



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



FARKLI KİMYASAL BOŞLUK SIVISINA
SAHİP KUMLARIN BİYOLOJİK YÖNTEMLE
İYİLEŞTİRİLMESİ

Demba N'DIAYE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İnşaat Mühendisliği Anabilim Dalı

Mayıs -2025
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Demba N'diaye tarafından hazırlanan "FARKLI KİMYASAL BOŞLUK SIVISINA SAHİP KUMLARIN BİYOLOJİK YÖNTEMLE İYİLEŞTİRİLMESİ" adlı tez çalışması 29/05/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İnşaat Mühendisliği Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Dr. Öğr. Üyesi ATILA DEMİRÖZ

.....

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi YAVUZ YENGİNAR

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi İLYAS ÖZKAN

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 09/05/2025 gün ve 2025/18-23 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Havvanur UÇBEYİAY
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Demba N'DIAYE

Tarih: 29/05/2025

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI KİMYASAL BOŞLUK SIVISINA SAHİP KUMLARIN BİYOLOJİK YÖNTEMLE İYİLEŞTİRİLMESİ

Demba N'DIAYE

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
İNŞAAT MÜHENDİSLİĞİ Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Yavuz YENGİNAR

2025, 124 Sayfa

Jüri

Dr. Öğretim Üyesi Yavuz YENGİNAR
Dr. Öğr. Üyesi ATILA DEMİRÖZ
Dr. Öğr. Üyesi İlyas ÖZKAN

Sunulan tez çalışması ile farklı kimyasal boşluk sıvısına sahip kumlu zeminler biyolojik esaslı Mikrobiyal Kalsiyum Karbonat Çökmesi (MKKÇ) yöntemiyle iyileştirilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki temiz su (çeşme suyu), tuzlu su (NaCl), sülfatlı su (MgSO₄) ve asitli su (HCl) ortamlarındaki iyileştirilmiş zeminlerin fiziksel, mekanik ve mineralojik özellikleri belirlenmiştir.

Temiz su ortamındaki kumlu zeminlerde, sıklık derecesi (%30-50-70), ortam sıcaklığı (20-30-45°C) ve bakteri yoğunluğunun (10⁷-10⁸-10⁹ hücre/ml) iyileştirilmiş zemin performansına etkileri incelenmiştir. %50 sıklık derecesi, 20°C ortam sıcaklığı ve 10⁹ hücre/ml bakteri yoğunluğu optimum parametreler olarak belirlenmiştir. Temiz su ortamındaki iyileştirilmiş kum zeminlerde CaCO₃ miktarı %11.3-18.1 arasında olurken, basınç dayanımı 1.7-4.1MPa arasında değişmektedir.

Tuzlu su (1-100 g/l) ortamındaki iyileştirilmiş kum zeminlerin CaCO₃ miktarı %16.1-20.7 arasında ve basınç dayanımı 2.6-4.5MPa arasında değişmektedir. Sülfatlı su (0.3-2g/l) ortamındaki iyileştirilmiş kum zeminlerin CaCO₃ miktarı %18.0-23.6 arasında iken basınç dayanımı 4.0-5.2MPa arasında değişmektedir. Asitli su (pH=4.6-6.6) ortamındaki kumlarda, CaCO₃ miktarı %22.1-26.2 arasında iken basınç dayanımı 4.9-5.4MPa arasında değişmektedir.

Kumlu zeminlerin mekanik özelliklerindeki iyileşme, MKKÇ sürecinde çökelen kalsit miktarıyla doğru orantılıdır. Serbest basınç dayanımı (q_u) ile çökelen kalsit (CaCO₃) miktarı arasında q_u=260(%CaCO₃)-984.5 (R²=0.93) şeklinde bir ilişki kurulmuştur. Temiz, tuzlu ve sülfatlı su ortamlarında sekant modülü E₅₀, 45q_u-70q_u arasında iken, asitli su ortamlarında 25q_u-45q_u arasında olmaktadır.

SEM ve FTIR analizleri ile MKKÇ süreci sonunda tespit edilen kalsit ve vaterit kristallerinin miktarı ve boyutu boşluk sıvısının kimyasal özelliğine göre değişmektedir. Temiz su ortamında daha büyük boyutlu ama az miktarda biyo-çimentolanma ürünleri oluşurken, ortamın sırasıyla tuzlu, sülfatlı ve asitli olması halinde biyo-çimentolanma ürünlerinin boyutlarının küçüldüğü ama miktarlarının arttığı belirlenmiştir.

Tez çalışması ile Sporosarcina pasteurii bakterisinin tuzlu, sülfatlı veya asitli boşluk sıvısının olduğu kumlu zeminlerde hücresel faaliyetlerini devam ettirebildiği, yüksek oranda kalsit çökeltisi oluşturabildiği ve yeterli mukavemete ulaşıldığı (q_u>1MPa) belirlenmiştir. Etkili bir MKKÇ süreci için, zemin-bakteri enjeksiyonu karışımında başlangıç pH değerinin 6.7-6.9 arasında olması gerektiği anlaşılmıştır. Sonuç olarak, farklı kimyasal boşluk sıvısının olduğu kumlu zeminlerin MKKÇ tekniği ile iyileştirilebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Asit, Kum, Mikrobiyal Kalsiyum Karbonat Çökmesi, pH, Sülfat, Tuz, Zemin İyileştirme.

ABSTRACT

MS THESIS

BIOLOGICAL IMPROVEMENT OF SANDS HAVING DIFFERENT CHEMICAL PORE FLUIDS

Demba N'DIAYE

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN CIVIL ENGINEERING

Advisor: Asst.Prof.Dr. Yavuz YENGİNAR

2025, 124 Pages

Jury

Asst.Prof.Dr. Yavuz YENGİNAR

Asst.Prof.Dr. Atila DEMİRÖZ

Asst.Prof.Dr. İlyas ÖZKAN

In the presented thesis study, sandy soils with different chemical pore fluids were improved using the bio-based Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation (MICP) method. The physical, mechanical, and mineralogical properties of soils treated in environments containing fresh water (tap water), saline water (NaCl), sulfate-rich water ($MgSO_4$), and acidic water (HCl) at various concentrations were determined.

In sandy soils treated in a fresh water environment, the effects of relative density (30-50-70%), ambient temperature (20-30-45°C), and bacterial concentration (10^7 - 10^8 - 10^9 cells/ml) on the performance of the treated soils were investigated. A relative density of 50%, ambient temperature of 20°C, and bacterial concentration of 10^9 cells/ml were identified as the optimum parameters. The amount of $CaCO_3$ ranged between 11.3% and 18.1%, while unconfined compressive strength varied from 1.7 MPa to 4.1 MPa.

In sandy soils treated in saline water (1-100 g/L), the $CaCO_3$ content ranged between 16.1% and 20.7%, with compressive strength values between 2.6 MPa and 4.5 MPa. For soils treated in sulfate-rich water (0.3-2 g/L), the $CaCO_3$ content was between 18.0% and 23.6%, and compressive strength ranged from 4.0 MPa to 5.2 MPa. In acidic water environments (pH = 4.6-6.6), $CaCO_3$ content varied between 22.1% and 26.2%, and compressive strength between 4.9 MPa and 5.4 MPa.

A correlation between unconfined compressive strength (q_u) and precipitated calcite ($CaCO_3$) was established as $q_u=260(\%CaCO_3)-984.5$ ($R^2=0.93$). In fresh, saline, and sulfate-rich water environments, the secant modulus E_{50} ranged from $45q_u$ to $70q_u$, while in acidic environments it ranged from $25q_u$ to $45q_u$.

SEM and FTIR analyses showed that the quantity and size of calcite and vaterite crystals formed during the MICP process varied depending on the chemical properties of the pore fluid. While fewer but larger bio-cementation products were formed in fresh water, it was observed that the crystal size decreased but the quantity increased in saline, sulfate-rich, and acidic environments, respectively.

The study demonstrated that *Sporosarcina pasteurii* bacteria could maintain cellular activity in sandy soils with saline, sulfate-rich, or acidic pore fluids, precipitate significant amounts of calcite, and achieve adequate strength ($q_u > 1$ MPa). It was also concluded that an initial pH value between 6.7 and 6.9 in the soil-bacteria injection mixture is essential for an effective MICP process. As a result, it was concluded that sandy soils with different chemical pore fluids can be effectively improved using the MICP technique.

Keywords: Acid, Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation (MICP), pH, Sand, Salt, Sulfate, Soil Improvement.

ÖNSÖZ

Tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Yavuz Yenginar'ın özverili desteği ve sürekli ilgisi sayesinde bu çalışmayı başarıyla tamamlayabildim. Onun rehberliği, her aşamada doğru yönlendirmeleri ve her detaya gösterdiği özen, bu tezin gerçekleşmesinde belirleyici bir rol oynadı. Bu süreç boyunca bana gösterdiği güven, sabır ve yardım için kendisine sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmasında kullanılan bakterinin temini ve çoğaltılmasında katkı sağlayan Prof.Dr. Hatice TÜRKDAĞI'na teşekkür ederim.

Ayrıca, yüksek lisans eğitimimi başarılı bir şekilde sürdürmemi sağlayan, mali ve manevi desteği için kardeşim Youssouf N'diaye'ye de içtenlikle teşekkür ederim.

Demba N'DIAYE
KONYA-2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. BİYOLOJİK ZEMİN İYİLEŞTİRME YÖNTEMİ.....	4
2.1. Biyolojik Yöntemle Zeminlerin İyileştirilmesi.....	7
2.1.1. Biyolojik yöntemlerle yapılan zemin iyileştirme sistemlerinin tanıtım.....	8
2.1.2. Mikroorganizmaların çeşitleri ve sınıflandırılması.....	10
2.1.3. Bakteriler	10
2.2. Mikrobiyolojik olarak indüklenen kalsit çökmesi	11
2.2.1. Mikroorganizmalar tarafından indüklenen kalsit çökmesi süreci.....	13
2.2.2. MKKÇ sürecinin verimliliğini etkileyen parametreler	14
2.2.3. Bakteri çeşidi	14
2.2.4. Bakteri hücre yoğunluğu.....	16
2.2.5. Sıcaklık ve pH.....	16
2.2.6. Üre ve kalsiyum (Ca ²⁺) konsantrasyonları.....	17
2.2.7. Tane çapı ve bakteri geometrisi	19
2.3. Biyolojik olarak iyileştirilmiş zeminlerin yapısı	19
2.4. Laboratuvar ölçekli iyileştirme	21
2.4.1. Bakteriyel solüsyon.....	22
2.4.2. Enjeksiyon Yöntemleri	23
2.4.3. İzleme.....	25
2.4.4. Kalsit içeriği.....	27
2.4.5. Homojenlik	28
2.5. Zeminlerin mühendislik özelliklerinin iyileştirilmesi.....	29
2.5.1. Dayanım ve rijitlik	29
2.5.2. Geçirimsizlik	33
3. KAYNAK ARAŞTIRMASI	35

4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	46
4.1. Malzemeler	46
4.1.1 Kumlu zemin.....	46
4.1.2 Bakteri.....	47
4.1.3. Besi ortamı.....	48
4.1.4 Kimyasal sıvılar	49
4.2. Yöntem.....	49
4.2.1 Deney programları	49
4.2.2 Numunelerin hazırlanması	52
4.2.3 Deneyleer.....	55
5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	58
5.1. Fiziksel Özellikler.....	58
5.1.1. Birim hacim ağırlık.....	58
5.1.2. pH değerleri	60
5.2. Mekanik Özellikler	63
5.2.1. Serbest basınç dayanımı.....	63
5.2.1.1. Temiz yeraltı suyu ortamında iyileştirme	63
5.2.1.2. Tuzlu yeraltı suyu ortamında iyileştirme	71
5.2.1.3. Sülfatlı yeraltı suyu ortamında iyileştirme.....	78
5.2.1.4. Asitli yeraltı suyu ortamında iyileştirme	84
5.2.2. Elastisite Modülü	87
5.2.3. Kalsit Miktarı	88
5.3. Mineralojik Özellikler.....	90
5.3.1. SEM ve EDS analizleri	90
5.3.1.1. Temiz su ortamındaki iyileştirilmiş zeminler	91
5.3.1.2. Tuzlu su ortamındaki iyileştirilmiş zeminler	94
5.3.1.3. Sülfatlı su ortamındaki iyileştirilmiş zeminler.....	94
5.3.1.4. Asitli su ortamındaki iyileştirilmiş zeminler	95
5.3.2. FTIR analizleri.....	96
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	100
7. KAYNAKLAR	106

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

cm³: Santimetreküp
°C: Centigrad Derecesi
g: Gram
kg: Kilogram
KPa: Kilopaskal
MPa: Megapaskal
m³: Metreküp
mg: miligram
mm: Milimetre
mMol: Milimol
ml: Mililitre
µm: Mikrometre
nm: Nanometre
s: Saniye
lt: Litre

Kısaltmalar

ASR: Alkali-silikat reaksiyonu
ATCC: American Type Culture Collection
CİD: Çözünmüş İnorganik Karbon
EICP: Enzimle İndüklenen Kalsit Çökmesi
FTIR: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
ICP-OES: Endüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Optik Emisyon Spektroskopisi
MEB: Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope)
MKKÇ: Maksimum Kuru Kütle Çekici
MIMP: Magnezyum Tabanlı Mineral Çökme
UCS: Serbest Basınç Dayanımı (Unconfined Compressive Strength)
UPB: Üreaz Üreten Bakteriler
XRD: X-ışını Kırınımı (X-ray Diffraction)

1. GİRİŞ

Mühendisliğin en eski uygulamalarından biri olan zemin iyileştirme, M.Ö. 3000 yılına kadar uzanmaktadır. Dünya nüfusundaki artışla birlikte konut ihtiyacı artmaktadır. Bu talebe yanıt olarak, inşaat için uygun zemin bulmak zorlaşmaktadır. Bu tür zeminler genellikle taşıma gücü, oturma, şişme ve doğal afetler durumunda sıvılaşma gibi zorluklarla karşı karşıya kalmaktadır. Teknolojinin ilerlemesi ve araştırma kapasitesinin artmasıyla, bu tür daha az stabil zeminlerin inşaat için uygun hale getirilmesi amacıyla yenilikçi zemin iyileştirme yöntemleri uygulanmaktadır (Ekinci, 2011).

Mikroplarla indüklenen kalsiyum karbonat çökeltisi (MKKÇ), zeminin dayanıklılığını ve sertliğini etkili ve eşit bir şekilde artırmak için alternatif bir yöntem sunmaktadır. MKKÇ, kalsiyum karbonatın zeminin yapısında çökeltmesini sağlayan biyo-geo-kimyasal bir yöntemdir (Mortensen vd., 2011). Yeraltı mikropları, alkali seviyesini yükselterek kalsiyum karbonatın çökmesini sağlayabilir (Konhauser, 2009). Bu olay, nitrat indirgenmesi, üre hidrolizi, demir indirgenmesi ve sülfat indirgenmesi gibi birçok biyo-geo-kimyasal tepkimeyle gerçekleştirilebilir (DeJong vd., 2010; Van Paassen vd., 2010).

Biyolojik olarak uyarılan bir zemin güçlendirme şeması, genellikle zeminde biyolojik süreçler tarafından yönlendirilen ve düzenlenen bir dizi kimyasal reaksiyona atıfta bulunur ve bu reaksiyonların yan ürünleri zeminin teknik özelliklerini iyileştirir (DeJong vd., 2010). Biyolojik süreç, kimyasal reaksiyon ağının zamanlamasını, hızını ve mekânsal dağılımını ve dolayısıyla zeminin özelliklerini optimize eden yan ürünleri kontrol etmeyi ve yönetmeyi sağlar. Biyolojik aracılı olduğunda, inorganik çökeltme, organik çökeltme ve gaz üretimi gibi kimyasal süreçler sırasıyla biyo-mineral, biyo-film oluşumu ve biyogaz üretimi olarak değerlendirilebilir. Literatürdeki biyo-çimentolanma süreçleri arasında kalsit, greigit, manyetit ve amorf silika üretimi bulunmaktadır (Konhauser, 2009).

Mikroorganizmaların biyo-çimentolanma sürecinde kullanımı, yer altındaki varlıkları ve uzun yıllar boyunca aktif olmaları göz önüne alındığında dikkat çekicidir. Zeminin yüzeye yakın derinliklerinde gram başına 10^9 'dan fazla hücre bulunmaktadır (Whitman vd., 1998), ve bakteri yoğunluğu genellikle derinlikle azalır. Bu, çoğu zemin iyileştirme mühendisliği uygulamalarının alt sınırı olan 30 m derinliğe kadar geçerlidir.

MKKÇ ile zemin stabilizasyonu, bakterinin çoğalması, üroliz reaksiyonları ve kalsiyum karbonat çökeltmesini içerir ve birçok farklı zemin yapısında gerçekleştirilebilir.

Üreolitik bakteriler (örneğin, *S. pasteurii*), %100 deniz suyu eşdeğerinde tuzlu koşullarda ve çeşitli tatlı su koşullarında gelişme yeteneğine sahiptir. Üreaz etkinliği, yüksek amonyum yoğunluklarından, hücre dışı enzimlerden, canlı hücrelerden ya da anoksik ortam şartlarından etkilenmez. Bu nedenle, yeterli sayıda hücre enjekte edilebilirse, üreolitik potansiyel, yeraltı su seviyesinin çok altında düşük oksijen konsantrasyonlarında veya yüksek amonyum üretiminin gerçekleştiği durumlarda bile iyileştirme süreci boyunca ya da tedavi bölgesinde sürekli olabilir (Mortensen vd., 2011).

Biyolojik yöntemle zemin iyileştirme araştırmalarının temel sorusu laboratuvar ortamında zemin numunesinin iyileştirilip iyileştirilemeyeceği değildir. Bunun yerine, temel bilim düzeyinde ve mikron ölçeğinde ana sorular şunlardır (DeJong vd., 2010):

- Biyolojik zemin iyileştirme nasıl gerçekleşmektedir?
- Saha performansı düzeyinde, geniş bir zemin alanı nasıl eşit bir şekilde iyileştirilebilir?
- Biyolojik olarak iyileştirilen zemin dayanımını ne kadar süre koruyacaktır? Durabilitesi yeterli midir?
- Saha ölçeğinde mevcut yeraltı suyunun kimyasal yapısı biyolojik iyileştirmeyi ne düzeyde etkilemektedir?

Tez çalışması kapsamında, kumlu bir zemin biyolojik olarak (MKKÇ ile) iyileştirilmiştir. Çalışmada, ortam sıcaklığı, kumun sıkılık derecesi, bakteriyel enjeksiyonun hücre yoğunluğu, boşluk suyunun kimyasal yapısı (normal, asitli, sülfatlı ve tuzlu su ortamları), ortamın pH değeri gibi birçok parametrenin MKKÇ oluşumuna etkisi değerlendirilmiştir.

Tezin konusu ve kapsamı:

- Farklı kimyasal (temiz, tuzlu, sülfatlı veya asitli) boşluk sıvısına sahip kumlu zeminlerin biyolojik yöntemle iyileştirilmesi
- İyileştirme yöntemi: Enjeksiyon (Permeasyon, jet grout veya derin karıştırma yöntemleriyle enjeksiyon çalışmaları)

Tezin amacı:

- İyileştirilmiş zeminlerin fiziksel, mekanik ve mineralojik özelliklerinin belirlenmesi,
- Kumun sıkılık derecesi, ortam sıcaklığı ve bakteri yoğunluğunun mikrobiyal kalsit karbonat çökmesine (MKKÇ) etkisinin araştırılması,
- Tuzlu, sülfatlı veya asitli ortamlarda MKKÇ etkinliğinin araştırılması,
- İyileştirilmiş zeminde yeterli dayanım (>1MPa) ve rijitliğin elde edilmesi,

- Homojen MKKÇ oluşumunun sağlanması,
- Kalsit içeriği ile dayanım arasında ilişki kurulması,
- Dayanım ve elastisite modülü arasında ilişki kurulması,
- Biyoçimentolanma ürünlerinin (kalsit, vaterit) tespit edilmesi.

Tezin Önemi ve Özgün Tarafı:

Biyolojik zemin iyileştirme çalışmaları genellikle saf (distile) su ortamında yapılmaktadır. Halbuki, bölgenin konumu, zemin formasyonu, sanayileşme ve şehirleşmeye bağlı olarak yeraltı suları farklı kimyasal özelliklerde olabilir. Fakat, literatürde bu alanda yeterince çalışma bulunmamaktadır.

- **Tuzlu yeraltı suları:**
 - Deniz veya okyanus kıyılarındaki zeminler,
 - Denizle bağlantılı alüvyonlar, karstik kireçtaşı (Kalkerli) formasyonlar, gevşek tortullar, eski lagün ve taban göllerinin bulunduğu organik zeminler (Torf, Mil),
 - Denizel tortul birimlerdeki derin akiferlerde bulunmaktadır.
- **Sülfatlı yeraltı suları:**
 - Alçıtaşı (Jips – $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) içeren zeminler,
 - Anhidrit (CaSO_4) kayaçları,
 - Volkanik tüfler, bazaltlar,
 - Endüstriyel veya tarımsal kirlilik (gübre) olan zeminlerde bulunmaktadır.
- **Asitli yeraltı suları**
 - Sülfürlü mineraller içeren zeminler (Şist, kömürlü tabakalar, pirit (FeS_2) içeren formasyonlar),
 - Asidik maden drenajı alanları,
 - Volkanik gazların (SO_2 , CO_2) olduğu tuf, andezit, bazalt gibi volkanik kökenli kayaçlar,
 - Yoğun organik madde içeren zeminler,
 - Asit yağmurlarına maruz kalan bölgeler,
 - Endüstriyel veya tarımsal kirlilik olan zeminlerde bulunmaktadır.

Yürütülen tez çalışması ile farklı kimyasal boşluk sıvısına sahip kumlu zeminler biyolojik esaslı yöntemle iyileştirilmiş ve iyileştirilen zeminlerin fiziksel, mekanik ve mineralojik özellikleri belirlenmiştir.

2. BİYOLOJİK ZEMİN İYİLEŞTİRME YÖNTEMİ

Günümüzde artan nüfus ve kentleşme nedeniyle inşaat alanları azalmakta ve sağlam zemin bulmak zorlaşmaktadır. Bu nedenle, taşıma kapasitesi, oturma ve stabilite gibi koşulları karşılamayan zeminlerin özelliklerini iyileştirmek kaçınılmaz hale gelmiştir. Yüzeysel veya derin iyileştirme yöntemleri, yapının özelliklerine ve zemine uygulanan yüklere göre seçilir. Zeminin mühendislik özellikleri sıkıştırma veya katkı maddeleri ile arttırılabilir ya da zeminden daha rijit kolonlar imal edilerek iyileştirme yapılabilir. İyileştirme yöntemleri maliyet, süre ve amaç dikkate alınarak belirlenir (Yenginar, 2020) (Çizelge 2.1).

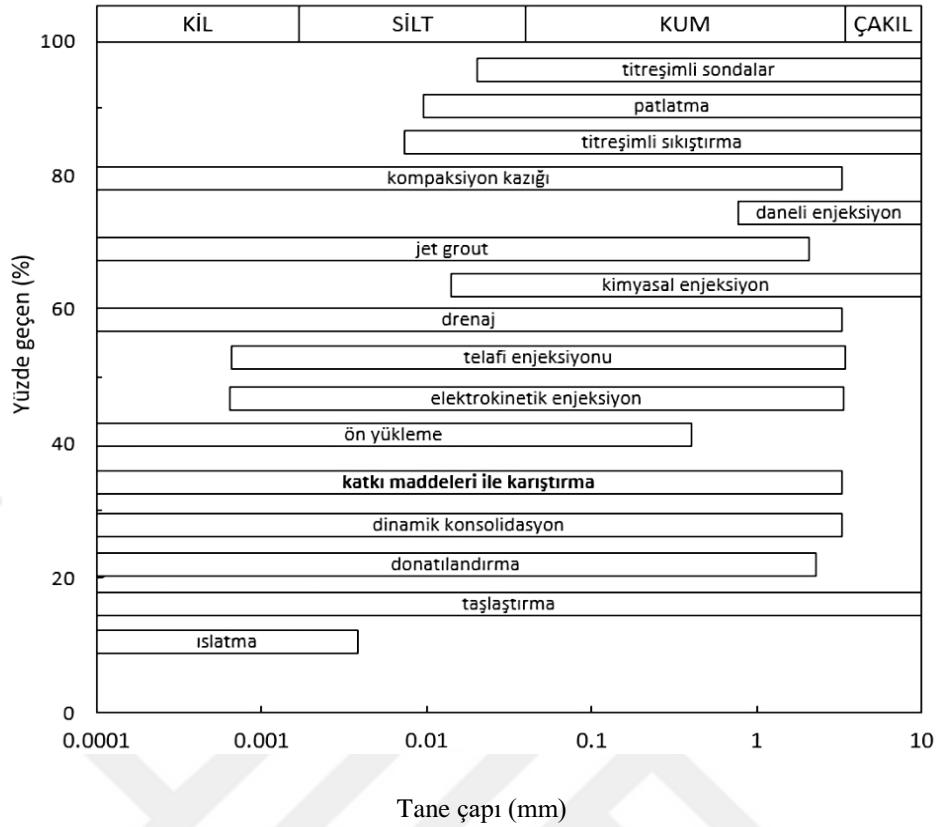
Zemin iyileştirmenin temel hedefi, zemin mühendislik özelliklerini geliştirmek ve arzu edilen düzeye ulaştırmaktır. Zemin, yapısal ve/veya jeolojik yüklerin neden olduğu kayma gerilmelerine karşı yeterli kayma dayanımını sağlamalıdır. İyileştirme işlemi sonrasında, zemin elastik bir şekilde tepki verebilmeli ve kalıcı deformasyonların en az düzeyde olabilmesi için yeterli sertliğe (elastiklik modülü) sahip olmalıdır. Ayrıca, zeminin su ile temas etmesi durumunda su emme kapasitesine karşı koyabilmesi gereklidir. Böylece hacimsel genişleme ve daralma olayları sınırlandırılmış olur. İyileştirilmiş zemin, yüklemelere veya su etkilerine maruz kaldığında kendi hacmini ve kütlelerini koruyacak bir dengeye sahip olmalıdır. Ek olarak, zemin su etkilerine (ıslanma ve kuruma), sıcaklık dalgalanmalarına (donma ve çözülme) ve yüklemelere karşı uzun süreli performansını sürdürebilecek sağlamlığa (dayanıklılık) sahip olmalıdır (Yenginar, 2020).

Kimyasal katkılar, zayıf ve/veya şişen zeminlerin mühendislik niteliklerini geliştirmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu katkıların eklenmesiyle zemin taneleri arasındaki bağlantılar kuvvetlenmektedir. Ayrıca, yeterli dayanım elde edildiğinde zeminin su içeriği düşük seviyelerde tutulmaktadır (Chittoori, 2008; akt Yenginar, 2020). Katkı maddeleri, zemin, katkı ve su etkileşimi sayesinde yeni bileşimlerin ortaya çıkmasına neden olur. Katkı maddelerinin ne kadar etkili olduğu, işleme tabi tutulan malzemenin bileşimi ve katkı türüne bağlı olarak değişmektedir (Chittoori, 2008; akt Yenginar, 2020). Bu katkılar genel olarak üç ana gruba ayrılabilir: Geleneksel, geleneksel olmayan ve yan ürün stabilizatörleri. Geleneksel katkı maddeleri arasında sönmüş kireç, Portland çimentosu ve uçucu kül bulunmaktadır; geleneksel olmayan stabilizatörler ise sülfonatlanmış yağlar, amonyum klorür, enzimler ve

polimerler gibi bileşenleri içerir. Yan ürün stabilizatörleri ise çimento fırını tozu ve kireç fırını tozu gibi maddelerden oluşmaktadır.

Çizelge 2.1. Zemin stabilizasyon yöntemlerinin sınıflandırılması ve kullanım alanları (Chu vd., 2009).

Yöntem	Açıklama	Uygulama Alanı
Dinamik Kompaksiyon	Yüksek enerjili darbelerle zemin sıkıştırılır.	İri taneli zemin, dolgu alanları
Titreşimli İttirme ve Kompaksiyon	Titreşim etkisiyle taneli zeminlerin sıkıştırılması sağlanır.	İnce ve iri taneli zeminler
Mekanik Stabilizasyon	Taneli içeriği artırılarak zemin dayanımı iyileştirilir.	İri taneli zemin, dolgu
Kimyasal Enjeksiyon	Zemin dayanımı kimyasal bileşenlerle artırılır.	İnce taneli zeminler
Geosentetik Malzemeler	Geotekstil veya geogrid gibi malzemelerle zemin stabilizasyonu sağlanır.	Katkılı veya cisim eklemeli zeminler
Jet Grout (Jet Enjeksiyon)	Basınçlı çimento karışımı enjekte edilerek zeminde katı kolonlar oluşturulur.	İnce ve iri taneli zeminler
Biyolojik Yöntemler	Bakteri veya enzimlerle zemin sıkıştırılması sağlanır.	Çeşitli zemin tipleri
Önceden Yükleme	Zemin üzerine ağırlık eklenerek sıkıştırma sağlanır.	Yumuşak ve sıkışabilir zeminler
Geotekstil Kolonlar	Zemin dayanıklılığı için geotekstil kolonu oluşturulur.	İnce ve iri taneli zeminler
Çivileme	Zemin katmanlarını desteklemek için çivileme işlemi yapılır.	İnce ve katmanlı zeminler
Elektrokinetik Konsolidasyon	Elektrik akımıyla zeminde suyun yönlendirilmesi sağlanarak sıkışma elde edilir.	İnce taneli ve kil zeminler
Rijit Cisim Yerleştirme	Zemine rijit cisimler eklenerek sıkıştırma sağlanır.	Yumuşak zemin
Isıl İşlemler	Zeminin ısıtılmasıyla sıkışma ve dayanım artırılır.	Buzlu veya donmuş zeminler
Kum Kompaksiyon Kazığı	Zemine kum kolonu yerleştirilerek kompaksiyon sağlanır.	Sıkışabilir ince taneli zeminler
Karıştırma Yöntemleri	Zeminle katkı malzemeleri karıştırılarak stabilizasyon sağlanır.	İnce ve iri taneli zeminler
Sıkıştırma Enjeksiyonu	Zemine sıkıştırıcı madde enjeksiyonu yapılır.	İnce taneli zeminler
Yüzeyden Sıkıştırma	Yüzey üzerinden mekanik sıkıştırma sağlanır.	İnce ve iri taneli zeminler
Elektrik Uygulamalı Sıkıştırma	Zemin elektrik uygulamasıyla sıkıştırılır.	İnce taneli zemin
Kum Kompaksiyon Kazığı	Kum kolonları yerleştirilerek sıkışma artırılır.	Gevşek zeminlerde
Telafi Enjeksiyonu	Zemin altında boşluk doldurmak için enjeksiyon yapılır.	Tünel ve altyapı projeleri
Bakteriyel Yöntemler	Bakteri kullanarak zeminin sıkıştırılması sağlanır.	Çeşitli zemin tipleri
Kazıklı Dolgular	Zemin desteklemek için kazık kullanılır.	Gevşek ve taşıma kapasitesi düşük zemin



Şekil 2.1. Zemin iyileştirme yöntemlerinin tane boyutuna göre sınıflandırılması (MITCHELL, 1981; akt Yenginar, 2020).

Zemin iyileştirme için sürdürülebilir yöntemlere olan talep, yılda 40.000'den fazla projeye ve küresel çapta 6 milyar doları aşan bir maliyete ulaşmaktadır (DeJong vd., 2010). Bu tekniklerin çoğu, üretim ve kurulum için önemli enerji gerektiren mekanik enerji veya sentetik malzeme kullanımına dayanmaktadır. Yaygın yöntemler arasında, kimyasal enjeksiyon, jet ve permeasyon teknikleri kullanılarak zemin parçacıklarını birbirine bağlamak için mikro ince çimento, epoksi veya silikatlar gibi sentetik ürünlerin enjeksiyonu bulunmaktadır (Karol, 2003; Xanthakos, vd., 1994). Ancak bu yaklaşımlar, sodyum silikat dışında tehlikeli olmaları nedeniyle çevresel endişeler doğurmakta ve gittikçe daha fazla incelenmektedir (Karol, 2003). 1974'te Japonya'da akrilamid bazlı kimyasal enjeksiyonlar birkaç zehirlenme vakasıyla ilişkilendirilmiş, bu durum neredeyse tüm kimyasal enjeksiyonların yasaklanmasına yol açmıştır. Bu düzenleme, çoğu ürünün piyasadan çekilmesine neden olan federal bir düzenlemenin yürürlüğe girdiği Amerika Birleşik Devletleri'ne de yayılmıştır. Günümüzde bazı ülkeler, bu alanda kullanılan tüm sentetik malzemelerin yasaklanmasını önermektedir.

