deneyleri sonuçlarında da kalsiyum karbonat içeriğinin etkisi görülmüştür. Düşük karbonat içeriğinde kayda değer bir basınç değeri artışı olmamıştır. Yüksek karbonat içeriğinde 570 kPa gibi yüksek bir basınç dayanımı elde edilmiştir. Geçirgenlikte ise kolondan aşağı doğru inildikçe hafif bir düşüş meydana gelmiştir. Sonuç olarak kolonun her yerinde kalsiyum karbonat içeriğine rastlanmıştır ancak bu homojen olarak dağılmamıştır. Üstten aşağı doğru gelindikçe içeriğin giderek azaldığı gözlemlenmiştir. Kalsiyum karbonat oluşumunun zamanla azalmasının, boşluk hacminde giderek azalma meydana gelmesi, kalsiyum karbonat katı çökelti miktarının artması, üre konsantrasyonunun azalması ve tepkime esnasında bakterinin yaşama yeteneğinin azalması gibi faktörlerin etkilediğini düşünmüşlerdir.

Muynck ve diğ (2008a), farklı su/çimento oranına sahip betonlara, bakteriler vasıtası ile yüzeysel uygulama yaparak mukavemet özelliklerinin iyileştirilmesini amaçlamışlardır. Bakteriler dışında geleneksel yüzeysel iyileştirmeler de (Water based dispersion, Silicones, Sodium silicates v.b.) uygulayarak karşılaştırma yapmışlardır. Kalıba dökülen farklı su/çimento oranına sahip beton harçları

analizlerde kullanılması için 27 gün su içerisinde saklanmıştır. Yapılan dayanım testlerinde su/çimento oranları 0,5, 0,6, 0,7 olan numuneler (100x100x100 mm³) sırasıyla 50,3±2,29 MPa, 48,5±1,96 MPa, 42,6±2,26 MPa dayanım değerlerini elde etmişlerdir. Mikroorganizma olarak *B. sphaericus* bakterisi kullanılmıştır. Bakteri ile yapılan uygulama sonucunda su/çimento oranları 0,5 ve 0,7 olan numunelerin tüm derinliklerinde bakteri yoğunluğuna rastlanmıştır. Buradan bakterilerin sadece yüzeyde kalmadığı betonun içerisine de nüfuz ettiği anlaşılmaktadır. Ancak derinlik arttıkça bakterilerdeki yoğunluk da azalma eğilimi göstermiştir. SEM analizi sonucunda yüzeylerde karbonat kristalleri görülmüştür. Karbonat kristalleri tüm bölgeyi kapsamasına rağmen bazı kristal bulunmayan bölümlere de rastlanmıştır. Bu kristallerin boyutları çoğunlukla 10-40 µm aralığında olup bazılarının 100 µm boyutuna kadar ulaştığını göstermişlerdir. Su emmesinde, bakteri uygulanmış numunelerde, bakteri uygulanmayan numunelere göre aşırı bir düşüş göstermiştir. Su/çimento oranı arttıkça zemin boşluklarının artacağı böylece kalsit üretimi ve besin aktarımının rahat olacağını bu durumun daha iyi kalsit üretimini sağlayacağını ifade etmişlerdir.

Muynck ve diğ. (2008b), inşaat materyallerinin korunması için, yüzeylerinin kaplanması gerektiğini böylece zararlı madde ve su girişlerinin önlenebileceğini, bunun geleneksel tekniklerin yerine mikroorganizmalar vasıtası ile de yapılabileceğini düşünmüşlerdir. Tüm çalışmada çimento olarak portland çimentosu (CEM I 52,5) kullanılmıştır. 0,5 su-çimento (w/c) oranına göre oluşturulan prizmalar 28 günlük kürde bekletilmiştir. Gaz permeabilitesi deneyi için 1200x700x50 mm boyutlarında beton tabakadan H=50mm D=150mm olacak şekilde silindirik şekilde delinerek prizmalar elde edilmiştir. *B. sphaericus* ile yapılan uygulamanın geleneksel yüzey uygulamalarıyla karşılaştırılabilmesi için su tutucu ve kaplama özelliği olan başka materyaller denenmiştir. Deney sonucunda SEM analizlerinde yüzeylerin kristallerle (en fazla 100 µm boyunda) kaplı olduğu görülmüştür. XRD analizi sonuçlarında yüzeylerde en çok kalsite rastlanmış bunun yanında az miktarda da vaterit bulunmuştur. Kapiler su emme deneyinde, bakteri ile yapılan uygulama diğer geleneksel uygulamalara nispeten çok daha etkili olmuştur. Gaz geçirgenliği deneyinde oksijen ile yapılan tüm uygulamalarda hemen hemen aynı oranda geçirgenlikte düşüş gözlemlenmiştir.

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

Cheng ve Cord-Ruwish (2012), *Bacillus sphaericus* ile zemin iyileştirmeyi amaçlamışlardır. Zemin olarak saf silika kumu (>0,3 mm: %1,13, 0,212-0,3 mm: %63,39, 0,15-0,212 mm: %29,59, <0,15 mm %5,89) ve iç çapı 4,5 cm uzunluğu 30 cm ve 1 m olan PVC kolonlar kullanılmıştır. Kolonlar silika kumu ile doldurulmuş yoğunluğu 1,61–1,63 g/cm³ ve porozitesi %37,5–38,5 olana kadar sürekli vibrasyona tabi tutulmuştur. Çalışmada kum kolonlarına iki farklı su doygunluk derecesinde uygulama yapılmıştır. İlk olarak zemin suya batırılarak tamamen doymun hale getirilmiştir. İkinci olarak da yüzey süzülmesi ile suya doymun olmayan şartlarda hazırlanmıştır. Doymun olmayan şartlar altında çimentolaşma uygulaması kum kolonlarını dikey pozisyona getirerek üst taraftan bakteri süspansiyonunun ve çimentolaşma solüsyonunun eklenmesi, bunların yerçekimi etkisi ve kapilarite ile iletilmesi şeklinde yapılmıştır. Deney sonucunda toplam amonyum nitrojen konsantrasyonu, biyokütle konsantrasyonu, kalsiyum iyonlarının varlığı ve üre aktivitesinin ölçülmesi gibi faktörler saptanmıştır. Zemin dayanımını ölçmek için cep penetrometresi ve basınç dayanımı testleri uygulanmıştır. 1 m'lik kum kolonlarının farklı kısımlarından örnekler alınarak SEM analizi yapılmıştır. Üre aktivitesi daldırmada %15'lik, süzülmede %30'luk düşüş göstermiştir. Bunu geliştirmek için düşük süzülme oranı ve yüksek kalsiyum konsantrasyonu denenmiş ancak bakterilerin tutunmasını etkilememiştir. Dayanım testlerinde daldırma yöntemi

süzme yöntemine göre çok daha iyi sonuçlar vermiştir. Süzülme yönteminde daha düşük sonuçların alınmasının sebebi olarak kalsiyum karbonat reaksiyonunun daha tamamlanmamış olması (üre dönüşümü daldırma yönteminde %80 süzme yönteminde %40 tamamlanmıştır) ve bakterilerin zemin içerisine çok iyi dağılmamış olması görülmüştür. Sonuç olarak doygun olmayan (su içeriğinin az olduğu) zeminlerde kalsiyum karbonat oluşumunun daha az görüleceğini ifade etmişlerdir.

Li (2013) ise çeşitli özellikte zeminleri *Bacillus pasteurii* ile iyileştirmeyi hedeflemiştir. Zeminler doygun, havada kurutulmuş ve etüvde kurutulmuş olarak hazırlanmıştır. Serbest basınç deneyi, donma çözülme deneyi, XRD, SEM, EDS analizleri yapılmıştır. Serbest basınç deneyi sonuçlarında silika kumu, SM ve SP-SM zeminlerde gelişimler gözlemlenmiştir. Silika kumu diğer zeminlere göre çok daha iyi sonuçlar vermiştir. İki kez uygulama yapıldığında zemin dayanımları daha da artmıştır. En iyi sonuçlar etüvde kurutulmuş zeminlerde elde edilmiştir. Zeminlere yapılan bakteri aşılama sayısı arttıkça daha da iyi sonuçların alınacağı düşünülmüştür. Ayrıca zeminlerde silt ve kil oranı arttıkça dayanımın düştüğü görülmüştür. Silika kumunda kil ve silt bulunmadığından diğer zemin örneklerinden çok daha iyi sonuç vermiştir. Zeminde donma-çözülme etkisi araştırılmış cıva deneyi ile zemin boşluklarının azaldığı gözlemlenmiştir. 5-6 kez uygulama yapılmış zemin numunelerinde daha düşük gözenek değeri elde edilmiştir. SEM ve XRD testleri ile tane yüzeylerinin kaplandığı ve donma çözülme deneyi sonucunda zemin numunesinin olumlu etkilendiği rapor edilmiştir. Bernardi ve diğ. (2014) ise bakteriler vasıtasıyla kumları kumtaşlarına çevirmeye çalışmışlardır. Çalışmada bakteri olarak *Sporosarcina pasteurii*, zemin olarak da silika kumu (D50=0,42 mm, Cu=2,6 Cc=1,2 Gs=2,6 emin=0,5 emax=0,8) kullanılmıştır. Zemin standart kırmızı tuğlalara benzer boyutlarda PVC'den imal edilmiş 91x58x200 mm boyutlarında kalıba yerleştirilmiştir. Bakteriler süzülme yolu ile üstten aşılansın altta bırakılan delikler ile de fazla besiyerin dışarı süzülmesi sağlanmıştır. Bekleme süresi, aşılama sayısı, aşılama aralığı her zeminde farklı uygulanmıştır. Boyuna dalga hızı, serbest basınç deneyi ve kalsit ölçümü deneyleri yapılmıştır. Tuğlalarda üstten alta doğru gelindikçe gelişimin azaldığı görülmüş, bekleme süresi arttıkça de gelişimde artış gözlemlenmiştir. Basınç deneyleri sonucunda 1 MPa ile 2 MPa arasında dayanım değerlerine sahip olduklarını belirlemişlerdir.

2.2 Yüksek lisans tezinin amaçları

1-Denizli’de Kalsiyumca zengin olan Karcı Dağında bulunan İsrafil Deresi ve çevresinden alınan toprak ve su örneklerinden üreolitik bakteriler izole etmek,

2- Bakterilerin kalsiyum karbonat mineralizasyon yeteneklerini incelemek,

3- İzolatlar arasından seçilen bir bakterinin karbonat çökelim optimizasyon şartlarını belirlemek,

4- Mineralojik analizleri yapılarak bakteriyel kalsit mineral tipini belirlemek,

5- Yerel bir izolatın kumlu zeminlerin iyileştirilmesinde kullanım potansiyeli hakkında bilgi elde etmek.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Mikrobiyolojik Analizler

3.1.1 Toprak örnekleri

Bakterilerin izole edildiği toprak örnekleri, kalsiyum karbonatça zengin olan Denizli-Karcı Dağı İsrail Deresi ve çevresinden temin edilmiştir. Örnekler, aseptik koşullara uyularak yaklaşık olarak 10-20 cm derinlikten alınmış ve steril amber renkli şişelerde Bakterioloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. Örneklerin tümü bakteri izolasyonuna kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. Toprak örnekleri ve alındığı zonlar Tablo 3.2'de verilmiştir.

3.1.2 Bakteri İzolasyonu ve İdentifikasyonu

3.1.2.1 Toprak örneklerinin hazırlanması

10 g toprak örneği steril şartlarda tartılarak 90 ml'lik %0,85 serum fizyolojik içerisinde homojenize edilip, 80° C'deki sıcak su banyosunda 20 dakika bekletilmiş ve vejetatif formundaki bakteri hücrelerinin ölmesi sağlanmıştır. Toprak numunelerinin ondalık dilüsyonları (10^{-1} - 10^{-10}) ise 9,0 ml %0,85 serum fizyolojik suda süspanse edilerek hazırlanmıştır.

Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan toprak örnekleri.

Alınan Toprak Özelliği	Toprak kodu
Dip zon toprağı	T1
Doldurulmuş toprak alt zon	T2
Su kenarı killi toprak	T3
Doldurulmuş toprak üst zon	T4
Suya yakın toprak	T5
Üst zon toprağı	T6

3.1.2.2 Bakteri izolasyonu

Üreolitik aktiviteye sahip *Bacillus* cinsi bakteri izolasyonu için Üre Broth ve Üre Agar besiyerleri kullanılmıştır. Besiyerindeki turuncudan pembeye renk değişikliği üre hidrolizini göstermektedir. İzolasyon aşamasında kontrol bakterisi olarak, üreaz pozitif *Proteus vulgaris* ATCC 96026 ve üreaz negatif *Micrococcus flavus* suşları kullanılmıştır (Fujita ve diğ. 2000).

Üre Broth ve Üre Agar içeriği: (g/L); Pepton 1; Glukoz 1; NaCl 5; Na₂HPO₄ 1,2; KH₂PO₄ 0,8; Fenol red 0,012; Agar Agar 17. Besiyeri içerikleri tartılarak distile suda (dH₂O) çözülmüştür. Besiyerinin pH'sı 6.8 ± 0.2'e ayarlanarak 115°C'de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir. Son olarak bu besiyerine, disposable filtre (0,2 µm, Sartorius) ile steril edilerek hazırlanan %40'luk üre stoğundan 100 ml besiyerinde 5 ml olacak şekilde üre ilave edilmiştir. Sıvı besiyeri bakterilerin aktifleştirilmesinde kullanılmıştır.