2.1. Biyolojik Yöntemle Zeminlerin İyileştirilmesi

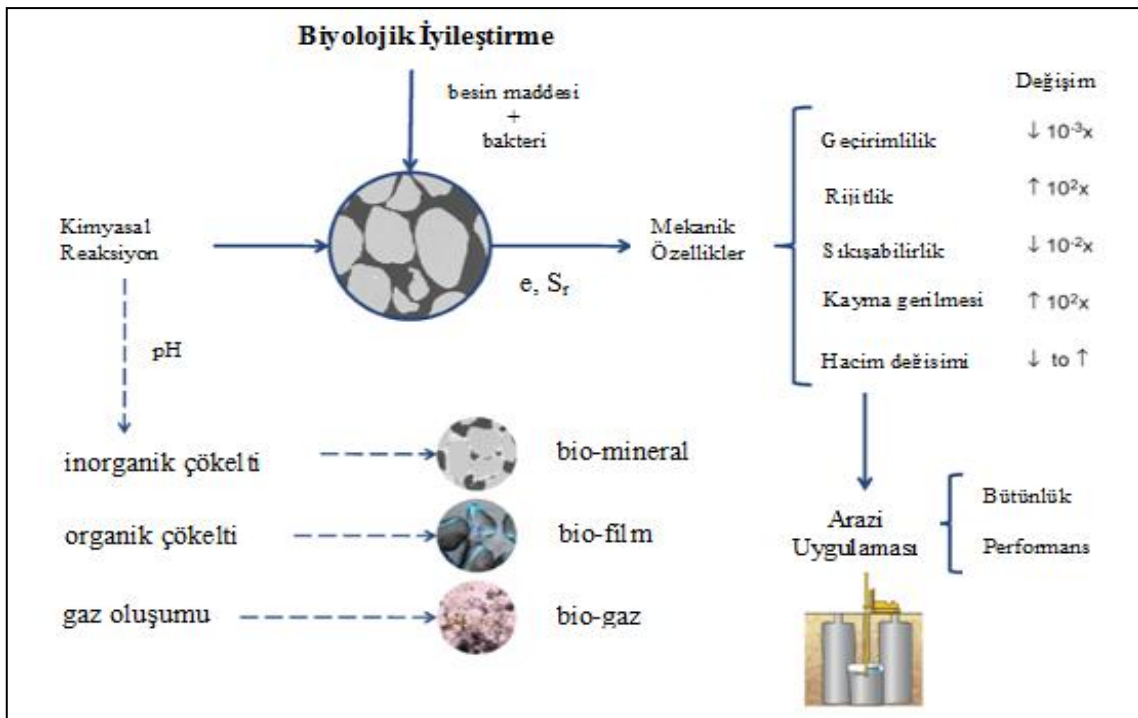
18. ve 19. yüzyıllarda Coulomb ve Rankine gibi bilim insanları, matematik ve fizik yoluyla zemin mekaniği ve temel mühendisliği alanında bazı davranışları açıklamak, sayısallaştırmak ve öngörmek için önemli çalışmalar yapmışlardır. 20. yüzyılın. Ayrıca, etkin gerilme prensibini tanımlayarak, zeminlerin rijitlik, hacim değişimi ve dayanıklılık gibi temel özelliklerinin anlaşılması için önemli bir temel oluşturmuştur. Ancak, 20. yüzyılın ortalarına gelindiğinde hızlı kil, kil şişmesi, çöken zeminler, sünme ve gerilme gevşemesi gibi bazı geoteknik olgular hala daha fazla açıklama gerektiriyordu. Bu durum, zeminin özellik ve davranışlarının belirlenmesinde kimya ve mineralojinin önemli rollerinin daha ayrıntılı incelenmesine zemin hazırlamıştır (J. K. Mitchell & Santamarina, 2005).

Biyolojik aktiviteler, çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar yoluyla zemin oluşumu, hava koşullarına maruz kalma, taşınma, zemin mineralojisi ve morfolojisinin değişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Ancak, geoteknik mühendisliği disiplinde geleneksel olarak, zemin biyolojik sonuçlar açısından etkisiz bir mühendislik malzemesi olarak kabul edilmiştir; bu durum son on yıla kadar böyle devam etmiştir. Son zamanlarda, biyolojik aktivitelerin geo-kimyasal süreçlerin hızları üzerindeki önemi ve zemin mühendislik davranışına olan etkisi vurgulanmış ve analiz edilmiştir. Biyolojik süreçlerin zeminin geoteknik davranışı üzerindeki etkisini inceleyen bu çok disiplinli araştırma alanı Biyo-geoteknik olarak adlandırılmaktadır (Jain vd., 2023).

Yeraltında birçok biyolojik canlı bulunmaktadır ve bu canlıların zeminin oluşumu ve davranışı üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Ancak, geoteknik mühendisliği uzun bir süre boyunca bu ilişkiyi incelemeye yeterince odaklanmamıştır. Son yıllarda ise görüntüleme teknolojilerinin yanı sıra biyoloji ve mikrobiyoloji alanlarındaki gelişmeler sayesinde bu konuda yapılan araştırmalar artmış, mikrobiyoloji geoteknik uygulamalarında kullanılmaya başlanmıştır. Bu ilerlemeler sonucunda, biyo-geoteknoloji ya da mikrobiyolojik geo-teknoloji olarak adlandırılan disiplinler arası bir araştırma alanı ortaya çıkmıştır. Bu alanda, geoteknik mühendisliği, yerbilimi, mikrobiyoloji, jeokimya, moleküler biyoloji, zemin bilimi ve çevre mühendisliği gibi çeşitli uzmanlık alanlarından araştırmacılar çalışmalar yürütmektedir (Yenginar, 2013).

2.1.1. Biyolojik yöntemlerle yapılan zemin iyileştirme sistemlerinin tanıtım

Biyolojik aracılı bir zemin iyileştirme sistemi, biyolojik aktivite ile zemin içinde yönetilen ve kontrol edilen bir kimyasal reaksiyon ağına atfedilir ve bu ağın yan ürünleri zeminin mühendislik özelliklerini iyileştirir. Biyolojik yöntemle zemin stabilizasyonunun genel kazanımları ve süreci Şekil 2.2’de sunulmuştur. Benzer süreçlerin, ağır metallerin çöktürülmesi (Fujita vd., 2008) ve beton yapılarının restorasyonu için de araştırıldığı belirtilmektedir (De Muynck vd., 2008).



Şekil 2.2. Biyolojik yöntemlerle yapılan zemin iyileştirme sistemleri (DeJong vd., 2010)

Biyolojik çimentolama ürünlerinin temelinde, zeminin mühendislik özelliklerini iyileştirme potansiyeline sahip bir kimyasal reaksiyon ağı mevcuttur. Bilinen kimyasal reaksiyonların çoğu, biyolojik aktivite olmadan da çözültide gerçekleşebilir. Üretilen yan ürünler genellikle inorganik çökeltiler, organik çökeltiler ve gaz oluşumu şeklinde sınıflandırılır. Bu kimyasal reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkan yan ürünler, zemin özelliklerinin iyileştirilmesi için gereklidir. Ancak, bu yan ürünler neredeyse anında ve yoğunlukla ara sıvı içerisinde oluşur. Kimyasal reaksiyon gerçekleşir, fakat zemin özelliklerinin iyileşmesi sağlanamaz (DeJong vd., 2010).

Bakterilerin hücresel faaliyetleri, kimyasal reaksiyonların zamanlamasını, hızını ve ortamdaki dağılımını kontrol etme imkânı sunar. Bu sayede zemin özelliklerini iyileştiren yan ürünlerin de dağılımı üzerinde etkili olur. Biyolojik olarak aracılı süreçlerde, inorganik çökelme, organik çökelme ve gaz üretimi sırasıyla biyo-mineral, biyo-film oluşumu ve biyogaz üretimi olarak değerlendirilebilir. Literatürde tanımlanan biyo-mineral süreçleri, kalsit, magnitit, amorf silika ve greigit üretimini içermektedir (Konhauser, 2009).

Bakterilerin üre hidrolizi özelliğinden faydalanarak mühendislik problemlerinde kullanmak, mevcut yerkürede bulunmaları ve geçmişten günümüze hücresel faaliyetlerine doğanın olağan akışı içerisinde devam etmeleri göz önünde bulundurulduğunda oldukça ilgi çekici bir yöntemdir. Üst zemin katmanında gram başına 10^9 hücre bulunurken (Whitman vd., 1998), bu hücre yoğunluğu genellikle derinlik arttıkça düşmektedir. 30 m derinlik, çoğu zemin iyileştirme uygulaması için alt sınır olarak kabul edilir ve bu derinlikte mikropların varlığı mümkündür (Whitman vd., 1998). Biyolojik amacıyla kullanılacak birçok bakteri türü vardır, ancak bireysel olarak sayıları oldukça düşüktür.

Biyolojik yöntem ile zemin iyileştirmede, kimyasal reaksiyonlar ağı, alt yüzeye kimyasal maddeler eklenerek düzenlenir. Bakteri sayısı, besin maddelerinin enjekte edilmesiyle (biyo-stimülasyon) veya ek bakterilerin enjekte edilmesiyle (biyo-güçlendirme) artırılır. Amaç, kimyasal reaksiyonları başlatmak ve sürdürmek için gerekli bakteriyel aktiviteyi ve yoğunluğu artırmaktır. Zaman ilerledikçe, bakterilerin ve kimyasalların zemindeki dağılımı kolaylaşmaktadır. Bakteriyel aktivite, çevresel koşulları değiştirir ve gerekli şartlar sağlandığında kimyasal reaksiyonlar tetiklenir. Reaksiyon başladıktan sonra, alt ürünlerin üretim hızı bakteriyel metabolizmalar ve mevcut kimyasallara bağlıdır (DeJong vd., 2010).

Mikrobiyolojik zemin iyileştirme yöntemleri, diğer zemin iyileştirme tekniklerinin kullanıldığı tüm sorunlu zeminlerde uygulanabilir. Özellikle, yüksek maliyetlerin söz konusu olduğu durumlar veya yüksek enjeksiyon basınçları nedeniyle zemin kayması ve komşu yapıları zarar verme riski bulunan durumlarda tercih edilebilir. Genellikle en iyi sonuçlar genellikle kumlu zeminlerde elde edilir, çünkü bakterilerin boyutları 0.5 ile 3 mikron arasındadır. Bu nedenle, bakterilerin hareket edebilmesi için zemin gözeneklerinin bu boyuttan büyük olması gerekir (Yenginar, 2013).

2.1.2. Mikroorganizmaların çeşitleri ve sınıflandırılması

Yer yüzeyine yakın bölgelerde kilogram başına 10^9 ile 10^{12} arasında mikroorganizma bulunmaktadır. Tek hücreli mikroorganizmalar, tüm bakteri, arkea ve ökarya türlerini içerir. Bakteriler ve arkealar, zarfla çevrili bir çekirdek olmaksızın basit bir hücresel yapıya sahiptir ve genellikle yapılarından ziyade kimyasal bileşimleriyle ayırt edilirler. Genetik bilgileri, bir veya daha fazla kromozom içerebilen DNA molekülünde bulunur. Ökaryot hücreler tek çekirdeklidir ve bunlara mantarlar, algler, sümüksü mantarlar ve protozoalar örnek verilebilir. Mikroorganizmalar, şekilleri, hücre duvarı türleri, besin ihtiyaçları, biyokimyasal dönüşüm türleri ve DNA ile RNA dizileri gibi kriterlere göre tanımlanabilir ve sınıflandırılabilir (J. K. Mitchell ve Santamarina, 2005).

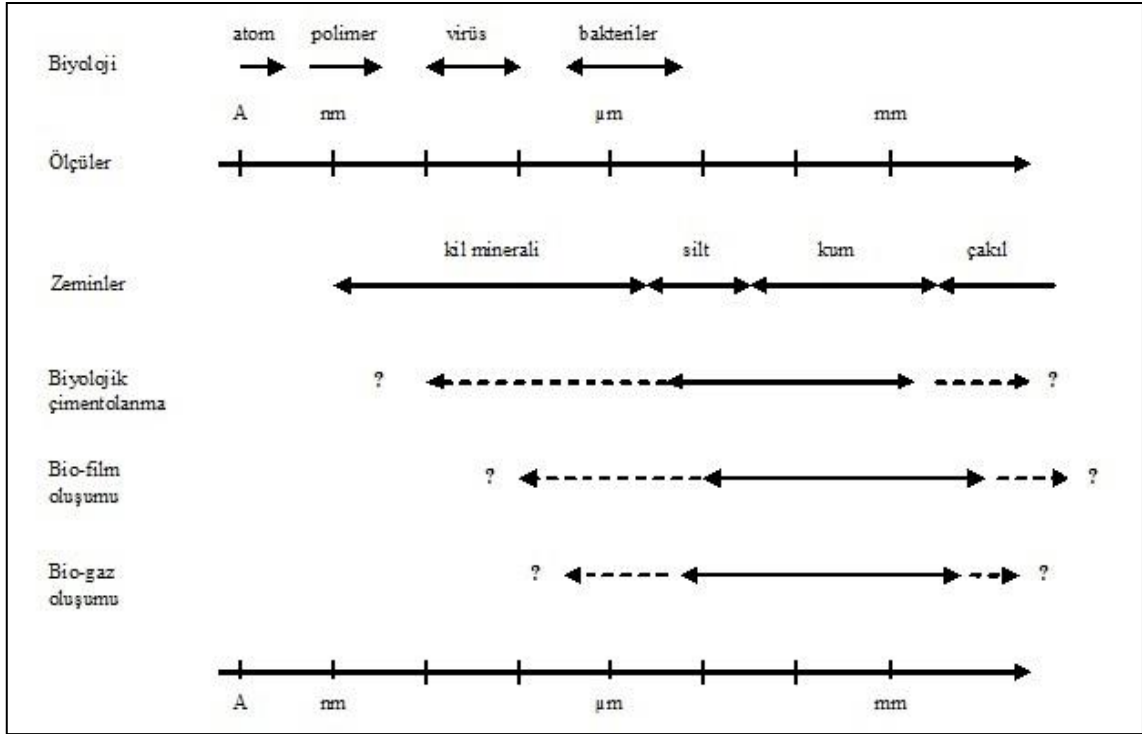
Organizmalar, besin kaynaklarına dayanarak sınıflandırılabilir. Bakteriler, büyüme ve üreme için hem karbon kaynağına hem de enerjiye ihtiyaç duyar. Hayatta kalmak amacıyla karbonu kullanarak hücre içinde çeşitli moleküller üretirler. Bakteriler, enerji kaynaklarına göre fototrof ve kemotrof olarak iki ana gruba ayrılır. Fototrof bakteriler, enerji ihtiyaçlarını ışıktan karşılarken, kemotrof bakteriler organik veya inorganik maddelerden enerji elde ederler. Ayrıca, kullandıkları karbon kaynaklarına göre de ototrof ve heterotrof olarak sınıflandırılırlar. Ototrof bakteriler, karbon ihtiyaçlarını karbon dioksitin biyo-sentezi ile karşılar; heterotrof bakteriler ise bu ihtiyacı organik bileşiklerden sağlar. Bu nedenle, ototrof bakteriler "üreticiler" olarak tanımlanırken, heterotrof bakteriler "tüketiciler" olarak adlandırılır.

Aerobik ve anaerobik bakteriler, heterotrof bakteriler arasında yer alır. Aerobik bakteriler, serbest ya da çözülmüş oksijeni kullanarak hayatta kalırken, anaerobik bakteriler oksijenli ve oksijensiz ortamlarda da yaşayabilir. Bu sebeple, anaerobik bakteriler zemin koşullarına karşı daha dirençlidir.

2.1.3. Bakteriler

Bakteriler, zeminde bulunan yaygın mikroorganizmalar arasındadır. Yeryüzü litosferinde, büyük derinliklerde bile ancak daha az sayıda bulunurlar (Bartlett, 1998). Bakteriler şekil yönünden yuvarlak, çubuk veya spiral şeklinde olabilirler. Hücrelerin çapı genellikle yaklaşık 0.5 ila 3 mikrometre arasındadır ve sporlar 0.2 mikrometre kadar küçük olabilir. Bakterilerin boyutu, zor koşullarda küçülebilir. Bildiğimiz anlamda "yaşam" için kabul edilen boyut sınırı 0.2 mikrometre olsa da 0.05 ila 0.2 mikrometre

boyutunda, kendi kendini çoğaltabilen küçük varlıklar kan, kaya ve minerallerde elektronik mikroskopla tespit edilmiştir; ancak bu "nano-bakterilerin" varlığı hâlâ tartışmalıdır (J. K. Mitchell ve Santamarina, 2005).



Sekil 2.3. Bakteri ve zemin tane çaplarının karşılaştırılması ile farklı iyileştirme yöntemleri için uygulanabilir sınırların belirlenmesi (DeJong vd., 2010).

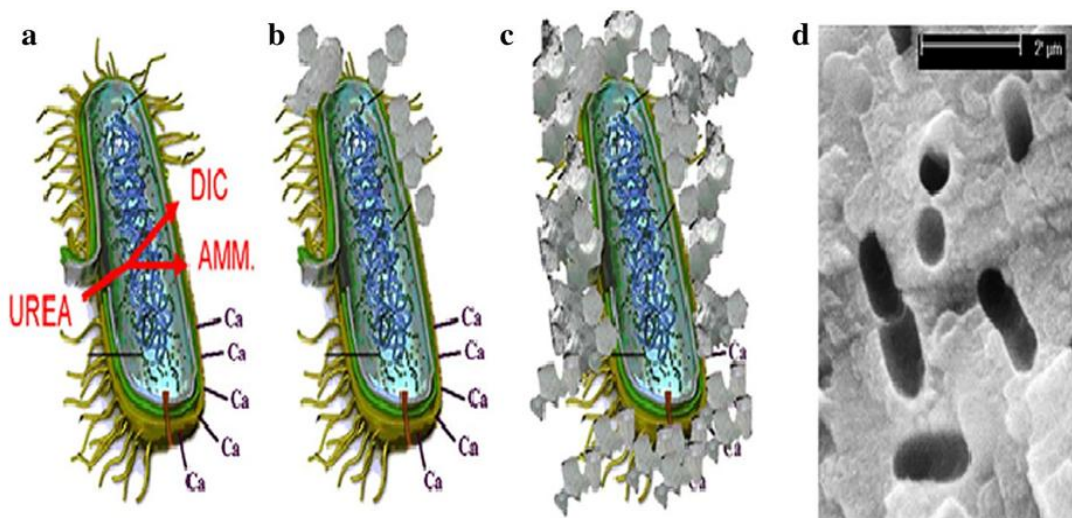
2.2. Mikrobiyolojik olarak indüklenen kalsit çökmesi

Mikroorganizmalarla İndüklenen Kalsit Çökmesi (MKKÇ), ureolitik bakteriler (örneğin *Sporosarcina pasteurii*) kullanılarak kalsiyum karbonat çökeltilerinin oluşturulmasını sağlayan modern bir zemin iyileştirme yöntemidir. Bu süreç, üre hidrolizi ile gevşek zeminlerdeki boşlukları doldurur ve zemin taneleri bir arada tutar (Jiang vd., 2016; Shahrokhi vd., 2016). MKKÇ, çevre dostu ve verimli bir teknoloji olarak, zemin stabilitesizliği ve beton çatlakları gibi çeşitli çevresel problemleri çözmek amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır (Anbu vd., 2016). MKKÇ işlemi sırasında, ureolitik bakteriler, çevredeki kalsiyum iyonları (Ca^{2+}) ile reaksiyona giren metabolik maddeler (CO_3^{2-}) üretir (Anbu vd., 2016). Üreaz enzimi, üre molekülünü, bir yüklü amonyum iyonu (NH_4^+ , pozitif) ve karbonat iyonları (CO_3^{2-} , negatif) şeklinde iki iyon haline dönüştürür (Cuzman vd., 2015). Bu biyokimyasal süreçler sonucunda kalsiyum karbonat (CaCO_3) mineralleri çökler (Jiang vd., 2016).

Kalsiyum karbonat (CaCO_3) birikim mekanizması, MKKÇ sürecinde temel ve kolayca kontrol edilebilen bir süreç olup, kısa sürede yüksek CaCO_3 konsantrasyonları üretebilir (Dhami vd., 2013a). Üreaz enzimi, biyo-mineral oluşumunda yer alan kimyasal reaksiyonlarda kilit bir rol oynar ve dört farklı değişkenden etkilenir (Hammes ve Verstraete, 2002). Bunlar arasında çözülmüş inorganik karbon miktarı, pH, kalsiyum yoğunluğu ve çökeltme bölgelerinin kullanılabilirliği yer alır. İlk üç faktör, karbonat iyonlarının (CO_3^{2-}) konsantrasyonunu belirleyerek doygunluk durumunu yansıtırken, son faktör olan çökeltme bölgelerinin kullanılabilirliği, kalsiyum karbonatın sürekli ve stabil bir şekilde oluşumu için kritik öneme sahiptir (Anbu vd., 2016).

Biyo-mineral süreçinde, bakteriler çökeltme noktaları olarak görev yapar ve yüzeylerinde kalsiyum karbonatın (CaCO_3) çökeltmesini kolaylaştırır. Bu parametreler ya üreaz enzim aktivitesini ya da CaCO_3 kristallerinin oluşumunu önemli ölçüde etkiler. Bakteri hücre zarları, negatif yüklü yapıları sayesinde Ca^{2+} ve Mg^{2+} gibi divalent katyonları bağlayan toplayıcılar olarak işlev görür ve bu iyonları nötr pH 'da kendilerine çeker, böylece kalsit çökeltmesi için ideal çökeltme noktaları oluşturur (Anbu vd., 2016; Stocks-Fischer vd., 1999). Ancak, kalsiyum (Ca^{2+}), daha yüksek iyonik afiniteye sahip olduğu için magnezyuma (Mg^{2+}) kıyasla bakteri hücre zarına daha sık bağlanır (Sanchez-Roman vd., 2007). Daha sonra bu katyonlar, karbonat anyonlarıyla birleşerek çözünmeyen formda kalsiyum karbonat oluşturur (Şekil 2.4).

Bakteriler, CaCO_3 çökeltmesinde kritik bir rol oynar çünkü heterojen çökeltme noktaları olarak hareket ederler ve oluşan mineral türlerini doğrudan etkilerler (Anbu vd., 2016).

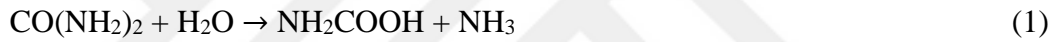


Şekil 2.4. Üre hidroliz süreciyle indüklenen kalsit çökeltmesi (De Muyneck vd., 2010).

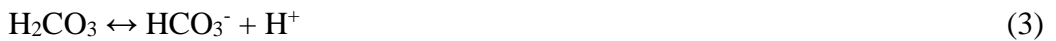
2.2.1. Mikroorganizmalar tarafından indüklenen kalsit çökmesi süreci

MKKÇ oluşum süreci, kalsit çökmesinin biyolojik bir aktivite kullanılarak çevrenin pH seviyesini artırdığı ve böylece aşırı doymun karbonat koşulları yarattığı bir ametabolik süreç (üreoliz) tarafından tetiklenmesine dayanır. Kalsiyum karbonat (CaCO₃) kristallerinin oluşum mekanizmasında üç temel bileşen rol oynar: (1) üre, CO(NH₂)₂ ve onun karbonat iyonlarını (CO₃²⁻) üretmek için ayrışması, genellikle üreoliz olarak adlandırılan bir reaksiyonla gerçekleşir; bu reaksiyon, (2) üreaz enzimi tarafından katalize edilir ve bu sayede katalizörsüz bir reaksiyona kıyasla süreci 10¹⁴ kat hızlandırır (Terzis ve Laloui, 2019); ve (3) kalsiyum iyonu (Ca²⁺) kaynağı.

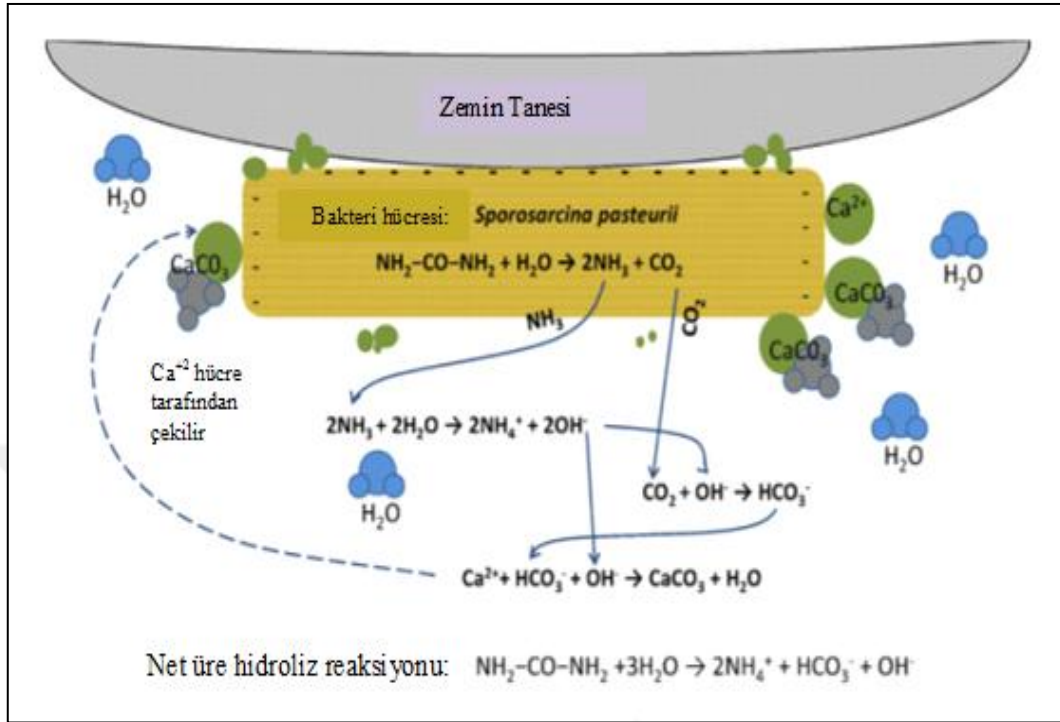
Üreaz enzimi, ürenin karbonata ve amonyuma ayrışmasını hızlandırır. Üre hidrolizinde, bir mol üre, bir mol amonyak ve bir mol karbonik aside dönüşür (Denklem 1). Karbonik asit, kendiliğinden bir başka mol amonyak ve karbonik aside ayrışır (Denklem 2) (Hammes ve Verstraete, 2002; Stocks-Fischer vd., 1999).



Bu maddeler (NH₃ ve H₂CO₃), daha sonra suda dengelenerek bikarbonat (Denklem 3), iki mol amonyum ve iki mol hidroksit iyonu (Denklem 4) oluşturur. Hidroksit iyonları, pH seviyesinin yükselmesine neden olur, bu da bikarbonat dengesini değiştirebilir ve karbonat iyonlarının oluşumuna yol açabilir (Fujita vd., 2008) (Denklem 5). Bu değişim, metal iyonlarının çökmesine yol açabilir. NH₄⁺ üretimi yerel pH'ı artırır ve reaksiyon, kalsiyum karbonatın kendiliğinden oluşumunu sürdürerek devam eder (A. C. Mitchell ve Ferris, 2005).



CaCO₃ oluşumu, çözeltilde yeterli miktarda kalsiyum iyonu (Ca²⁺) ve karbonat iyonu (CO₃²⁻) bulunduğu bakteriyel hücrelerinin yüzeyinde gerçekleşir (Şekil 2.5 ve Denk. 6-Denk. 7) (Qian vd., 2010).



Şekil 2.5. Üre hidrolizi yoluyla biyolojik kalsiyum karbonat çökmesi oluşumu (DeJong vd., 2010)

Üre hidroliz oranı, üre konsantrasyonunun zamanla ne kadar azaldığını gösterir. Bu oran, bakterilerin aktivitesini anlamak için önemlidir. Ayrıca, çökecek kalsiyum karbonat miktarına ilişkin bir öngörü sunar (Gandolfi, 2021).

2.2.2. MKKÇ sürecinin verimliliğini etkileyen parametreler

CaCO₃ çökme miktarı ve üreaz aktivitesi, çeşitli çevresel faktörlere bağlıdır. Bunlar; bakteri türü, pH, sıcaklık, bakteri hücre yoğunluğu, üre ve kalsiyum konsantrasyonları yer almaktadır (Hammes ve Verstraete , 2002; Mortensen vd., 2011; Qabany vd., 2012).

2.2.3. Bakteri çeşidi

Bakterinin cinsi, üreaz aktivitesinin üretimi için çok önemlidir. Üreaz üreten birçok bakteri incelenmiştir. Bunlar arasında *Aerobacter aerogenes*, *B. megaterium*, *B.*

subtilis, Bacillus sp. CR2, B. thuringiensis, D. halophila, Halmonas eurihalina ve Helicobacter pylori yer almaktadır. Ayrıca Kocuria flava CR1, L. sphaericus CH5, Methylocystis parvum, Myxococcus xanthus, Proteus mirabilis, Pseudomonas denitrificans, Spoloactobacillus sp., Sporosarcina ginsengisoli ve Sporosarcina pasteurii de bu gruba dahildir (Achal ve Pan, 2014; Dhami vd., 2013a; Stocks-Fischer vd., 1999).

Farklı bakteri türlerinin, üreaz ve kalsiyum karbonat çökeltisinin farklı miktarlarını üretebildiği bulunmuştur (Çizelge 2.2). Bacillus grubu, üreaz ve kalsit çökeltisi üretimi için yaygın olarak kullanılan bakteri türlerinden biridir. Örneğin, Sporosarcina pasteurii, ağır metallerin ve radyoaktif izotopların temizlenmesi, betonlardaki çatlakların onarılması ve zemin iyileştirme gibi çeşitli uygulamalar için ana organizmadır (Gorospe vd., 2013; Lauchnor vd., 2013; Sarda vd., 2009; V. Whiffin vd., 2007), oysa B. megaterium, yapı malzemeleri ve inşaat yapılarının beton dayanımını ve dayanıklılığını artırmak için kullanılır (Dhami vd., 2013a). L. sphaericus CH-5 ve K. flava CR1, sırasıyla çevreden kadmiyum ve kurşunun giderilmesinde kullanılır (Kang vd., 2014). Achal vd. (2009), Sporosarcina pasteurii'nin, Sporosarcina pasteurii MTCC 1761 vahşi türüne göre daha fazla üreaz aktivitesi ve CaCO₃ çökeltisi üretebilen mutasyona uğramış bir türünü geliştirmiştir.

Çizelge 2.2 Farklı kaynaklardan elde edilen üreaz üreten bakteriler ile üreaz aktivitesi ve kalsit çökeltme miktarı (Anbu vd., 2016).

Bakteri	Ayırma yeri	Üreaz aktivitesi	Kalsit Çökeltme	Kaynak
Bacillus sp. CR2	Maden atık zemini Urumqi, Çin	432 U/ml	2.32 mg/hücre kütlesi (mg)	(Achal vd Pan, 2014)
L. sphaericus CH5	Terk edilmiş kara yolu ve terk edilmiş maden sahaları, Gangwondo, Kore	-	980 mg / 100 ml	(Kang vd., 2014)
Sporosarcina pasteurii	Fenotipik özellikleri değiştirilmiş bakteri türü	550 U/ml	-	(Achal vd., 2009)
B. pasteurii NCIM 2477	Hindistan'ın Pune şehirindeki NCIM'den izole edilen bakteri kültürü	18 U/ml	-	(Sarda vd., 2009)
K. flava CR1	Maden cevheri toprağı, Urumqi, Çin	472 U/ml	-	
B. megaterium SS3	Kalkerli zemin, Andhra Pradesh, Hindistan	690 U/ml	187 mg / 100 ml	(Dhami vd., 2013a)
B. thuringiensis	Kalkerli zemin, Andhra Pradesh, Hindistan	620 U/ml	167 mg / 100 ml	(Dhami vd., 2013a)
Halomonassp. SR4	Maden kuyruğu, Çin	374.5 U/ml	-	

2.2.4. Bakteri hücre yoğunluğu

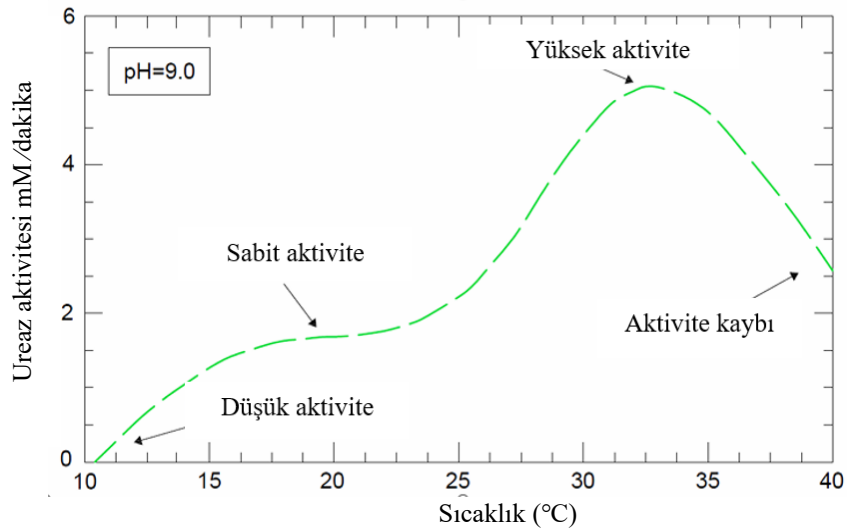
Yüksek düzeyde bakteriyel hücre konsantrasyonları (10^6 ila 10^8 hücre), üre hidrolizi için üreaz yoğunluğunun artması yoluyla MKKÇ süreciyle kalsiyum çökmesini artırır (Okwadha ve Li, 2010). Bu nedenle, üre hidrolizi ile bakteriyel hücre yoğunlukları arasında doğrudan bir ilişki vardır (Ng vd., 2012a). Stocks-Fischer vd. (1999), bakteriyel hücrelerin CaCO_3 çökelmeleri için çökme noktaları sağladığını bildirmiştir, çünkü bu çökme noktalarının mevcudiyeti, kalsit çökmesi için çok önemlidir (Ng ve al., 2012). Bir araştırmada bakteriler tarafından tetiklenen CaCO_3 çökelmelerinin, kimyasal olarak tetiklenen çökelmelerle 9.0 pH'da etkinliği karşılaştırılmış ve Ca^{2+} başlangıç konsantrasyonlarının %98'inin bakteriler tarafından çökeldiğini, ancak sadece %35'inin su ve %54'ünün ortamda kimyasal olarak çökeldiğini doğrulanmıştır (Stocks-Fischer vd., 1999). Bu fark, bakteriyel hücrelerin CaCO_3 çökmesi için çökme noktaları sağladığı ve kalsit büyümesinin devamı için alkali bir ortam yarattığı için oluşmuştur (Achal vd., 2009; Mobley ve Hausinger, 1989).