Dilue edilen toprak örnekleri Üre Agar' a 100 µl aktararak yayma ekim yapılmıştır. Petriler 20 ve 37° C' lerde 24- 48 saat arasında inkübe edilmiştir.

3.1.2.3 Bakterilerin stoklanması

İnkübasyon sonucunda üreaz pozitif olan koloniler mikroskopta incelenmiş ve basil morfolojisine sahip endospor içeren suşlar +4 C'de buzdolabında stoklanmışlardır. Yatık besiyeri olarak Nutrient Agar (Merck) kullanılmıştır.

3.1.3 Bakterilerin tanımlanması

Üreaz aktivitesi yüksek izolatlar arasında yüksek olan suşların 16S rRNA sekans analizleri Gazi Üniversitesi Yaşam Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne gönderilerek yapılmıştır.

3.1.4 Kalsiyum karbonat mineralizasyonu

3.1.4.1 Mineralizasyon ortamı

Kalsiyum mineralizasyon ortamı (KMO) içeriği: 3,0 g/l Nutrient Broth (Merck), 25 mM CaCl₂, 25 mM NaHCO₃ ve 333 mM üre (Ferris ve diğ. 1996). Besiyeri pH 6,5'a ayarlanmış ve 121° C'de otoklavda 15 dakika sterilizasyonu yapılmıştır (Whiffin ve diğ. 2007).

3.1.4.2 Kalsiyum karbonat miktarının belirlenmesi

Nutrient Broth sıvı besiyerinde aktifleştirilen bakteriler, KMO ortamına %10 oranında ekilerek 37° C'de inkübe edilmiştir. Bakterilerin 5., 7., 10. ve 15. günlerde ürettiği kalsiyum karbonat miktarı EDTA titrimetrik yöntemine göre belirlenmiştir (APHA 1989).

3.1.4.3 EDTA titrimetrik yöntemi

a) Tampon Çözelti Hazırlanışı:

1,179 g Na₂EDTA.2H₂O ve 780 mg MgSO₄.7H₂O tartılır, 50 ml dH₂O'da çözülmesi sağlanır. 16,9 g NH₄Cl ve 143 ml yoğun NH₄OH (amonyum) çözeltiye ilave edilerek 250 ml'ye dH₂O ile tamamlanır.

b)İndikatör Çözelti:

0,5 g Eriochrome Black T ile 100 g NaCl karıştırılarak kullanıma hazırlanmıştır.

c)Standart EDTA Çözeltisi:

3,723 g EDTA disodyum tuzu dihidrat 1000 ml dH₂O içerisinde çözülür.

Titrasyon Basamakları:

- 25 ml numune üzerine 1 ml Tampon Çözelti ilave edilerek pH 10.00 ayarlanır.
- Numune içerisine toz halinde olan indikatör karışımından spatül ucunda eklenir (İndikatör numunede pembe renk oluşturmaktadır).
- Standart EDTA Çözeltisi ile titrasyon işlemi yapılır.

- Pembe olan numune rengi mavi renge dönüşene kadar titrasyona devam edilir.
- Harcanan EDTA miktarı alınarak aşağıda bulunan hesaplama kullanılarak CaCO₃ miktarı saptanır.

$$\text{Hesaplama: Mg CaCO}_3 = \frac{V1.M.1000}{V2}$$

V1: Harcanan EDTA

M: 1 ml EDTA= 0,96 mg CaCO₃

V2: Alınan numune miktarı (ml)

3.1.4.4 Kalsiyum Karbonat Çökelimine Etki Eden Şartlar

Üre konsantrasyonu (100, 200, 250, 300, 333 ve 350 mM), başlangıç pH'sı (5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5) ve sıcaklığın (20, 25, 30, 37 ve 42 °C) karbonat çökelimine etkisi araştırılmıştır.

3.2 Mineralojik Analizler

3.2.1 Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizleri

Bakteriyel kalsiyum karbonatlı oluşumların kristalin ve amorf doğasını, dokusal ve biyokimyasal özelliklerini incelemek ve bakterilerin kalsit minerilizasyonu yaptığını doğrulamak amacıyla SEM analizleri de yapılmıştır. Altın ile kaplanan örnekler, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü'nde (İzmir, Türkiye) QUANTA FEG 250 Scanning Elektron Mikroskop kullanılarak incelenmiştir.

3.2.2 X- Işınları Kırınımı (XRD)

X-ışınları kırınımı (XRD) birçok bilimsel alanda çeşitli materyaller için kullanılan yöntemlerden birisi olup, angstrom (Å) veya nanometere (nm) ölçeğinde atom veya atomik düzlemler (d_{hkl}) arasındaki mesafelerin ölçümüne imkan sağlamaktadır. XRD yöntemiyle iç yapısı bilinmeyen bir materyalin kristal yapısı belirlenebilmektedir. Bu yöntem inorganik kristalin maddelerin yanı sıra vitamin, ilaç, protein ve nükleik asid gibi birçok biyolojik madde için de uygulanmaktadır. Bu tez çalışmasında Bruker D8 Advance (İstanbul Teknik Üniversitesi) marka ve model cihaz kullanılmıştır. Cihazda Ni filtreli $CuK\alpha$ ışınması ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$) kullanılmış ve çekim aralığı $2\theta=5-80^\circ$ ayarlanmıştır.

3.2.3 Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Termogravimetrik analiz (TGA)

Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Termogravimetrik analiz (TGA), sabit hızla artan sıcaklıkla birlikte maddenin fiziksel ve biyokimyasal özelliklerindeki değişimlerin termal analiz yöntemidir. Bu yöntem maddelerin oksitlenmesi, yıkılmasıyla ilişkili kütle (veya ağırlık) kayıp ve kazanımları veya uçucuların kaybı şeklinde özellikle polimer türü malzemelerde yaygın kullanım alanı bulmaktadır. DTA-TGA incelemeleri Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü laboratuvarı DTA-TGA laboratuvarında Perkin Elmer SII-Diamond marka ve model cihazda, $10^\circ\text{C}/\text{dakika}$ ısıtma oranıyla $30-1000^\circ\text{C}$ aralığında nitrojen atmosfer koşullarında gerçekleştirilmiştir.

3.3 Biyoenjeksiyon ve Jeoteknik Çalışmalar

Deneyde kullanılacak zemin örnekleri Denizli kent merkezinde yaygın olarak bulunan kumlu birimlerden seçilmiştir. Bu tür zeminler Denizli kent merkezinin güneyinde bulunan metamorfik kayalardan türemekte olup oldukça geniş

bir yayılıma sahiptir. Laboratuvar ortamında elek analizi yapılarak #40 nolu elekten geçen ve #200 nolu elekte kalan tane boyu dağılımına sahip örnekler yaklaşık 5-6 cm çap ve 10-12 cm boyunda plexiglass/plastik silindirik tüplere konulmuştur. Tüpler zemin hareketini önlemek için alt ve üstten sert filtre ile kapatılmıştır. Bakteri içeren sıvı üstten 0, 25, 50 ve 100 kPa basınç altında enjekte edilmiştir. Basınç tercihen peristaltik prensiple çalışan 100 mL/dk ve 200 kPa kapasiteli pompa düzeneği ile elde edilmiştir. Enjeksiyon süresi 120 dakika, sıvı miktarı 2 mL/dakikadır. Döngü üç defa tekrarlanmıştır. Mikrobiyal enjeksiyon sonrası çimentolanma işlemi gerçekleşen örneklerin tek eksenli basınç dayanımı ve elastisite modülü hesaplanmıştır. Ayrıca örneklerin enjeksiyon öncesi ve sonrası sabit ve düşen seviyeli permeabilite ile geçirimsizlikleri tespit edilmiştir. Bu yöntemle dayanım ve permeabilite ile enjekte edilen sıvı miktarı, enjeksiyon basıncı ve enjeksiyon süresi arasındaki korelasyonlar belirlenmiştir.

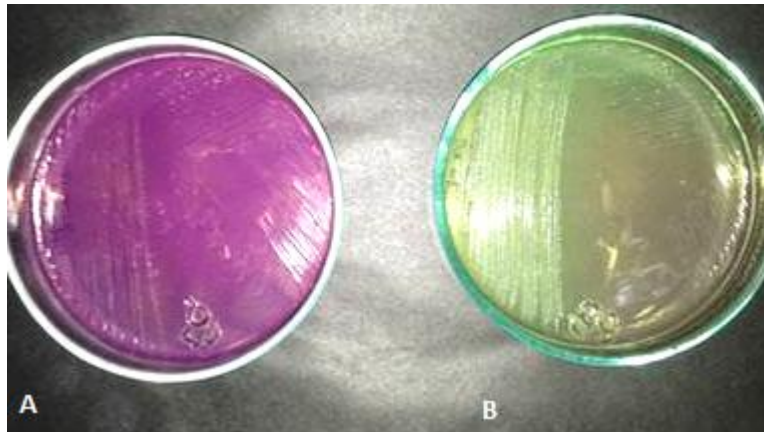
4. BULGULAR

4.1 MİKROBİYOLOJİK ANALİZLER

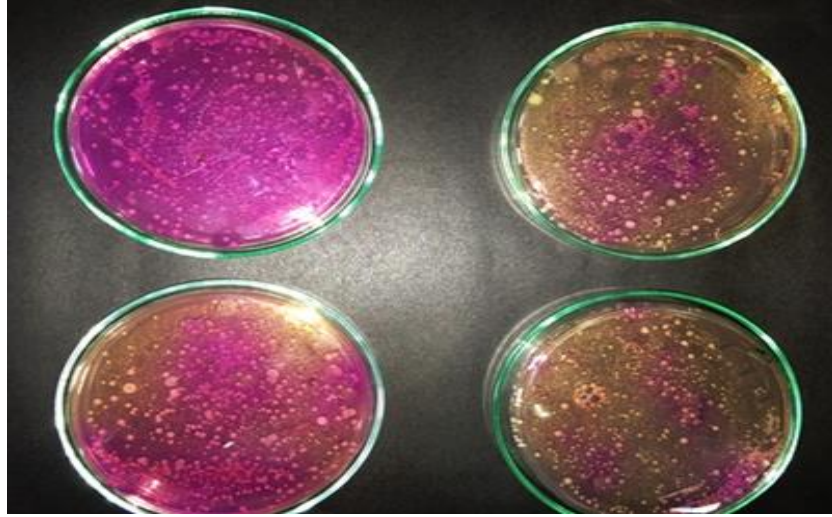
4.1.1 Bakteri İzolasyonu ve İdentifikasyonu

4.1.1.1 Bakteri İzolasyonu

Farklı zonlardan alınan toprak örnekleri 20°C ve 37°C’de, üreaz pozitif ve üreaz negatif olarak kullandığımız kontrol bakteri suşları ise optimal gelişme sıcaklıklarında, Üre Agar’a ekilerek inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyerinde oluşan renk değişimine göre izolatlar üreaz pozitif ve üreaz negatif olarak ayrılmışlardır. Pembe renkli koloniler üreaz pozitif bakteriler olup buzdolabında çalışmalarda kullanılmak üzere stoklanmışlardır. Besiyerinde gözlenen renk değişimi Şekil 4.5’ te, toprak örneklerinden inoküle edilen üreaz pozitif ve negatif koloniler ise Şekil 4.6’da gösterilmiştir.



Şekil 4.4: Üreaz pozitif ve negatif kontrol bakterilerin Üre Agar’daki görünüşleri. A: *Proteus vulgaris* (pozitif kontrol, pembe), B: *Micrococcus flavus* (negatif kontrol, sarı).



Şekil 4.5: Üre agara ekilen toprak örneklerinde üreaz aktivitesi olan koloniler.

Pembe kolonideki suşlar mikroskop altında incelenmiş, çubuk ve endospor formunda olan izolatlar stoğa alınarak buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmişlerdir. Stoğa alınan suşlar ve kodları Tablo 4.3'te verilmiştir. Bakterilerin üreaz aktivitesi taraması, Üre Agardaki renk koyuluğuna göre yapılmış olup, koyu pembe koloniler üreaz aktivitesi yüksek (+++), pembe koloniler üreaz aktivitesi iyi (++), açık pembe koloniler üreaz aktivitesi düşük (+) ve renksiz koloniler üreaz aktivitesi yok (-) olarak değerlendirilmişlerdir. Tarama sonuçları Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3: Toprak örnekleri, izole edilen bakterilerin kodları ve üreaz aktivitesi taraması.