2.2.5. Sıcaklık ve pH

Birçok enzim reaksiyonlar gibi, üreaz tarafından üre katalizi de sıcaklığa bağlıdır. Çoğu üreaz için optimum sıcaklık 20-37 °C arasında değişir (Mitchell ve Ferris, 2005; Okwadha ve Li, 2010), ve üroliz tepkimesinin optimum aralığı çevresel koşullara ve reaksiyon bileşenlerinin yoğunluğuna bağlıdır. (A. C. Mitchell ve Ferris, 2005), (F.g vd., 2003), B. pasteurii tarafından üreolitik CaCO_3 çökmesinin sıcaklıkla bağlılığını ve üreazın kinetik hızını 10 ve 20 °C'de yapay yer altı suyunda incelemişlerdir. (Dhami vd., 2013'a), üreazın 35°C'de tamamen stabil olduğunu, ancak sıcaklık 55°C'ye yükseldiğinde enzim aktivitenin yaklaşık %47 oranında azaldığını belirtmişlerdir.

Sıcaklık, bakterilerin metabolizmasını ve dolayısıyla üre hidroliz oranını etkiler. Birçok araştırma, sıcaklık ile üreaz aktivitesi arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Van Paassen vd., 2010; J. Y. Wang vd., 2014; V. Whiffin vd., 2007). Özellikle, V. S. Whiffin (2004), üreolitik aktivitenin 15 ile 25 °C arasında sabit kaldığını ve 25 ile 60 °C arasında lineer bir artış gösterdiğini, 70°C'de maksimum seviyeye ulaştığını ve ardından üreaz aktivitesinin hızla azaldığını gözlemlemiştir. Y. Wang vd. (2019) ise, üreaz aktivitesinin 10°C'nin altında durma noktasına geldiğini ve 33°C civarında en üst seviyeye ulaştığını belirtmişlerdir (Şekil 2.6).

Kalsit çökmesi, üre hidrolizini gerçekleştiren üreaz enzimine özgü pH değerlerinde aktif olduğu için pH'dan etkilenir. Üreaz aktivitesi için optimum pH değeri 8.'dir ve bu değerin üzerindeki pH'lar enzim aktivitesinin azalmasına yol açar (Gorospe vd., 2013; Stocks-Fischer vd., 1999). Yüksek pH, ürenin hidrolizi ile amonyak üretimini artırır ve bu da hücresel solunum sırasında CO₂ salınımı ile pH'ın yükselmesine neden olur (Anbu vd., 2016). pH seviyesi düştüğünde, karbonat çökmek yerine çözünür. Kalsit çökmesi çoğunlukla alkalın koşullarda (pH 8.7 ile 9.5 arasında) meydana gelir, ancak bazı araştırmalar neredeyse nötr pH değerlerinin de üreaz aktivitesi için etkili olabileceğini göstermektedir (Stocks-Fischer vd., 1999). Son araştırmalar, yüksek pH ve önemli miktarda tuz ile halofilik ve alkalifilik üreaz üreten bakterilerin biyo-çimento üretimini destekleyen koşullar altında aktif olup olmadığını incelemiştir (Mobley vd., 1995). pH'ın üreaz aktivitesini etkilediği, optimum aktivitenin pH 7 ile 8 arasında olduğu ve pH bu aralıktan azaldıkça veya arttıkça aktivitenin azaldığı gözlemlenmiştir (Gandolfi, 2021).



Şekil 2.6. Sporosarcina pasteurii'nin üreaz aktivitesinin sıcaklık değişimine bağlı olarak gösterdiği değişim (Gandolfi, 2021)

2.2.6. Üre ve kalsiyum (Ca²⁺) konsantrasyonları

Üreaz enzimi tarafından katalize edilen ürenin hidrolizi, pH seviyesini artırmakla kalmaz, aynı zamanda azot ve enerji kaynağı olarak da işlev görür (Achal vd., 2009; Mobley ve Hausinger, 1989). Belirli mikroorganizmaların, ürenin enzim olarak parçalanması sonucunda amonyak üretebildiği ve bu durumun hücre çevresinde alkali bir

mikro ortam yaratarak pH seviyesini yükselttiği, dolayısıyla CaCO_3 oluşumunu teşvik ettiği düşünülmektedir (Stocks-Fischer vd., 1999). Mikroorganizmaların hücre zarları negatif yüklüdür ve bu durum, sulu ortamlarda kalsiyum (Ca^{2+}) başta olmak üzere katyonları çekerek hücre yüzeyine bağlanmalarına olanak tanır. Bu özellikleri sayesinde mikroorganizmalar, kristal çökmesine uygun ideal bölgeler olarak işlev görür (Ramachandran vd., 2001; Stocks-Fischer vd., 1999).

Bu bağlamda, kalsiyum kaynağının seçimi ve konsantrasyonu, CaCO_3 çökmesinin maksimum düzeye çıkarılması açısından kritik öneme sahiptir. Ancak, üre ve CaCl_2 'nin yüksek konsantrasyonları (0.5 M'nin üzerinde) kalsit oluşumunun verimliliğini azaltırken, orta düzey konsantrasyonlar (0.05 ile 0.25 M arasında) bu verimliliği artırır. De Muynck vd. (2008), üre ve CaCl_2 için ideal konsantrasyonların sırasıyla 0.5 M ve 0.25 M olduğunu belirtmiştir. Aslında, iyonize kalsiyum (Ca^{2+}) genellikle metabolizma süreçlerde kullanılmaz, bunun yerine hücrelerin etrafında birikir ve CaCO_3 çökmesi için kolayca erişilebilir hale gelir (Anbu vd., 2016).

Okwadha ve Li (2010), kalsiyum karbonat çökmesinin verimliliğinin, üre konsantrasyonlarından ziyade Ca^{2+} seviyelerine daha fazla bağlı olduğunu göstermiştir. Hammes vd. (2003), kalsiyumun önemine dikkat çekerek, üreazın enzim aktivitesinin Ca^{2+} varlığında, yokluğuna kıyasla on kat arttığını gözlemlemiştir. Daha yakın zamanda, (Achal ve Pan, 2014), *Bacillus* sp. CR2 tarafından gerçekleştirilen kalsiyum çökmesini, üre içeren bir besi yerinde farklı kalsiyum kaynakları kullanarak incelemiştir. Bu çalışmada, kalsiyum klorür hem kalsit oluşumu hem de üreaz aktivitesinin maksimum düzeye çıkarılması açısından en etkili kaynak olarak bulunmuştur.

Kalsiyum konsantrasyonunun farklı araştırmalarda çelişkili sonuçlar gösterdiği tespit edilmiştir. Van Paassen vd. (2010), kalsiyum konsantrasyonunun 1.5 M'ye kadar artmasının üreolitik aktivitenin azalmasına yol açtığını ve üre hidrolizinin neredeyse tamamen engellendiği bir noktaya ulaştığını gözlemlemiştir. Buna karşılık, V. S. Whiffin (2004), kalsiyum konsantrasyonunun 50 mM'ye kadar artış gösterdiğinde üre hidroliz hızının herhangi bir değişiklik göstermediğini belirtmiştir.

Üre yoğunluğu, üreaz aktivitesi üzerinde olumlu bir etki göstermektedir; bu durum, birçok araştırmacı tarafından tespit edilmiştir (Van Paassen vd., 2010; V. S. Whiffin, 2004). Ayrıca, üre yoğunluğunun 423 mM'ye kadar artmasıyla üre hidroliz hızının yükseldiği, ancak bu seviyenin ötesinde üre hidroliz hızının neredeyse sabit kaldığı gözlemlenmiştir (Lauchnor vd., 2013).

Oksijen konsantrasyonu, bakterilerin büyümesi üzerinde etkili olabilir. (Mortensen vd., 2011), oksijensiz ortamların üre hidroliz hızını etkilemediğini ortaya koymuştur. Aynı şekilde (V. S. Whiffin, 2004), düşük oksijen miktarının Sporosarcina Pasteurii'nin büyümesini sınırladığını, ancak üreazın spesifik aktivite seviyesini etkilemediğini belirtmiştir. Ancak, uzun süre oksijen eksikliği, üre hidroliz hızının azalmasına yol açmıştır.

2.2.7. Tane çapı ve bakteri geometrisi

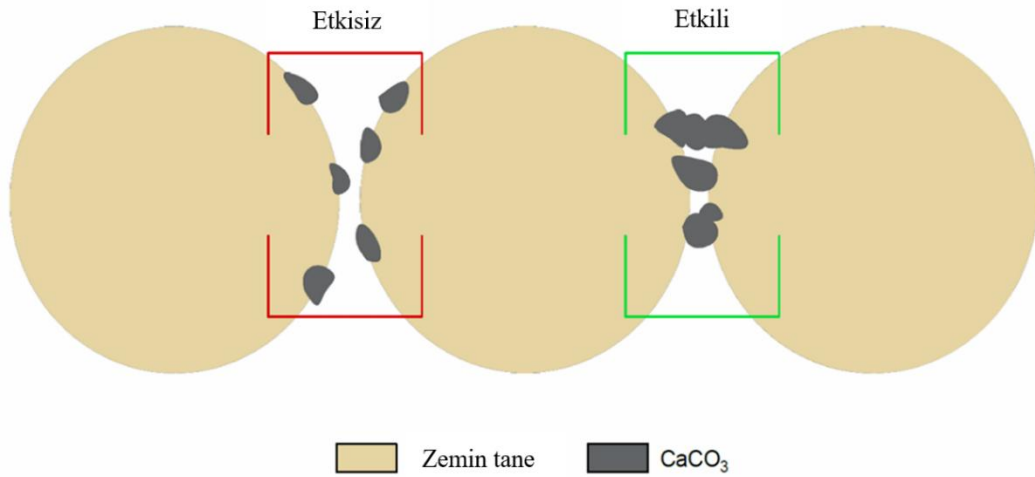
Bakterilerin etkili şekilde hareket edebilmesi ve yayılma mesafesinin artırılabilmesi için, zemindeki gözenek boyutlarının bakterilerin çapından büyük olması gerekir. Zemindeki gözenek boyutu, genellikle zemindeki küçük taneciklerin dağılımına bağlı olarak belirlenir. Bu boyut, mekanik elek analizi sırasında %10 geçen taneciklerin çapının %20'sine eşdeğer kabul edilir (Yenginar, 2013). Bu sebeple, kumlu zeminler (tanecik çapı 0.05-2 mm arası) bakterilerin kolayca hareket edebildiği zeminlerdir. Ancak, zeminde yüksek oranda kil ve silt bulunması, bakterilerin hareket kabiliyetini sınırlayabilir (Yenginar, 2013).

2.3. Biyolojik olarak iyileştirilmiş zeminlerin yapısı

MKKÇ süreci sırasında oluşan kalsiyum karbonat, zeminin biyo-çimentolamasını sağlamak için bir bağlayıcı olarak işlev görür. Bağlantıların büyümesindeki ana mekanizma, çökelmiş partiküllerin birikimi olarak tanımlanmıştır (Terzis & Laloui, 2018). Kristaller, çökme yoluyla oluşma ve katı matrisin farklı bölgelerinde birikme eğilimindedir; burada zamanla daha büyük yığınlar oluşturarak büyürler. Daha fazla kristal ve dolayısıyla bağ oluşumunun gözlemlendiği bölgeler, partiküller arası temas noktalarıdır (DeJong vd., 2010; Gao vd., 2019a). Bu durum iki nedene bağlanabilir: biri biyolojik, diğeri fiziksel (DeJong vd., 2010). Bakteriler genellikle katı matrisin yoğun biçimde ilerleme akışına maruz kalmayan bölgelerine yerleşme eğilimindedir ve bu nedenle besin maddelerinin daha bol olduğu ve korunaklı alanlar sağlayan parçacıklar arasındaki temas noktaları gibi küçük yüzeylerde bulunmayı tercih ederler. Kalsiyum karbonatın tercihen bakteriyel hücreler üzerinde çökmesi nedeniyle (Cui vd., 2017), en yüksek yoğunluk tam olarak parçacıkların temas noktalarında meydana gelir. Bu ilave olarak, DeJong vd. (2010) filtreleme sürecinin de önemli olduğunu belirtmiştir. Bu

süreçte, temas noktaları dışındaki alanlarda çökelmiş kristaller, akış içinde yeniden askıya alındıktan sonra taşınır ve tane temas noktalarına, yani süspansiyon halindeki katı kısımları süzen bu alanlara yeniden birikir. Bu tercihli birikim her zaman belirgin değildir: Örneğin, (Cui vd., 2017) ve (Dadda vd., 2017) çalışmalarında düşük kalsit içeriği durumunda kristallerin genellikle tane yüzeyine seyrek olarak yerleştiği ve tane-tane kristallerinin dikkat çekici olmadığı gözlemlenmiştir.

Kalsit birikim bölgesini ayırt etmek önemlidir, çünkü bu, iyileştirilmiş zeminin kazandığı mekanik özelliklerde belirleyici bir rol oynar. Kalsiyum karbonat kristalleri, taneler arasındaki temas noktalarında oluşarak sağlam kalsit köprüleri meydana getirir; bu sayede parçacıklar arasında güçlü bağlar kurulur. Bu süreç, etkili kalsit içeriği olarak adlandırılan birikimin artmasına neden olur ve söz konusu içerik, biyolojik zemin iyileştirmesinde temel bir parametre olarak kabul edilir. Geriye kalan kısım ise bu amaca sadece ikincil bir katkı sağlar ve etkili kalsit içeriği olarak değerlendirilmez (Gandolfi, 2021).



Şekil 2.7. Etkili (sağda) ve etkisiz (solda) kalsit kristallerinin temsili gösterimi (Gandolfi, 2021).

Kalsiyum karbonat kristallerinin etkinliği, büyük ölçüde kristal boyutlarına bağlılık göstermektedir. Bu doğrultuda, C, düşük çimentolama seviyelerinde kümelerin boyutunun oldukça küçük olduğunu, ancak biyolojik çimentolama ilerleyip kalsit miktarı arttıkça, kümelerin boyutunun da büyüdüğünü ve başlangıçta etkisiz olan kristallerin aktif bağlara dönüştüğünü belirtmiştir. Benzer şekilde, reaktiflerin konsantrasyonuna odaklanan araştırmacılar (Dadda vd., 2017, Qabany vd., 2012), düşük konsantrasyonlarda daha küçük tekil kristaller, yüksek konsantrasyonlarda ise daha büyük mezo-kristaller gözlemlemiştir.

Kalsiyum karbonat birikimini etkileyen bir diğer faktör, zemindeki tanelerin morfolojisidir. Kalsiyum karbonat, pürüzsüz tanelere kıyasla, yüzeyi düzensiz olan parçacıklar üzerinde öncelikli olarak çökelme eğilimindedir (Xiao vd., 2021). Benzer bir sonuç daha önce Noiriell vd. (2016) tarafından da gözlemlenmiştir. Bu çalışmada, düzensiz parçacıklar için tanelerin serbest yüzeyinde %92 ile %100 arasında bir azalma kaydedilmiştir. Aynı araştırmaya göre, cam küreler için bu azalma, MKKÇ işlemi sonrasında yalnızca %11 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, kalsit içeriği hakkında konuşurken dikkate alınması gereken bir diğer önemli nokta, kristallerin farklı fazlarda oluşabilmesi ve her birinin kendine özgü özelliklere sahip olmasıdır. Çalışmalar, üç temel kristal fazının mevcut olduğunu göstermiştir: vaterit, aragonit ve en kararlı form olan kalsit. Bu fazlar, farklı geometrik yapılara sahip olup çözünürlük açısından azalan bir sıra ve termodinamik stabilite açısından artan bir sıra ile sınıflandırılmıştır. Ayrıca, amorf kalsiyum karbonat da diğer formlar arasında tespit edilmiştir (Clarà Saracho vd., 2020; Y. Wang vd., 2019), ancak bu faz meta stabil olarak kabul edilir. Geoteknik uygulamalar için en uygun yapı, en kararlı olan kalsittir. Belirli bir polimorf oluşumunun, reaksiyon kinetiği ve doyumluk derecesine (Clarà Saracho vd., 2020; Van Paassen vd., 2010), üre hidrolizinden sorumlu mikrobiyal ajana (Clarà Saracho vd., 2020; C. Dupraz ve Visscher, 2005) ve sıcaklık, pH ve basınç gibi çevresel koşullara bağlı olduğu gösterilmiştir (Terzis & Laloui, 2018). Bu nedenle, istenilen CaCO_3 içeriğini üretmek ve arzu edilen mineral yapıyı elde etmek için ne kadar üre ve Ca^{2+} enjekte edileceğini ve reaksiyonların gerçekleşmesi için gereken süreyi belirlemek kritik öneme sahiptir. Bu süre hem üre hidroliz hızına hem de çökelme hızına bağlıdır.

2.4. Laboratuvar ölçekli iyileştirme

MKKÇ teknolojisinin temel mekanizmasını detaylandırdıktan sonra, artık laboratuvar ölçeğinde iyileştirmeyi gerçekleştirmek için kullanılan ana yöntemlerin bir tanımını sunmak mümkündür. Daha önce de belirtildiği gibi, bu sürecin en yaygın kullanılan bileşenleri bir bakteri çözeltisi ve bir konsolidasyon çözeltisidir. Literatürde bu çözeltilerin bileşimi, doğası ve konsantrasyonu açısından birçok varyasyon rapor edilmiş olsa da prensip benzerdir: üreaz enziminin katalitik etkisi altında çökelebilen bir çimentolama çözeltisi üretmek (Gandolfi, 2021).

2.4.1. Bakteriyel solüsyon

Bakteriyel çözelti genellikle bir besin ortamında kültürlenmiş bakteri hücrelerinden oluşur. *Sporosarcina Pasteurii* için en uygun besleyici ortam formülü mineralsiz su, maya özütü, tris ve NH_4Cl veya $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (ATCC® 11859TM) karışımından oluşur. Bakteriyel büyümenin sürdürülebilmesi için, amonyum sülfat/klorür ya da üre kaynaklı amonyumun temini gereklidir (Whiffin, 2004). Tris, bakteri büyümesi için optimum pH 'ı ayarlamak için kullanılır ve daha sonra HCl eklenerek 9'a düşürülür.

Bakteri yetiştirmek için kullanım kolaylığı ve maliyet açısından farklılık gösteren çeşitli yöntemler mevcuttur. Hücreler başlangıçta $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 'de dondurulmuş ya da liyofilize edilmiş şekilde muhafaza edilmekte ve ardından $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 'de saklanmaktadır. Optimum büyüme koşulları ise $30\text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklıkta ve aerobik ortamda sağlanmaktadır. Havalandırma oranı, bakteriyel çoğalma üzerinde önemli etkisi olan bir parametredir ve genellikle 1/5 olarak ayarlanır (Terzis vd., 2016). Bakteriyel büyüme, 600 nm (OD_{600}) dalga boyunda optik yoğunluk ölçülerek izlenir. Bu, (denklem 2.8) uyarınca mevcut hücre sayısı ile ilişkilendirilebilen kültür ortamının bulanıklığının bir değerlendirmesine karşılık gelir (Ramachandran vd., 2001).

$$\text{Mililitre başına hücre konsantrasyonu} = 8.59 * 10^7 * \text{OD}_{600}^{1.3627} \quad (2.8)$$

Genel olarak, bakteri türleri üç farklı aşamada çoğalır (Zwietering vd., 1990):

- Uyum evresi, mikroorganizmaların dondurucudan çıkarıldıktan sonra yeni çevresel koşullara adapte oldukları süreçtir. Genellikle bir ila iki gün süren bu dönemde bölünme gerçekleştirilemezler ve 600 nm 'de optik yoğunlukta (OD_{600}) herhangi bir değişiklik gözlemlenmez.
- Üslenme veya logaritmik aşama, düzenli bir hızda gerçekleşen hücre bölünmesi nedeniyle OD_{600} 'de sabit bir artışın gözlemlendiği aşamaya karşılık gelir. *Sporosarcina Pasteurii* için, hücre miktarının ikiye katlanması için gereken süre 1-2 saat arasındadır (Mortensen vd., 2011; Terzis vd., 2016).
- Kültür ortamındaki besin maddelerinin azalması nedeniyle bakteriyel çoğalmanın tamamen kesilmesine kadar kademeli olarak azaldığı kararlı faz (Gandolfi, 2021).

İstenilen hücre miktarına ulaşıldığında, besi yeri doğrudan enjeksiyon için kullanılabilir veya katı fraksiyonu ayırmak için merkezkaçta tabi tutulabilir; bu kısım daha sonra hemen kullanılmak üzere yeniden süspansiyon edilebilir veya 4°C'de saklanabilir. V. S. Whiffin (2004)'e göre bu sıcaklıkta bakteriler 5 güne kadar çoğalmadan canlı kalabilmektedir. Alternatif olarak, soğukta saklandıklarında bakteriler ağız plakalar üzerinde büyütülebilir ve koloniler 20 güne kadar canlı kalabilir (Terzis vd., 2016).

Ortam matrisindeki bakteriyel çoğalmayı mümkün olduğunca sınırlandırmak için hücreler kararlı fazın sonunda geri kazanılabilir. Literatürde, hasat edilen hücreler için 2'den büyük optik yoğunluklardan bahsedilmektedir (Mahawish vd., 2018; Mujah vd., 2019; Rowshanbakht vd., 2016), ancak daha düşük yoğunluklar da rapor edilmiştir (Cheng vd., 2013; Terzis vd., 2016), çünkü bu parametre aynı zamanda başlangıçtaki bakteri konsantrasyonuna da bağlıdır. Başlangıç aşamasında sıvı ortamın seyreltilmesi gerekir; zira üreaz enziminin optimum aktivitesi için ideal OD₆₀₀ değeri yaklaşık 1 olarak kabul edilmektedir (Qabany vd., 2012). Stocks-Fischer vd. (1999) spesifik amonyum üretimi ve CaCO₃ çökeltme oranının artan hücre konsantrasyonuyla azaldığını gösterirken, Konstantinou, Biscontin, vd. (2021) çok yüksek bakteri yoğunluklarından kaçınılması gerektiğini, çünkü bunların gözenek tıkanmasına neden olarak serbest dolaşımı engellediğini ileri sürmüştür.

Literatürde, 10⁻¹ ila 10² mM/dakika arasında değişen çok çeşitli değerler rapor edilmiştir. V. S. Whiffin (2004) 4 ila 18 mM/dakika arasında, Gao vd. (2019b) ile Mahawish vd. (2018) ise sırasıyla 6.66-11.10 mM/dakika ve 19.38-21.45 mM/dakika arasında değerler bildirmiştir.

2.4.2. Enjeksiyon Yöntemleri

Enjeksiyon yöntemleri bir çalışmadan diğerine büyük farklılıklar göstermektedir. Farklı yaklaşımların araştırılmasının ardındaki ana hedeflerden biri, arıtmanın homojenliğini sağlamaktır. Enjeksiyon noktasının çevresinde sıklıkla aşırı çökeltme birikimi gözlemlenmiştir, bu da tıkanmaya neden olabilir ve reaktifin zeminin geri kalanına difüzyonunu sınırlayabilir, böylece mekanik ve hidrolik özelliklerini etkileyebilir (Gandolfi, 2021).

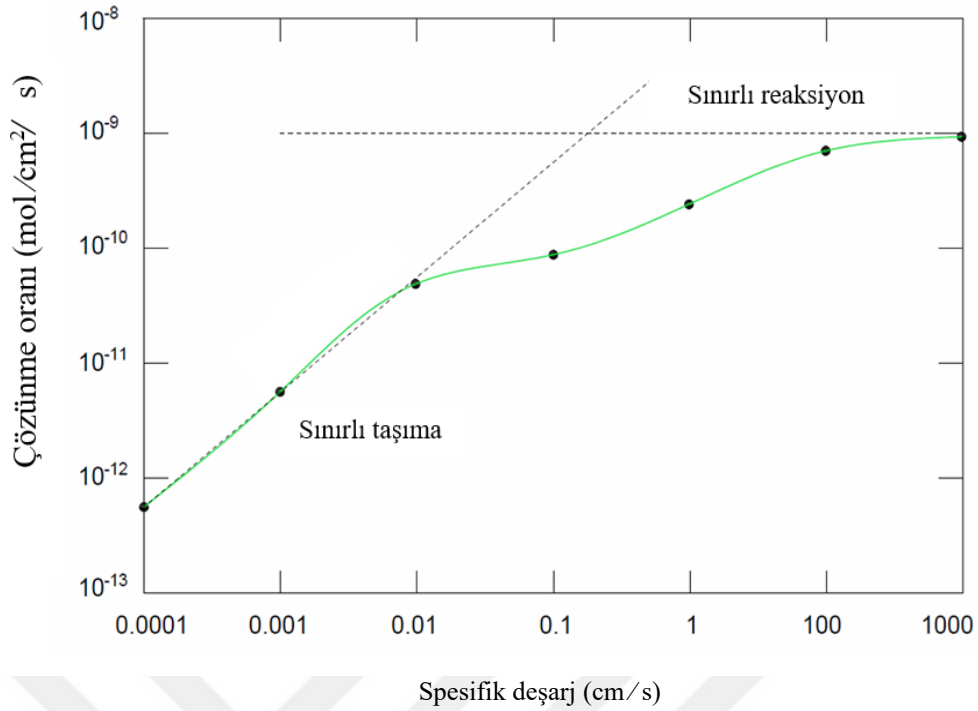
Başlıca iki enjeksiyon yöntemi, iki fazlı ve tek fazlı yaklaşımlar olarak sınıflandırılmaktadır. Bunlardan en yaygın olanı V. Whiffin vd. (2007) tarafından ortaya konmuştur ve ilk bakteri enjeksiyonunu takiben mikro organizmaların zemin

partiküllerine adsorbe olmasını sağlamak için yaklaşık 24 saatlik bir bekleme süresini ve ardından farklı miktarlarda çimentolama çözeltisinin enjekte edilmesini içerir. Bu yaklaşım, enjekte edilecek çözelti hacmine (tipik olarak 1 ila 1.5 PV arasında), bakteri ve çimentolama çözeltisi enjeksiyonlarının değişimine ve tekrarına, enjeksiyon metoduna (kesikli akış, sürekli akış, devridaim) ve bakteriler için besin maddelerinin mevcudiyetine ve operasyonel kısıtlamalara bağlı olarak tipik olarak 6 saat ila 2 gün arasında değişen bakteri bağlanması için bekleme süresinin uzunluğuna bağlı olarak çeşitli şekillerde modüle edilebilir. Bu çalışmada kullanılan ek bir varyasyon da biyolojik çözelti ile çimentolama çözeltisi arasındaki akış yönünü tersine çevirmektir ki bunun tıkanma riskini azalttığı gösterilmiştir (Martinez vd., 2014).

Tek fazlı yaklaşım, bakteri, üre ve kalsiyum klorür içeren homojen bir karışımın enjeksiyonuna dayanır. Bu yaklaşım, bakterileri hareketsiz tutmak için çözeltiyi numunelere düşük sıcaklıkta (10°C'nin altında) uygulayan (Xiao vd., 2021) tarafından mükemmelleştirilmiştir. Daha sonra, sıcaklık artırıldığında, kalsiyum karbonat çökeltme işlemi tetiklenmiştir. Bu yöntem, numunedeki CaCO₃ dağılımının homojenliğini önemli ölçüde artırdığı kanıtlanmıştır.

Hangi yöntem tercih edilirse edilsin, zemin matrisin enjeksiyon işlemine başlamadan önce farklı miktarlarda su ile doymuş hale getirilmesi gerekmektedir. Maksimum doymuşluğa ulaşmak ve kontrol hacminin tamamen arıtılmasını sağlamak için 1 gözenek hacminden (PV) daha büyük hacimler kullanılır. Ancak (Cheng vd., 2013), kum partikülleri arasındaki temas noktalarında daha fazla miktarda CaCO₃ kristalinin çökmesi nedeniyle, kısmen doymuş koşullar altında işlenen zeminlerin tamamen doymuş olanlara göre daha yüksek dirençler oluşturduğunu göstermiştir.

MKKÇ sürecinde bir diğer parametre akış hızıdır. Enjeksiyonlama yapılırken akış hızının ayarlanması için süzülme yoluyla veya bir pompa yardımıyla gerçekleştirilebilir. Akış hızı, tuzlu çözeltinin numune boyunca eşit dağılımını sağlayacak şekilde seçilmelidir: Molins vd. (2012) kalsitin suda çözünme (ve dolayısıyla çökeltme) hızının Darcy hızına bağlı olduğunu göstermiştir. Taşıma sınırlı çözünmeden reaksiyon sınırlı çözülmeye kademeli bir geçiş vardır (Şekil 2.8), burada reaksiyon hızı ile çimento çözeltisi ile temas halindeki bakterilerin reaksiyonu ne kadar hızlı hızlandırabileceği kastedilmektedir. Taşınmayla sınırlı ve reaksiyonla sınırlı arasındaki geçiş gradyanı, hızın bazı gözeneklerde taşınmayla ve diğerlerinde reaksiyon kinetiği ile sınırlandırıldığı geniş bir akış hızı aralığının varlığından kaynaklanmaktadır.



Şekil 2.8. Kalsitin çözünme hızı ve spesifik debiyle ilişkisi (Molins vd., 2012)

Bakteriyel enjeksiyon genellikle zeminde birkaç saat bırakıldığından, enjeksiyon sırasında çok düşük akış hızından kaçınmak gerekir. Çok düşük bir spesifik akış hızı kullanılırsa, üre tüketimi ve kalsiyum karbonat çökelme oranları akış hızını aşarak enjeksiyon kaynağı etrafında ani çimentolaşmaya neden olurken, akış hızını reaksiyon hızını aşacak şekilde artırmak kimyasalların akış yolu boyunca daha eşit bir şekilde dağılmasını sağlar (Mortensen vd., 2011; Stocks-Fischer vd., 1999). Bununla birlikte, çok yüksek bir akış hızı bakterilerin ayrılmasına veya zemin tanelerinin yer değiştirmesine yol açabilir. Bu nedenle, infiltrasyon hızının veya akış hızının uygun tasarımı bu farklı durumları dikkate almalıdır. Literatürde, tipik sızdırma hızı değerleri 10^{-1} mm/s mertebesindeyken (Dadda vd., 2017), 0.3 ila 1.0 lt/s arasındaki akış hızları, mekanik testler için tipik numune boyutları için en sık kullanılan değerlerdir (Cheng vd., 2013; Mujah vd., 2019; Terzis vd., 2016).

2.4.3. İzleme

Biyo-çimentolama yoluyla zemin iyileştirmesi, enjeksiyon sırasında çeşitli denetim tekniklerine uyarlanabilir. Bunlar, reaksiyonun gerçekte nasıl ve ne ölçüde gerçekleştiğinin anlaşılmasında büyük önem taşımaktadır. Laboratuvar ölçeğinde çökelme, atık suyu toplayıp analiz ederek gerçek zamanlı izlenebilir. Jeofiziksel

yöntemler, kalsiyum karbonatın çökmesi sonrası katı fazın artışına bağlı olarak zemin yoğunluğundaki değişiklikleri gözlemler ve büyük ölçekli uygulamalarda kullanılır. Saha izlemesi için en yaygın teknikler kayma dalgası hızı, basınç dalgası hızı ve direnç ölçümleri iken, sulu atık su analizi için takip etme esas olarak pH, elektriksel iletkenlik, amonyum, kalsiyum iyonları, toplam inorganik karbon ve başlangıç aşaması için optik yoğunluğa odaklanır (Gandolfi, 2021).

- Kayma dalgası hızı (V_s)

Sıvılarda kayma dalgaları yayılmadığı için, bu özellik zemin matristeki değişimleri izlemek adına avantaj sağlar. Çimentolama derecesi, zeminlerdeki kayma dalgalarının hızını olumlu yönde etkiler ve parçacıklar üzerinde bulunan ancak diğer parçacıkları birbirine bağlamayan kristaller S dalgalarının hızını önemli ölçüde etkilemediğinden, bunların denetimi etkili kalsit içeriğinin belirlenmesi için özellikle yararlıdır (DeJong vd., 2010).

- Sıkıştırma dalgalarının hızı (V_p)

Sıkıştırma dalgalarının hızı esas olarak gözenekliliğe, boşluk sıvısının yoğunluğuna (doyguluk derecesine bağlı olarak) ve katı matrisin yoğunluğuna bağlıdır. Bu nedenle, sıkıştırma dalgası hızının kullanılması çimentolamanın sağladığı iyileşmenin değerlendirilmesinde faydalı olabilir, ancak gevşek veya hafif çimentolu zeminlerde, zemin matrisi sabit bir doyguluk derecesini korumadıkça veya yeterli çimentolama meydana gelmedikçe bu ölçüm doğrudan mukavemetle ilişkili değildir (DeJong vd., 2010).

- Öz direnç

Bir zeminin öz direnci, katı matrisin öz direnci, boşluk sıvısının öz direnci, gözeneklilik, doyguluk derecesi, kil içeriği ve çimentolama derecesi gibi çeşitli parametrelere bağlıdır. Bunun başlıca nedeni, işleme sırasında bu değişkenin ölçümde yer alan diğer tüm parametreleri değiştirmesi ve aslında kalsitten kaynaklanan etkileri izole etmenin zor olmasıdır (DeJong vd., 2010).

- Bakteri yoğunluğu

Bakteriyel çözeltinin enjeksiyonuna geçmeden önce, sıvı içindeki mikroorganizma konsantrasyonunun belirlenmesi önerilmektedir. Benzer şekilde, numunenin katı matrisine gerçekten tutunmuş olan bakteri miktarını değerlendirmek için atık sudaki konsantrasyonlarını bilmek de faydalı olabilir. Bu tür bir analiz, 600 nm dalga boyuna sahip bir ultraviyole spektrofotometre (yani OD_{600}) kullanılarak enjeksiyondan önce

veya atık sudaki çözeltinin optik yoğunluğu ölçülerek gerçekleştirilebilir. Denklem 2.8 ile hücre sayısını tahmin etmek bir seçenektir.

- pH değeri

pH ölçümü, reaksiyonun durumunu hızlı bir şekilde değerlendirmek için verimli bir araçtır. Aynı zamanda bakteriyel aktiviteyi izlemek için etkili bir göstergedir ve üreoliz ile kalsiyum karbonat çökmesi tarafından etkilenir. İlki çözeltinin pH'ını artırma eğilimindeyken, ikincisi tam tersi bir etkiye sahiptir ve pH “düşürücü” olarak işlev görür. Martinez vd. (2014), kalsiyum klorür ve üre konsantrasyonu arasında 1/1 oranında bir formülasyon kullanıldığında, iki işlem birbirini dengeleyeceği için reaksiyon sonunda pH'da bir değişiklik gözlemlenmemesi gerektiğini ifade etmiştir. Genel olarak, çözeltinin giriş ve çıkışı arasındaki pH değişimi, bu iki bileşenin konsantrasyon oranına bağlı olarak düzenlenir ve bu değişim hem çökeltme miktarındaki artış hem de bakteriyel aktivitedeki azalma ile ilişkili olabilir. Bununla birlikte, pH'daki değişiklik, reaksiyonun gerçekleştiğinin bir göstergesi olsa da bu ölçüm reaksiyonun kapsamını doğru bir şekilde tahmin etmek için yeterli değildir.

2.4.4. Kalsit içeriği

MKKÇ ile iyileştirmeden sonra kalsit içeriğini belirlemek için asitle yıkama veya dijital analiz yöntemleri kullanılabilir (Gandolfi, 2021).

- Asitle yıkama

Asitle yıkama, numunedeki çökelti kalsiyum karbonatı çözmek için genellikle hidroklorik asit kullanılmasını içerir. Örneğin, asitle yıkama işleminden önce ve sonra kuru numunenin kütlesindeki farkı ölçerek kalsit miktarı belirlenebilir (Cui vd., 2017; Mahawish vd., 2018; Martinez vd., 2014; Mortensen vd., 2011; Qabany vd., 2012; Xiao vd., 2021). Asitle yıkama, en basit yöntemdir. Alternatif olarak, CaCO₃ çözünmesinden sonra açığa çıkan CO₂ gazının basınç artışı ölçülebilir. Bunlara alternatif olarak, EDTA titreşim yöntemi (Gao vd., 2019b) ve plazma optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) de kullanılabilir (Clarà Saracho vd., 2020).

- Sayısal analiz

Özellikle X-ışını tomografisi ile yapılan analizler tahribatsız bir alternatiftir (Clarà Saracho vd., 2020; Noiriél vd., 2016; Terzis ve Laloui, 2018) 2018). Gri tonlamalı görüntülerin bölümlenmesi sayesinde, zeminde bulunan farklı fazları (taneler, kalsit kristalleri ve gözenekler) ayırt etmek ve kalsiyum karbonat konsantrasyonunu sayısal

olarak hesaplamak mümkündür. Örnek olarak, en iyi çözünürlüklerden biri Noiriel ve diğerleri (2016) tarafından kullanılmış ve 6.5 mm'lik bir örnek çapı için 4.46 µm voksel boyutuna ulaşmıştır.

2.4.5. Homojenlik

Kalsiyum karbonat çökellerinin homojenliği, MKKÇ yönteminde en çok incelenen yönlerinden biridir (Martinez vd., 2014; Mortensen vd., 2011; Qabany vd., 2012). İşlem esnasında gözlenen heterojen dağılım, enjeksiyon bölgesinde kalsit birikimine (Noiriel vd., 2016; Rowshanbakht vd., 2016) veya tıkanmalara (V. Whiffin vd., 2007) yol açabilir. Kalsitin homojen olmayan dağılımı, zeminin mekanik ve hidrolik özelliklerini olumsuz yönde etkiler; dayanıklılığı en zayıf bölgesiyle belirlenir ve tıkanma nedeniyle geçirgenliği bölgesel olarak azalabilir. Bir çalışmada, cam kürelerden oluşan üç farklı temel malzeme için kalsit dağılımı analiz edilmiştir. Amaç, reaksiyon akış yolu boyunca kalsit miktarındaki değişimi takip etmek ve reolojideki (porozite ve ilişkili geçirgenliğin azalması) değişiklikleri belirlemektir. Son olarak, yerel olarak değişen biyo-mühendislik etkisi, MKKÇ ile işlenmiş cam kürelerden oluşan mikro-kolonların mekanik yükleme ve hacimsel deformasyon analizi boyunca incelenmiştir. Literatürde, işlem homojenliğini etkileyen ana değişkenler şu şekilde belirlenmiştir:

- Solüsyonların konsantrasyonu
- Enjeksiyon stratejisi
- Temel malzemenin granülometri dağılımı ve başlangıçtaki özgül yoğunluk
- Kalsit miktarı

Kalsit miktarı, katı matristeki uzaysal dağılımını etkiliyor gibi görünmektedir. İyileştirilmiş zemin örneklerinde kalsitin homojenliğindeki varyansın, bağlaşma derecesi arttıkça azalmaktadır (Konstantinou, Biscontin, vd., 2021). Benzer şekilde, kalsit içeriği arttıkça homojenlik artmaktadır (Cui vd., 2017). Öte yandan, bağlaşma derecesi arttıkça homojenlik azalmaktadır (Konstantinou, Biscontin, vd., 2021). Bu nedenle, bu parametre her zaman kalsit kristallerinin zemin matrisindeki düzenini tutarlı bir şekilde etkilemiyor gibi görünmektedir, çünkü diğer faktörlerin daha belirgin bir etkisi olabilir.

2.5. Zeminlerin mühendislik özelliklerinin iyileştirilmesi

Biyolojik yöntemiyle zeminlerin işlenmesi, bazı önemli mekanik ve hidrolik özelliklerin iyileştirilmesine olanak tanır. En dikkat çekici etkiler arasında, kayma mukavemeti ve rijitlikteki artış ile birlikte, sıkışabilirlik ve geçirgenlikte azalma bulunmaktadır (DeJong vd., 2010). Elde edilen iyileştirme düzeyi, uygulanan yöntemle ilgili olarak değişmekte ve bu durum, katı matris içerisinde kalsit birikiminin miktarı ve dağılımının farklılık göstermesine neden olmaktadır. Mikroskobik ölçekte gözlemlenen etkiler, mikroskobik ölçekte oluşturulan koşullara bağlıdır ve bu koşullar, kullanılan enjeksiyon stratejisine, reaktiflerin konsantrasyonlarına ve zeminin kendine özgü özelliklerine bağlıdır. Bu nedenle, sürecin belirli bir ölçüde kontrol edilmesi ve benzer metodolojiler ile bileşenler kullanılarak, belirli bir iyileştirmenin diğerine göre öncelikli hale getirilmesi mümkündür. Bu, belirli bir zemin türü için literatürde belirtilenlere benzer yöntemlerin uygulanmasıyla benzer sonuçlar elde etmek amacıyla gerçekleştirilebilir.

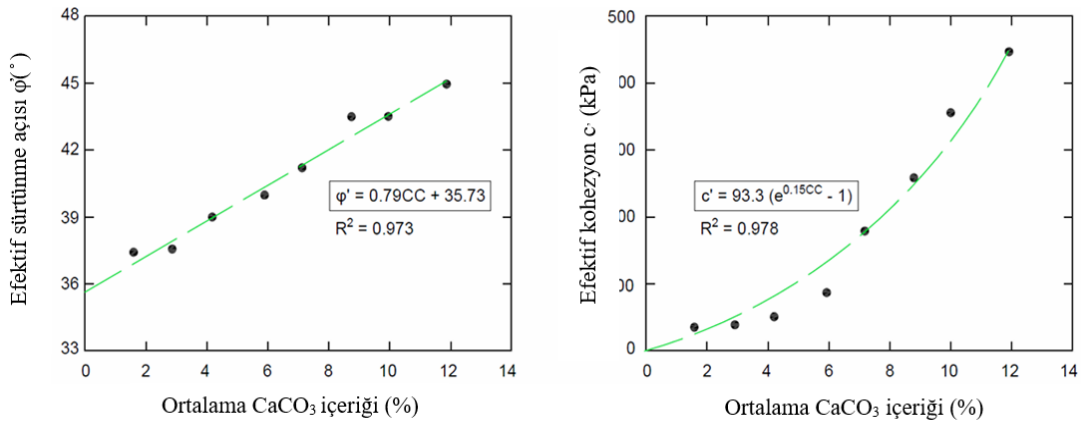
2.5.1. Dayanım ve rijitlik

Biyolojik çimentolama işlemi ile standart zeminlerde kesme dayanımı ve rijitlikte 10^2 katlık bir artış sağlanabilmektedir (DeJong vd., 2010). Literatürde, zeminin bu özelliklerinde iyileşme elde edildiğini ortaya koyan çok sayıda çalışma mevcuttur; ancak, elde edilen bulgular genellikle yüksek düzeyde değişkenlik göstermektedir (Cheng vd., 2013; Cui vd., 2017; Mortensen vd., 2011).

Mikroskobik düzeyde gözlemlenen dayanım artışı, gözenek boşluklarında oluşan kalsit kristallerinin varlığına bağlanmaktadır. Bu kristaller, zemin tanelerini birbirine bağlayarak sağlam ve birbirine bağlı bir yapı oluşturur. Daha fazla taneyi etkili bir şekilde birleştiren kalsiyum karbonat kristalleri, etkin kalsit içeriğini belirlerken, geri kalan kısmın iyileşmeye katkıda bulunduğu oybirliğiyle kabul edilmemektedir. Dayanım artışının kesin mekanizması ise hala belirsizdir. Bu artış, etkin kalsit içeriğine bağlı olarak kohezyonun artmasından ve yüzeylerin genel pürüzlülüğündeki artışın neden olduğu sürtünmenin yükselmesinden kaynaklanıyor olabilir (Gandolfi, 2021).

Bununla birlikte, düşük miktarlardaki kalsiyum karbonat, tanelerin yüzey düzenliliğini artırabilir ve böylece pürüzlülüklerini azaltabilir. Bu durum, iyileşmemiş bir zemine kıyasla, kalıntı (rezidüel) gerilmeleri azaltabilir (Xiao vd., 2021). Biyo-

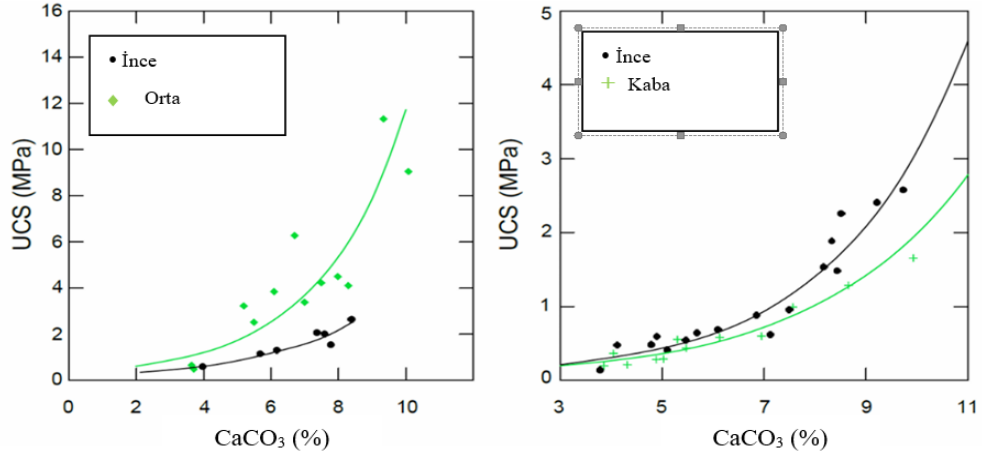
çimentolama üzerine yapılan araştırmalarda dayanım artışı ölçmek için en sık kullanılan göstergeler, tek eksenli basınç dayanımı (UCS) cinsinden ifade edilir. Bunun nedeni, MKKÇ'nin genellikle sığ derinliklerdeki zeminlerin iyileştirilmesi için uygun bir teknoloji olarak görülmesidir (Terzis ve Laloui, 2018). Fakat, bazı çalışmalar, tek boyutlu ödometrik sıkışma testleri ve konsolidasyonlu-drenajlı üç eksenli basınç (CD) testlerinin sonuçlarını da rapor etmektedir. Bu araştırmalarda, efektif sürtünme açısındaki ve efektif kohezyondaki değişimlerin, sırasıyla doğrusal bir ilişki ve üstel bir fonksiyon yoluyla kalsit içeriğindeki artışla bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Cui vd., 2017) (şekil 2.9).



Şekil 2.9. CaCO₃ içeriği ile efektif sürtünme açısı (sol) ve efektif kohezyon (sağ) arasındaki ilişki (Cui vd., 2017)

Serbest basınç dayanımı (UCS) ile ilgili olarak genel eğilim, kalsiyum karbonat (CaCO₃) içeriğinin artmasıyla birlikte daha yüksek bir dayanım göstermektedir (Şekil 2.10). Çizelge 2.1'de literatürdeki farklı UCS test sonuçları sunulmaktadır. Benzer kalsit içeriklerine rağmen çalışmalar arasında büyük bir farklılık olduğu gözlemlenmektedir. Bu değişkenliğin sebepleri çok çeşitlidir. Kalsit içeriğine ek olarak, biyolojik çimentolama sonrasında zeminin kazandığı nihai dayanımı etkileyebilecek birçok faktör bulunmaktadır. En önemli olanlar şunlardır:

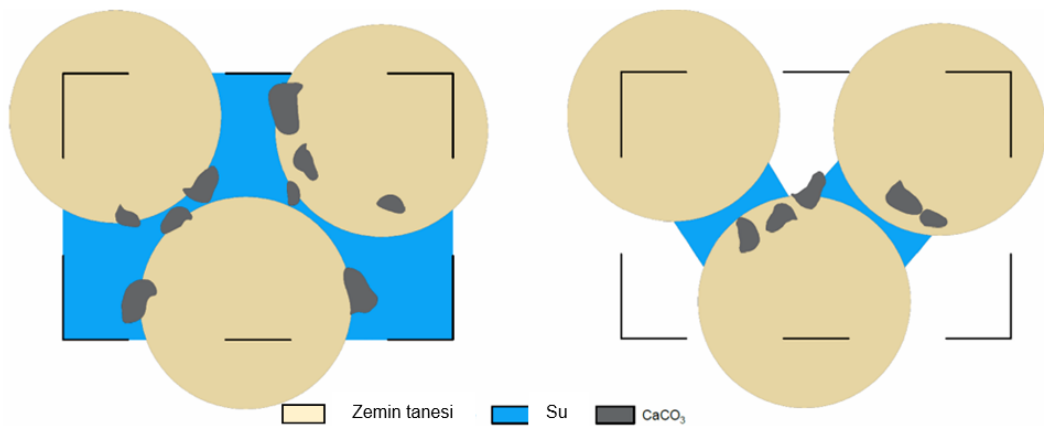
- Doygunluk derecesi
- Reaktiflerin konsantrasyonu ve uygulama homojenliği
- Tane boyutu ve göreceli yoğunluk



Şekil 2.10. CaCO₃ içeriği ile UCS arasındaki ilişki: solda (Terzis & Laloui, 2019), sağda ise (Konstantinou, Wang, vd., 2021) tarafından yapılan test sonuçları

- Doygunluk derecesi

Genel olarak, doygunluk derecesi azaldıkça dayanım ve rijitlik artmaktadır (Cheng vd., 2013). Bu durum, suyun katı ortamda kalsit kristallerinin yerleşimini ve yayılımını etkilemesiyle açıklanabilir. Düşük doygunluk seviyelerinde, su, zemin taneleri arasında kalsitler oluşturarak çekilir: reaktiflerin sonraki enjeksiyonları, tanecik-tanecik temas noktalarında kalsiyum karbonat kristallerinin çökmesine neden olur ve bu durum esas olarak etkili ve sağlam katı bağlar oluşturur (Şekil 2.11). Kuramsal olarak, doygunluk derecesinin azaltılmasıyla daha düşük kalsit miktarıyla daha yüksek dayanım elde edilebileceği öngörülmektedir. Ancak, su tutma kapasitesi düşük olan zeminlerde doygunluk düzeyini kontrol altında tutmak oldukça zordur. Bu nedenle, literatürdeki çalışmaların büyük çoğunluğu tam doygunluk koşullarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.11. Tam doygunluk (solda) ve kısmi doygunluk (sağda) durumlarında su dağılımı ve mineral çökmesi davranışının şematik gösterimi (Terzis ve Laloui, 2019).

- Reaktiflerin konsantrasyonu ve uygulama homojenliği

Çoğu çalışmada daha yüksek bir bağlanma seviyesiyle daha yüksek dayanım ve rijitlik gözlemlenmiştir (Clarà Saracho vd., 2020; Cui vd., 2017). Özellikle, bağlanma seviyesinin artmasının, gerilme-deformasyon davranışının sünek (plastik) durumdan kırılğan duruma geçmesine neden olmaktadır. Bu etki, pek çok geoteknik uygulama açısından olumsuz bir durum olarak değerlendirilmektedir.

Reaktiflerin konsantrasyonu göz önüne alındığında, aynı çalışmalar, daha yüksek tuzluluk seviyelerinin, zemin matris içinde bağların düzensiz bir şekilde dağılmasına yol açtığını gözlemlenmiştir. Bu, şiddetli yüklenmiş birkaç taneler arasındaki temas noktalarının, yükün büyük bir kısmını taşıdığı ve bu durumun kayma dayanımına olumsuz etkiler yaptığı anlamına gelmektedir. Benzer şekilde, zemin örnekleri farklı reaktif konsantrasyonlarıyla (0.1 M'den 1.0 M'ye kadar) işlenerek, daha düşük konsantrasyonlar için daha yüksek UCS (serbest basınç dayanımı) gözlemlenmiştir (Qabany vd., 2012).

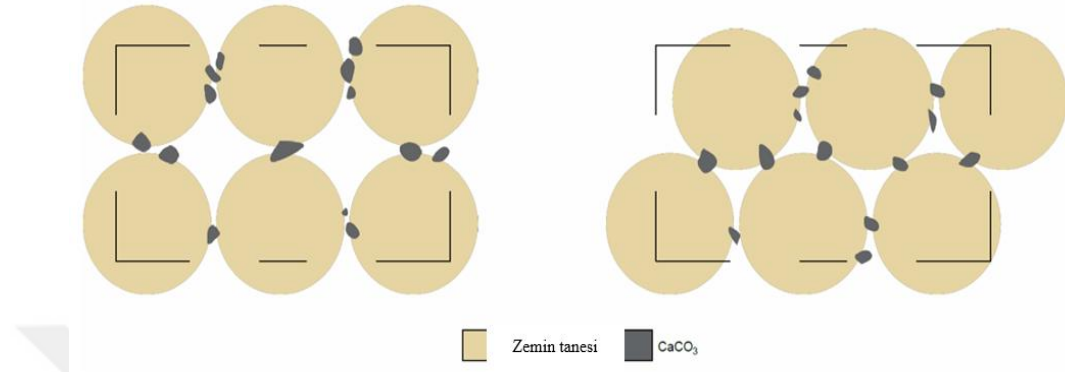
İyileştirme uygulamasındaki düzensizlik, iyileştirilmiş numunelerin üst ve alt kısmı arasındaki farklarda veya mikroskobik seviyede meydana geldiğinde, son dayanımı etkilemektedir (Mahawish vd., 2018). Toprak içindeki iyileştirme süreci homojen gerçekleşmediği takdirde, yapının genel dayanımı zayıf bölgeler tarafından sınırlandırılır ve bu nedenle dayanımda kayda değer bir artış elde edilemez (Xiao vd., 2021).

- Tane boyutu ve göreceli yoğunluk

Tanecik yapısı ve enjeksiyon anındaki durumu, son mekanik sonuçlar üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Benzer CaCO_3 içeriklerine sahip biyoçimentolanmış zeminlerde, tane boyutunun (ve gözenek boyutunun) küçülmesiyle dayanımın arttığı gözlemlenmiştir (Cheng vd., 2013). Öte yandan, biyolojik iyileşme, ince taneli malzemelerden daha çok orta büyüklükteki malzemelerde daha belirgindir (Terzis ve Laloui, 2018).

İyileştirme etkinliğinin, ince tanelerin orta boyutlu partiküllere geçişle arttığını, çünkü bağların büyüklüğünün arttığını, daha sonra daha büyük taneli malzemelerde, doldurulması gereken mesafelerin daha fazla olması nedeniyle azaldığını söyleyebiliriz. Bu olgu, tanecikler arası temasların sayısı ve bu temasların mesafesiyle ilişkilidir. Ne kadar fazla temas varsa, çökeltilerin yerleşimi o kadar verimli olur. Aynı mantık, göreceli yoğunluğun da nihai dayanımda önemli bir rol oynadığını açıklar ve genellikle daha yoğun kumları iyileştirmek daha kolaydır (Gao vd., 2019b). Bu bağlamda, zemin sıkıştırıldığında, kum tanelerinin bir araya geldiği ve kalsit kristallerinin daha kısa mesafelerde oluştuğu, bunun da daha yüksek dayanım sağladığı belirlenmiştir

(Rowshanbakht vd., 2016). Zemin sıkıştırıldığında, yani göreceli yoğunluk arttığında, partiküller arasındaki temas sayısı yükselir (Şekil 2.12), boşluklar azalır. Artan temas sayısı, daha verimli bir kalsit içeriği ve bunun sonucunda daha yüksek dayanım sağlar (Qabany vd., 2012).



Şekil 2.12. Gevşek (solda) ve sıkıştırılmış (sağda) kumlar arasındaki parçacıklar arasındaki temas noktalarının sayısındaki fark. Göreceli yoğunluk arttıkça, temas noktalarının sayısı artar ve köprü oluşturmak için gerekli mesafeler kısalır (Gandolfi, 2021).

2.5.2. Geçirimsizlik

Bir zeminin geçirgenliği, boşlukların bağlantısı, gözeneklerin ve çatlakların şekli ile büyüklüğü, taneciklerin şekli ve büyüklüğü gibi faktörlere bağlıdır. Çökelmiş olan kalsit, bu zemin özelliklerini değiştirerek geçirgenliği önemli ölçüde azaltabilir: örneğin, kristallerin çökmesi, pürüzlülüğü artırırken aynı zamanda poroziteyi azaltır ve bu da akış alanını yeniden düzenler (Noiriel vd., 2016). Geçirgenlikteki azalmayı etkileyen başlıca faktör, kalsit içeriğidir. Kalsiyum karbonat miktarı arttıkça, porozite azalır ve bazı çalışmalar bu azalmanın geçirgenlik üzerindeki etkisini gözlememiş veya az etkilemiş olsa da, çoğu araştırma, kalsit içeriği ile geçirgenlik azalması arasında doğrudan bir ilişki bulmuştur (V. Whiffin vd., 2007). Bazı çalışmalarda, kalsit içeriği %14 hacim olarak ve reaktif konsantrasyonu 1mol olan durumda geçirgenliğin %70 oranında azaldığını gözlemlenmiştir (Cheng vd., 2013; Dadda vd., 2017; Qabany vd., 2012). Bu sonuçlar, Cheng vd. (2013) tarafından aynı kalsit içeriği ve benzer konsantrasyonlarla (1.4 M) yapılan denemelerde elde edilen sonuçlarla karşılaştırılabilir. 1 mol konsantrasyon ve 100 kg/m³ kalsit içeriği ile geçirimsizlik %60 azalmıştır (Van Paassen vd., 2010). Gandolfi (2021), 1 mol konsantrasyonunda fakat daha düşük bir kalsit içeriği (%1) ile yaklaşık %30'luk bir azalma gözlemlemiştir. Bu sonuçların birbirleriyle karşılaştırılabilir

olduğunu ve geçirgenlikteki azalmanın dikkate değer olduğunu söylemek mümkündür. Bu durum, kullanılan yüksek reaktif konsantrasyonlarının etkisinden kaynaklanıyor olabilir. Reaktiflerin konsantrasyonu ile ilgili olarak, (Gandolfi, 2021), daha yüksek konsantrasyonlarda (1mol) geçirgenlikte daha hızlı ve daha belirgin bir azalma gözlemlenmiştir, ancak bu etkinin, genellikle geçirgenlikteki genel bir azalmadan ziyade, daha büyük kristallerin oluşumu ile ilgili olarak yerel tıkanmadan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Daha homojen bir sonuç elde etmek için daha düşük konsantrasyonlar (0.25 M) tercih edilir, bu da daha düzenli bir çimentolama sağlar ve toplam porozite ile bağlantıyı azaltır. Bu iki parametre (konsantrasyon ve doygunluk seviyesi) tasarım aşamasında belirlenmiş olduğundan, geçirgenlikteki azalma oranı hedeflenen sonuçları elde etmek amacıyla düzenlenebilmiştir. Ayrıca, çöken kalsit miktarı büyük ölçüde tahmin edilebilir ve zemin içinde istenen nihai kalsiyum karbonat içeriğini elde etmek için birkaç enjeksiyon döngüsü tekrarlanabilir. Bu nedenle, geçirgenlikteki azalma oranının hem tasarım aşamasında hem de işlem sırasında kontrol edilebileceği açıktır, ancak ek çalışmalar gereklidir. Bu kullanım esnekliği, MKKÇ'yi mühendislikte farklı uygulamalar için uygun bir teknik haline getirir ve bu uygulamalar farklı sonuç türlerini gerektirebilir. Ancak, diğer durumlarda, zemin iyileştirme amacıyla geçirgenliği sürdürmek gerekebilir; bu, drenaj kapasitesini korurken hidrostatik basıncı azaltmaya ve zeminin direncini artırmaya yardımcı olabilir (Gandolfi, 2021).

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Hasar görmüş yapıların iyileştirilmesi için, mikrobiyal metabolik aktivitelerin kalsit çökeltisini teşvik ettiği seçici mikrobiyal tıkanma sürecine dayalı yeni bir teknik geliştirilmiştir. Mikrobiyal kalsitin teknik ve endüstriyel uygulamalar için büyük bir potansiyeli vardır. Mineral biyo-depozisyon teknolojileri, kum kolonlarının sağlamlaştırılması, kireçtaşı anıtlarının onarımı ve betondaki çatlakların iyileştirilmesi için halihazırda kullanılmaktadır (Achal vd., 2009).

Bakteriyel mineralleşme, bozunmuş yapı malzemelerini korumak ve güçlendirmek için geliştirilen yeni bir yöntemdir. Yer kabuğunun %4'ünü oluşturan kalsit (CaCO_3), en yaygın minerallerden biridir ve deniz suyu, tatlı su ve toprak gibi çeşitli doğal ortamlarda oluşur. Mikrobiyal kalsit çökmesi, azot döngüsüne dâhil olan organizmalar tarafından, üreaz enzimi aracılığıyla ürenin hidrolizi sonucunda gerçekleşir. Bu süreç, amonyum ve kalsiyum varlığında karbonat iyonlarının oluşmasını sağlar ve kalsiyum karbonat çökmesi kolaylaşır. *Bacillus pasteurii*, karbonat çökeltmek karbonatlı yapıların sağlamlaştırılmasına katkıda bulunma yeteneğiyle bilinmektedir (Achal ve Pan, 2011).

Üreaz, kalsiyum karbonat çökmesinde önemli rol oynayan bir enzim olup, üre ve kalsiyum içeren ortamlarda yüksek oranda üretilir. Üreyi hidrolize edebilen bakteriler, kalsifikasyonu metabolik süreçlerine dâhil ederek proton geri kazanımı sağlar. Ortama salınan amonyum iyonları ve CO_2 , pH seviyesini yükselterek üreaz kaynaklı kalsiyum karbonat çökme hızını artırır (Achal & Pan, 2014).

Çalışmalar, ortam bileşimi, pH ve tuzluluğun kalsiyum karbonat oluşumunu etkilediğini göstermiştir. Bu araştırma, farklı kalsiyum kaynaklarına bağlı olarak MKKÇ sürecini ayrıntılı olarak inceleyen ilk çalışmadır. FTIR, MEB ve XRD analizleri, kalsit çökmesi üzerindeki etkilerini doğrulamış ve en etkili kalsiyum kaynağının kalsiyum klorür, ardından kalsiyum nitrat olduğunu göstermiştir. Biyo-kalsifikasyon sürecinde bakteriyel hücre büyümesi için uygun bir ortam sağlanması kritik öneme sahiptir. Bu bulgular, kumun sağlamlaştırılması, zemin iyileştirme, çatlak beton onarımı ve tarihi eserlerin korunması gibi mühendislik uygulamaları için umut vericidir (Achal ve Pan, 2014).

Kendiliğinden iyileşen betonlarda, bakteriler, betonun zorlu ortamına karşı mikro kapsüllerle korunur. ASR (Alkali-Silika Reaksiyonu) nedeniyle çatlak oluştuğunda, bakteriler kapsüllerden salınır ve poroz çözültisinin pH 'ı hala yüksek kalır. Yüksek pH

koşullarında bakteri aktivitesi önemli ölçüde düşse de sporlar birkaç gün boyunca hayatta kalabilir ve kalsiyum karbonat çökeltebilir. Bu nedenle, çatlaklar meydana geldikten sonra bakterilerin birkaç gün aktifleşmesi ve mikro çatlakların bir kısmının kalsiyum karbonat ile doldurulması beklenir (Allahyari vd., 2021).

MKKÇ, tamamen çevre dostu olmayabilir, çünkü üreoliz süreci sırasında amonyum ve nitrat oluşabilir, bu da yüksek konsantrasyonlarda insan sağlığına ve toprak mikroorganizmalarına toksik ve tehlikeli olabilir. Ayrıca, inşaat malzemeleri içindeki amonyum, bakteriler tarafından nitrat asidine dönüştürülebilir. Bu asit, kalsitle reaksiyona girerek kalsiyum nitrat oluşturur, bu da yüksek çözünürlüğe sahip bir bileşen olup, inşaat malzemelerinin biyolojik bozulmasına neden olur (Anbu vd., 2016).

Yapay olarak çatlatılmış beton numunelerine dâhil edilen farklı katkı maddelerinin (dikarboksilik asitler, sodyum karbonat, geniş katkı maddesi, silika dumanı, lifler) çeşitli kombinasyonlarının kendi kendini iyileştirme etkisi araştırılmıştır. Etkinlikleri stereomikroskopik gözlemler ve dayanıklılık testleri ile değerlendirildi. İyileştirici ürünlerin yapısı ve kimyası optik mikroskopi ve Raman spektroskopisi ile karakterize edildi. Katkı maddeleri, 400 µ m'ye kadar çatlak genişliklerinin kapatılmasını sağlamıştır. Dikarboksilik asitler/genleştirici katkı maddesi kombinasyonu, daha sonraki aşamalarda hidratlanabilen reaksiyona girmemiş klinker tanelerini koruyarak en iyi performansı göstermiştir. Portlanditin karbonatlaşması, ya toplu olarak (çökme bölgeleri olarak lifler kullanılarak) ya da çatlakların yüzeyinde kalsit çökmesine yol açmıştır (Aspiotis vd., 2021).