Alınan Toprak Özelliği	İzole Edilen Bakteri Kodu	Üreaz Aktivitesi
Dip zon toprağı (T1)	T1-3	+++
	T1-11	+
Doldurulmuş toprak alt zon (T2)	-	-
Su kenarı killi toprak (T3)	-	-
Doldurulmuş toprak üst zon (T4)	T4-5	+++
	T4-3	+++
	T4-12	++
	T4-7	+
Suya yakın toprak (T5)	T5-2	+
Üst zon toprağı(T6)	T6-7	+++
	T6-4	++
	T6-52	+

+++ : çok iyi

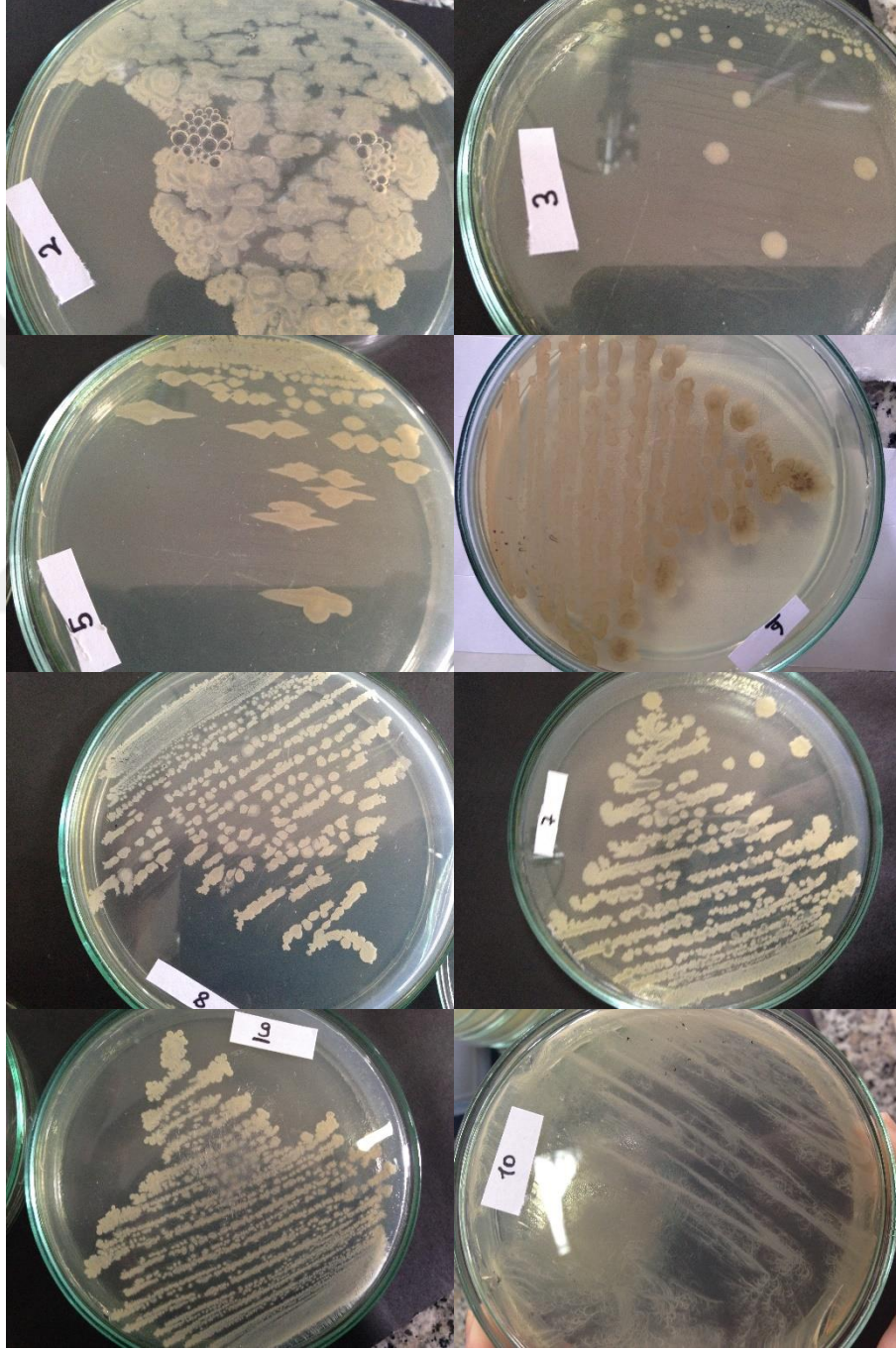
++ : iyi

+: düşük

-: yok

4.1.1.2 Bakterilerin İdentifikasyonu

Nutrient Agarda stoklanan ve petriye alınan (Şekil 4.6) üreaz aktivitesine sahip bakterilerin 16S rRNA sekans analizine göre teşhis ve tanımlaması Gazi Üniversitesi MOBAM’da yaptırılmıştır. Sekans sonuçları ve kodları Tablo 4.4’ te verilmiştir.



Şekil 4.6 : Bakterilerin Nutrient Agar’da koloni görünüşler

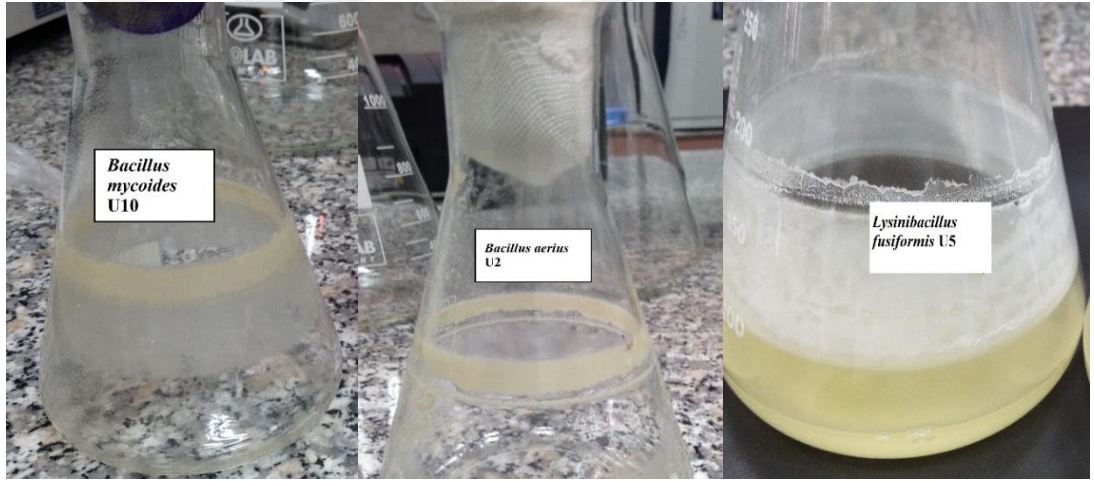
Tablo 4.4: 16S rRNA sekans analizleri sonucu identifiye edilen bakteri suşları.

Yeni kod	Izolasyon kodu	Suş adı	% Homoloji	Morfoloji tipi
U1	T6-V22	<i>Lysinibacillus fusiformis</i> DSM 2898	%100	Basil (vejetatif form)
U2	T4-5	<i>Bacillus aerius</i> HPCQF13	%100	Basil (sporlu)
U3	T1-3	<i>Paenibacillus favisporus</i> T2	%99	Basil (sporlu)
U4	T4-3	<i>Bacillus megaterium</i> UF10	%99	Basil (sporlu)
U5	T6-7	<i>Lysinibacillus fusiformis</i> N131	%100	Basil (sporlu)
U6	T6-V11	<i>Bacillus atrophaeus</i> GLPB6	%99	
U7	T6-4	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> LFB112	%100	Basil (sporlu)
U8	T4-12	<i>Bacillus tequilensis</i> MD68	%100	Basil (sporlu)
U9	T6-52	<i>Bacillus licheniformis</i> DH-23	%99	Basil (sporlu)
U10	T1-11	<i>Bacillus mycoides</i> BGSC 6A19	%100	Basil (sporlu)

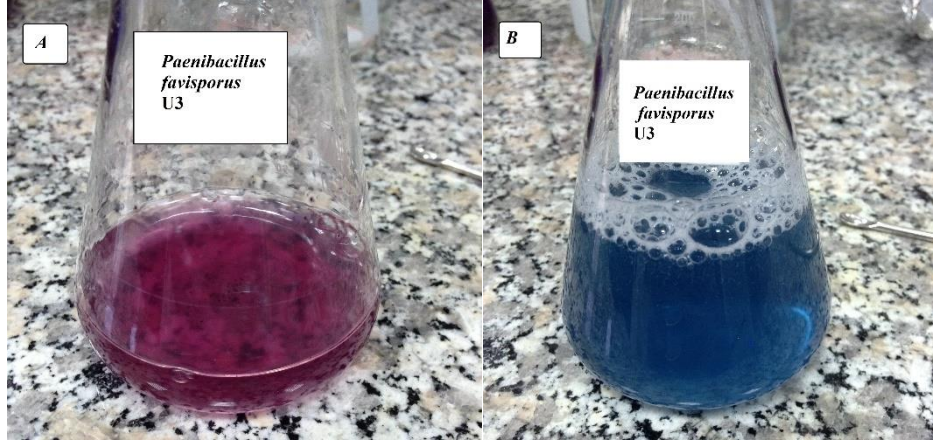
4.1.2 Kalsiyum Karbonat Mineralizasyonu

4.1.2.1 Üreolitik Bakterilerin Taranması

Stoğa alınan Tablo 4.4'teki bakterilerden sporlu suşlar KMO besiyerine aktarılarak, 37° C ve pH 6,5'da inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon zamanına göre izolatların kalsiyum karbonat mineralizasyon miktarları EDTA titrimetrik yöntemle belirlenmiştir. En yüksek kalsiyum karbonat çökelimi yapan bakterilerin *Bacillus aerius* U2, *Paenibacillus favisporus* U3, *Lysinibacillus fusiformis* U5 ve *Bacillus mycoides* U10 nolu suşlar oldukları tespit edilmiştir. Şekil 4.7 ve 4.8'de ilgili bakterilerin erlenlerde ürettikleri kalsiyum karbonat halkaları ve EDTA titrimetrik yöntemle renk değişimi görülmektedir.



Şekil 4.7: 37 °C ve pH 6,5'de inkübasyon sonrası erlen cidarında kalsiyum karbonat halkaları.



Şekil 4.8: EDTA titrimetrik yöntemi uygulanan KMO'da *Paenibacillus favisporus* U3. (A) Titrasyon öncesi indikatör maddenin oluşturduğu pembe renk, (B) Titrasyon sonrası gerçekleşen renk değişimi.

EDTA titrimetrik yöntemi ile kalsiyum karbonat miktarı belirlenen identifiye suşların değerleri Tablo 4.5' te verilmiştir.

Tablo 4.5: İdentifiye üreolitik bakterilerin KMO besiyerinde kalsiyum karbonat kapasiteleri (mg/L).

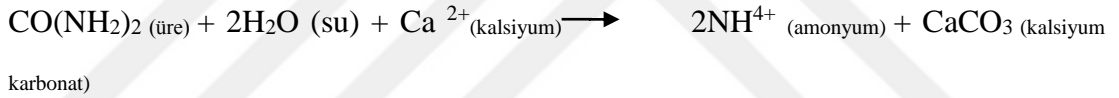
Bakteri kodu	5. gün	7. gün	10. gün	14. gün
U3	920.448	1181.57	1474.56	1372.8
U4	442.36	513.792	623.23	480
U2	1295.232	1160.45	1304.06	712.7
U5	122.11	420.10	591.74	581.38
U7	1751.04	1153.92	1087.68	1277.76
U8	917.76	1037.12	1104.64	1129.76
U9	1027.84	1024.64	1120.64	736
U10	920.64	1044.8	1280	1397.44

4.1.2.1 Optimizasyon Çalışmaları

Optimizasyon çalışmalarında kullanılmak üzere *Bacillus aerius* U2 bakterisi seçilmiştir. Bakterinin en iyi kalsiyum karbonat çökeli mi yaptığı kültür şartlarının belirlenmesi için üre konsantrasyonu, pH, inkübasyon zamanı ve sıcaklık araştırılmıştır.

4.1.2.1.1 Üre Konsantrasyonu

Üre, kalsiyum karbonat çökeli mi ni etkileyen önemli parametrelerden biridir. Ortamda üre ve kalsiyum bulunduğunda amonyum açığa çıkar ve kalsiyumun fazlası kalsiyum karbonat olarak çökeli mi r. Reaksiyon denklemi aşağıda verilmiştir:



Karbonat çökeli mi ne üre konsantrasyonunun etkisinin belirlenmesi için *Bacillus aerius* U2 bakterisi 100, 200, 250, 300, 333 ve 350 mM üre içeren besiyerinde 37°C ve pH:6,5' ta inkübe edilmiştir. Farklı inkübasyon zamanlarında (5., 7., 10. ve 14. gün) kalsiyum karbonat çökeli mi EDTA titrimetrik yöntemine göre tespit edilmiştir. Bakteri, 300 mM üre konsantrasyonu varlığında en yüksek karbonat çökeli mi ni 14. günde yapmıştır (1319,84±37,92 mg/L). Sonuçlar Tablo 4.6 'da verilmiştir.

Tablo 4.6 : Farklı üre konsantrasyonlarında *Bacillus aerius* U2 bakterisinin kalsiyum karbonat çökelimi (mg/L, 37 C, pH:6.5).

Üre konsantrasyonu	5. gün	7. gün	10. gün	14. gün
100 mM	1189,44±46,4	1140,96±3,68	1274,72±28,96	1142,24±61,6
200 mM	1084,32±66,4	848,16±78,88	1193,92±15,04	1149,28±70,88
250 mM	942,4±20,48	916,32±27,36	989,92±83,04	1086,88±60,96
300 mM	1280,32±85,44	1020,32±9,76	1026,24±44,16	1319,84±37,92
333 mM	1147,2±68,16	1074,08±21,6	933,92±21,6	1148±158,88
350 mM	1156,96±68	952,96±81,6	1091,2±106,88	1133,92±153,76

4.1.2.1.2 Sıcaklık

Çalışmanın bu aşamasında, karbonat çökelimine sıcaklığın etkisi araştırılmıştır. Bakteri 20, 25, 30, 37 ve 42°C sıcaklıklarda inkübe edilmiştir. Üre konsantrasyonu 300 mM olup besiyerinin pH'sı 6.5'a ayarlanmıştır. Sonuçlar Tablo 4.7'de verilmiştir. *Bacillus aerius* U2 bakterisi inkübasyonun 7. gününde, 300 mM üre ve 20°C'de maksimum 1756,32±438,56 mg/L oranında karbonat çökelimine ulaşmıştır.

Tablo 4.7: *Bacillus aerius* U2 bakterisinin kalsiyum karbonat (m/L) çökelimine sıcaklığın etkisi (300 mM üre, pH:6,5).

Sıcaklık (°C)	5.gün	7. gün	10. gün	14.gün
20	748,16±49,28	1756,32±438,56	1272,64±31,04	753,6±45,76
25	600±23,68	1389,44±79,68	832,8±31,2	584,64±81,6
30	718,4±11,84	1188,48±97,92	1113,92±5,76	589,12±126,72
37	1280±85,44	1020,32±9,76	1026,24±44,16	1319,84±37,92
42	663,36±68,8	1303,2±395,68	1344,32±5,76	978,08±48,48

4.1.2.1.3 pH

Çalışmanın bu aşamasında, bakterinin kalsiyum karbonat çökelimine pH'nın etkisinin belirlenmesi amacıyla besiyerinin başlangıç pH'sı 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 ve 7.5'a ayarlanmıştır. 300 mM üre içeren besiyerine inoküle edilen bakteri 20 °C'de geliştirilmiştir. Farklı inkübasyon zamanlarında ölçümler yapılmıştır. Ölçümler sonucunda bakterinin maksimum mineralizasyona 5. günde ve pH 5.5'te (2483,36±207,12 mg/L) ulaşmıştır (Tablo 4.8).

Tablo 4.8: *Bacillus aerius* U2 bakterisinin kalsiyum karbonat (mg/L) mineralizasyonuna pH'ın etkisi (300 mM üre, 20 °C).

pH	5.gün	7.gün	10.gün	14.gün
5.0	2078,72±235,68	1580,96±401,52	2030,88±225,60	996,8±184,80
5.5	2483,36±207,12	2356,16±174,72	1951,04±10,08	1825,76±308,40
6.0	2361,44±42,96	2013,76±24	1906,24±151,20	1574,52±84
6.5	1658,56±165,60	1560,48±32,40	1410,72±13,20	864,96±127,20
7.0	1285,28±449,52	1416,64±86,40	1614,4±364,32	1140,48±55,20
7.5	1489,12±170,16	1735,68±38,88	1344±27,36	1557,76±0,00

4.1.2.2 Kalsiyum karbonat mineralizasyonu optimum şartları

Bacillus aerius U2 bakterisinin en iyi kalsiyum karbonat çökelimi yaptığı parametreler Tablo 4.9' da verilmiştir. Bakteri 300 mM üre içeren KMO besiyerinde başlangıç pH'sı 5,5 ve gelişme sıcaklığı 20 C'de ilk 5. günde maksimum kalsiyum karbonat çökelimi yapmaktadır.

Tablo 4.9: *Bacillus aerius* U2 bakterisinin en iyi kalsiyum karbonat çökelimi yaptığı parametreler.

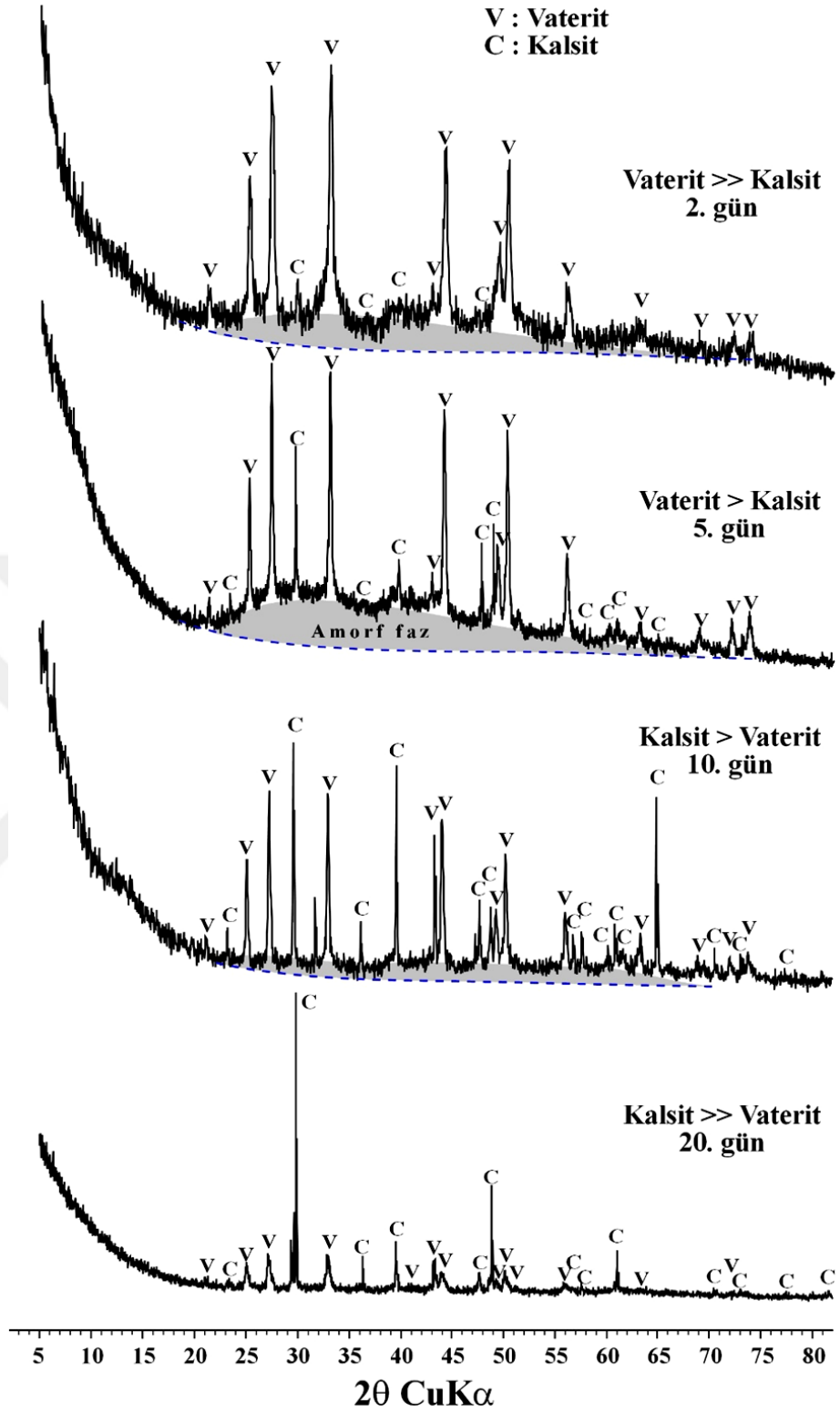
Üre Konsantrasyonu	Sıcaklık	pH	Zaman
300 mM	20°C	5.5	5. gün

4.2 Mineralojik Analizler

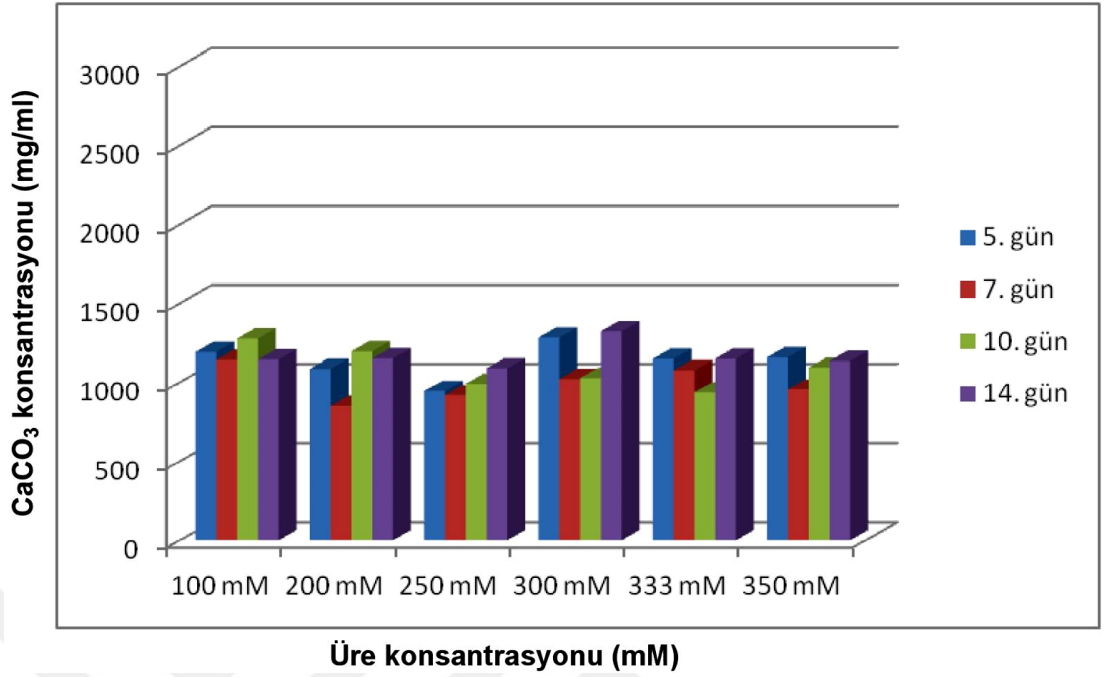
4.2.1 X-Işınları Kırınımı (XRD) İncelemeleri

Mikrobiyal kalsiyum karbonat oluşumlarının kristal yapısını (kristalin, yarı-kristalin, amorf) ve mineralojik bileşimini incelemek amacıyla U2 (*Bacillus aerius*) bakterisi tarafından üretilen karbonat oluşumlarının XRD incelemeleri yapılmıştır (Şekil 4.9).

İnkübasyon süreleri (2, 5, 10 ve 20 gün) açısından değerlendirildiğinde; sürenin kalsiyum karbonat oluşumlarının mineralojik bileşimi önemli ölçüde etkilediği dikkati çekmektedir. Şekil 4.9' da görülebileceği üzere, inkübasyon süresi arttıkça vaterit ve amorf madde (EPS) miktarı azalmakta, kalsit miktarı artmaktadır. Diğer bir ifadeyle artan süreyle birlikte amorf madde miktarı azalmakta, 20. günde bütünüyle kristalin faz egemen olmaktadır. Mikrobiyolojik çalışmalara göre artan inkübasyon süresi kalsit/vaterit oranının yanı sıra CaCO_3 konsantrasyonunu da artırmakta olup, 300 mM üre konsantrasyonunda maksimum değere ulaşmaktadır (Şekil 4.10).



Şekil 4.9: *Bacillus aerius* U2 bakterisi tarafından üretilen kalsiyum karbonatlı ürünlerin inkübasyon sürelerine göre X-ışınları kırınımı desenleri. Gri alanlar amorf fazı (EPS) temsil etmektedir.