Bagriacik vd. (2021), *Bacillus* sp.'nin zemin ıslahında kullanılabilirliği, optimum koşullar altında doğrudan kesme testleri ve geçirgenlik testleri ile değerlendirilmiştir. Ürolitik bakteri *Bacillus* sp.'nin neden olduğu kalsiyum karbonat çökmesinin etkisine yönelik zamana bağlı çalışma, incelenen zeminin geçirgenliğinde azalma ve mukavemetinde artış olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, zemindeki mevcut besin maddelerinin tükenmesi durumunda, zeminin dayanımı olumsuz etkilenmemiştir. *Bacillus* sp. tarafından mikrobiyal olarak indüklenen kalsiyum çökmesi, geleneksel zemin stabilizasyon tekniklerine alternatif olabileceği için zemin iyileştirmesinde etkilidir. Bakterilerin zemindeki kalsiyum karbonatı çöktürme yeteneği, zeminin geçirgenliğinde azalmaya ve kayma mukavemetinde artışa yol açmaktadır.

MKKÇ uygulaması, kalsit çökmesini kontrol etmek ve optimum dağılımı sağlamak amacıyla enjeksiyon debilerinin yönetimi ve sulu kimyanın (kalsiyum, karbonat, üre, pH ve besinler) ayarlanması gibi teknik zorluklar içermektedir. Bu

yaklaşım, saha koşullarına uygun kimyasal bileşimin düzenlenmesine dayanır; özellikle üreolitik ajanların oksidasyonu için organik madde temini önemlidir. Bu ajanlar yapay olarak artırılabilir veya yerel mikroorganizmalar aracılığıyla aktive edilebilir. Reaktiflerin enjeksiyonu ve hidrolik kontrol, kuyular aracılığıyla sağlanır. Modelleme süreci, düzensiz akışları gerçekçi bir şekilde temsil etmek için karmaşık kimyasal reaksiyon ağlarının entegrasyonunu gerektirir (Barkouki vd., 2011).

Bir çalışmada, biyo-tuğla üretim tekniği ve üretimden sonra yapılan testlerin sonuçları ele alınmaktadır (Bernardi vd., 2014). Tuğlalar, P-dalgası hızı, serbest basınç mukavemeti ve kalsit konsantrasyonu gibi özellikler açısından test edilmiştir. Biyo-tuğlaların P-dalgası hızı, sertliği, mukavemeti ve kalsit içeriği, bakteriyel ve çimentolama ortamının optimize edilmesiyle artış göstermektedir. Sonuçlar, biyo-tuğlaların 1 MPa ile 2 MPa arasında değişen mukavemetlere sahip olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu tuğlalar, gerilme ve sertlik bakımından geleneksel çimento ve hidrolik kireç katkı maddeleri ile üretilen tuğlalarla karşılaştırılabilir niteliktedir.

Kalsiyum karbonatın mikrobiyal çökmesi (MKKÇ), deniz suyu, tatlı su, toprak ve atık sular gibi çeşitli ortamlarda gözlemlenen doğal bir süreçtir. Bu fenomen, kalsiyum ve karbonat konsantrasyonu, ortamın pH değeri ve çökme bölgelerinin varlığı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu süreçte özellikle üreolitik bakterilerin rolü önemli bir mekanizma olarak öne çıkmaktadır. Bu bakteriler, üreyi amonyum ve bikarbonata parçalayarak Ca^{2+} ve CO_3^{2-} iyonlarının reaksiyona girmesini sağlar ve böylece hücre yüzeyinde, çökme sürecine destek olan kalsiyum karbonat ($CaCO_3$) oluşumu gerçekleşir (Bansal vd., 2016).

Beton, dünyada en yaygın kullanılan yapı malzemesidir. Ancak, düşük çekme dayanımı nedeniyle erken büzülme çatlakları veya yük kaynaklı çatlaklar gibi hasarların oluşması kaçınılmazdır. Bu çatlaklar, beton yapının bütünlüğünü ve işlevselliğini olumsuz etkileyerek, beton içerisine aşındırıcı maddelerin girmesine olanak tanır. Bu durum, betonun dayanıklılığının azalmasına, büyük ekonomik kayıplara ve hatta güvenlik risklerine yol açabilir. Akıllı yapı malzemeleri ve teknolojilerinin hızla gelişmesiyle birlikte, mikroorganizmalar tarafından kalsiyum karbonat çökeltmesi (MKKÇ), betonun dayanıklılığını artırmak ve çatlaklarını onarmak için yenilikçi bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Chen vd., 2021).

Mikroplar tarafından kalsit çökeltmesi (MKKÇ), toprakların stabilizasyonunu sağlayan yenilikçi bir yöntem olup, kalsit çökeltmeleri oluşturarak dayanıklılığını ve sertliğini artırır. Biyo-çimentolu kum üzerinde yapılan laboratuvar testleri, düşük

doygunluk seviyesinin aynı CaCO_3 içeriğiyle daha yüksek dayanım sağladığını göstermektedir. Matematiksel bir model, kristalleşme verimliliğinin doygunluk derecesine ve partikül boyutuna bağlı olduğunu doğrulamaktadır. İnce kumlar daha fazla kohezyon sunarken, iri kumlara kıyasla daha düşük sürtünme açısına sahiptir. MKKÇ, çeşitli geoteknik uygulamalarda zemin güçlendirme için umut vadeden bir alternatif olarak öne çıkmakta ve donma-çözülme döngülerine ve asit yağmurlarına karşı yüksek direnç göstermektedir (Cheng vd., 2013).

MKKÇ ile iyileştirilmiş numuneler, donma-çözülme kaynaklı erozyona karşı oldukça dirençli olduğunu göstermiştir, ancak asit yağmurlarının neden olduğu erozyona karşı daha az dayanıklıdır. Biyolojik olarak iyileştirilmiş zeminler üzerinde yapılan geçirgenlik ve kesme direnci testleri, MKKÇ'nin zemin iyileştirme için umut verici bir teknik olduğunu doğrulayan sonuçlar ortaya koymuştur. MKKÇ, dolgu zeminleri, sıvılaşabilen kum depoları ve platform güçlendirme gibi zemin iyileştirme uygulamaları için uygun bir alternatif olarak kanıtlanmıştır (Cheng vd., 2013).

Bazı araştırmacılar, mikrobiyal olarak indüklenen karbonat çökmesi (MKKÇ) tekniğini uyarlayarak deniz ortamında kumlu zeminleri stabilize etmek için yenilikçi bir yöntem sunmaktadır (Cheng, Shahin, ve Cord-Ruwisch, 2014). Geleneksel MKKÇ yöntemlerinin aksine, bu yaklaşım, kalsit oluşturmak için yalnızca deniz suyunda doğal olarak bulunan kalsiyum iyonlarını kullanır. Süreç, tuzluluğa toleranslı üreaz üreten bakterilerin enjekte edilmesini ve ardından üre ile deniz suyu karışımının gözenekli kumlu zeminden geçirilmesini içerir. Bu, üreaz reaksiyonu yoluyla karbonat salınımını ve kalsiyum karbonat ile trihidratlı magnezyum karbonat gibi çözünmez ve yarı çözünür karbonat tuzlarının çökmesini tetikler. Bu yöntem, kumun fiziksel olarak stabilize edilmesini sağlamış ve eşdeğer miktarda kristal üretimi için konsantre kalsiyum ve üre çözeltileriyle elde edilen değer yaklaşık iki katı olan 300 kPa'ya kadar çıkan serbest basınç dayanımına ulaşmıştır.

Beton çatlaklarının mikroorganizmalar kullanılarak onarılması için iki ana teknik bulunmaktadır. Bunlardan biri, kendi kendine iyileşme veya yeni oluşan çatlakların otonom onarımıdır. Bu yöntemde, MKKÇ süreci için kullanılan malzemeler genellikle beton karışımına, somut çatlaklar oluşmadan önce taze betona karıştırılır. Diğer teknik ise manuel çatlak onarımıdır; bu yöntemde, MKKÇ süreci için kullanılan malzemeler, geleneksel sertleşmiş betonda çatlaklar oluştuğundan sonra çatlak bölgelere uygulanır (Choi vd., 2017).

MKKÇ süreci, çatlak onarımına çeşitli mekanizmalar aracılığıyla katkı sağlayabilir: biyolojik olarak üretilen CaCO_3 ve mikrobiyal biyo-kütle ile çatlakların doldurulması ve gevşek malzemelerin birbirine bağlanması, ayrıca mikroorganizmalar tarafından desteklenen parçacıklar ve/veya kolloidler arasında tuz köprülerinin oluşturulması. Onarım sonrasında, çatlamış betonun bütünlüğünü geri kazanması ve uygun mekanik özelliklere sahip olmasının yanı sıra su geçirmezlik direncinin de artması beklenmektedir (Choi vd., 2017).

Mikroorganizmalar tarafından indüklenen kalsit çökmesi (MKKÇ), çeşitli faktörler ve mekanizmalar tarafından etkilenen doğal veya yapay bir süreç olabilir. Bu mekanizmalardan biri, üreaz üreten bakterilerin (UPB) üre, kalsiyum iyonları ve saf veya zenginleştirilmiş bakteri kültürleri varlığında, ya da yerel UPB popülasyonunun etkisiyle gözenekli toprakta kalsit oluşumuna dayanır (Chu vd., 2014).

MKKÇ süreci, geoteknik ve çevre mühendisliğinde, biyolojik tıkanma yoluyla zeminin permeabilitesini azaltmak veya biyolojik çimentolama yoluyla kesme mukavemetini artırmak için kullanılan umut verici bir tekniktir. Laboratuvar çalışmaları, kumun mukavemetini artırmada ve geçirgenliğini azaltmada etkinliğini göstermiştir. Bu süreç iki ana aşamaya dayanmaktadır: üreaz üreten bakterilerin kum taneleri üzerine adsorpsiyonu ve ürenin enzimatik hidrolizi ile kalsiyum karbonat kristallerinin oluşumu. Bakterilerin kum taneciklerine yapışması, taneciklerin boyutu ve yüzey yükünün yanı sıra ortamdaki iyonların varlığı da dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlıdır. Kum tanelerinin kalsiyum, demir veya alüminyum gibi katyonlarla kaplanması bu yapışmayı iyileştirir (Chu vd., 2014).

Mikroplar tarafından indüklenen kalsit çökmesi (MKKÇ), zeminin dayanım, rijitlik ve geçirgenlik özelliklerini geliştirir. Bu çalışma, çözeltinin konsantrasyonu, bekletme süresi ve ters basıncın etkisini değerlendirerek geçirgenlik ve rijitlik değişimlerini incelemektedir. Sonuçlar, MKKÇ 'nin arazi basıncını etkilemediğini ancak çözeltinin konsantrasyonunun belirleyici olduğunu göstermektedir: Düşük kalsit içeriğinde etkiler benzerken, yüksek konsantrasyon hızlı tıkanmaya yol açarak zeminin özellik kazanma sürecini değiştirmektedir. Bu bulgular, MKKÇ'nin geoteknik mühendisliğindeki uygulamalarını optimize etmek için rehberlik sağlamaktadır (Dawoud vd., 2014).

Bakteriler tarafından indüklenen karbonat mineralizasyonu, beton ve harcı su ve gaz sızmasına karşı korumak için geleneksel yöntemlere çevre dostu bir alternatif sunar. Bu çalışma, saf ve karışık üreolitik bakteri kültürlerinin etkinliğini karşılaştırmaktadır.

Kalsit birikimi, kapiler su emilimini ve geçirgenliği azaltırken yüzeylerin renk görünümüne sınırlı bir etki yapmıştır. Saf kültürler, daha iyi koruma sağlarken renk bütünlüğünü de daha iyi korumuştur. *Bacillus sphaericus* kültürleri ile elde edilen sonuçlar, geleneksel su itici işlemlerle karşılaştırılabilir düzeydedir (De Muynck vd., 2008).

Karbonat çökmesinde mikropların rolünün keşfedilmesi, yeni inşaat malzemelerinin de keşfedilmesine yol açmıştır. İlk patentli uygulamalardan biri, mikrobiyal karbonat tabakasının süs taşıını koruduğu biyo-depozisyonu içermektedir. Umut verici sonuçlar, her biri kendi yaklaşımını geliştiren ve kendi bakteri türünün veya yönteminin etkinliğini iddia eden çeşitli araştırma gruplarının ilgisini çekmiştir. Bu derleme, mikroorganizmaların ve metabolik yolların seçimini etkileyen araştırma bağlamını dikkate alarak bu farklı yaklaşımları karşılaştırmaktadır. Metodolojilerin değerlendirilmesi, etkinlikteki farklılıkların daha iyi anlaşılmasını sağlamakta ve biyo-depozisyonun sahada uygulamasının iyileştirilmesi için öneriler sunmaktadır. Buna ek olarak, çalışma mikrobiyal karbonatların, betona bakteri eklenmesinin betonun mukavemetini artırdığı ve geçirgenliği azaltarak çatlakların kendi kendine iyileşmesini desteklediği biyo-beslemede bir bağlayıcı olarak kullanımını araştırmaktadır (De Muynck vd., 2010). Bu işlemin ilk uygulaması 1993 yılında Thouars'da Saint-Médard kilisesinin kulesinde gerçekleştirilmiştir. Ürün, Tuffeau kireçtaşından oluşan 50 m²'lik bir alana uygulanmıştır. Uygulamanın koruyucu etkinliği, esneklik ölçümleri, pürüzlülük ve kolorimetri değerlendirmelerinin yanı sıra taramalı elektron mikroskopu (SEM) incelemeleri de dâhil olmak üzere çeşitli mikroskobik incelemelerle analiz edilmiştir. SEM görüntüleri, *Bacillus cereus*'un taş yüzeylerde yaşayabilirliğini gösteren kalsijenli kireçtaşı popülasyonlarının önemli ölçüde çoğaldığını ortaya koymuştur. Biyokalsin oluşumu, gaz geçirgenliğini korurken su emilim oranını önemli ölçüde azaltmıştır (beş kata kadar daha az). Ayrıca taşın estetik görünümünde de herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (De Muynck vd., 2010).

Son zamanlarda, yol alta zeminlerin teknik özelliklerini (mukavemet, sertlik, geçirgenlik) değiştirmek için biyolojik süreçlerin kullanılmasına yönelik umut verici yeni beklentiler ortaya çıkmıştır. Mikrobiyoloji, jeokimya ve inşaat mühendisliğinin kesiştiği bu disiplinler arası alan, altyapıları destekleyen zeminlerin iyileştirilmesi için yenilikçi çözümler sunmaktadır. Bu makale, kumlarda kalsit çökmesine odaklanarak biyo-aracılı iyileştirme sistemlerini araştırmaktadır. Mikroplar ve toprak arasındaki etkileşimleri, kalsit dağılımını ve bozunmasını değerlendirmek için mikroskopa tekniklerini ve bu

süreçleri izlemek için tahribatsız jeofizik yöntemleri incelemektedir. Araştırmacılar ve uygulayıcılar için optimizasyon, ölçek büyütme ve eğitim ile ilgili zorluklar vurgulanırken, avantajlar ve potansiyel uygulamalar sunulmaktadır (DeJong vd., 2010).

Sürdürülebilir zemin iyileştirme yöntemlerine olan talep hızla artmakta olup, dünya çapında yılda 40.000'den fazla proje gerçekleştirilmekte ve toplam maliyet 6 milyar doları aşmaktadır. Mevcut tekniklerin çoğu, mekanik enerji veya sentetik malzemelere (çimento, epoksi, poliüretan vb.) dayanmakta olup, bu yöntemler hem yüksek enerji tüketimine neden olmakta hem de çevresel sorunlara yol açmaktadır. Zemin parçacıklarını birbirine bağlamak için enjekte edilen bu malzemelerin çoğu, sodyum silikat hariç, toksik veya tehlikelidir. Örneğin, 1974 yılında Japonya'da akrilamid kaynaklı zehirlenme vakaları, bu tür kimyasal enjeksiyonların yasaklanmasına ve ABD'de de sıkı düzenlemelere yol açmıştır. Günümüzde, bazı girişimler tüm sentetik malzemelerin yasaklanmasını önermekte, bu da zemin iyileştirme için çevre dostu ve sürdürülebilir alternatiflerin geliştirilmesinin gerekliliğini vurgulamaktadır (DeJong vd., 2010).

Biyomedikal olmayan arıtma yöntemlerini analiz ederek, biyomedikal tekniklerin toprak özellikleri üzerindeki potansiyel etkisini tahmin etmek mümkündür, örneğin geleneksel yöntemlerle karşılaştırılabilir olan kalsit çökeltme yoluyla kumların kayma mukavemetini artırmak gibi. Biyomedikal araştırmalar, laboratuvar fizibilitesinden ziyade iki büyük zorluğa odaklanmaktadır: iyileştirmenin mikroskobik mekanizmalarını anlamak ve bu tedavileri sahada tek tip ve sürdürülebilir bir şekilde büyük ölçekte uygulamak için yöntemler geliştirmek (DeJong vd., 2010).

Mikrop kaynaklı kalsiyum karbonat çökeltmesi (MKKÇ), mikropların metabolik faaliyetleri yoluyla inorganik maddeler ürettiği doğal bir biyolojik süreçtir. Yaygın olarak çalışılan bu teknoloji, çeşitli alanlarda umut verici bir potansiyel sunmaktadır. Bu derleme, kalsiyum karbonat biyo-minerallerinin ürolitik bakteriler tarafından üretilme mekanizmasını, özellikle bina sürdürülebilirliği, çevresel iyileştirme (su ve toprak), CO₂ tutulması ve kauçuk ve plastik gibi malzemelere dâhil edilmesindeki rollerini ve uygulamalarını araştırmaktadır. Çalışma, bakteriyel biyo-minerallerin geleneksel ajanlara göre avantajlarını vurgularken, laboratuvar ölçeğinden saha uygulamasına kadar başarılı bir ticarileştirme için üstesinden gelinmesi gereken zorlukları tanımlamaktadır (Dhami vd., 2013a)

Bakteri hücrelerinin kalsiyum, alüminyum veya demir tuzları ile iyileştirmeye tabi tutulmuş kum üzerindeki adsorpsiyonu, iyileştirme yapılmamış kuma göre %29-37 daha yüksek bulunmuştur. Kumun geçirgenliği, çökelmiş kalsiyum içeriğine bağlı olarak değişmektedir. Kumun biyolojik olarak tıkanması için, çökelmiş kalsiyum içeriğinin %1.3 (a/a) veya daha yüksek olması gerekmektedir. Biyolojik olarak işlenmiş kumun kayma mukavemeti de çökelmiş kalsiyum içeriğine bağlıdır. 1.5 MPa veya daha yüksek serbest basınç dayanımı elde edebilmek için, biyo-çimentolu kumdaki çökelmiş kalsiyum içeriğinin %4.2 (a/a) veya daha yüksek olması gerekmektedir. Bu veriler, kumun geçirgenliğini azaltmak için biyo-tıkanma ve zeminin kayma mukavemetini artırmak için biyo-çimentolama gibi geoteknik uygulamalarda referans değerler olarak kullanılabilir (Chu vd., 2014).

Zemin dayanımındaki iyileşme ile ilişkili olarak geçirgenlikteki artımlı değişiklik olabilmektedir (Dawoud vd., 2014). Bu çalışmada, geçirgenlikteki değişiklikleri ölçmek için s-dalga bükücü elemanlarla modifiye edilmiş geçirgenlik ölçer hücreleri kullanılmıştır. Zemin sertliğindeki gelişmeyi sürekli olarak izlemek için bükücü elemanlar kullanılmıştır. MKKÇ ürününü farklı tedavi koşulları altında değerlendirmek için sistematik bir çalışma yapıldı ve tedavi çözeltisinin konsantrasyonu, alıkonma süreleri ve geri basınç değişken seçilmiştir. 0.25-1.0 M arasındaki bakteriyel konsantrasyonları kullanılmış ve tüm deneyler için 50 kPa 'da etkili stres korunurken 0 ile 100kPa arasındaki değerlerde geri basınç uygulanmıştır. Sonuçlar, gözenek suyu basıncını değiştiren MKKÇ'de kayda değer bir değişiklik göstermemiştir. Büyük değişiklikler, iyileştirme için kullanılan kimyasalların konsantrasyonuna bağlanmıştır. Düşük kalsit içeriğinde, tüm arıtma koşulları, sertlik gelişimi ve hidrolik iletkenliğin azaltılması için benzer sonuçlara yol açmıştır. Arıtma çözeltileri için yüksek konsantrasyonların kullanılması, toprağın yeni özellikler kazanma şeklini değiştiren daha erken tıkanmaya neden olmaktadır. Bu makale ile sunulan sonuçlar, MKKÇ'nin doğru kullanımının değerlendirilmesi için bir referans sağlamıştır.

De Muynck vd. (2008), bakteriyel CaCO_3 çökmesinin beton ve harcın dayanıklılığını etkileyen parametreler üzerindeki etkilerini incelemektedir. Üre parçalayan bakterilerin saf ve karışık kültürleri, geleneksel yüzey işlemlerine kıyasla etkinlikleri açısından karşılaştırılmıştır. Numunelerin yüzeyinde bakteriyel olarak biriken kalsit tabakası, kılcal su alımını ve gaz geçirgenliğini azaltmıştır. Bu bakteriyel işlem, harç ve beton yüzeylerin renk görünümünde sınırlı değişikliklere neden olmuştur. Bakteri kültürü tipi ve bileşimi, CaCO_3 kristal morfolojisi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir

Erşan vd. (2016), korozyona dayanıklı kendi kendini iyileştiren betonun geliştirilmesi amacıyla bir aksenik olmayan ve iki aksenik NO_3^- indirgeyici kültürün işlevselliğini araştırmışlardır. Her iki aksenik kültür de koruyucu taşıyıcılara dâhil edildiğinde harçtan kurtuldu ve pH'nin 10'un altına düştükten 3 gün sonra aktif hale geldi. "Aktive edilmiş kompakt denitrifikasyon çekirdeği" (ACDC) olarak adlandırılan aksenik kültür, ek bir koruma olmaksızın benzer resüsitasyon performansı sergiledi. Ayrıca ACDC, 1 hafta içinde 57 mM NO_2 üreterek çeliğin aşındırıcı elektrolit çözeltisi (0.05 M NaCl) içinde pasivasyonunu sağladı. Aksenik kültürler ise 26.8 mM'ye kadar NO_2 üretti ve pasivasyon bozulması ile çukurlaşma korozyonu gözlemlendi. Genel olarak, ACDC, korozyona dayanıklı mikrobiyal kendi kendini iyileştiren beton için uygun görünmektedir.

Dünya genelinde hızla artan inşaat dağıtım taleplerini karşılamak amacıyla daha fazla çimento üretimi yapılması gerekmektedir. Ancak, çimento üretim süreci yüksek enerji tüketimi gerektirir, çevre açısından güvenli değildir ve çatlak oluşumuna neden olabilir. Bu sorunlar, mikrobiyal olarak indüklenen kalsiyum karbonat çökeltme (MKKÇ) sürecini kullanarak yeni bir yapı biyo-materyali geliştirme motivasyonunu doğurmuştur. MKKÇ sürecinde, üre, CaCl_2 ve *Sporosarcina pasteurii* bakterisi varlığında CaCO_3 üretilir. Bakteriler, Ca^{2+} iyonu için negatif yüke sahip hücrelerinde Çökeltme alanı oluşturur ve üre hidrolizi kolaylaştıran enzim üretirler. Uygun şekilde üretilen CaCO_3 , her bir zemin parçacığı arasında yüksek serbest basınç mukavemeti ve düşük su geçirgenliği sağlayan güçlü bir bağ oluşturur. Bu yazıda, MKKÇ kullanılarak biyo-çimento üretimi ile ilgili yapılan önceki çalışmalar ve bu süreci etkileyen bakteriler, pH, sementasyon solüsyonu, enjeksiyon ve sıcaklık gibi faktörler kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Gebre vd., 2021).

Hammes ve Verstraete (2002), türe özgü veya "aktif" MKKÇ kavramı hakkında alternatif bir bakış açısı sunar: 1. Mikrobiyal kalsiyum metabolizması, tipik çökeltme koşulları altında kaçınılmaz bir olaydır. 2. Aktif kalsiyum metabolizması, potansiyel olarak benzersiz çökeltme koşulları yaratır. 3. Karbonat çökeltmesi, bakterilerin hayatta kalmasını ve çoğalmasını kimyasal olarak destekler.

Jonkers vd. (2010), bakterilerin betonun kendi kendini onarma ajanı olarak kullanılması, yani oluşan çatlakları tamir etme yeteneklerini araştırmışlardır. Bu amaçla, *Bacillus* cinsi içerisinde yer alan, alkaliye dirençli spor oluşturan bir bakteri grubu seçildi. Bakteriyel sporlar doğrudan çimento harcı karışımına eklenmiş olup, 4 aya kadar hayatta kaldı. Çimento taşının sertleşmesi sırasında gözenek boyutlarının sürekli olarak

küçülmesi, gözenek genişliklerinin Bacillus sporlarının tipik boyutu olan 1 mikrometrenin altına düşmesine neden olduğu için, sporların ömrünü muhtemelen sınırladı. Ancak, bakteriyel çimento taşı örneklerinin kontrol örneklerine kıyasla önemli ölçüde daha fazla çatlak doldurucu mineral ürettiği gözlemlendiğinden, bakteri sporlarının kendi kendini iyileştirme ajanı olarak potansiyel kullanımı umut verici görünmektedir.

Khaliq ve Ehsan (2016), Bacillus subtilis bakterisinin mikrobiyal aktivitesiyle betondaki çatlak iyileşme sürecini araştırmaktadır. Bakteriler, betona doğrudan eklenmiş ve hafif agrega ile grafit nano trombositler gibi çeşitli taşıyıcı bileşiklerle entegre edilmiştir. Tüm yöntemlerde organik öncü madde olarak kalsiyum laktat kullanılmıştır. Çatlak iyileşmesini ve betonun basınç dayanımındaki değişiklikleri değerlendirmek amacıyla her karışımdan örnekler hazırlanmıştır. Sonuçlar, grafit nano trombositlerle hareketsiz hale getirilen bakterilerin, 3. ve 7. günlerde önceden çatlatılmış örneklerde daha iyi performans gösterdiğini, hafif agregalarda hareketsiz hale getirilen bakterilerin ise 14. ve 28. günlerde önceden çatlatılmış örneklerde daha etkili olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, hafif agregalarda hareketsiz hale getirilmiş bakterilerle güçlendirilmiş beton, betonun basınç dayanımında da önemli bir artış göstermiştir.

Gaz difüzyon yöntemiyle yapılan bir araştırmada, mikrobiyal hücre içi veya hücre dışı karbonik anhidraz (CA) tarafından indüklenen kalsiyum karbonat (CaCO_3) çökmesinin dinamikleri başlangıç pH 6.0, 6.5, 7.0 ve 8.0'daki etkileri incelenmiştir. Sonuçlar hem hücre içi hem de hücre dışı CA'nın CaCO_3 çökmesini teşvik edebildiğini göstermiştir.

Başlangıç pH 8.0'daki enzimatik sistemlerde Ca^{2+} iyonları, başlangıç pH 6.0, pH 6.5 ve pH 7.0'a kıyasla sırasıyla 21 saat, 15 saat ve 14 saat daha erken olan 48 saatte tamamen çökmüştür. Bu da daha yüksek pH'ın CaCO_3 çökmesini desteklediğini ve mikrobiyal CA'nın bu süreç üzerindeki katalitik etkisini artırdığını göstermektedir. Ayrıca, XRD analizi, mikrobiyal CA varlığında oluşan CaCO_3 çökeltilerinin esas olarak kalsit kristalleri olduğunu ortaya koymuştur. Biriktirme süresinin artmasıyla birlikte kristaller, FESEM analizine göre prizmatik şekilden piramit benzeri veya düzensiz çok yüzlü şekillere dönüşmüştür (Li vd., 2013).

Bakteriyel aktivite, organik üst zemin katmanında yoğundur ancak derinlikle birlikte, özellikle suya doymamış zeminlerde, azalır. pH, redoks potansiyeli, sıcaklık ve toprağın yapısı gibi faktörler bu aktiviteyi etkiler. Ayrıca, ince parçacıklar

mikroorganizmaların hareketini kısıtlar ve biyo-filmler, bakterilerin ihtiyaçlarına uygun bir nem mikro-ortamı oluşturmalarına olanak tanır (J. K. Mitchell ve Santamarina, 2005).

Kalsiyum karbonat (CaCO_3) birikimi, deniz suyu, tatlı su ve zemin gibi ortamlarda sık görülen bir olgudur. Görece basit olan bu kimyasal süreç dört ana faktör tarafından kontrol edilir: (1) kalsiyum (Ca^{2+}) miktarı, (2) znmř inorganik karbon (CID) miktarı, (3) p^{H} seviyesi ve (4) kelme bölgelerinin uygunluğu (Hammes ve Verstraete, 2002).



4. MATERYAL VE YÖNTEM

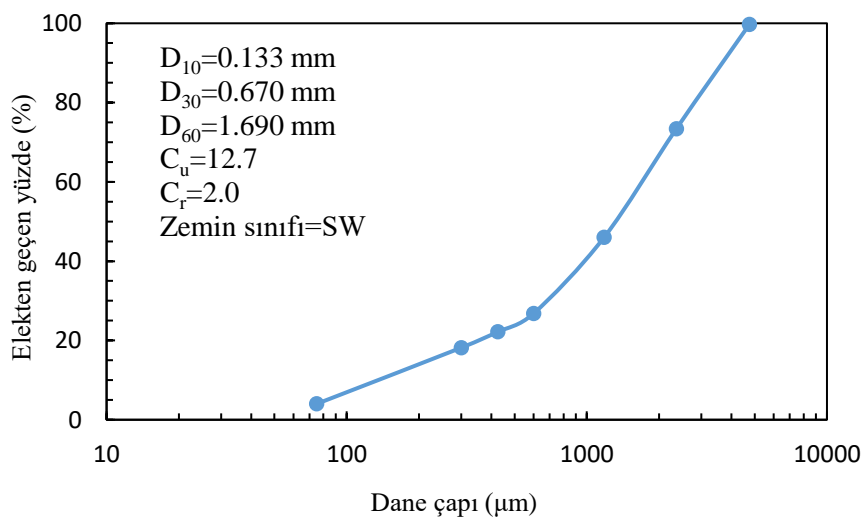
Sunulan tez çalışmasında, farklı kimyasal boşluk sıvılarına sahip kumlu zeminlerde mikrobiyal kalsit karbonat çökeltisi oluşumu ve iyileştirilmiş zemin özellikleri araştırılmıştır. Bu bölümde ilk önce kullanılan malzemeler tanıtılmış, daha sonra biyolojik yöntemle zemin iyileştirme çalışmalarının nasıl yapıldığı anlatılmıştır.

4.1. Malzemeler

Malzeme olarak: kumlu zemin, bakteri, kimyasal maddeler (asit, tuz ve sülfat), ve bakteri beslemek için kalsiyum klorür, maya özütü ve üre gibi malzemeler kullanılmıştır.

4.1.1 Kumlu zemin

Biyolojik zemin iyileştirme çalışmalarında yıkanmış doğal kum kullanılmıştır. Kumlu zemin Konya'da bulunan bir kum ocağından temin edilmiştir. Elek analizi sonuçlarına (Şekil 4.1) ve Birleştirilmiş Zemin Sınıflandırma Sistemine (ASTM D2487, 2017) göre zemin iyi derecelenmiş kum (SW) olarak sınıflandırılmıştır. Zeminin tane yoğunluğu 2.67 g/cm^3 elde edilmiştir. Kumlu zemine ait diğer geoteknik özellikler Çizelge 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Kumlu zeminin granülometri eğrisi

Çizelge 4.1. Kumlu zeminin geoteknik özellikleri

Çakıl oranı		%0.3
Kum oranı		%95.7
İnce dane oranı		%4
Üniformluk katsayısı	C_u	12.7
Eğrilik katsayısı	C_c	2.0
Zemin sınıfı (USCS)		SW
Birim hacim ağırlık	γ_s (kN/m ³)	26.7
Maksimum kuru birim hacim ağırlık	$\gamma_{k,max}$ (kN/m ³)	19.9
Minimum kuru birim hacim ağırlık	$\gamma_{k,min}$ (kN/m ³)	14.6
Maksimum boşluk oranı	e_{max}	0.828
Minimum boşluk oranı	e_{min}	0.339

4.1.2 Bakteri

Sporosarcina pasteurii (önceden *Bacillus pasteurii* olarak bilinen), üreaz üretme ve üreyi hidrolize ederek amonyak ve bikarbonat iyonları oluşturma yeteneğiyle tanınan bir bakteri türüdür. Bu özellik, araştırmada kullanılmasının temel nedenidir. *Bacillus* türleri (daha önce *S. pasteurii*'nin sınıflandırıldığı grup), doğada yaygın olarak bulunmaları ve kimyasal ile fiziksel etkenlere karşı yüksek direnç göstermeleriyle bilinir, bu da onları saha ortamında açık alanlarda kullanım için uygun kılar (Dupraz ve Visscher, 2005).