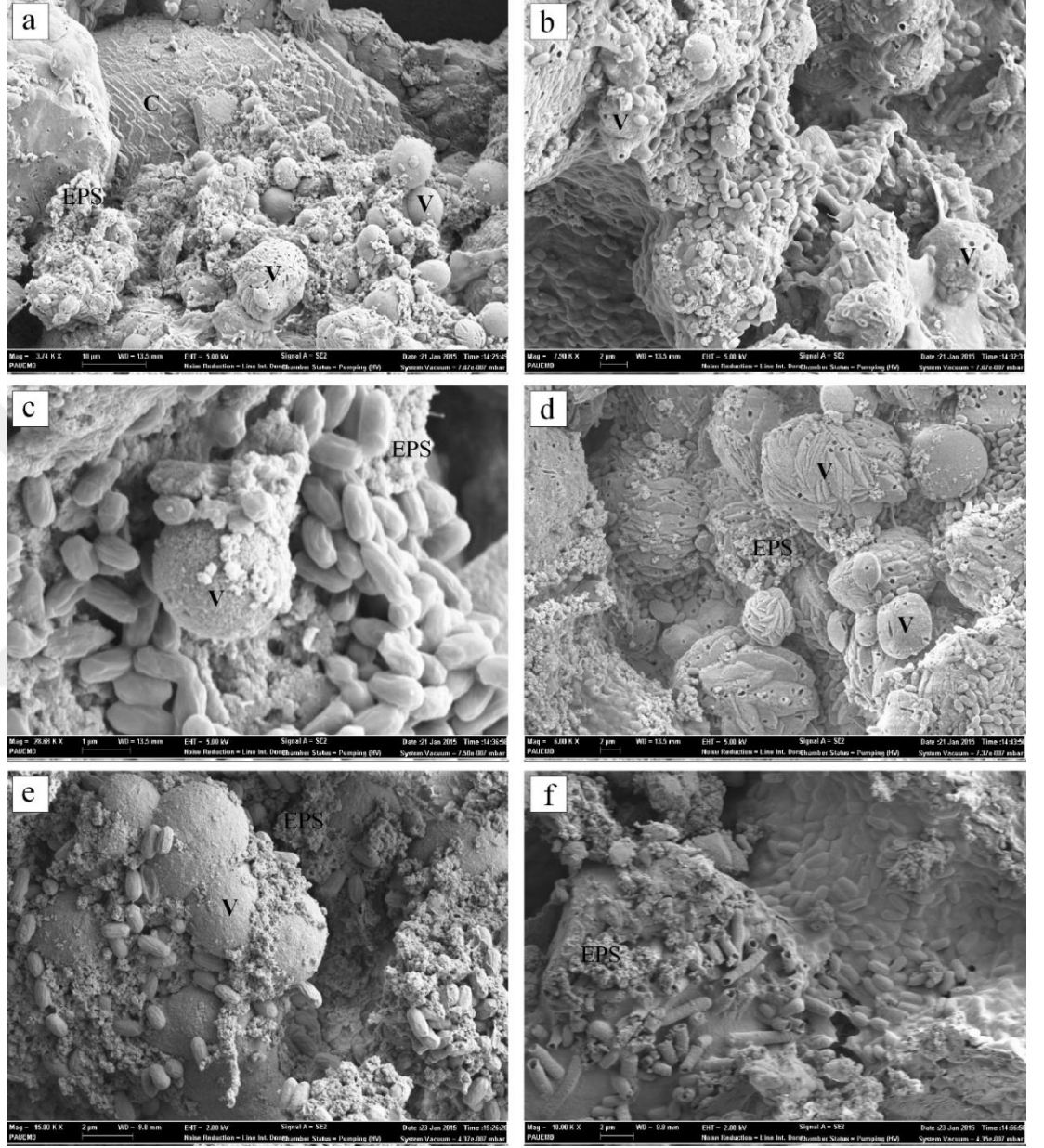


Şekil 4.10: *Bacillus aerius* U2 için uygulanan farklı inkübasyon süresi ve üre konsantrasyon koşullarının kalsiyum karbonat konsantrasyonları (mg/ml) üzerine etkisi.

4.2.2 Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) İncelemeleri

U2 örneğindeki mikrobiyal kalsiyum karbonatlı oluşumların kristalin ve amorf doğasını ve dokusal özelliklerini incelemek amacıyla SEM incelemeleri yapılmıştır (Şekil 4.11). SEM görünümüne göre ultra-mikrokristalin vateritlerin küresel oluşumlar sergiledikleri, vaterit oluşumlarının üzerinde veya arasındaki boşluklarda ise ince taneli ($< 0.1 \mu\text{m}$) amorf veya zayıf-kristalin topluluklar izlenmiştir. Bu oluşumlar, XRD incelemelerindeki amorf faz olarak belirtilen Ekstraselular Polimerik Substance (EPS) oluşumları şeklinde tanımlanabilir. Nitelikim bakteriyel EPS oluşumları literatürde yaygın olarak bilinmektedir (Mota ve diğ. 2013; Tourney ve Ngwenya 2009; Tourney ve diğ. 2008). EPS ve vateritlerle birlikte özşekilli rombohedral kristalin kalsit oluşumları da gözlenmektedir (Şekil 4.11a). SEM incelemeleri XRD incelemelerine göre belirlenen vateritlerin küresel, amorf

fazın ince-taneli topluluklar şeklinde olduğunu, bakterilerin 1 µm uzunluğunda elipsoidal tüpsü şekilde olduğunu göstermiştir (Şekil 4.11b-f).

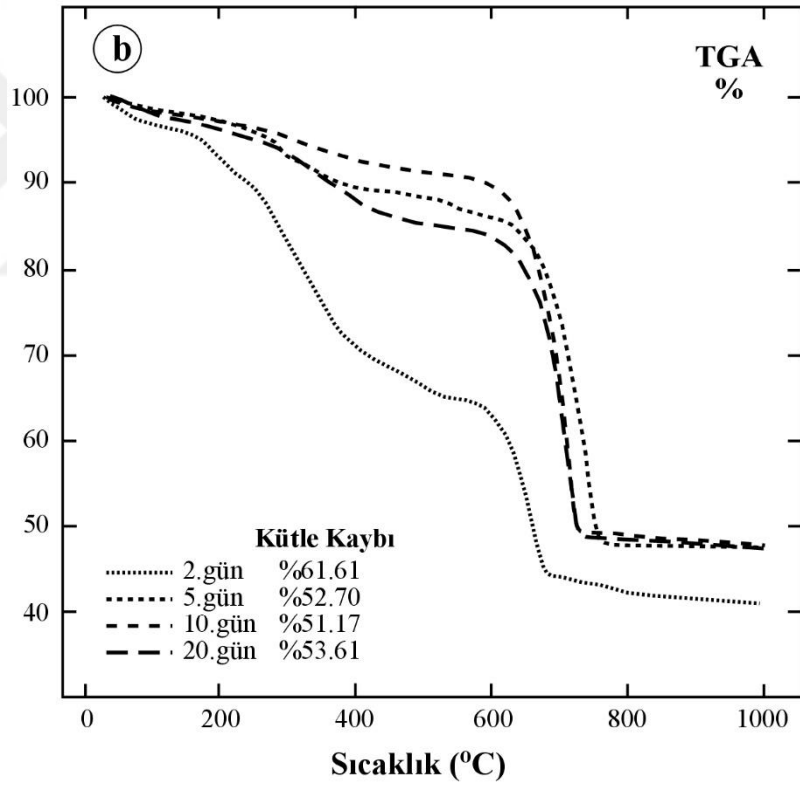
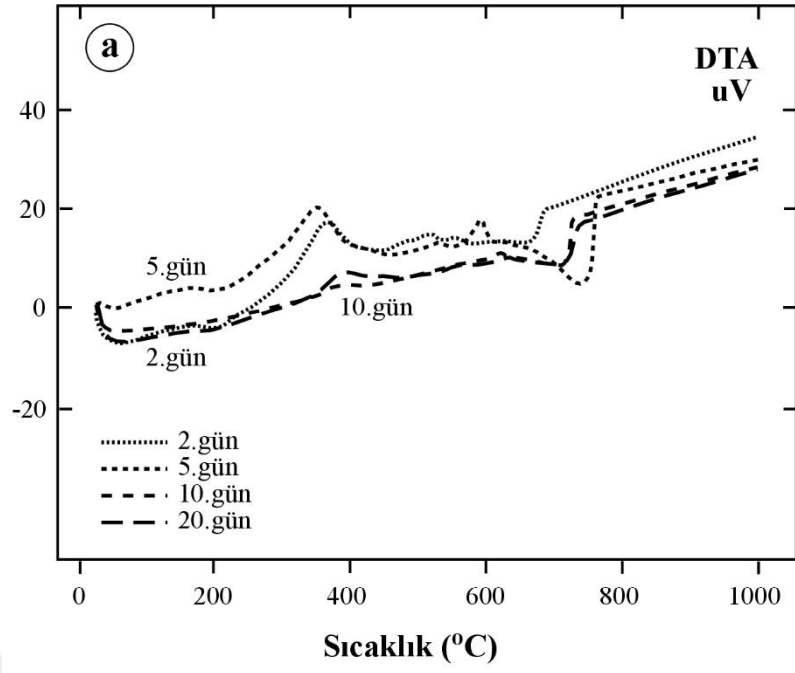


Şekil 4.11: Mikrobiyal karbonat oluşumlarının SEM mikrofotografaları. (a) Trigonal kalsitler (C), yuvarlağımsı vateritler (V) ve ince taneli polimerik (EPS) oluşumları, (b-e) Elipsoidal bakteriler (1µm) yuvarlağımsı vateritler (V) ve ince taneli EPS oluşumları, (f) elipsoidal bakteriler ve tüpsü koloni oluşumları.

4.2.3 Termo Gravimetrik Analiz (TGA) İncelemeleri

Bakteriyel karbonat ürünlerinin inkübasyon sürelerine göre termal değişimlerin belirlenmesi amacıyla DTA ve TGA incelemeleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.12). DTA eğrilerine göre örnekler 300-400 °C arasında yeni faz oluşumuyla ilgili ekzotermik (ısı veren), 700-800 °C arasında endotermik (ısı alan) pikler sunmaktadır (Şekil 4.12a). İnkübasyon süreleri endotermik ve ekzotermik pik şiddetlerini etkilemekte olup, artan süreyle birlikte pik şiddetleri azalmaktadır. Diğer taraftan 2. ve 5. gün örnek çifti ile 10. ve 20. gün örnek çiftleri benzer eğriler sunmaktadır.

TGA eğrilerine göre örnekler 30-600 °C ile 600-800 °C olmak üzere başlıca iki ağırlık kaybı sunmaktadır (Şekil 4.12b). Amorf ve yarı-kristalin fazların (EPS) yıkılmasını işaret eden 30-600 °C arasında, 2. gün örneği en çok, diğerleri ise en az ağırlık kaybına uğramıştır. 600-800 °C arasında gelişen ani ağırlık kaybı kristalin fazların (kalsit ve vaterit) yıkılmasına karşılık gelmektedir. İnkübasyon süresindeki artışla birlikte 30-600 °C arasında ağırlık kaybı belirgin biçimde azalmaktadır (Şekil 4.12b). TGA incelemelerine göre EPS miktarındaki farklılıklar, ağırlık kaybı farklılıklarına yansımaktadır.



Şekil 4.12: Bakteriye karbonat ürünlerinin inkübasyon süresine bağlı olarak (a) DTA ve (b) TGA eğrilerinin değişimi.

4.3 Jeoteknik Uygulamalar

Bakteriyel karbonat çökeliminin zemin üzerindeki fiziko-mekanik sonuçları aşağıda verilmiştir. 200 nolu elek altında kalan zemin boyu silt-kil sınıfına girmektedir. Bu boyuttaki zeminin geçirimsizliği az veya hiç olmayacağı için bakterili sıvının geçişine engel olacaktır. Deneyler için kullanılan zemin örneği 40 ile 200 nolu elek arasında kalan tane boyu (kum) aralığında seçilmiştir (Şekil 4.13). Oluşturulan deney düzeneğinde (Şekil 4.14) zemin örneğinin içerisine konulduğu pleksiglass tüpün çapı 5.5 cm'dir. Jeoteknik deneye tabi tutulacak örneklerin boy/çap oranı en az 2 olması gerektiğinden örneklerin boyları 11 cm'den az olmamıştır. Zemin güçlendirme deneylerinde bakterili sıvı serbest basınç altında ve ayrıca sırasıyla peristaltik pompa aracılığı ile 25, 50 ve 100 d/d hızlarda zemin içerisinden geçirilmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.13: Doğal zemin örneği



Şekil 4.14: Deney düzeneği



Şekil 4.15: Peristaltik pompa kullanımı

Güçlendirmede kullanılan zeminin doğal birim hacim ağırlığı ortalama 14.6 kN/m³ olarak belirlenmiştir. Peristaltik pompa kullanılan zemin örneklerinin birim hacim ağırlığı 14.6 kN/m³ olarak ölçülmüş, ancak bakterili sıvının serbest akışına izin verilen örneğin birim hacim ağırlığı 13.5 kN/m³ olmuştur. Güçlendirme çalışmalarından sonra birim hacim ağırlığında kayda değer bir değişme olmamıştır.

Deneilerde kullanılan doğal zemin kum boyutunda olduğu için kohezyonu yoktur. Ancak bakteriyel işlemden sonra zemin örneklerinin kendi geometrik şekillerini korudukları gözlenmiştir (Şekil 4.16). Zeminde kohezyon oluşması doğal olarak dayanımını arttırmaktadır.



Şekil 4.16: Kohezyonlu güçlendirilmiş zemin

Kohezyonsuz zeminin geometrik katı bir şekli olmadığından tek eksenli basma deneyine tabi tutulamamıştır. Ancak tek eksenli basma deneyi (Şekil 4.17) yapılan kohezyonlu güçlendirilmiş zeminin tek eksenli basma dayanımı 51.3 kPa ile 267.7 kPa arasında değiştiği gözlenmiştir.



Şekil 4.17: Güçlendirilmiş zeminde yapılan tek eksenli basma deneyi örnekleri

5. TARTIŞMA

Uygulanan zemin iyileştirme tekniklerinin çoğu hem mekanik enerji kullanımını hem de zemine bir katkı malzemesinin karıştırılmasını içermektedir. Bunların her ikisi yapım esnasında mevcut olan ortak enerji maliyetlerine sahiptirler. (Dejong ve diğ. 2010). Çimento kullanımında oluşan yapay çimentolaşma ile yüksek oranda alkali malzeme zemine karışmakta ve zeminin yapısına zarar vermektedir (Fritzges 2005). Yaygın olarak kullanılan biyokimyasal harçların çoğu zehirli maddeler içermektedir. Bu durum ciddi sağlık problemlerine de sebep verebilecek noktadadır (Karol 2003). Bahsedilen tüm bu faktörler yeni alternatif zemin iyileştirme metotlarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir. Bu noktada zemin iyileştirmede bakteriyel kalsiyum karbonat oluşumunun kullanımı daha önceki tekniklere göre yeni ve çevresel açıdan tehlike içermeyen bir yöntemdir.

Mikrobiyal jeoteknoloji, daha uygun yapı ve çevre için zeminlerin mekanik özelliklerinin iyileştirilmesini amaçlayan bir jeoteknik mühendisliği alanıdır. Mikrobiyal jeoteknolojide yer alan mikrobiyal çimentolama; istinat duvarı, dolgu ve barajların stabilitesinin sağlanmasında, tünel ve metro inşaatlarının stabilitesi için güçlendirme ve iyileştirme yapılmasında, zeminlerin sıvılaşma potansiyelinin azaltılmasında, yol yüzeylerinin iyileştirilmesinde ve erozyondan korunmak için toprak barajların güçlendirilmesinde, maden ve çevre mühendisliğinde kalıcı bariyer inşa etmede, toz tabakasının azaltılması için yüzeydeki toz parçacıklarının bağlanmasında, kuyu ve kazı sırasında petrol sondaj kuyularının direncinin artırılmasında, temel ve boru hatlarının denizde yapılması sırasında sediment erozyonuna karşı dirençli hale getirilmesinde, zemin kirliliğinin giderilmesinde, kıyı alanlarda ve nehirlerde erozyon kontrolünde, su filtrelemede kullanılmaktadır (Kucharski ve diğ. 2005).

Toprağın fiziksel özelliklerinin değiştirilmesi mekanik sıkıştırma, biyokimyasal enjeksiyon veya biyoçimentolama ile elde edilebilir (Ivanov ve Chu 2008). Biyokimyasal harçlama toprak veya kayanın fiziksel özelliklerini değiştirerek mekanik özelliklerini geliştirmek için biyokimyasal harç enjeksiyonudur. Toprak

stabilitesini ve sabitliğini arttırmak için bazı süspanse biyokimyasal maddeler veya çözünmüş maddeler eklenebilir.

Toprak eğim stabilitesi ve erozyon kontrolü için sadece üst tabaka tedavi edilmesi gereklidir. Toprak geçirgenliğini azaltmak ve mekanik mukavemeti arttırmak için, toprak içine katkı maddeleri enjekte edilebilir. Harçlama sıvıları tipik çimento, bentonit, silikat, lignosülfanatlar, termoplastik polimerler, organik polimerleri içermektedir (Karol 2003). Mikrobiyal betonlama için kullanılabilen biyokimyasal betonlamada enjeksiyonun çeşitli yolları vardır. Düşük basınçlı enjeksiyonda toprak hacminde değişiklik olmadan boşluklar doldurulur, 'Jet' enjeksiyonda ise yüksek basınç ve akış hızı ile toprak karışır (Karol 2003). Mikrobiyal betonlama teknolojisi ile biyokimyasal betonlama kullanımları benzerdir. Penetrasyon derinliği kullanılan mikroorganizmaların boyutuna bağlıdır. Bakterilerin tipik büyüklüğü 1 ile 3µm'dir ancak toprakta filamentöz bakterilerin penetrasyonuna engel olabilen mikrobiyal hücre filamentleri 100 µm boyutunda olabilir. Mikrobiyal betonlamanın avantajlarından biri non-toksik olmasıdır oysaki akrilamidler, lignosülfonatlar ve poliüretanlar gibi çoğu biyokimyasal betonlama ajanı toksiktir ve çevreye zararlıdır. Bir diğer avantajı ise biyokimyasal betonlamaya kıyasla reaktifleri düşük maliyetlidir (Ivanov ve Chu 2008).

Geçen yıllarda yapılan bazı çalışmalarda zemin iyileştirmenin sonuçlarına ulaşılmıştır. Örneğin; Ferris ve diğ. (1996)'da mikrobiyoloji ile iyileştirme sonucu permeabilitenin %15 ila %20 arasında azaldığını, aynı şekilde Whiffin ve diğ. (2007)'de permeabilitenin %22 ila %75 arasında azaldığını belirtmiştir. Dejong ve diğ. (2006)' da mikrobiyolojik iyileştirme öncesi ve sonrası deneyleri yapmışlar ve direncin arttığını gözlemlemişlerdir. Bunun yanında mikrobiyolojik iyileştirme sonucu oturmanın 5 kat azaldığı görülmektedir. Dejong ve diğ (2010) mikrobiyolojik olarak iyileştirilen zemin iyileştirmelerinde permeabilitenin 10^{-3} azaldığını, rijitliğin 10^2 arttığını, sıkıştırılabilirliğin 10^{-2} azaldığını, kayma direncinin 10^2 kat arttığını rapor etmiştir. Sonuçta mikrobiyolojik olarak iyileştirme yapılan zeminin mühendislik özellikleri iyileşmektedir. Paassen (2009)' da yaptığı deneyler sonucunda 60kg/m^3 kalsiyum karbonat konsantrasyonuna kadar zeminin direncinde önemli derecede farklılık olmadığını gözlemlerken bu değer üzerinde dirençlerde önemli iyileşmeler olduğunu rapor etmiştir.

Sunulan yüksek lisans tez çalışmasında da mikrobiyal kalsiyum karbonat çökmesinin farklı parametreleri araştırılmış ve önemli sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmanın ilk aşamasında Denizli-İsrafil deresi su ve çevresi topraklarından alınan kalsiyumca zengin bölge örneklerinden üreaz aktivitesine sahip bakteriler izole edilmiştir. Üreaz aktivitesine sahip bakterilerin seçimi Üre Agar ile yapılmıştır. Üreolitik bakterilerden 10 adet suşun 16S rRNA sekans analizi ile teşhis ve tanımlaması yapılarak Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Bakterioloji Laboratuvarı kültür stoklarına dahil edilmiştir. Bu izolatlar *Lysinibacillus fusiformis* U1, *Bacillus aerius* U2, *Paenibacillus favisporus* U3, *Bacillus megaterium* U4, *Lysinibacillus fusiformis* U5, *Bacillus atrophaeus* U6, *Bacillus amyloliquefaciens* U7, *Bacillus tequilensis* U8, *Bacillus licheniformis* U9 ve *Bacillus mycoides* U10'dur.

Üreolitik bakterilerin kalsiyum karbonat çökelim miktarı Kalsiyum Mineralizasyon Ortamı'nda (KMO) 37°C ve pH: 6,5'da belirli zaman aralıklarında EDTA titrasyonu ile belirlenmiştir. Yapılan taramalar sonucu *Bacillus aerius* U2, *Paenibacillus favisporus* U3 *Lysinibacillus fusiformis* U5 ve *Bacillus mycoides* U10 izolatlarının genel olarak en iyi karbonat çökeline sahip oldukları belirlenmiştir. Optimizasyon çalışmaları için pH, sıcaklık ve üre konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır. Bunun için rastgele seçilen *Bacillus aerius* U2 bakterisi kullanılmıştır.

Günümüzde *Bacillus pasteurii* (Dejong ve diğ. 2006; Okwadha ve Li 2010; Li 2013; Bernardi ve diğ. 2014; Stock-Fischer ve diğ. 1999), *Myxococcus xanthus* (Jimenez-Lopez ve diğ. 2007; Rodriguez-Navarro ve diğ. 2007), *Bacillus sphaericus* (Cheng ve Cord-Ruwish 2012; Muynck ve diğ. 2008), *Sporosarcina pasteurii* (DSMZ 33) (Paassen 2009), *Bacillus niabensis* (Li ve diğ. 2014), *Bacillus pumilus* (Daskalakis ve diğ. 2015) ve *Bacillus megaterium* (Lian ve diğ. 2006), *Pseudomonas* sp. NB0.1-H, *Variovorax* sp. ve *Pseudomonas* sp. 35L (Fujita ve diğ. 2000) gibi çeşitli suşlar kullanılarak bakteriyel kalsiyum karbonat çökeli mi yapılmaktadır.

Optimizasyon çalışmalarında üre konsantrasyonu (100, 200, 250, 300, 333, 350 mM), sıcaklık (20, 25, 30, 37, 42°C), pH (5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5) ve inkübasyon süresinin (5., 7., 10. ve 14. gün) kalsiyum karbonat çökelimine etkisi araştırılmıştır. Belirtilen parametrelerden öncelikle en iyi üre konsantrasyonu tayin edilmiştir. Buna takiben belirlenen üre konsantrasyonunda sıcaklık parametresi çalışılmıştır.

Belirlenen üre konsantrasyonu ve sıcaklık değerlerinde en iyi pH değeri saptanmıştır. Çalışmamızda inkübasyon süresi parametresi sabit tutulmuş olup tüm parametreler dahilinde en iyi inkübasyon süresi sonuçlar dahilinde değerlendirilmiştir.

Buna göre, *Bacillus aerius* U2 bakterisi 300 mM üre konsantrasyonunda 14. günde maksimum 1319,84±37,92 mg/L oranında kalsiyum karbonat çökelişi gerçekleştirmiştir. Diğer üre konsantrasyonlarında ise sırasıyla 100mM'da 1274,72±28,96 mg/L (10. gün), 200 mM'da 1193,92±15,04 (10. gün), 250 mM'da 1086,88±60,96 mg/L (14. gün), 333 mM'da 1148±158,88 mg/L (14. gün) ve 350 mM'da ise 1156,96±68 mg/L kalsiyum karbonat miktarı tespit edilmiştir.

Yapılan literatür çalışmalarında sabit üre konsantrasyonu olarak 333 mM gösterilmesine rağmen (Fujita ve diğ. 2000; Ferris ve diğ. 1996; Ferris ve Stehmeier 1992) çalışmamızda bakterimizin düşük üre konsantrasyonunda bile kalsiyum karbonat miktarında dikkate değer oranlarda kalsiyum karbonat çökelişi yaptığı görülmüştür.

Sıcaklık, endüstriyel uygulamalarda araştırılan bir diğer önemli parametredir. Bu amaçla, 20, 25, 30, 37, 42 °C sıcaklıklarında bakteriyel kalsiyum karbonat çökelişi de test edilmiştir. *Bacillus aerius*'un gelişme sıcaklığı 10-37°C olarak belirtilmiştir (Shivaji ve diğ. 2006). Çalışmamızda izolatımızın en iyi gelişme gösterdiği sıcaklık Nutrient Agar besiyerinde 37 °C olarak tespit edilirken bakteri en yüksek kalsiyum karbonat çökelişini 20°C gibi düşük bir sıcaklıkta gerçekleştirmiştir. Bakteri 300 mM üre konsantrasyonunda inkübasyonun 7. gününde 20°C'de maksimum 1756,32±438,56 mg/L karbonat çökelişine ulaşırken, bu oran en iyi gelişme sıcaklığı olan 37°C'deki KMO'da 300 mM üre konsantrasyonunda 1319,84±37,92 mg/L olmuştur. Üreolitik bakterilerle günümüzde zemin iyileştirme

çalışmaları üzerinde daha çok durulmaktadır. Toprak altı bilindiği gibi toprak üstünden daha düşük sıcaklıklardadır. Kumlu zeminlerin iyileştirilmesi amaçlı ilerde yapılması hedeflenen arazi çalışmalarında düşük sıcaklıklarda kalsiyum karbonat çökelişi yapan bir bakterinin kullanılabilirliği üstün bir özellik olarak kabul edilebilir. Bakterinin düşük sıcaklıkta daha yüksek kalsiyum karbonat çökelişi yapması endüstriyel uygulama için önemli bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada kalsiyum karbonat çökelişine pH'nın etkisi de incelenmiştir. *Bacillus aerius* U2 bakterisi için 300 mM üre ve 20 C sıcaklıkta inkübasyonun 5. gününde pH 5.5'te en yüksek karbonat miktarına ulaşmıştır (2483,36±207,12 mg/L). Düşük pH'da yüksek aktivasyon, bakterinin asidik topraklarda da zemin iyileştirme amaçlı kullanılabileceğini göstermiştir.

Bakteriyel karbonat çökelişi ile yapılan kumlu zeminlerin güçlendirilmesi çalışmaları, deneye tabi tutulan örneklerin kohezyon ve tek eksenli basma dayanımında önemli artışlar sağlamıştır.