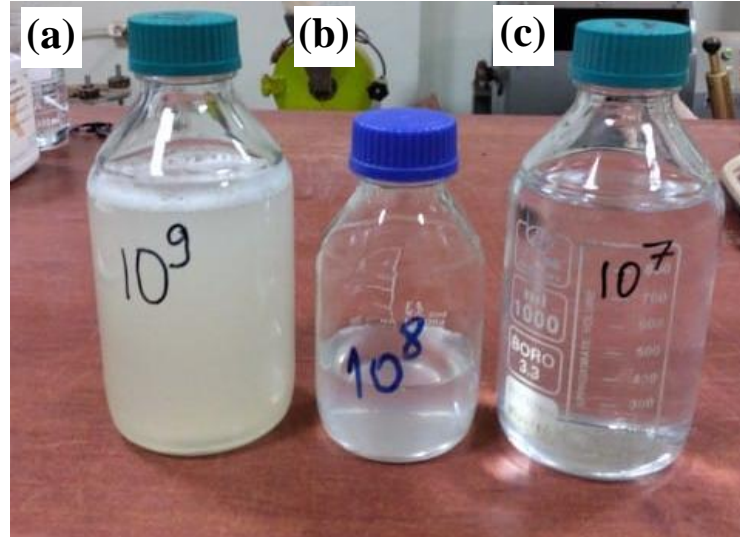
Stocks-Fischer vd. (1999) tarafından yürütülen bir çalışma, bu biyolojik sürecin kinetiğini ve p^H ile bakterilerin büyümesi gibi farklı faktörlerin çökelme oranı üzerindeki etkisini ortaya koyan ilk araştırmalardan biri olarak öne çıkmaktadır.

Sporosarcina pasteurii isimli bakteri Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalında görevli Prof.Dr. Hatice Türkdağı tarafından yetiştirilip çoğaltılmış ve tarafımıza ulaştırılmıştır.

Bakteriler, amonyum maya özütü ortamında (ATCC 1376) kültürlendi. 30 °C'de bir çalkalayıcıda 180 rpm'de bir gece boyunca aerobik olarak inkübe edildikten sonra, bakteri ve büyüme ortamı 10 dakika boyunca 4000 rpm'de iki kez santrifüj edildi. Daha sonra, üstteki sıvı atıldı ve bakteriler yeniden süspanse edilmeden önce taze ortamla değiştirildi. ATCC 1376 ortamının bileşimi, Çizelge 4.2'de verilmiştir. 1lt olarak hazırlanan bakteri kültürü, 10⁹ hücre içermektedir. Daha sonra, bakteri solüsyonu 10⁸ ve 10⁷ hücre/ml olacak şekilde seyreltilmiştir (Şekil 4.2).

Çizelge 4.2. ATCC ortamının bileşimi

İçerik	1 lt sudaki miktar
Yeast extract	20 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	10 g
Tris buffer (pH=9)	0.13 M
Agar	20 g



Şekil 4.2. Saf bakteri kültürü a) 10^9 hücre/ml, b) 10^8 hücre/ml, c) 10^7 hücre/ml

4.1.3. Besi ortamı

Bakterilerin çoğalması amacıyla kullanılan besi ortamı, yeast extract, üre, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (hidratlı kalsiyum klorür) ve sudan oluşmaktadır (Şekil 4.3). Besiyerde kullanılan malzemelerin miktarları Çizelge 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.3. a) Kalsiyum klorür dihidrat, b) yeast extract, c) üre ve d) besi ortamı
Çizelge 4.3. Besi ortamının bileşimi

İçerik	1 lt sudaki miktar
Yeast extract	20 g
Üre	30.03 g (0.5M)
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	73.50 g (0.5M)
Su*	1000 g

* Besi ortamındaki su, deney programına göre çeşme suyu veya farklı konsantrasyonlardaki asitli, sülfatlı veya tuzlu su olmaktadır.

4.1.4 Kimyasal sıvılar

Asit, sülfat ve tuzlu yeraltı suyu durumlarını benzetmek amacıyla kimyasal maddeler kullanılmıştır.

Asit olarak %37 saflıkta hidroklorik asit (HCl) kullanılmıştır. HCl asidin molar kütlesi 36.46 g/mol'dür. Sülfat için %48 saflıkta MgSO₄ kullanılmıştır. Tuzlu yeraltı suyunu elde etmek için ise piyasada satılan deniz tuzundan kullanılmıştır. Deniz tuzu, kimyasal adıyla sodyum klorür (NaCl), molar kütleleri Na için 22.99 g/mol ve Cl için 35.45 g/mol'dür. 100 g NaCl, 39.34 g Na ve 60.66 g Cl içerir.

4.2. Yöntem

4.2.1 Deney programları

Deneysel çalışmanın ilk bölümünde kumlu zeminin sıklık derecesi, ortam sıcaklığı ve bakteri yoğunluğunun mikrobiyal kalsiyum karbonat çökeltisi (MKKÇ) oluşumuna etkisi araştırılmıştır. İkinci bölümde farklı kimyasal boşluk sıvısına sahip ortamların etkisi araştırılacağı için, bu bölümde bakteriyel çözelti hazırlanırken çeşme suyu kullanılmıştır.

Kumlu zeminler, sıklık derecesi $Dr < 0.35$ ise gevşek, $0.35 < Dr < 0.65$ ise orta sıkı, $Dr > 0.65$ ise sıkı olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle, deneysel çalışmanın ilk bölümünde iyileştirilmemiş zeminin sıklık derecesi %30-50-70 seçilerek gevşek, orta sıkı ve sıkı durumdaki zeminlerde MKKÇ oluşum etkisi incelenmiştir.

Bakteriler, yaşamlarını farklı sıcaklık değerlerinde sürdürebilmektedirler. Optimum sıcaklık değeri 30°C olarak belirtildiği için, deneysel çalışmalarda ortam sıcaklıkları 20-30-45°C olarak seçilmiştir. Ayrıca, MKKÇ ile yapılan zemin iyileştirme çalışmalarında bakteri yoğunluğu için genellikle 10^7 - 10^9 hücre/ml seçilmektedir. Bakteri yoğunluğunun düşük olması iyileştirilmiş zemin performansını azaltırken, bakteri yoğunluğunun fazla olması enjeksiyon maliyetini artırmaktadır (Anbu vd., 2016).

Çalışmanın ilk bölümünde normal (çeşme) suyu ile hazırlanan numuneler için takip edilen deney programı Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Deneysel çalışmanın ikinci bölümünde farklı konsantrasyonlardaki kimyasal boşluk sıvısına sahip kumlu zeminlerde MKKÇ oluşumu ve iyileştirilmiş zemin özellikleri araştırılmıştır. Bu bölümde iyileştirilmemiş kumlu zeminin sıklık derecesi %50, ortam sıcaklığı 20°C ve bakteri yoğunluğu 10^9 hücre/ml olarak sabit tutulmuştur.

Çizelge 4.4. Çeşme suyu (temiz su) ile hazırlanan bakteriyel çözelti ile zemin iyileştirme deney programı

Araştırma Konusu	Deney No	Kumun sıklık derecesi, D_r (%)	Ortam sıcaklığı, T (°C)	Bakteri Yoğunluğu, BY (hücre/ml)
Sıklık etkisi	1	30	30	10^9
	2	50	30	10^9
	3	70	30	10^9
Sıcaklık etkisi	4	50	20	10^9
	5	50	30	10^9
	6	50	45	10^9
Bakteri yoğunluğu etkisi	7	50	30	10^7
	8	50	30	10^8
	9	50	30	10^9

Yeraltı sularının kimyasal içeriği, belirli sayıda temel elementle sınırlıdır ve bu elementlerin oluşturduğu doğal bileşiklerin çeşitliliği sanılandan daha azdır. Yeraltı suları, karmaşık organik maddeler ve mineraller arasından geçerken çeşitli kimyasal reaksiyonlara maruz kalsa da bu suların kimyasal yapısını yalnızca 6 temel element belirler. Bunların başlıcaları, yeraltı sularındaki mineral tuzların önemli bir bölümünü oluşturan sodyum (Na), kalsiyum (Ca) ve magnezyumdur (Mg). Bu elementler, klorür, bikarbonat ve sülfat gibi diğer kimyasal bileşenlerle birlikte bulunur (Güneş, 2018).

Yeraltı suları, tuz konsantrasyonu 1g/lt'den az ise temiz su, 1-10 g/lt arasında hafif tuzlu su, 10-100 g/lt arasında tuzlu ve 100 g/lt'den fazla ise aşırı tuzlu su olarak sınıflanmaktadır (Freeze, 1984). Denizlerde ortalama tuz yoğunluğu 35 g/lt'dir. Bu nedenle, tuz konsantrasyonu 1-100 g/lt aralığında seçilmiştir.

Magnezyum Tabanlı Mineral Çökeltme (MTMÇ) yöntemi, yerel ekosistemlerin korunması ve çölleşmenin önlenmesi açısından birçok fayda sağlar. Bu yöntem, bakterilerin üreyi hidrolize etmek için üreaz enzimi üretmesiyle çalışır ve bu süreçte amonyak ile karbonat oluşur. Karbonat daha sonra amonyak ve bikarbonata ayrışır. pH seviyesindeki artış, magnezyum karbonatların ($MgCO_3$) parçacıklar arasında çökmesini teşvik ederek kum tanelerini sağlam bir şekilde birbirine bağlar. Bu mekanizma, zeminin verimliliğini artırırken ekosistemlerin sürdürülebilirliğine katkıda bulunur (Menglong vd., 2021).

Magnezyum (Mg), ekosistemlerin ve zeminlerin gelişiminde kritik bir role sahip olup, bakteriyel büyüme için hayati bir elementtir. Hücresel düzeyde birçok biyokimyasal süreçte görev alır ve mikroorganizmalar için etkili bir koruma mekanizması sağlar. Kalsiyum (Ca) ile kıyaslandığında, magnezyum daha sabit bir yapıya sahiptir ve biyolojik sistemlerde daha kolay erişilebilir durumdadır. Ayrıca, hücre içindeki Mg

konsantrasyonu, toplam Ca miktarından yaklaşık 10 kat, serbest Ca iyonlarından ise 3000 kat daha yüksektir (Menglong vd., 2021).

Sülfat, doğal sularda bulunan en önemli anyonlardan biridir, SO_4^{2-} konsantrasyonları 7 ila 131 mg/lt arasında değişmekte olup, ortalama 42 mg/lt'dir. Bu değer, (TSE ve EPA, 2005) tarafından tanımlanan maksimum sınır olan 250 mg/lt'nin oldukça altındadır. Genel olarak, akifelerde sülfür oksidasyonunu önleyen indirgeyici koşullar nedeniyle yeraltı sularındaki SO_4^{2-} seviyeleri düşük kalmaktadır (Güneş, 2018).

Kanada göllerindeki sülfat konsantrasyonları genellikle 0.003 ile 0.030 g/lt arasındadır. Ontario'daki son gözlemler, küçük göllerde ortalama 0.0127 ± 0.0113 g/lt ile benzer seviyeler göstermektedir. Örneğin, Thunder Bay yakınlarındaki Büyük Göller 0.0076 g/lt konsantrasyona sahipken, Goderich'teki Huron Gölü 0.019 g/lt konsantrasyona sahiptir. Batı Kanada'nın doğal su kaynaklarında, sülfat seviyeleri 0.001 ila 3.040 g/lt arasında önemli ölçüde değişmektedir, ancak ölçümlerin çoğu 0.580 g/lt 'nin altındadır. Bu sebeple, yapılan araştırmada sülfat konsantrasyonu 0.3-2 g/lt aralığında belirlenmiştir.

Yağmur suyu, çözülmüş CO_2 içeriği nedeniyle hafif asidiktir. Zemine ve zemin altına sızdıkça iyonlarla yüklenir ve sonrasında oluşturduğu yeraltı suyunun fiziksel ve kimyasal özelliklerini kazanır. Bu süreç, suyun pH değerini ve özellikle kalsiyum-karbonat dengesini etkileyerek karbonatlar üzerindeki etkisini belirler; yani çözülmeye veya çökelmeye neden olabilir. Kumlu veya granit olan akiferlerde su genellikle asidik pH değerine sahipken, kireçtaşı içeren ortamlarda daha alkali özellik gösterir. Bu nedenle, pH düzeltilmesi, ya çözülmüş fazla CO_2 'nin uzaklaştırılmasıyla ya da karbonat sertliğinin ayarlanmasıyla sağlanır (Beauchamp, 2016). Zeminin mineral yapısına ve çevresel faktörlere bağlı olarak, yeraltı sularının asitliği (pH değeri) 3.74-6.9 arasında değişmektedir (Kortaksi, 2003).

Deneysel çalışmaların ikinci bölümünde kumlu zeminin sıklık derecesi %50, ortam sıcaklığı $20^\circ C$ ve bakteri yoğunluğu 10^9 hücre/ml olarak sabit tutulmuştur. Asitli, sülfatlı ve tuzlu yeraltı koşullarının oluşturulduğu deney programı ve kimyasal boşluk sıvısının özellikleri Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Asitli yeraltı suyu durumunu incelemek için pH değerleri 4.6-6.6 arasında olan seyreltik HCl çözeltileri hazırlanmıştır. Seyreltik HCl çözeltisi, %37 saflıktaki 12M (mol/L) HCl asit kullanılarak hazırlanmıştır. Örneğin, pH=4.6 olan asitli su hazırlamak için;

$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+] \quad (4.1)$$

formülü ile, H^+ iyonlarının $2.5 \times 10^{-5} \text{M}$ olması gerekmektedir. Bu, elde etmek istediğimiz yeni çözeltinin hidrojen iyon derişimidir. HCl, suda tamamen iyonlaştığı için:

$$[\text{HCl}]_{\text{seyreltik}} = [\text{H}^+] = 2.5 \times 10^{-5} \text{ M} \quad (4.2)$$

olmalıdır. Bu molaritede 1000ml çözelti hazırlamak için;

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \quad (4.3)$$

burada M_1 , M_2 : sırasıyla başlangıç ve son durumdaki çözeltilerin molaritesi, V_1 , V_2 : sırasıyla başlangıç ve son durumdaki çözeltilerin hacimleri

$$12 \times V_1 = 2.5 \times 10^{-5} \times 1000 \quad (4.4)$$

$V_1 = 2.1 \times 10^{-3} \text{ml}$ %37 saflıkta HCL 1000ml suda seyreltilmelidir. Bunu ölçmek zor olacağından HCL önce 0.01M olarak seyreltilmiş, daha sonra tekrar seyreltme işlemi yapılmıştır.

Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki kimyasal boşluk sıvılarına ait deney programı

Araştırma Konusu	Birim/Ölçüt	Kimyasal su özelliği				
		1	2	3	4	5
Asitli su etkisi	M	2.5×10^{-5}	7.9×10^{-6}	2.5×10^{-6}	7.9×10^{-7}	2.5×10^{-7}
	pH	4.6	5.1	5.6	6.1	6.6
Sülfatlı su etkisi	g/lt	0.3	0.6	1.0	1.5	2.0
Tuzlu su etkisi	g/lt	1	5	10	35	100

4.2.2 Numunelerin hazırlanması

Numune hazırlama işlemleri iyileştirilmemiş zeminin kalıba uygun sıklıkta yerleştirilmesi, bakteriyel çözeltinin zemine enjekte edilmesi, bakterilerin beslenmesi, kür edilmesi adımlarını içermektedir.

İyileştirilmemiş zemin numuneleri 50mm çapında ve 100 mm boyundaki PVC kalıplar içerisine yerleştirilmiştir. Kumlu zeminler kalıp içerisine, deney programına göre, sıklık derecesi %30-50-70 olacak şekilde yerleştirilmiştir. Kumlu zeminin

hedeflenen sıklık derecesine göre kalıba yerleştirilmesi için hedeflenen boşluk oranı aşağıdaki formül ile belirlenmiştir.

$$D_r = \frac{e_{max} - e}{e_{max} - e_{min}} \quad (4.5)$$

Burada, e_{max} ve e_{min} zeminin maksimum ve minimum boşluk oranları, e ise boşluk oranıdır.

Kumlu zeminin kalıba istenilen boşluk oranında yerleştirilmesi için zemin üç tabaka halinde kalıba yerleştirilmiştir. Zeminin sıklık durumuna göre kütlesi, boşluk oranı ve boşluk hacmi Çizelge 4.6'da verilmiştir. Gevşek, orta sıkı ve sıkı durumlar için her tabakaya tokmakla sırasıyla 2, 5 ve 15 vuruş yapılmıştır. Tokmak, 50mm çapında ve 300gr ağırlığındadır (Şekil 4.4). Sıkıştırma sırasında tokmağa uygulanan enerji birçok deneme yapılarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. Sıklık derecesine göre kumlu zeminin özellikleri

Sıklık derecesi, D_r (%)	e_{max}	e_{min}	e	Doğal birim ağırlık, γ_n (kN/m ³)	Toplam hacim, V_T (cm ³)	Zemin kütlesi, M_T (g)	Boşluk hacmi, V_b (cm ³)
30	0.828	0.339	0.681	15.88	156.1	252.7	63.2
50	0.828	0.339	0.584	16.86	156.1	268.3	57.5
70	0.828	0.339	0.486	17.97	156.1	285.9	51.0

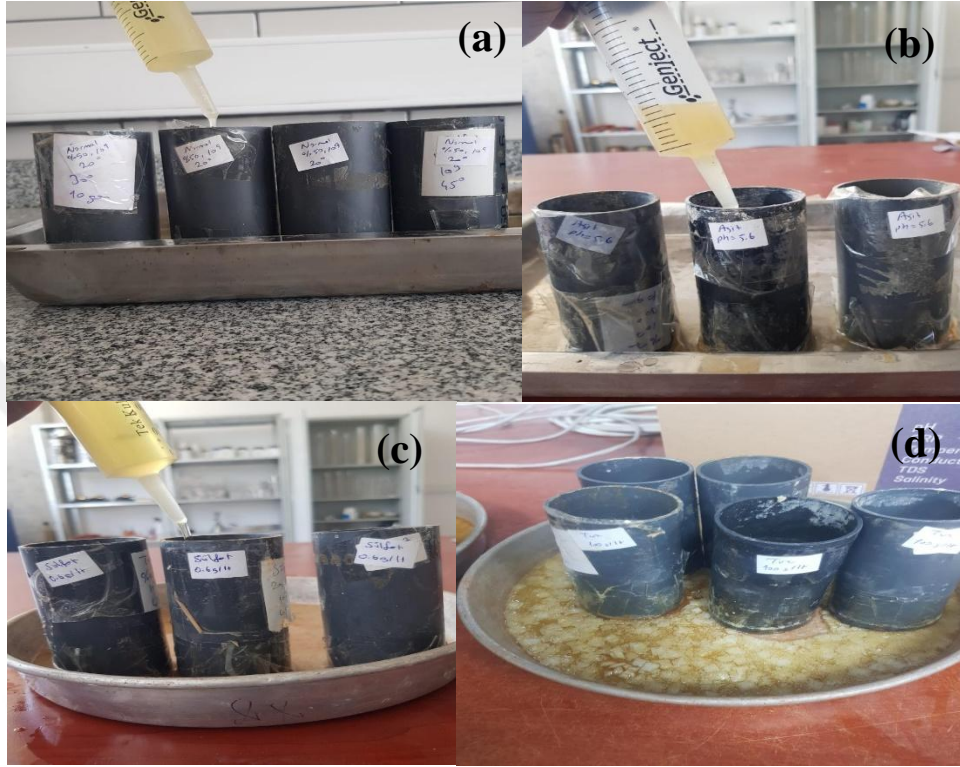
Not: PVC kalıp içerisindeki iyileştirilmemiş zemin boyutlarının çapı 47mm ve yüksekliği 90mm'dir.



Şekil 4.4. Zeminin kalıba uygun sıklık derecesinde yerleştirilme aşaması

MKKÇ ile zemin iyileştirme kapsamında bakterileri çimento esaslı malzemelere entegre etmek için çeşitli yaklaşımlar incelenmiştir. Bunlar arasında karıştırma, enjeksiyon, püskürtme ve daldırma gibi teknikler ile daha yeni yöntemlerden biri olan 3D

baskı yer almaktadır. Ancak araştırmalar ağırlıklı olarak üç yönteme odaklanmaktadır: enjeksiyon, süzülme veya yüzeysel karıştırma (Khoshtinat, 2023). İyileştirilmemiş zemin kalıba uygun sıklıkta yerleştirildikten sonra bakteriyel çözelti hazırlanarak zemine enjekte edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Kumlu zemine bakteriyel enjeksiyonun yapılması ($D_r=50\%$, $T=20^\circ\text{C}$, $BY=10^9$ hücre/ml):
a) normal su, b) asitli su ($\text{pH}=5.6$), c) sülfatlı su (0.6g/l), d) tuzlu su (100g/l)

Bakteriyel çözelti, bakteri kültürü ve besiyer çözeltisinden oluşmaktadır. Bakteri kültürü, deney programına göre 10^7 - 10^8 - 10^9 hücre/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Bakteri kültürü mikrobiyoloji laboratuvarı ortamında hazırlandığı için saf su ile çoğaltılmıştır. Besi çözeltisi hazırlanırken, yeast extract, kalsiyum klorür dihidrat ve üre "su" ile karıştırılmıştır. Besi çözeltisindeki su, deney programına göre çeşme suyu, asitli, sülfatlı veya tuzlu su olarak seçilmiştir. Daha sonra, deney programı takip edilerek, zemin sıklığına bağılı olarak zemindeki boşluk hacminin yarısı bakteri kültürü, diğeryarısı besiyer çözeltisi olacak şekilde bakteri+besiyer çözeltisi hazırlanmıştır. Kalıplara yerleştirilen iyileştirilmemiş zemin üzerine, zemin boşluk hacmi kadar bakteri+besiyer çözeltisi şırınga yardımıyla enjekte edilmiştir.

4.2.3 Deneyler

Bakteri enjeksiyonuyla iyileştirilen kumlu zeminlerin fiziksel, mekanik ve mineralojik özelliklerini belirlemek amacıyla birtakım deneyler yürütülmüştür. Fiziksel özellikler belirlenirken iyileştirilmiş zeminin yoğunluk ve pH ölçümleri yapılmıştır. Mekanik özellikleri belirlemek amacıyla serbest basınç deneyleri yapılmış ve dayanım (q_u) ile sekant modülü (E_{50}) belirlenmiştir. Mineralojik özelliklerin belirlenmesi için ise SEM, EDS ve FTIR analizleri yapılmıştır.

Serbest basınç deneyleri (UCS) için, deney programlarındaki her bir tasarımda en az 3 adet numune hazırlanmıştır. Hazırlanan numuneler, ortam sıcaklığına uygun olacak şekilde küre bırakılmıştır. Bakterilerin yaşamlarını sürdürebilmeleri ve MKKÇ oluşumunun artırılması amacıyla, numunelere 5 gün boyunca ve gün aşırı olmak üzere besi çözeltilisi enjekte edilmiştir. 5 gün sonunda, bakterilerin tamamen ölmesine kadar ve MKKÇ oluşumunun maksimum seviyeye gelmesi için 7 gün boyunca hiçbir işlem yapmadan ortam sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Kür süreleri tamamlandıktan sonra bakteriyel yöntemle iyileştirilen kumlu zeminlerin serbest basınç deneyleri yapılmıştır (Şekil 4.6). Numunelerin UCS testleri ASTM D216 (2016)'ya göre gerçekleştirildi. UCS cihazı mekanik olarak kontrol edilmekte ve 50 kN yükleme kapasitesine sahiptir. Deneyler sırasında gerilme ve birim deformasyon değerleri ölçülmüştür. UCS cihazı, basınç gerilimini üç anlamlı basamağa kadar ölçebilmektedir. Deformasyon göstergesi, elektronik bir deformasyon ölçüm cihazıdır (LVDT-boyuna dikey yer değiştirme dönüştürücüsü) ve deformasyonları üç anlamlı basamağa kadar ölçebilmektedir. Numune UCS cihazının üst ve alt plakalarının ortasına yerleştirilmiştir. Daha sonra, yükleme cihazı, üst plakanın numuneyle tam temas etmesi için dikkatlice ayarlandı ve deformasyon göstergesinin ve yük hücresinin ilk okumaları sıfırlandı. Test numuneleri, yanal basınca maruz bırakılmadan sabit 1.2 mm/dk hızla yüklendi. Yükleme hızı, %1.6/dk eksenel gerinim hızına karşılık gelmekte ve ASTM standardına (0.5 - %2/dk gerinim hızı) uygundur. Daha hassas bir gerilme-gerinim (birim deformasyon) grafiği elde etmek için gerilim ve gerinim ölçümleri %0.15 - %0.25 gerinim aralıklarında kayıt edilmiştir. Numunenin UCS değeri, maksimum eksenel gerilim veya %15 eksenel gerinimdeki gerilimden hangisine önce ulaşırsa o seçilmiştir.



Şekil 4.6. Serbest basınç deneyinin yapılması

Biyolojik zemin iyileştirmenin etkinliğini ve zeminin mekanik özelliklerindeki iyileşmenin sebeplerini araştırmak için hem saf malzemelerin hem de bakteri enjeksiyonu+zemin karışımlarının pH değerleri pH-metre ile ölçülmüştür (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. pH metre ile pH değerlerinin ölçümü

Bakteri enjeksiyonu enjekte zeminin mekanik özelliklerindeki iyileşme, kum tanecikleri arasında oluşan kalsiyum karbonat (CaCO_3) çökeltisi sonucunda olmaktadır. Mekanik iyileşme ve araştırma parametreleri arasındaki ilişkiyi daha detaylı

inceleyebilmek için, iyileştirilmiş zemin numuneleri “asitle yıkama yöntemine” tabi tutulmuştur (Şekil 4.8). Bu yöntemde, iyileştirilmiş zemin numunesinden yaklaşık 20-30gr numune alınarak seyreltilmiş asit çözeltisinde bekletilmiştir. Numune, asitle temas ettiği ilk anda asit ve kalsiyum karbonat reaksiyona girerek köpürmekte ve bu sırada CaCO_3 ayrışarak CO_2 gazı açığa çıkmaktadır. 5-10 dk bekleme süresi sonunda, asitli suda bekletilen zemin numunesi 200 numaralı elekten yıkanmış ve elek üstünde kalan kuru numune kütlesi tartılmıştır. Numunenin ilk kütlesi ve son kütlesi arasındaki fark, kum taneleri arasındaki CaCO_3 miktarını vermektedir.



Şekil 4.8. İyileştirilmiş zeminlerin asitle yıkanması işlemi

İyileştirilmiş zeminlerin mineralojik özelliklerini belirlemek amacıyla, belirli numuneler üzerinde Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi (FTIR) analizleri yapılmıştır. SEM görüntüleri, ZEISS EVO LS10 Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM) ile farklı büyütme oranlarında çekilmiştir. FTIR analizlerinde, iyileştirilmiş zeminin içyapısında oluşan minerallerin kristal yapısı belirlenmiştir.

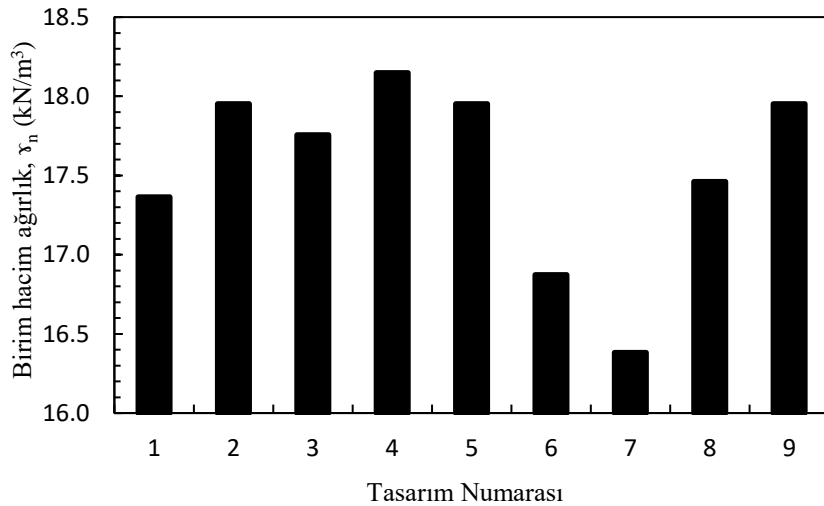
5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Tez çalışmasında iki grup deney seti üzerinde çalışmalar yürütülmüştür. Birinci grupta, zeminin sıkılık derecesi (D_r), ortam sıcaklığı (T) ve bakteri yoğunluğu (BY) gibi parametrelerin bakteriyel enjeksiyonla iyileşme sürecine etkileri araştırılmıştır. Bu deney grubunda bakteri enjeksiyonu normal su (çeşme suyu) ile hazırlanmıştır. İkinci deney grubunda ise optimum parametreler (D_r , T, BY) kullanılarak, asitli, tuzlu ve sülfatlı su ortamlarında bakteri enjeksiyonu yapılmıştır. Her deney grubunda, iyileşmiş zemin numunelerinin fiziksel, mekanik ve mineralojik özellikleri belirlenmiştir.

5.1. Fiziksel Özellikler

5.1.1. Birim hacim ağırlık

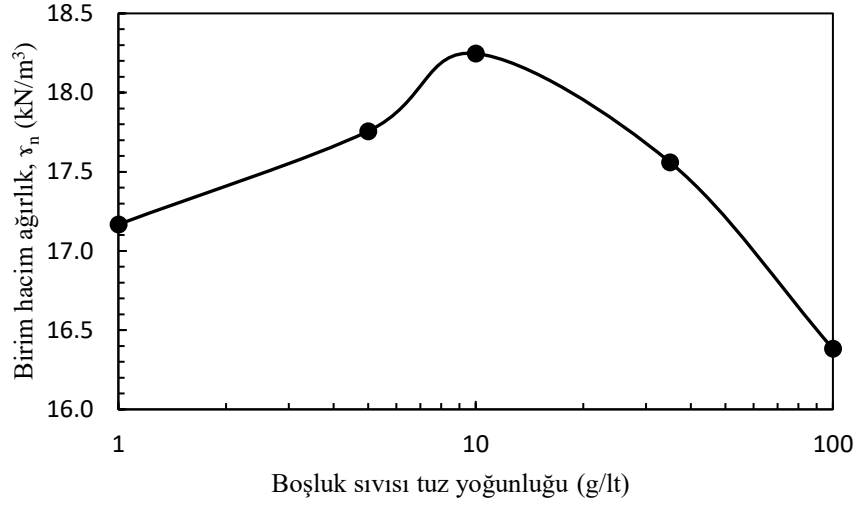
Normal yeraltı suyu ortamında bakteri enjeksiyonu ile iyileştirilen zemin numunelerinin birim hacim ağırlıkları numunelerin içeriğine göre değişiklik göstermektedir (Şekil 5.1). Birim hacim ağırlık değerleri $16.4-18.1 \text{ kN/m}^3$ arasında değişmektedir. En düşük yoğunluk 10^7 hücre/ml bakteri yoğunluğuna sahip enjeksiyonla yapılan iyileştirmede elde edilmiştir. En yüksek yoğunluk ise 20°C sıcaklıkta, $D_r=\%50$ sıkılıkta ve 10^9 hücre/ml bakteri yoğunluğunda elde edilmiştir.



Şekil 5.1. Normal yeraltı suyu ortamındaki bakteriyel stabilizasyon

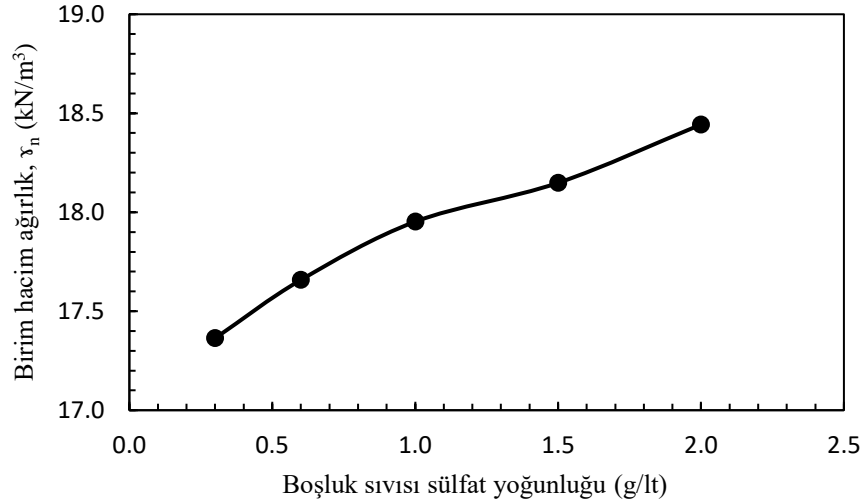
Tuzlu yeraltı suyu ortamında bakteri enjeksiyonu ile iyileştirilen zemin numunelerinin birim hacim ağırlıkları, tuz yoğunluğu 10g/l değerine kadar artmakta,

daha sonra azalmaktadır (Şekil 5.2). Birim hacim ağırlık değerleri 17.2-18.2 kN/m³ arasında değişmektedir.