Mineralojik analizler dahilinde yapılan XRD verilerine göre; bakteriyel kalsiyum karbonat oluşumları çoğunlukla kristalin (kalsit ve vaterit), daha az da amorf (Ekstraselular Polimerik Substance: EPS) yapıya sahiptir. Vaterit, doğada ender gözlenen kalsiyum karbonat (CaCO₃) polimorfu olup, sulu doğal ve laboratuvar ortamlarında kalsit ile birlikte bakteri kökenli (mikrobiyal) oluşumlarda yaygın olarak bilinmektedir (Achal 2014; Chahal 2011; Njegić-Džakula ve diğ. 2011; Leng ve diğ. 2010; Ouhenia 2008; Qiao ve diğ. 2008; Soldati ve diğ. 2008; Jimenez-Lopez ve diğ. 2007; Rodriguez-Navarro ve diğ. 2007; Rautaray 2005; Tong 2004; Xu ve diğ. 2004; Braissant ve Verrecchia 2002; Lee 2003; Giralt ve diğ. 2001; Mann 2001). Kristalin miktarları 2. günde %50 iken 10. günde ise %85 olarak belirlenmiştir. SEM görüntülerine göre ultra-mikrokristalin vateritlerin küresel oluşumlar sergiledikleri, vaterit oluşumlarının üzerinde veya arasındaki boşluklarda ise ince taneli (< 0.1 µm) amorf veya zayıf-kristalin topluluklar izlenmiştir. Bu oluşumlar, XRD incelemelerindeki amorf faz olarak belirtilen Ekstraselular Polimerik Substance (EPS) oluşumları şeklinde tanımlanabilir. Nitekim bakteriyel EPS oluşumları literatürde yaygın olarak bilinmektedir (Mota ve diğ. 2013; Tourney ve Ngwenya 2009; Tourney ve diğ. 2008). TGA incelemelerine göre EPS miktarındaki farklılıklar, ağırlık kaybı farklılıklarına yansımaktadır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Denizli’de Kalsiyumca zengin olan Karcı Dağında bulunan İsrafil Deresi ve çevresinden alınan toprak ve su örneklerinden üreolitik bakteriler izole edilerek Pamukkale Üniversitesi Biyoloji Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarında stoklanmıştır. Bakterilerin kalsiyum karbonat mineralizasyon yetenekleri incelenerek izolatlar arasından seçilen bir bakterinin karbonat çökelim optimizasyon şartları belirlenmiştir. Çalışma ile yerel izolatımızın kalsiyum karbonat mineral tipi belirlenmiş olup, Denizli’den izole edilen bakteri türünün kumlu zeminlerin iyileştirilmesinde kullanım potansiyeli hakkında bilgi edinilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla kalsiyumca zengin toprak örneklerinden üreolitik özellikte toplam 10 bakteri izole edilmiştir. Yapılan 16S rRNA sekans analizine göre izolatlar, *Lysinibacillus fusiformis* U1, *Bacillus aerius* U2, *Paenibacillus favisporus* U3, *Bacillus megaterium* U4, *Lysinibacillus fusiformis* U5, *Bacillus atrophaeus* U6, *Bacillus amyloliquefaciens* U7, *Bacillus tequilensis* U8, *Bacillus licheniformis* U9 ve *Bacillus mycoides* U10 olarak teşhis edilmiştir. Bu izolatlar arasından seçilen *Bacillus aerius* U2 bakterisinin optimum kalsiyum karbonat çökelim şartları 300 mM, 20 °C, pH=5.5 olarak belirlenmiştir. Bakteri inkübasyonun 5. gününde 2483,36±207,12 mg/L miktarında kalsiyum karbonat çökelişi gerçekleştirmiştir. Mineralojik analizlerle de desteklenen çalışmamızda XRD, SEM ve TGA analizleri ile numulerimizin fiziksel ve kimyasal yapısı aydınlatılmıştır.

Bakteriyel karbonat çökelişi ile yapılan kumlu zeminlerin güçlendirilmesi çalışmaları, deneye tabi tutulan örneklerin kohezyon ve tek eksenli basma dayanımında önemli artışlar sağlamıştır. Deney sonuçları yöntemin başarılı olabileceğini göstermektedir. Deney şartlarının araziye uyarlanması ve denenmesi, yöntemin mühendislik projelerinde uygulanabilirliğinin ortaya konulması açısından önemlidir. Bu amaçla in-situ testlerin yapılması gerekmektedir. Yöntemin en büyük dezavantajı zeminin permeabiliteye sahip olması gerektiğidir. Sorun genel olarak tüm zemin iyileştirme ve/veya güçlendirme yöntemlerinde ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle permeabilitesi düşük kil ve benzeri zemin türlerinin iyileştirilmesi/güçlendirilmesi için yapılacak çalışmalar büyük önem taşımaktadır.

7. KAYNAKLAR

Achal, V., Mukherjee, A., Basu, P.C., Reddy, M.S., ‘‘Strain improvement of *Sporosarcina pasteurii* for enhanced urease and calcite production’’ *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 36, 981–988, 2009a.

Achal, V., Mukherjee, A., Reddy, M.S., ‘‘Microbial concrete – A way to enhance the durability of building structures’’, *J. Mater. Civ. Eng.*, 23, 730–734, 2011a.

Achal, V., Mukherjee, A., Reddy, M.S., ‘‘Effect of calcifying bacteria on permeation properties of concrete structures’’ *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 38, 1229–1234, 2011b.

Achal, V., Mukherjee, A., Goyal, S., Reddy, M.S., ‘‘Corrosion prevention of reinforced concrete with microbial calcite precipitation’’, *ACI Mater. J.* 109, 157–164, 2012a.

Achal, V., Pan, X., Zhang, D., Fu, Q.L., ‘‘Biomining based remediation of As(III) contaminated soil by *Sporosarcina ginsengisoli*’’, *J. Hazard. Mater.*, 201–202, 178–184, 2012b.

Achal, V., Pan, X., Zhang, D., ‘‘Bioremediation of Strontium (Sr) contaminated aquifer quartz sand based on calcite precipitation induced by Sr resistant *Halomonas* sp’’’, *Chemosphere*, 89, 764–768, 2012c.

Achal, V., Pan, X., ‘‘Influence of calcium sources on microbially induced calcium carbonate precipitation by *Bacillus* sp. CR2’’’, *Appl Biochem Biotechnol.*, 173, 307–317, 2014.

Achal, V., Mukherjee, A., ‘‘A review of microbial precipitation for sustainable construction’’, *Constr Build Mater.*, 93, 1224–1235, 2015.

Akoğuz, H., “Kum Zeminlerin Biyolojik İyileştirilmesinde *Bacillus Arenosus* Bakterisinin Kullanılabilirliğinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 2014.

American Public Health Association (APHA), “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, 17th ed. American Public Health Association, Washington, DC, 1989.

Atlas, R.C., Rude, P.D., “Complete oxidation of solid phase sulfides by manganese and bacteria in anoxic marine sediment”, *Geochim. Cosmochim. Acta* 52, 751–766, 1998.

Bang, S.S., Galinat, J.K., Ramakrishnan, V., “Calcite precipitation induced by polyurethane-immobilized *Sporosarcina pasteurii*”, *Enzym. Microb. Technol.*, 28, 404–409, 2001.

Bernardi, D., DeJong, J.T., Montoya, B.M., Martinez, B.C., “Bio-bricks: Biologically cemented sandstone bricks”, *Constr Build Mater*, 55, 462-469, 2014.

Braissant, O., Verrecchia, E.P., “Microbial biscuits of vaterite in Lake Issyk-Kul (Republic of Kyrgyzstan) – Discussion” *Journal of Sedimentary Research* 72, 944–946, 2002.

Briaud, J.L., “Geotechnical Engineering: Unsaturated and Saturated Soils”, John Wiley & Sons, Inc., 998 p, New Jersey, ABD, 2013.

Castanier, S., Metayer-Levrel, G.Le., Perthuisot, J.P., “Ca-carbonates precipitation and limestone genesis – the microbiogeologist point of view”, *Sediment. Geol.*, 126, 9-23, 1999.

Chahal, N., Rajor, A., Siddique, R., “Calcium carbonate precipitation by different bacterial strains”, *African Journal of Biotechnology*, 10(42), 8359-8372, 2011.

Cheng, L. and Cord-Ruwisch, R., “In situ soil cementation with ureolytic bacteria by surface percolation”, *Ecol Eng*, 42, 64-72, 2012.

Cheng, L. and Cord-Ruwisch, R., ‘‘Upscaling Effects of Soil Improvement by Microbially Induced Calcite Precipitation by Surface Percolation’’, *Geomicrobiol J*, 31, 396-406, 2014.

Cheng, L., Cord-Ruwisch, R., Shahin, M.A., ‘‘Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of saturation’’, *Canadian Geotechnical Journal*, 50 (1), 81-90, 2013.

Chu, J., Varaksin, S., Klotz U., Menge, P., ‘‘Construction Processes’’, In Proceedings of the International Conference on Soil Mechanics and Geotechnical Engineering, Alexandria, Egypt, 2009.

Daskalakis, M.I., Rigas, F., Bakolas, A., Magoulas, A., Kotoulas, G., Katsikis, I., Karageorgis, A.P., Mavridou, A., ‘‘Vaterite bio-precipitation induced by *Bacillus pumilus* isolated from a solutional cave in Paiania, Athens, Greece’’, *International Biodeterioratio and Biodegradation*, 99, 73-84, 2015.

De Muynck, W., Cox, K., De Belie, N., Verstraete, W., ‘‘Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete’’, *Constr. Build. Mater.* 22,875–885, 2008a.

De Muynck, W., Debrouwer, D., De Belie, N., Verstraete, W., ‘‘Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials’’, *Cem. Concr. Res.*, 38, 1005–1014, 2008b.

Dejong, J. T., Mortensen, B. M., Martinez, B. C. Nelson, D. C., ‘‘Bio-mediated soil improvement’’, *Ecological Engineering*, 36, 197–210, 2010.

DeJong, J.T., Fritzes, M.B., Nüsslein, K., ‘‘Microbially Induced Cementation to Control Sand Response to Undrained Shear’’, *Journal of Geotechnical And Geoenvironmental Engineering*, 132 (11), 1381-1392, 2006.

Ferris, F.G., Stehmeier, L.G., Kantzas, A., Mourits, F.M., ‘‘Bacteriogenic mineral plugging’’, *J Can Pet Technol.*, 35(8), 56–61, 1996

Frankel, R.B., Bazylinski, D.A., ‘‘Biologically induced mineralization by bacteria’’, *Rev Mineral Geochem*, 54, 95-114, 2003.

Fritzges, M. F. , “Biologically induced improvements of the response of sands to monotonic loading.” MS thesis, Univ. of Massachusetts, Amherst, Mass., 2005.

Fujita, Y., Ferris, F.G., Lawson, R.D., Colwell, F.S., Smith, R.W.,” Calcium carbonate precipitation by ureolytic subsurface bacteria”, *Geomicrobiol J.*, 17(4): 305–318, 2000

Fujita, Y., Redden, G.D., Ingram, J.C., Cortez, M.M., Ferris, G.F., Smith, R.W., “Strontium incorporation into calcite generated by bacterial ureolysis”, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 68, 3261–3270, 2004.

Gallego, M., Gonzalez-Munoz, M.T., “Consolidation of degraded ornamental porous limestone stone by calcium carbonate precipitation induced by the microbiota inhabiting the stone”, *Chemosphere*, 68, 1929-1936, 2007.

Ghosh, P., Mandal, S., Chattopadhyay, B.D., Pal, S., “Use of microorganism to improve the strength of cement mortar”, *Cem. Concr. Res.*, 35, 1980–1983, 2005.

Giralt, S., Julia, R., Klerkx, J., “Microbial biscuits of vaterite in Lake Issyk-Kul (Republic of Kyrgyzstan)”, *J. Sediment. Res.*, 71, 430–435, 2001

Gupta, S., Rathi, C., Kapur, S., “Biologically Induced Self Healing Concrete: A Futuristic Solution for Crack Repair”, *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 1(3), 85-89, 2013.

Hammes, F. and Verstraete, W., “Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation”, *Environmental Science & Bio/Technology*, 1, 3-7, 2002.

Hammes, F., Boon, N., Clement, G., de Villiers, J., Siciliano, S.D., Verstraete, W., “Molecular, biochemical and ecological characterisation of a bio-catalytic calcification reactor”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 62, 191–201, 2003.

Ivanov, V., Chu, J., “Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ”, *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 7(2):139-153, 2008.

Jimenez-Lopez, C., Jroundi, F., Rodríguez-Gallego, M., Arias, J. M., Gonzalez-Muñoz, M.T., ‘‘Biom mineralization induced by Myxobacteria, Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology (A. Méndez-Vilas, Ed.), 143-153, 2007.

Jimenez-Lopez, C., Rodríguez-Navarro, C., Pinar, G., Carrillo-Rosúa, F.J., Rodríguez-Gallego, M., Gonzalez-Muñoz, M.T., ‘‘Consolidation of degraded ornamental porous limestone stone by calcium carbonate precipitation induced by the microbiota inhabiting the stone’’, *Chemosphere*, 68, 1929-1936, 2007.

Jonkers, H.M., Thijssen, A., Muyzer, G., Copuroglu, O., Schlangen, E., ‘‘Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete’’ *Ecol. Eng.*, 36, 230–235, 2010

Karol, R.H., ‘‘Chemical grouting and soil stabilization’’, 3rd edn. M. Dekker, New York, 2003

Kucharski ES, Winchester W, Leeming WA, Cord-Ruwisch R, Muir C, Banjup WA, Whiffin VS, Al-Thawadi S, Mutlaq J, ‘‘Microbial biocementation’’, Patent Application WO/2006/066326; International Application No.PCT, 2005.

Lee, N.Y., ‘‘Calcite Production by *Bacillus amyloliquefaciens* CMB01’’ *J. Microbiol.*, 41(4): 345-348, 2003.

Leng, B., Jiang, F., Lu, K., Ming, W. and Shao, Z., ‘‘Growth of calcium carbonate mediated by slowly released alginate’’, *Crystal Engineering Communications*, 12(3), 730-736, 2010.

Li, S., ‘‘A laboratory study of the effects of bio-stabilization on geomaterials’’, MS Thesis, Civil Engineering (Geotechnical Engineering), Iowa State University, Ames, Iowa. 72, 2013.

Lian, B., Hu, Q., Chen, J., Ji, J., Teng, H.H., ‘‘Carbonate biom mineralization induced by soil bacterium *Bacillus megaterium*’’ *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70, 5522–5535, 2006.

Lippmann, F., ‘‘Sedimentary carbonate minerals’’, New York: Springer Verlag, 228 p., 1973.

Mann, S., 2001. ‘‘Biomineralization: Principles and concepts in Bioinorganic materials chemistry’’, Oxford University Press.

Mc Connaughey, T.A., Water, H.A., Small, A.M., ‘‘Community and environmental influences on reef coral calcification’’, *Limnol. Oceanogr.* 45, 1667–1671, 2000.

Mota, R., Guimarães, R., Büttel, Z., Rossi, F., Colica, G., Silva, C. J., ve diğ., ‘‘Production and characterization of extracellular carbohydrate polymer from *Cyanothece* sp, CCY 0110’’, *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 1408–1415, 2013.

Muynck, W.D., Belie, N.D., Verstraete, W., ‘‘Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review’’, *Ecol Eng*, 36, 118-136, 2010.

Muynck, W.D., Cox, K., Belie, N.D., Verstraete, W., ‘‘Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete’’, *Constr Build Mater*, 22, 875-885, 2008a.

Muynck, W.D., Debrouwer, D., Belie, N.D., Verstraete, W., ‘‘Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials’’, *Cement Concrete Res*, 38, 1005-1014, 2008.

Nemati M & Voordouw G. ‘‘Modification of porous media permeability, using calcium carbonate produced enzymatically in situ’’, *Enzyme and Microbial Technology*, 33(5):635-642, 2003.

Ng, W., Lee, M., Hii, S., ‘‘An overview of the factors affecting microbial-induced calcite precipitation and its potential application in soil improvement’’, *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 6, 683-689, 2012.

Njegić-Džakula, B., Brečević, L., Falini, G., Damir Kralj, D., ‘‘Kinetic Approach to Biomineralization: Interactions of Synthetic Polypeptides with Calcium Carbonate Polymorphs’’, *Croat. Chem. Acta*, 84(2), 301–314, 2011.

Okwadha, G.D., Li, J., “ Optimum conditions for microbial carbonate precipitation”, *ChemosPhere*, 81 (9), 1143-1148, 2010.

Ouhenia, S., Chateigner, D., Belkhir, M.A., Guilmeau, E., Krauss, C., “Synthesis of calcium carbonate polymorphs in the presence of polyacrylic acid” *Journal of Crystal Growth*, 310, 2832–2841, 2008.

Özaydın, K., “Zeminlerin İyileştirilmesi”, Zemin Mekaniği ve Temel Mühendisliği Ondördüncü Ulusal Kongresi, 2012.

Özçep, F., “Zeminlerin Geoteknik ve Jeofizik Analizi” Nobel Yayın No: 1380, 610s, Ankara, 2009.

Özdemir, A. ve Özdemir, M., “Zayıf zeminlerin iyileştirilmesi ve son yıllarda yaygın olarak uygulanan bazı zemin iyileştirme yöntemleri” *Sondaj Dünyası Dergisi*, 3, 34-38, 2006.

Paassen, V. LA, “Biogrout, ground improvement by microbial induced carbonate precipitation”, Ph.D. dissertation, Dept. Civil Eng, Delft University of Technology, 20 October 2009.

Park, S., Park, Y., Chun, W., Kim, W., Ghim, S., “Calcite forming bacteria for compressive strength improvement in mortar”, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 20, 782–788, 2010.

Perito, B., Mastromei, G., “Molecular basis of bacterial calcium carbonate precipitation”, *Progress in molecular and subcellular biology*, 52, 113-139, 2011

Qian, C.X., Pan, Q.F., Wang, R.X., “Cementation of sand grains based on carbonate precipitation induced by microorganism”, *Sci. China Technol. Sci.*, 53, 2198–2206, 2010.

Ramachandran, S.K., Ramakrishnan, V., Bang, S.S., “Remediation of concrete using microorganisms”, *ACI Mater. J.*, 98, 3–9, 2001.

Rodriguez-Navarro, C., Rodriguez-Gallego, M., Chekroun, K.B., Gonzalez-Muñoz, M.T., ‘‘Conservation of ornamental stone by Myxococcus xanthus-induced carbona biomineralization’’, *Appl Environ Microbiol.*, 69(4):2182–93, 2003.

Rong, H., Qian, C.X., ‘‘Development of microbe cementitious material in China’’, *J. Shanghai Jiaotong Univ. (Sci.)*, 17, 350–355, 2012.

Shivaji, S., Chaturvedi, P., Suresh, K., Reddy, G. S. N., Dutt, C. B. S., Wainwright, M., Narlikar, J. V., Bhargava, P. M., ‘‘ Bacillus aerius sp. nov., Bacillus aerophilus sp. nov., Bacillus stratosphericus sp. nov. and Bacillus altitudinis sp. nov., isolated from cryogenic tubes used for collecting air samples from high altitudes’’ *Int J Syst Evol Micr*, 56, 1465-1478, 2006.

Siddique, R., Chahal, N.K., ‘‘ Effect of ureolytic bacteria on concrete properties’’, *Construction and Building Materials*, 25, 3791-3801, 2011.

Smith, K.S., Ferry, J.G., ‘‘Prokaryotic carbonic anhydrases’’, *FEMS Microbiol. Rev.*, 24, 335–366, 2000.

Stocks-Fischer, S., Galinat, J.K., Bang, S.S., ‘‘Microbiological precipitation of CaCO₃’’ *Soil Biol Biochem*, 31, 1563-1571,1999.

Tiano, P., Biagiotti, L., Mastromei, G., ‘‘Bacterial bio-mediated calcite precipitation for monumental stones conservation: methods of evaluation’’, *J. Microbiol. Methods*, 36, 139–145, 1999.

Ural, N., ‘‘ Mikrobiyolojik Çimentolanmayla Zemin İyileştirilmesi’’, 6th International Advanced Technologies Symposium (IATS’11), Elazığ, 2011.

Whiffin, V.S., Paassen, L.A.V., Harkes, M.P., ‘‘Microbial Carbonate Precipitation as a Soil Improvement Technique’’ *Geomicrobiol J*, 24, 417-423, 2007.

Whiffin, V.S., ‘‘Microbial CaCO₃ Precipitation for the production of Biocement’’ Doctor Thesis, School of Biological Sciences & Biotechnology, Murdoch University, Western Australia, 2004.

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tuğba ŞENSOY CANDOĞAN

Doğum Yeri ve Tarihi : Denizli - 12.04.1989

Lisans Üniversite : Ege Üniversitesi

Elektronik posta : sensoytugba@gmail.com

İletişim Adresi : Zümrüt Mah. 2093 Sokak No:18 Zümrüt
Apt. Kat:2 /12

Projelerde Yaptığı Görevler:

Kumlu Zeminlerin Mikrobiyal Yöntemle Güçlendirilmesi, Tübitak, Proje No:113Y568, Bursiyer, 2014- Devam Ediyor.

Bazı Propolis Örneklerinin Antibiofilm İndirgeme Özelliklerinin Araştırılması, PAÜBAP, Proje No: 2013BSP025, Yardımcı Araştırmacı, 2013- Devam Ediyor.

Denizli Tekstil Bölgesinden İzole Edilen Bacillus ve Paenibacillus Cinsi Bakteriler ile Reaktif Boyar Maddelerin Giderimi, PAÜBAP, Proje No: 2012KRM015, Yardımcı Araştırmacı, 2012-Devam Ediyor.

ESERLER

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

A1. Aydemir, C., Solak, S., Doganlı, G., **Sensoy, T.**, Arar, D., Bozbeyoglu, N., Dogan, N., Lönnecke, P., Hey-Hawkins, E., Sekerci, M. and Karakus, M., “Synthesis, Characterization and Antibacterial Activity of Dithiophosphonates”, Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 190:1–10, (2015).

A2. Dogan, N., Doganlı, G., Ülger, G., Habesoglu, D., Güzel, S., Yasar, Y., Arar, D., **Şensoy, T.** and Bozbeyoğlu, N., ‘Antibiofilm Effect of Two Propolis Samples from Turkey’, Journal of Applied Biological Sciences, 8 (2) 27-31, (2014).

A3. Arar, D., Doğanlı, G., **Sensoy, T.**, Bozbeyoğlu, N. And Doğan, N., “Investigation of Decolorization of Reactive Violet 5R and Remazol Brilliant Orange 3R by *Bacillus* sp. DT16.”, Journal of Applied Biological Sciences, 8 (1) 68-72, (2014).

A4. Dogan, N.M., **Sensoy, T.**, Doganlı, G.A., Arar, D., Bozbeyoglu, N.N., Akdogan, H.A. and Canpolat, M., ‘Immobilization of *Lycimibacillus fusiformis* B26 Cells in Different Matrices for Use in Turquoise Blue HFG Decolourization’, Archives of Environmental Protection, (Accepted), (2014).

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler :

B1. **Sensoy, T.**, Mercan Dogan, N., Bozkaya, O., Akyol, E., ‘Calcium carbonate precipitation by *Bacillus aerius* strain U2’, International Conference On Engineering and Natural Sciences, p: 71, 15-19 May 2015,Skopje, MACEDONIA.

B2. **Sensoy, T.**, Akdemir, M., Komur, K., Ozçanak, M., Mercan Dogan, N., ‘Calcium carbonate precipitation induced by ureolytic *Bacillus licheniformis* B22 under some environmental conditions’, International Conference On Engineering and Natural Sciences, p: 120, 15-19 May 2015,Skopje, MACEDONIA.

B3. Bozkaya, Ö., Doğan, M.,N., **Şensoy, T.**, Akyol, E., ‘Urea concentration, pH, incubation time and temperature effects on carbonate mineralization by ureolytic bacteria (*Bacillus* genus)’, Geomicrobiology Network And Environmental Mineralogy Group Joint Research In Progress Meeting 2015, 24 June 2015, University of Leeds, UNITED KINGDOM

B4. Arar, D., Doganli, G., **Sensoy, T.**, Bozbeyoglu, N., Dogan, N., ‘Investigation of Decolorization of Reactive Violet 5R and Remazol Brilliant Orange 3R by *Bacillus* sp. DT16’, 3rd International Molecular Biology and Biotechnology Congress, p: 174, June 02-06, 2014, International University of Sarajevo, Sarajevo, BOSNIA and HERZEGOVINA.

B5. Dogan, N., Doganlı, G., Ülger, G., Habeşoğlu, D., Güzel, S., Yaşar, Y., Arar, D., **Şensoy, T.**, Bozbeyoglu, N., ‘Antibiofilm Effect of Two Propolis Samples from Turkey’, 3rd International Molecular Biology and Biotechnology Congress, p: 158, June 02-06, 2014, International University of Sarajevo, Sarajevo, BOSNIA and HERZEGOVINA.

B6. Doğan, N.M., Bozbeyoglu, N., Acar Doğanlı, G., Arar, D., **Sensoy, T.**, ‘Production and partial characterization of bacteriocin-like peptides by *Bacillus* sp. R1’, ICOEST-2013, sayfa 545-546, 18-21 Haziran, Ürgüp/Nevşehir.

C. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

C1. **Şensoy, T.**, Mercan Doğan, N., ‘Üreolitik *Bacillus* türleri ile kalsiyum karbonat mineralizasyonu üzerine bir çalışma’, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, sayfa 1363, 23-27 Haziran 2014, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.

C2. Arar, D., **Şensoy, T.**, Acar Doğanlı, G., Bozbeyoğlu, N.N., Mercan Doğan, N., ‘Reaktif Violet-5R’nin *Bacillus* sp. DT9 kullanılarak renk giderimi’, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, sayfa 1448, 23-27 Haziran 2014, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.

C3. **Şensoy, T.**, Bozbeyoğlu, N. N., Arar, D., Acar Doğanlı, G., Mercan Doğan, N., ‘Agar boncukları ile immobilize edilmiş *Lysinibacillus fusiformis* B26 bakterisi ile Turkuaz mavisi HFG’nin dekolorizasyonu’, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, sayfa 1465, 23-27 Haziran 2014, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.

C4. Şensoy, T., Arar, D., Mengeş, S., Demir, O.H., Erdem, C., Bozbeyoğlu, N., Yıldız, M., Mercan Doğan, N., Ardağ Akdoğan, H., Canpolat, M., ‘Tekstil (Denizli) atık suyundan izole edilen *Bacillus* sp. DT12 ile reaktif red 123’ün biyotransformasyonu üzerine bir çalışma’, 13. Ulusal Spektroskopi Kongresi, sayfa 130, 15-18 Mayıs 2013, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur.

C5. Arar, D., **Şensoy, T.,** Erdem, C., Demir, O.H., Mengeş, S., Mercan Doğan, N., Akdoğan, H., Bozbeyoğlu, N., Acar Doğanlı, G., ‘Denizli tekstil atık suyundan izole edilen *Bacillus* sp. DT13 ile boyar madde reaktif red 123’ün biyotransformasyonu’ 13. Ulusal Spektroskopi Kongresi, sayfa 132, 15-18 Mayıs 2013, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur.

C6. Bozbeyoğlu, N., Arar, D., Doğan, N., Akdoğan, H., Canpolat, M., **Şensoy, T.,** ‘Termofilik *Lysisibacillus fusiformis* B26 ile Boyar Madde Turkuaz Mavisi HFG'nin Dekolorizasyonu ve Biyodegradasyonu’, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi. Bildiri Kitabı, sayfa 1187, 3-7 Eylül 2012, Ege Üniversitesi, İzmir.