Şekil 5.2. Tuzlu yeraltı suyu ortamındaki bakteriyel stabilizasyon

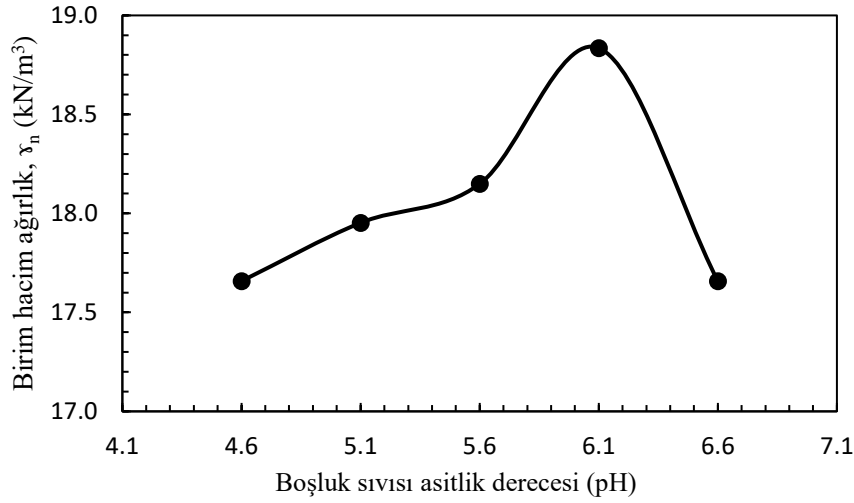
Sülfatlı yeraltı suyu ortamında bakteri enjeksiyonu ile iyileştirilen zemin numunelerinin birim hacim ağırlıkları, sülfat yoğunluğu ile birlikte artmaktadır (Şekil 5.3). Birim hacim ağırlık değerleri 17.3-18.4 kN/m³ arasında değişmektedir.



Şekil 5.3. Sülfatlı yeraltı suyu ortamındaki bakteriyel stabilizasyon

Asitli yeraltı suyu ortamında bakteri enjeksiyonu ile iyileştirilen zemin numunelerinin birim hacim ağırlıkları, ortamın pH değeri 6.1'e kadar artmakta, daha

yüksek pH değerinde azalmaktadır (Şekil 5.4). Birim hacim ağırlık değerleri 17.7-18.8 kN/m^3 arasında değişmektedir.



Şekil 5.4. Asitli yeraltı suyu ortamındaki bakteriyel stabilizasyon

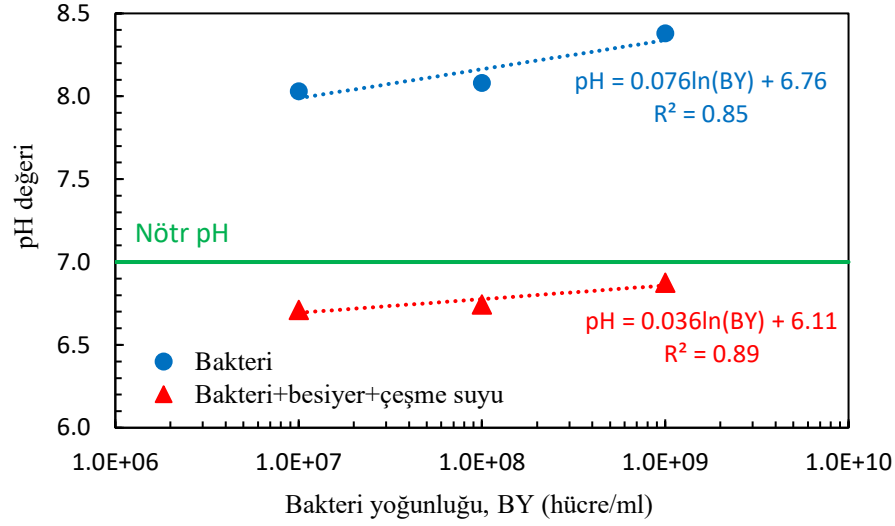
5.1.2. pH değerleri

Bakteriyel enjeksiyon ile zemin iyileştirme çalışmalarında ortamın pH değeri bakterilerin hücresel faaliyetlerini gerçekleştirmede önemli bir role sahiptir. Bu nedenle zemin iyileştirme süreçlerinin her birinde ortamın pH değerleri ölçülmüştür. Deneysel çalışmalarda kullanılan malzemelerin pH değerleri Çizelge 5.1’de sunulmuştur. Bakteri hücrelerinin pH değerleri, bakteri yoğunluğuna bağlı olarak artmakla birlikte 8.03-8.38 arasında değişmektedir. Besi maddelerinden üre (pH=9.39) ve kalsiyum klorür dihidrat (pH=8.77) bazik olup, yeast extract (pH=6.87) asidiktir. Besi maddelerinin hepsi karıştırıldığında ortamın pH değeri 6.29 olmaktadır.

Çizelge 5.1. Kullanılan malzemelerin pH değerleri

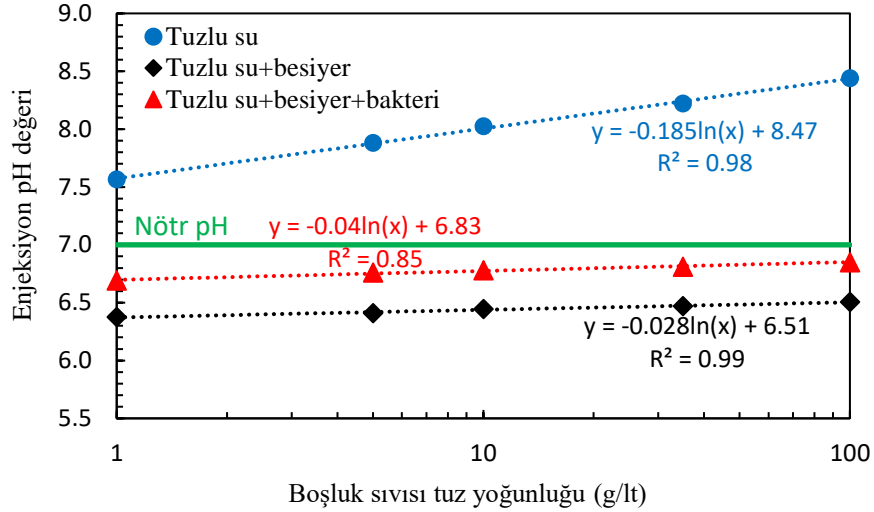
Ortam	Özellik	pH değeri
Normal su	Çeşme suyu	7.05
Bakteri	10^7 hücre/ml	8.03
	10^8 hücre/ml	8.08
	10^9 hücre/ml	8.38
Besi maddeleri	Üre	9.39
	Yeast extract	6.87
	Kalsiyum klorür dihidrat	8.77
Besiyer	Üre+Yeast extract+Kalsiyum klorür dihidrat	6.29

Bakteri kültürlerinin pH değerleri 8.03-8.38 (bazik) olmasına karşın, bakteri ve besiyer çeşme suyu ile karıştırıldığında ortamın pH değeri azalarak asidik konuma gelmektedir (Şekil 5.5). Artan bakteri yoğunluğu pH değerini yükseltmesine rağmen, ortamda 10^9 hücre/ml bakteri olsa bile ortam asidiktir. pH değerleri 6.71-6.88 arasında değişmektedir.



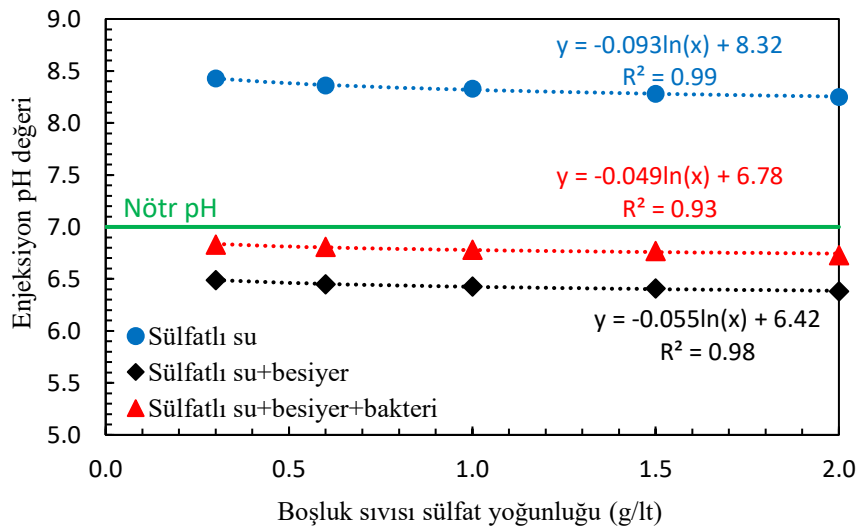
Şekil 5.5. Normal yeraltı suyu ortamında bakteri yoğunluğuna göre pH değerlerinin değişimi

Tuzlu yeraltı suyunun olduğu durumlarda, pH değeri tuz yoğunluğuna bağlı olarak 7.57'den 8.44'e kadar artmaktadır (Şekil 5.6). Deniz sularının pH değerlerinin 7.5-8.4 arasında olduğu bilinmektedir. Elde edilen pH değerleri bu aralıktadır. Tuzlu yeraltı suyu, besiyerle (pH=6.38-6.51) veya besiyer+bakteri kültürü (pH=6.69-6.85) ile karıştığı zaman ortamın pH değeri 7'den düşük olmaktadır.



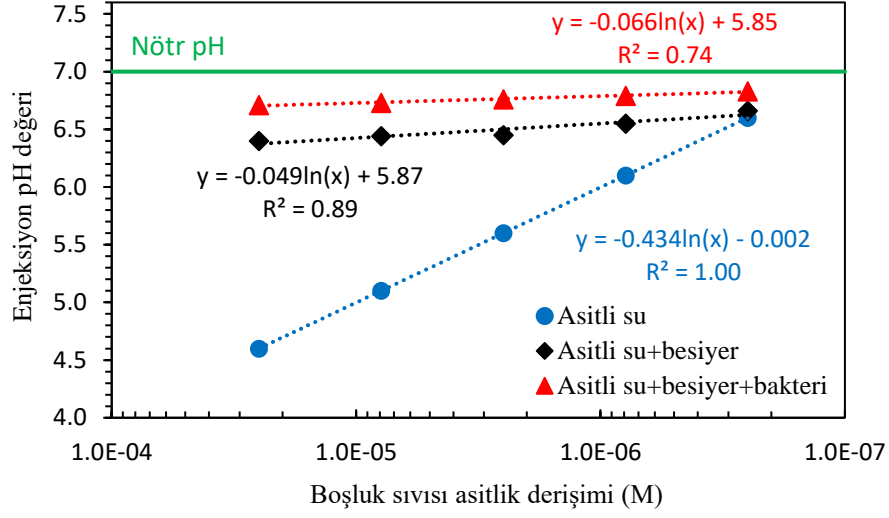
Şekil 5.6. Tuz yoğunluğuna göre pH değerlerinin değişimi (BY=10⁹ hücre/ml)

Sülfatlı yeraltı suyunun olduğu durumlarda, pH değeri sülfat yoğunluğu arttıkça 8.43'den 8.25'e kadar azalmaktadır (Şekil 5.7). Sülfatlı yeraltı suyu, besiyerle (pH=6.38-6.49) veya besiyer+bakteri kültürü (pH=6.73-6.83) ile karıştığı zaman ortamın pH değeri 7'den düşük olmaktadır.



Şekil 5.7. Sülfat yoğunluğuna göre pH değerlerinin değişimi (BY=10⁹ hücre/ml)

Asitli yeraltı suyunun olduğu durumlarda, pH değeri asit yoğunluğu arttıkça 4.6'dan 6.6'ya kadar artmaktadır (Şekil 5.8). Asitli yeraltı suyu, besiyerle (pH=6.40-6.66) veya besiyer+bakteri kültürü (pH=6.71-6.83) ile karıştığı zaman ortamın pH değeri yükselmekte ve nötr pH değeri olan 7'ye yaklaşmaktadır.



Şekil 5.8. Asit yoğunluğuna göre pH değerlerinin değişimi (BY=109 hücre/ml)

Tuzlu, sülfatlı veya asitli yeraltı suyunun bulunduğu kumlu zeminlere bakteri+besiyer çözeltisi enjekte edildiğinde, ortamın pH değerleri genellikle 6.7-6.9 aralığında değişmektedir. Bu durumda ortam asidik olmakla birlikte nötr pH değerine yakındır. Bakterilerin hücresel faaliyetleri ile bu pH değerinin bir miktar daha yükselmesi ve ortamın bazik olması beklenmektedir. Bakterilerin hücresel faaliyetlerinin devam etmesi için optimum pH değerinin 7-8 arasında olduğu düşünülürse, biyolojik reaksiyonların farklı kimyasal boşluk sıvısına sahip kumlu zeminlerde başarılı olma ihtimali yüksektir. Bunun teyit edilmesi amacıyla, bakteri enjeksiyonu ile iyileştirilen kumlu zeminlerin mekanik özellikleri belirlenmiştir.

5.2. Mekanik Özellikler

5.2.1. Serbest basınç dayanımı

5.2.1.1. Temiz yeraltı suyu ortamında iyileştirme

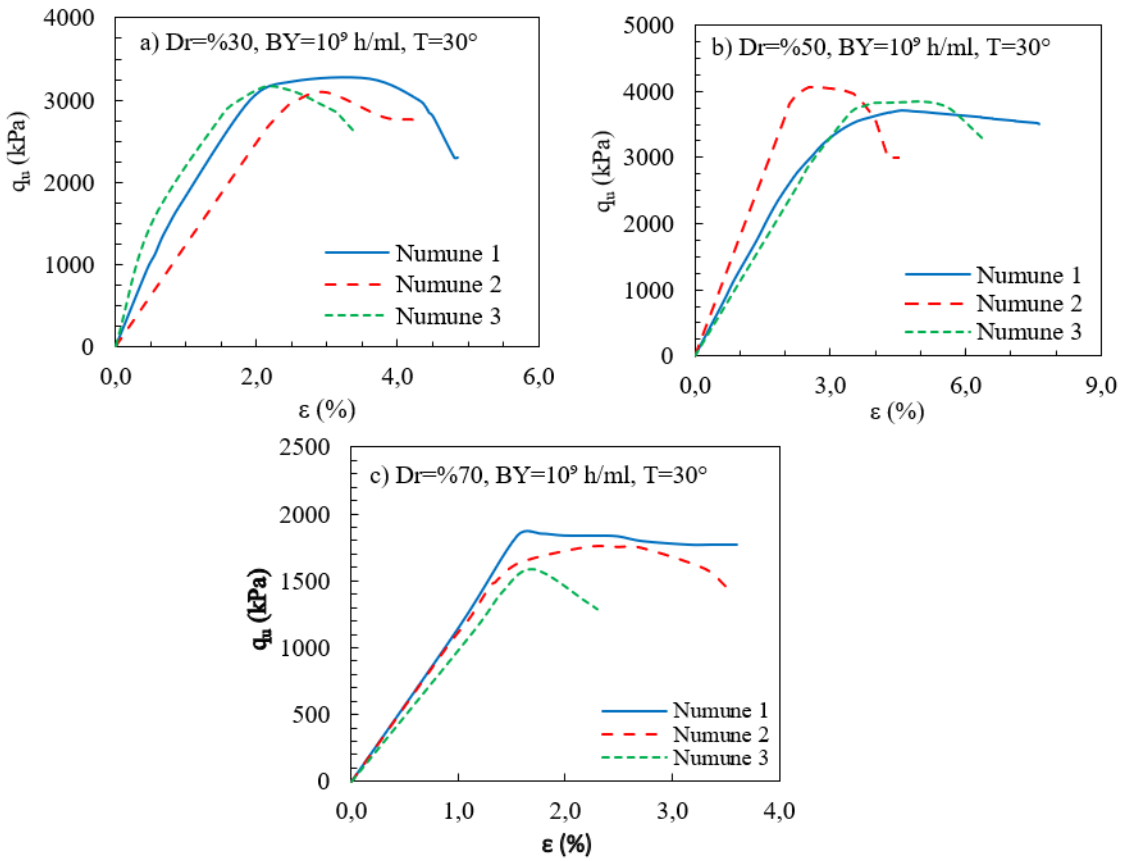
Çalışmanın bu bölümünde üç temel faktör incelenmiştir: Sıkılık derecesi, sıcaklık ve bakteri yoğunluğunun iyileştirilmiş zemin dayanımına etkisi. Bu faktörler, Çizelge 4.4. ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur. Verilerin daha net anlaşılabilmesi ve doğru bir şekilde analiz edilebilmesi için grafikler, çalışmanın hedefleri doğrultusunda düzenlenmiştir. Bu kapsamda, her bir değişken için farklı numunelerin tek eksenli serbest basınç dayanımı (UCS) ve birim deformasyon (ϵ) özellikleri karşılaştırılarak detaylı bir değerlendirme

yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, incelenen parametrelerin numuneler üzerindeki etkisini açık bir şekilde ortaya koymaktadır.

Sıklık Derecesinin Etkisi

Sıklık derecesi , zemin yoğunluğunu ve besin maddelerinin dolaşımını doğrudan etkileyerek kalsit çökmesini ve MKKÇ ile işlenen malzemenin mekanik mukavemetini etkilemektedir.

Araştırmanın bu bölümünde bakteri yoğunluğu 10^9 hücre/ml ve ortam sıcaklığı 30°C olarak sabit tutulmuştur. İyileştirilmemiş zeminin sıklık deresi %30, %50 ve %70 olarak değişken seçilmiştir. Kür süresi sonunda elde edilen serbest basınç deney sonuçları Şekil 5.9 ve Çizelge 5.2’de sunulmuştur.



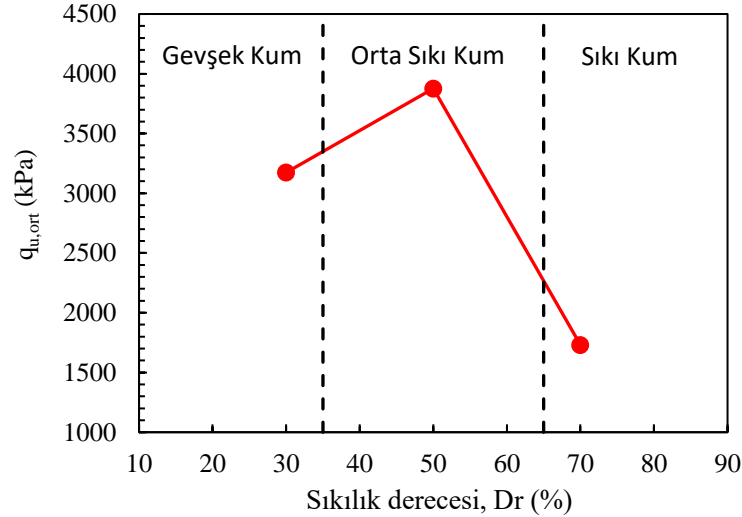
Şekil 5.9. Sıklık derecesinin UCS deney sonuçlarına etkisi

Çizelge 5.2. Sıkılık derecesine göre ortalama UCS deney sonuçları

Deney No	Numune 1		Numune 2		Numune 3		Ortalama	
	UCS (kPa)	ε (%)	UCS (kPa)	ε (%)	UCS (kPa)	ε (%)	UCS (kPa)	ε (%)
1	3261.5	3.60	3099.7	3.00	3158.8	2.10	3173.3	2.90
2	3707.6	4.60	4067.4	1.74	3855.0	5.00	3876.7	3.78
3	1850.0	1.79	1751.3	1.99	1589.9	1.70	1730.4	1.82

Deneyler sonucunda, zeminin sıkılık derecesinin bir fonksiyonu olarak basınç dayanımında (UCS) önemli farklılıklar olduğu görülmektedir. Sonuçlar, maksimum dayanımın %50 sıkılık oranında elde edildiğini gösterirken, daha düşük ($Dr=30$) veya daha yüksek ($Dr=70$) sıkılık oranlarının bu direnci azalttığını ortaya koymaktadır (Şekil 5.10).

Orta düzeyde bir sıkıştırma oranı ($Dr=50$), zemin yoğunluğu ve porozitesi arasında ideal denge noktası olarak görünmektedir. Bu durum, MKKÇ sürecinin merkezi bir unsuru olan kalsit ($CaCO_3$) oluşumu için gerekli olan bakterilerin ve besin çözeltilerinin dolaşımını kolaylaştırmaktadır. Buna karşılık, aşırı sıkıştırma ($Dr=70$), poroziteyi azaltmakta, bakterilerin hareketini engellemekte ve kalsitin homojen dağılımını önlemektedir, bu da zeminin mukavemetinin azalmasına neden olmaktadır (V. Whiffin vd., 2007).



Şekil 5.10. Sıkılık derecesinin tek eksenli basınç dayanımı üzerindeki etkisi.

Boşluk alanının azalması, üreaz aktivitesi oranını olumsuz etkilemektedir. Kristaller gözenekleri doldurduğunda, bu durum geçirimsizliği azaltır ve sıvı akışını sınırlayarak gözenekli yapı içinde durgun bölgeler veya tercih edilen akış yolları

oluşturabilir. Ayrıca, sabit bir akış hızı sağlandığında, bu geçirimsizlik azalması sıvının ortalama akış hızını artırır ve bakterilerin zemin hacmi içindeki kalış süresini kısaltır, böylece üreolitik aktiviteyi zemin birim hacmi başına azaltır (Van Paassen vd., 2010)

Orta düzeyde bir sıkıştırma oranı optimum gözenekliliğin elde edilmesini sağlayarak bakteri ve besin maddelerinin dolaşımını teşvik etmektedir (DeJong, ve al., 2013). Tersine, aşırı sıkıştırma gözenekliliği azaltarak bu temel süreçleri sınırlandırmaktadır.

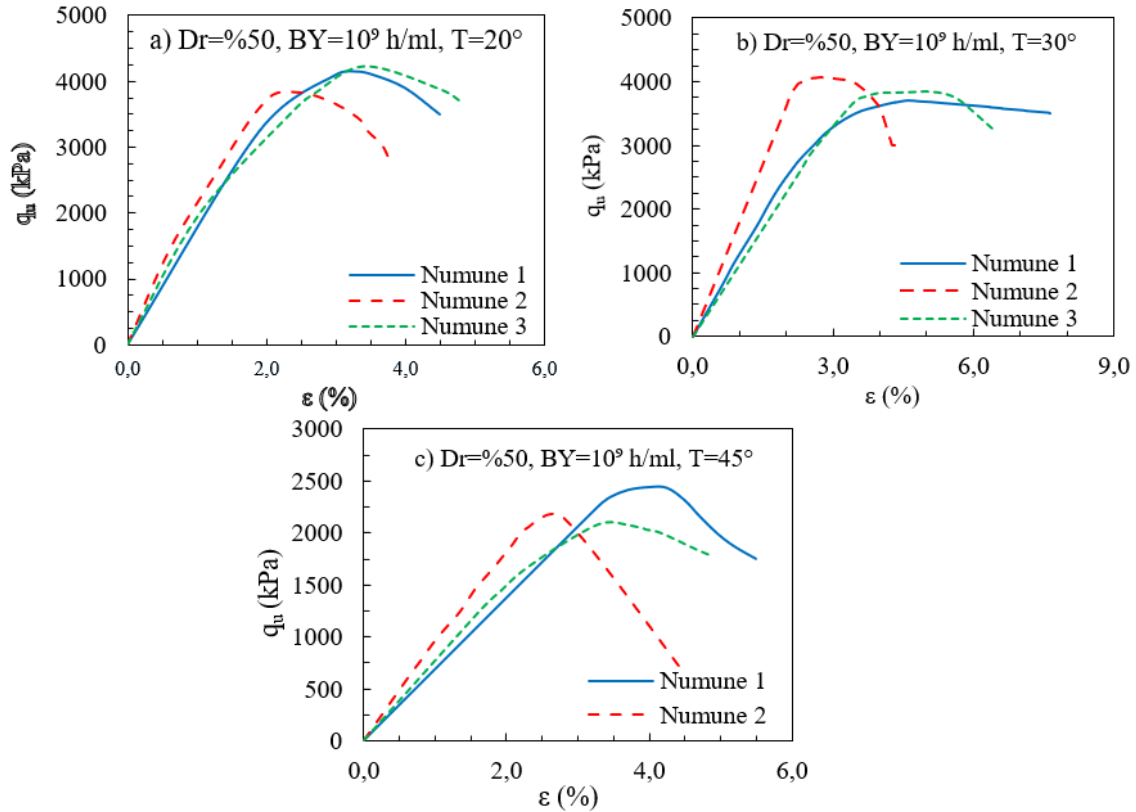
Qabany ve Soga (2013), MKKÇ ile iyileştirme işleminden sonra çeşitli sıkıştırma seviyelerinin zemin gözenekliliği ve mekanik özellikleri üzerindeki etkisini incelemektedir. Orta düzeyde sıkıştırmanın yeterli gözenekliliği destekleyerek kalsitin homojen dağılımına izin verdiğini, aşırı sıkıştırmanın ise gözenekliliği azalttığını ve dolayısıyla işlemin etkinliğini engellediğini belirtmektedirler.

Zeminin kayma direnci, kumun bağıl yoğunluğuna (D_r) bağlı olarak değişir. Gao vd (2019a)'nın çalışmalarında, orta sıklıktaki kum ($D_r = \%50$) 1 sefer biyoçimentolanma işlemi ile 149.5 kPa direnç elde etmiş ve bu değer, sıkı ancak iyileşmemiş kuma ($D_r = \%90$, 137.3 kPa) kıyasla daha yüksek olmuştur. Öte yandan, gevşek kum ($D_r = \%30$) benzer bir direnç seviyesine ulaşmak için 2 sefer enjeksiyonlama işlemine ihtiyaç duymuştur.

Ortam Sıcaklığın Etkisi

Sporosarcina pasteurii gibi bakteriler tarafından kalsit oluşumu sıcaklıkla yakından bağlantılıdır. Orta dereceli sıcaklıklar üreaz enziminin aktivitesini optimize ederken, aşırı yüksek sıcaklıklar mikrobiyal aktiviteyi bozarak çökelme sürecinin verimliliğini azaltabilmektedir (Stocks-Fischer vd., 1999).

Sıcaklık, MKKÇ sürecinin verimliliğinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu bölümdeki deneylerde, sıklık derecesi $\%50$ ve bakteri yoğunluğu 10^9 hücre/ml olarak sabit tutulmuş ve üç sıcaklık seviyesi değerlendirilmiştir: 20°C , 30°C ve 45°C .

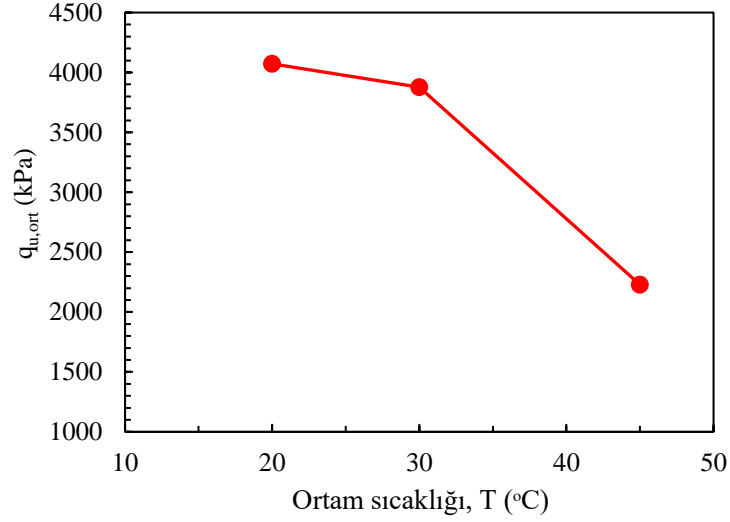


Şekil 5.11. Ortam sıcaklığının UCS deney sonuçlarına etkisi

Çizelge 5.3. Ortam sıcaklığına göre ortalama UCS sonuçları

Deney No	Numune 1		Numune 2		Numune 3		Ortalama	
	UCS (kPa)	ε (%)	UCS (kPa)	ε (%)	UCS (kPa)	ε (%)	UCS (kPa)	ε (%)
4	4150.0	3.29	3838.9	2.36	4225.7	3.41	4071.5	3.02
5	3707.6	4.60	4067.4	1.74	3855.0	5.00	3876.7	3.78
6	2442.4	4.00	2139.9	2.80	2101.9	3.44	2228.0	3.32

UCS deney sonuçları, basınç direncinin 20°C 'de maksimum seviyede olduğunu, 30°C 'de biraz daha düşük olduğunu ve 45°C 'de önemli ölçüde azaldığını göstermektedir (Şekil 5.12). Bu değişim, ürenin ayrışmasını katalize ederek karbonat üretimini sağlayan üreaz enziminin davranışıyla açıklanmaktadır. Birçok enzimatik reaksiyonda olduğu gibi, ürenin üreaz tarafından hidrolizi sıcaklıktan büyük ölçüde etkilenir. Çoğu üreazın aktivitesi için optimum sıcaklık genellikle 20 ila 37°C arasındadır (A. C. Mitchell ve Ferris, 2005; Okwadha ve Li, 2010). Bu optimum aralık, çevresel koşullara ve sistemde bulunan reaktiflerin konsantrasyonuna bağlı olarak değişebilir.



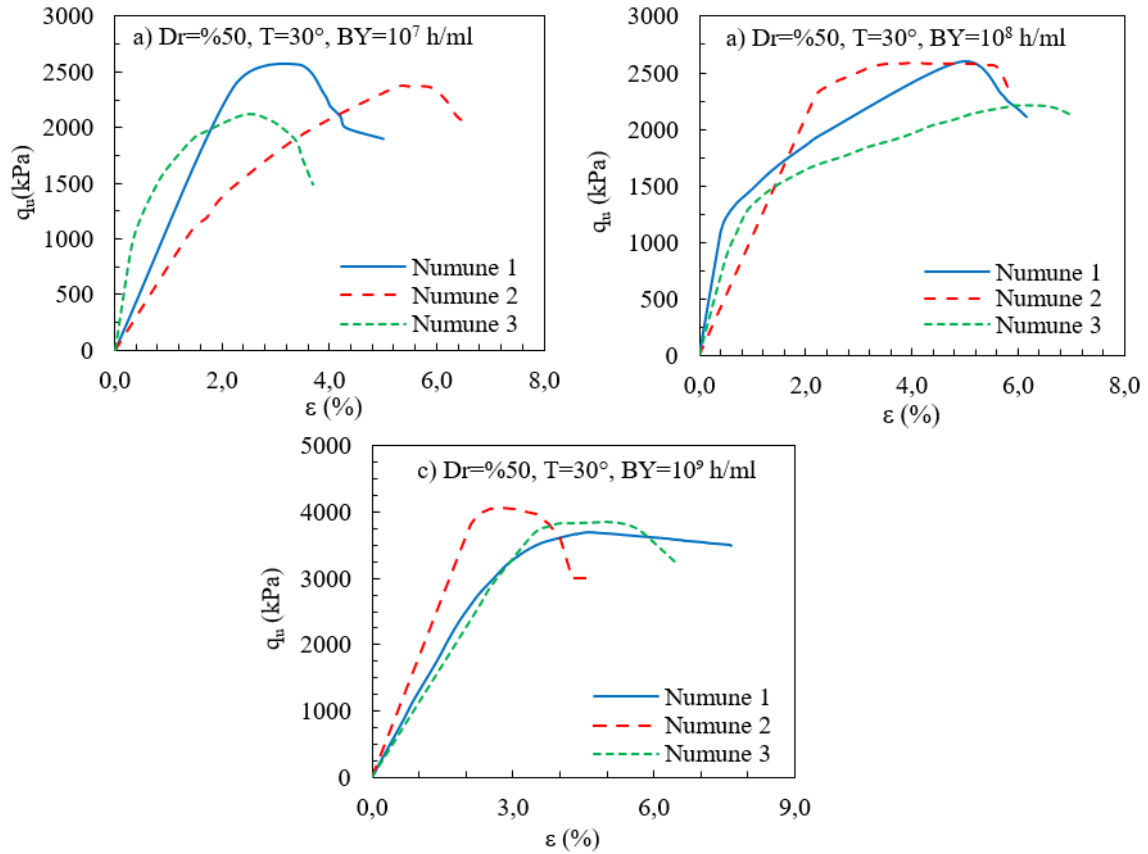
Şekil 5.12. Ortam sıcaklığının tek eksenli basınç dayanımına etkisi.

Mitchell ve Ferris (2005), sıcaklığın 15'ten 20 °C'ye çıkmasıyla üreaz aktivitesinin yaklaşık 5 kat, 10'dan 20 °C'ye yükselmesiyle ise 10 kat arttığını belirtmiştir. Dhama vd. (2013a) ise üreazın 35 °C'de tamamen stabil kaldığını, ancak sıcaklığın 55 °C'ye yükselmesiyle enzim aktivitesinin yaklaşık %47 oranında azaldığını raporlamıştır.

Bakteri Yoğunluğu Etkisi

Üre hidroliz hızı, üreaz aktivitesi ve oluşan CaCO₃ miktarı, mikrobiyal kalsiyum karbonat çökeltme (MKKÇ) işleminde optimum koşulları tanımlamak için kullanılmıştır. Araştırmalar, çökelen CaCO₃ ve tutulan CO₂ miktarının esas olarak bakteri hücresi konsantrasyonu, başlangıç üre konsantrasyonu ve Ca²⁺ iyonu içeriğinden etkilendiğini göstermektedir. Bakteri konsantrasyonundaki ve Ca²⁺ konsantrasyonundaki bir artış, CaCO₃ çökmesini ve CO₂ sekestrasyonunu önemli ölçüde iyileştirir. Belirlenen optimum koşullar arasında yüksek Ca²⁺ konsantrasyonu, orta düzeyde üre konsantrasyonu ve yüksek bakteri konsantrasyonu bulunmaktadır (Okwadha ve Li, 2010).

Bu bölümdeki deneylerde, sıklık derecesi %50 ve ortam sıcaklığı 30°C olarak sabit tutulmuş ve bakteri yoğunluğu 10⁷-10⁸-10⁹ hücre/ml olarak değişken seçilmiştir. Serbest basınç deney sonuçları Şekil 5.13 ve Çizelge 5.4'de sunulmuştur.

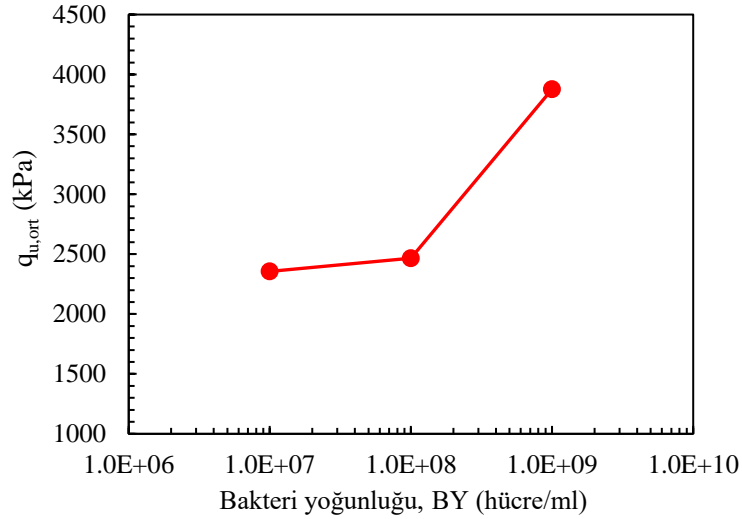


Şekil 5.13. Bakteri yoğunluğunun UCS deney sonuçlarına etkisi

Çizelge 5.4. Bakteri yoğunluğuna göre ortalama UCS değerleri

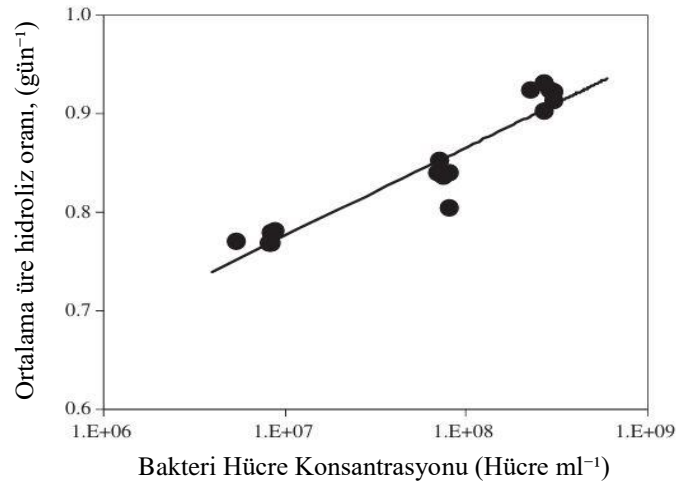
Deney No	Numune 1		Numune 2		Numune 3		Ortalama	
	UCS (kPa)	ε (%)	UCS (kPa)	ε (%)	UCS (kPa)	ε (%)	UCS (kPa)	ε (%)
7	2571.1	3.40	2374.3	5.70	2122.4	2.44	2355.9	3.85
8	2596.9	4.90	2587.1	4.05	2213.0	5.83	2465.7	4.85
9	3707.6	4.60	4067.4	1.99	3855.0	5.00	3876.7	3.78

Bakteri yoğunluğunun 10^9 hücre/ml'ye kadar artırılmasının, muhtemelen kalsit çökmesini katalize eden daha fazla üreaz üretimi nedeniyle direnci artırdığını göstermektedir (Şekil 5.14). Yüksek bakteri yoğunluğu, üre hidroliz oranının artışı ile ilişkilidir (Lauchnor vd., 2013) ancak, çok yüksek konsantrasyonlar besinler için rekabete yol açarak sürecin verimliliğini sınırlayabilir (Van Paassen vd., 2010).



Şekil 5.14. Bakteri yoğunluğunun tek eksenli basınç dayanımına etkisi.

Ortalama üre hidroliz hızı, belirli bir süre boyunca ürenin bakteriler tarafından hidrolize edilme hızını temsil eder. Bu oran (gün^{-1}) (günlük) birimleriyle ifade edilir, yani oran günlük hidrolize edilen üre miktarı cinsinden ölçülür. Örneğin, $0.6 (\text{gün}^{-1})$ 'lik bir oran, mevcut ürenin %60'ının her gün hidrolize edildiği anlamına gelir (Şekil 5.15) (Okwadha ve Li, 2010).



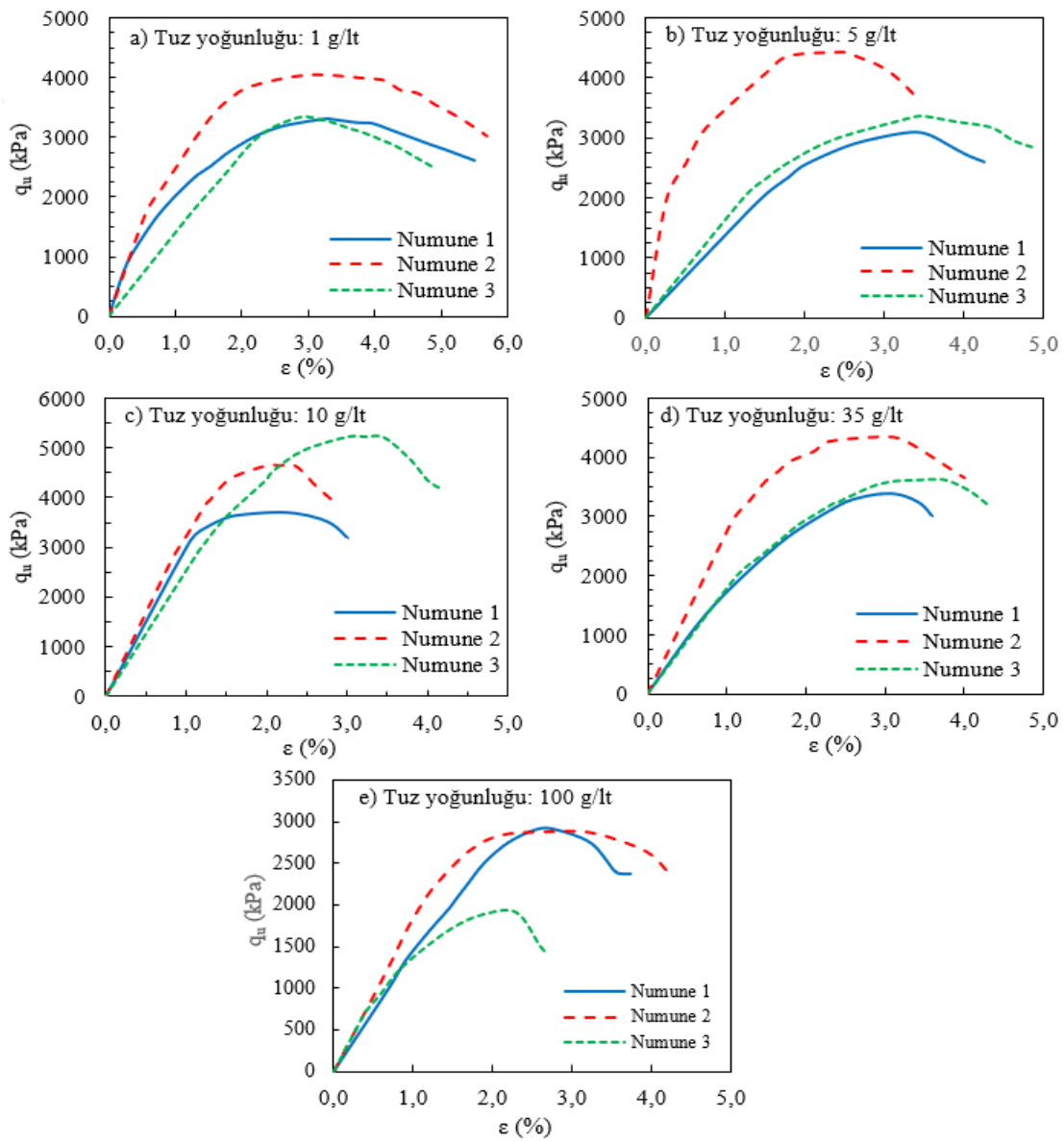
Şekil 5.15. Üre hidrolizinin ortalama hızı ile bakteriyel hücre konsantrasyonunun (hücre/ml) değişimi (Okwadha & Li, 2010).

Normal (çeşme suyu) yeraltı suyuna sahip kumlu zeminlerin biyolojik olarak iyileştirilmesi sürecinde optimum koşullar %50 sıklık derecesi, 20°C sıcaklık ve 10^9 hücre/ml olarak belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci bölümünde zemin sıklığı, sıcaklık ve

bakteri yoğunluğunun optimum değerleri sabit tutularak kimyasal (tuzlu, sülfatlı, asitli) boşluk sıvısına sahip kumlu zeminlerin biyolojik yöntemle iyileştirilmesi hedeflenmiştir.

5.2.1.2. Tuzlu yeraltı suyu ortamında iyileştirme

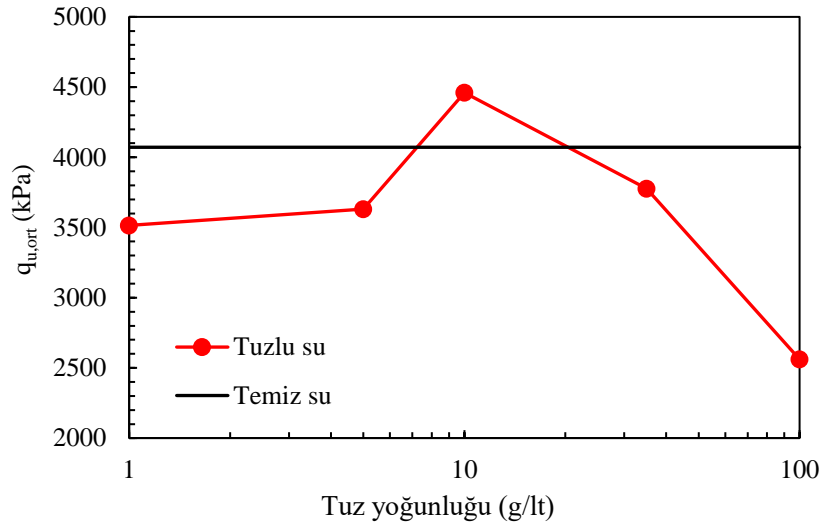
Farklı tuz konsantrasyonlarına sahip yeraltı suyu ortamlarında biyolojik olarak iyileştirilmiş kum zemin numunelerinin serbest basınç deney sonuçları Şekil 5.16 ve Çizelge 5.5’de sunulmuştur.



Şekil 5.16. Tuzlu su ortamında Mikrobiyal Kalsit Çökmesi ile iyileştirilmiş zeminlerin UCS deney sonuçları (D_r =%50, T =20°C, BY = 10^9 hücre/ml)

Çizelge 5.5. Tuzlu Su Ortamında MKKÇ ile İyileştirilmiş Zeminlerin UCS ve Deformasyon Sonuçları

Deneysel No	Tuz yoğunluğu (g/lt)	pH	Numune 1		Numune 2		Numune 3		Ortalama	
			UCS (kPa)	ϵ (%)	UCS (kPa)	ϵ (%)	UCS (kPa)	ϵ (%)	UCS (kPa)	ϵ (%)
1	1	6.69	3164.2	3.3	4046.0	3.0	3333.9	2.9	3514.7	3.1
2	5	6.76	3094.7	3.3	4434.3	2.4	3363.0	3.4	3630.7	3.1
3	10	6.78	5520.0	2.9	4444.6	2.5	3715.9	2.2	4460.3	2.5
4	35	6.81	3378.4	2.6	4356.0	3.0	3599.2	3.8	3777.8	3.2
5	100	6.85	2899.4	2.7	2882.3	2.6	1904.1	2.3	2561.1	2.6



Şekil 5.17. Tuz konsantrasyonu tek eksenli basınç dayanımına etkisi.

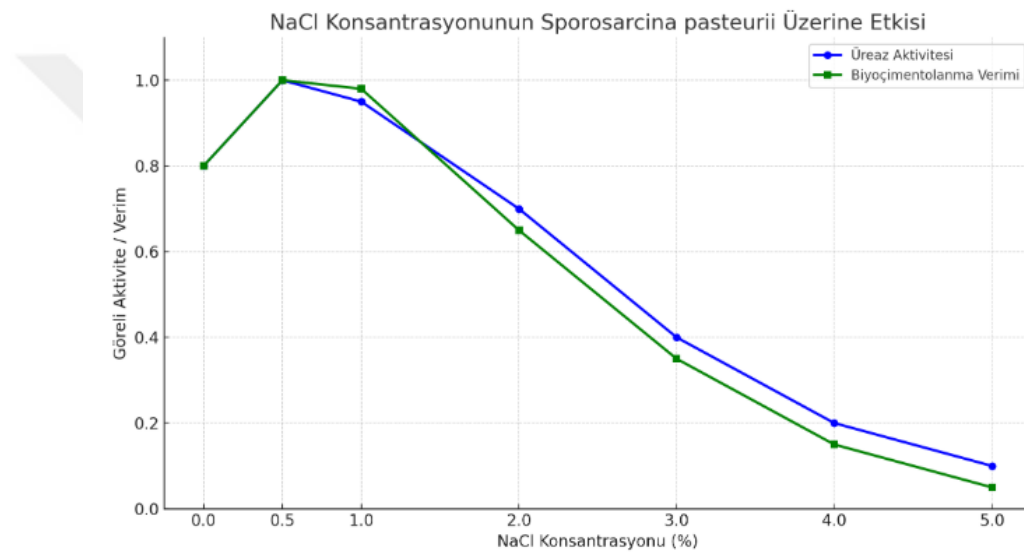
1g/lt ile 10g/lt arasındaki tuz konsantrasyonlarıyla hazırlanan numuneler basınç dayanımında bir artış göstermekte ve 10g/lt'de ortalama 4460.3 kPa UCS ile maksimuma ulaşmaktadır. Öte yandan, daha yüksek konsantrasyonlar, özellikle 35g/lt ve 100g/lt, mukavemette önemli bir düşüşe yol açmakta ve 100g/lt tuzlu su ortamında ortalama 2561.1 kPa UCS gözlemlenmektedir.

1-100 g/lt tuz konsantrasyonuna sahip tuzlu suların pH değerleri 6.85-6.89 arasında olup hafif asidiktir. En yüksek dayanım 6.78 pH başlangıç değerinde elde edilmiştir.

Tuzlu yeraltı suyu ortamlarındaki biyolojik iyileştirme sonucunda yüksek dayanımlar elde edilmiştir. Bu sonuç tuzlu yeraltı su ortamlarında bakteriyel faaliyetlerin (üre hidrolizi vb) başarıyla gerçekleştiğini ve devam ettiğini göstermektedir.

Sporosarcina pasteurii ile gerçekleştirilen biyoçimentolanma (mikrobiyal kalsiyum karbonat çöktürme) sürecinde, tuzlu suyun (özellikle NaCl içeriği yüksek suyun) etkisi karmaşıktır ve birçok yönden süreci etkiler. Sporosarcina pasteurii

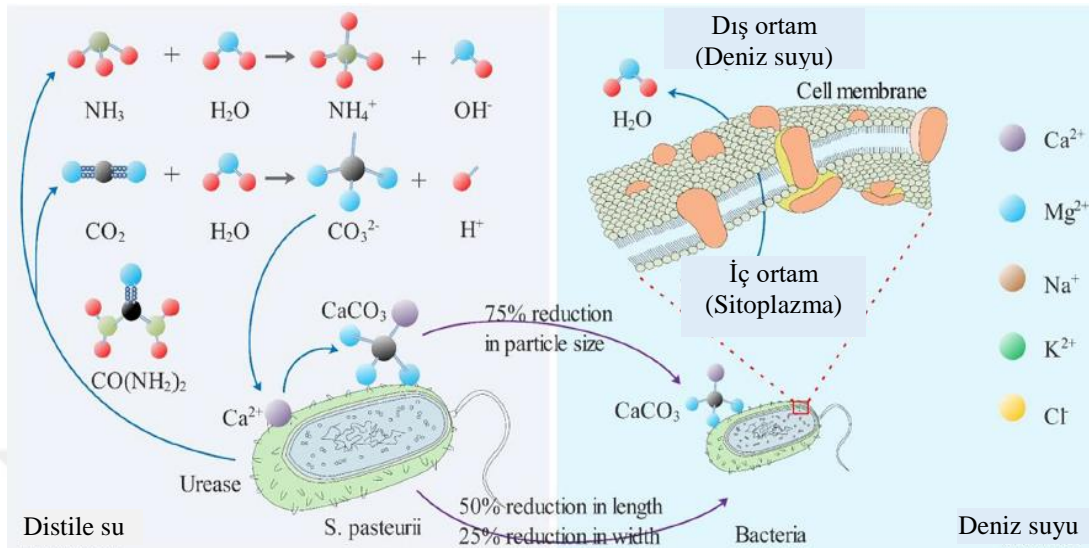
halotolerant bir türdür; düşük tuzlulukta (<2g/l) üreaz aktivitesini sürdürebilir ve çözünen iyonlar, karbonat çökmesine yardımcı olabilir (iyonik kuvvetin artması). Fakat yüksek tuzlulukta (>2–3% NaCl); osmotik stres oluşarak bakteri zarından su kaybı, hücre hacminde daralma, üreaz enziminin baskılanması (pH artışı yavaşlar ve CaCO₃ çökmesi azalır), çimentolanma ürünlerinin zayıf veya dağınık olması ve yüksek iyonik kuvvet nedeniyle kalsiyum karbonat kristal yapısında bozulmalar görülebilir (Şekil 5.18). Temiz su ortamında bakterinin hücresel aktivitesi %80 iken, 0.5-1% NaCl eklendiğinde, hücresel verim %100 olmakta, NaCl yoğunluğu arttıkça verim %10'a kadar azalmaktadır (Achal vd., 2009; Dikshit, 2021; Han vd., 2023).



Şekil 5.18. NaCl konsantrasyonunun bakteri ürolizine etkisi (Achal & Pan, 2011; Dikshit, 2021; Han vd., 2023'dan türetilmiştir)

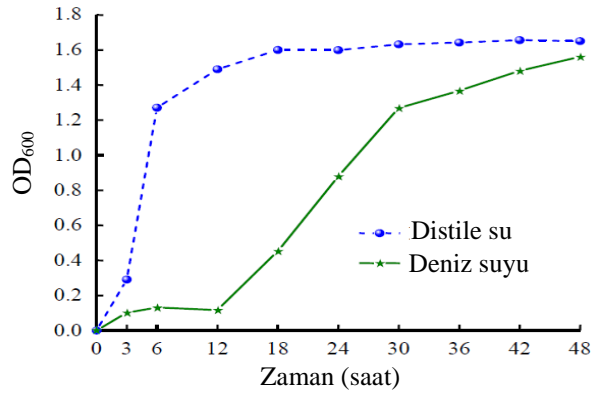
Fu vd (2022), distile su ve deniz suyu (tuz yoğunluğu 35g/l) ortamlarında *Sporosarcina pasteurii* bakterisinin hücresel aktivitesini araştırmıştır. Tatlı su ortamının aksine, deniz suyu ortamında, bakterinin büyümesi ve mineralizasyonu deniz suyunun tuzluluğu tarafından engellenmiştir. Sadece büyüme ve üreme oranları azalmakla kalmamış, aynı zamanda bakteri tarafından çökeltilen kalsiyum karbonat miktarı da azalmıştır. Bu, deniz suyunda kültürlenmiş bakteri hücrelerinin sitoplazmasındaki (iç ortam) inorganik tuzların konsantrasyonunun deniz suyundakinden (dış ortam) daha düşük olmasına atfedilmiştir, bu da hücre zarının içi ve dışı arasında bir osmotik basınç farkına neden olmuş, bu da sitoplazmik su moleküllerinin hücre zarını delerek dış ortama geçmesine neden olmuştur ve bakteri hücrelerinin sırasıyla uzunluk ve genişlikte yaklaşık %50 ve %25 oranında küçülmesine neden olmuştur. Ayrıca, çökmesi minik bakteri

hücreleri tarafından indüklenen kalsiyum karbonatın parçacık boyutu da yaklaşık %75 oranında azalmıştır (Şekil 5.19).

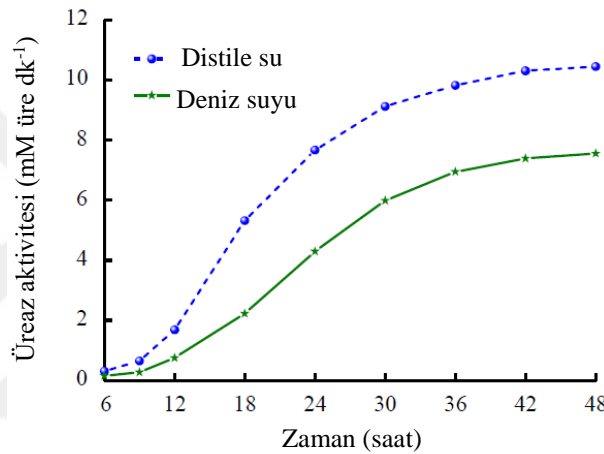


Şekil 5.19. Temiz ve deniz suyu ortamında MKKÇ oluşum mekanizması (Fu vd., 2022)

Dong vd., (2021), distile ve deniz suyu ortamlarında kumlu zeminlerin MKKÇ ile iyileştirme sürecini incelemişlerdir. *Sporosarcina pasteurii* bakterisi, distile ve deniz suyu kültür ortamlarında ekilerek yetiştirilmiştir. Deniz suyu ortamında bakteri sayısındaki artış ilk 12 saatte oldukça sınırlı kalmakla birlikte, bu süre sonunda logaritmik bir artışla 48 saat sonunda distile sudaki bakteri sayısına yaklaşmaktadır (Şekil 5.20). Ayrıca, deniz suyu ortamında bakterinin üreaz aktivitesi distile su ortamına göre yaklaşık %20 daha düşük olmuştur (Şekil 5.21). Üreaz aktivitesi 24 saat sonunda maksimum düzeye ulaşarak sabit kalmaktadır. Deniz suyu ortamındaki kumlu zeminin geçirimsizlik katsayısı, iyileşme öncesine göre 10 kat azalmıştır. Ayrıca iyileştirilmiş zemin için distile su ortamında 2MPa, deniz suyu ortamında ise 1.7MPa dayanım değerlerine ulaşılmıştır. Sonuç olarak, deniz suyu ortamında bakteri sayısının ve üreaz aktivitesinin azalmasına rağmen, kalsiyum karbonat çökmesinin olduğu ve zemin özelliklerini iyileştirdiği belirtilmiştir.



Şekil 5.20. Distile ve deniz suyu ortamlarında bakteri sayısının zamanla değişimi (Dong vd., 2021)



Şekil 5.21. Distile ve deniz suyu ortamlarında Üreaz aktivitesinin zamanla değişimi(Dong vd., 2021)

Halımsa, Deleya, Flavobacterium, Acinetobacter ve Salinivibrio gibi bazı halofilik bakteriler, deniz ortamlarında karbonat çökmesini sağlayabilmektedir. Farklı tuz konsantrasyonlarında hayatta kalabilme yetenekleri, tuzluluğun karbonat çökmesi üzerindeki etkisini incelemek için onları önemli modeller haline getirmektedir. Halomonas halophila, %2 ile %30 NaCl arasında bir tuzluluk aralığında gelişebilir ve optimum seviyesi yaklaşık %7.5 olarak belirlenmiştir (Bansal vd., 2016).

Bazı araştırmacılar, MKKÇ süreciyle deniz ortamında zeminlerin biyo-çimentolama için kalsiyum iyonu kaynağı olarak yapay deniz suyunun kullanımını araştırmaktadır (Cheng, Shahin, Cord-Ruwisch, vd., 2014). Kristal çökme hızı, yüksek konsantrasyonlu çimento çözeltisine kıyasla daha düşük olsa da bu yaklaşım kimyasal ürünlerin kullanımını azaltarak maliyetleri düşürmektedir. Kalsiyum ve üre (örneğin idrar) gibi doğal kaynakların kullanılmasıyla, sanayi tipi kimyasallara ihtiyaç duymadan biyo-çimentolama sağlanabilir. Bu yöntem, özellikle kademeli dayanım artışının gerekli

olduğu kıyı ve deniz ortamlarında zemin stabilizasyonu için yeni fırsatlar sunmaktadır. Bu araştırmacılar, deniz suyunda bulunan kalsiyum iyonlarının, deniz ortamında MKKÇ yoluyla zeminleri iyileştirmek için tek kalsiyum kaynağı olarak kullanılabileceğini doğrulamaktadır. Deniz suyu ile tekrarlanan işlem, kum kolonlarının mukavemetini önemli ölçüde artırmaktadır. Bu yöntem, deniz ve kıyı ortamlarındaki zeminleri stabilize etmek için etkili, sürdürülebilir ve ekonomik bir çözüm olabilir

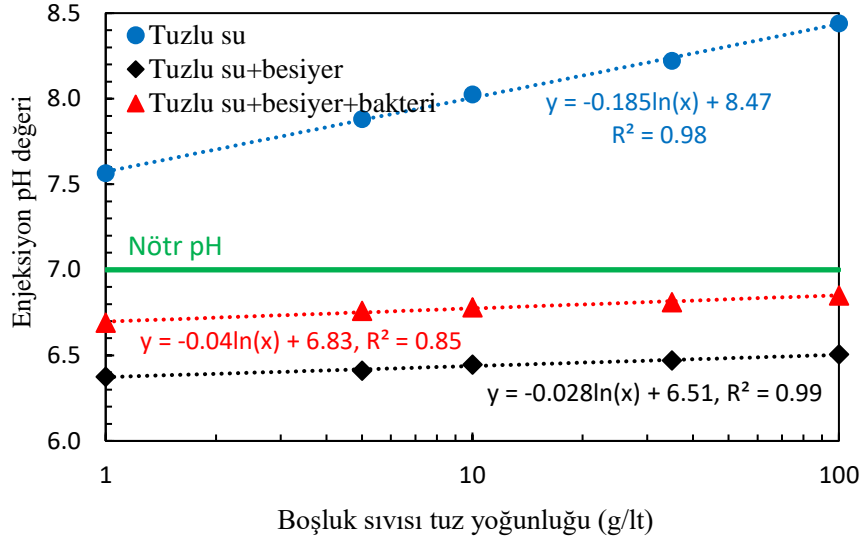
Zemine bakteri enjeksiyonu sonrasında ölçülen bakteri aktivitesi, düşük konsantrasyonlarda bile tuzlu su çözeltisi ilavesinden önemli ölçüde etkilenmiştir. En düşük konsantrasyonlarda inhibisyon gözlenirken, daha yüksek seviyelerde önemli bir artış görülmüştür. Potasyum uygulaması, tuzun toksik etkilerinin hafifçe zayıflamasına neden olarak mikrobiyal enjeksiyonun kısmen iyileşmesini desteklemiştir. Mikrobiyal aktivitedeki azalmalar, özellikle en yüksek dozlarda potasyum uygulamasıyla daha az belirgindi, ancak bu azalma maksimum tuz konsantrasyonunda önemli olmaya devam etmiştir (Okur vd., 2002).

Zhao vd (2023), kumlu bir zeminin MKKÇ tekniği ile iyileştirilmesinde farklı NaCl oranlarının (%0-10-35-60-80-100) etkisini araştırmıştır. NaCl yoğunluğu arttıkça bakteri sayısı, üreaz aktivitesi ve kalsiyum karbonat miktarında azalma görülmüştür. Temiz su ortamında %7.7 CaCO₃ oluşurken, %100 NaCl konsantrasyonunda CaCO₃ miktarı %5.9'a düşmüştür.

Yukarıda farklı araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda, tuzlu su ortamını benzetmek için genellikle %35 NaCl yoğunluğuna sahip çözeltiler ile MKKÇ oluşum mekanizması incelenmiştir. Genel görüş NaCl yoğunluğunun artmasıyla bakteri sayısının ve üreaz aktivitesinin düştüğü yönündedir. Halbuki, deneysel çalışmalarda 100g/l gibi çok yüksek tuzluluk oranında bile 2561.1kPa dayanım elde edilmiştir. Bu sonuç, bakterinin hücresel faaliyetlerini sağlıklı bir şekilde sürdürdüğünü göstermektedir. Yüksek tuzluluk oranlarında elde edilen sonuçlar, yukarıdaki açıklamalarla zıt görünebilir. Bu farklılığın sebepleri aşağıda açıklanmıştır.

Yukarıdaki çalışmanın çoğunda bakteri kültürü, NaCl içeriğindeki su ortamında çoğaltılmış ve bu sırada bakterinin özellikle 0.5-1g/l'ten daha fazla NaCl içeren ortamda sayısı ve üreaz aktivitesinin azaldığı görülmektedir. Ayrıca bu çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler farklılık gösterebilmektedir. Halbuki tez çalışması kapsamında, bakteri kültürü temiz su ortamında çoğaltılmış, daha sonra NaCl içerikli suyla hazırlanan besiyer ortamına eklenmiştir. Bu durumda;

- Bakteri kültürü sonradan tuzlu su içerikli besiyerle karşılaştığı için, bu duruma adaptasyon göstererek hücre içi osmoregülasyon artmış ve üreaz aktivitesi baskılanmamıştır.
- Yüksek NaCl içeriği, CaCO₃ kristallerinin yoğun çökmesine neden olmuş olabilir. Aragonit veya vaterit gibi bileşikler yerine büyük hacimli ve köprüleyici kalsit kristallerinin oluşmasıyla kum taneleri arasında daha güçlü bağlar kurulmuş olabilir. Bunun için mineralojik analizler yapılmış ve ileriki bölümlerde sunulmuştur.
- Tuzlu suyun saf suya göre yüzey gerilimi daha yüksektir çünkü çözültideki iyonlar su moleküllerinin düzenini etkiler. Bu da ince boşluklarda sıvının daha kuvvetli çekilmesine neden olur ve kapiler kuvveti artırır. Kapiler kuvvetin artması, bakteriyel çözeltinin kum taneleri arasındaki küçük boşluklara bile nüfuz etmesini kolaylaştırır. Ayrıca tuzlu suyun kum tanelerinin yüzeyine daha iyi bağlanmasıyla, tanecik yüzeyine bağlanan bakterilerin ve oluşan kalsit çökeltisinin artmasına neden olmaktadır.
- Tuzlu ortamda bakteri büyümese bile, zaten yüksek üreaz içeren hücreler ortamda yeterince reaksiyon süresi bulmuş olabilir. Ayrıca çökme ortamının pH, sıcaklık ve Ca²⁺ açısından iyi optimize edildiği, yüksek tuzluluğun olumsuz etkisinin baskılandığı düşünülmektedir. Ortam sıcaklığı 20°C'dir. Tuz yoğunluğuna bağlı olarak tuzlu suyun pH değerleri 7.6-8.44 arasında değişirken, tuzlu su+besiyer+bakteri çözeltisinin pH değerleri 6.7-6.9 arasında değişmektedir (Şekil 5.22). Sporosarcina pasteurii gibi üreaz-pozitif bakteriler için hafif asidik-nötr ortam (pH 6.5–7.0), enzim üretimini ve büyümeyi teşvik etmektedir. pH çok yüksek başlarsa (örn. >8.5), üreaz aktivitesi başlamadan CaCO₃ ön-çökeltisi oluşabilir ve kristal kalitesi düşer. Başlangıç ahının 6.7-6.9 arasında olması, önce bakteri büyümesi (biyokütle artışı), sonra enzimatik reaksiyon sırasını korumuştur. Bu şartlarda, MKKÇ ile iyileştirilen kumlu zeminlerde yüksek dayanımın (>2000kPa) elde edilmesinin temel nedenleri şu şekilde sıralanmıştır: 1) Yeast extract (maya özütü) eklenmesiyle bakterinin büyümesi ve dayanıklılığı artmaktadır. 2) Başlangıç pH'nın 6.7-6.9 aralığında olması ile üreaz üretimi ve aktivasyonu optimize olur. 3) Üre hidroliziyle pH yavaşça artar (kontrollü pH yükselişi). 4) Ca²⁺ ile birlikte pH>8'e geçişte kristalleşme başlar. 5) Ortamda fazla Ca²⁺ ve CO₃²⁻ olmasıyla yoğun CaCO₃ çökmesi olur. Sonuç olarak, kum taneleri arasında güçlü bağlar oluşur ve dayanım artar.

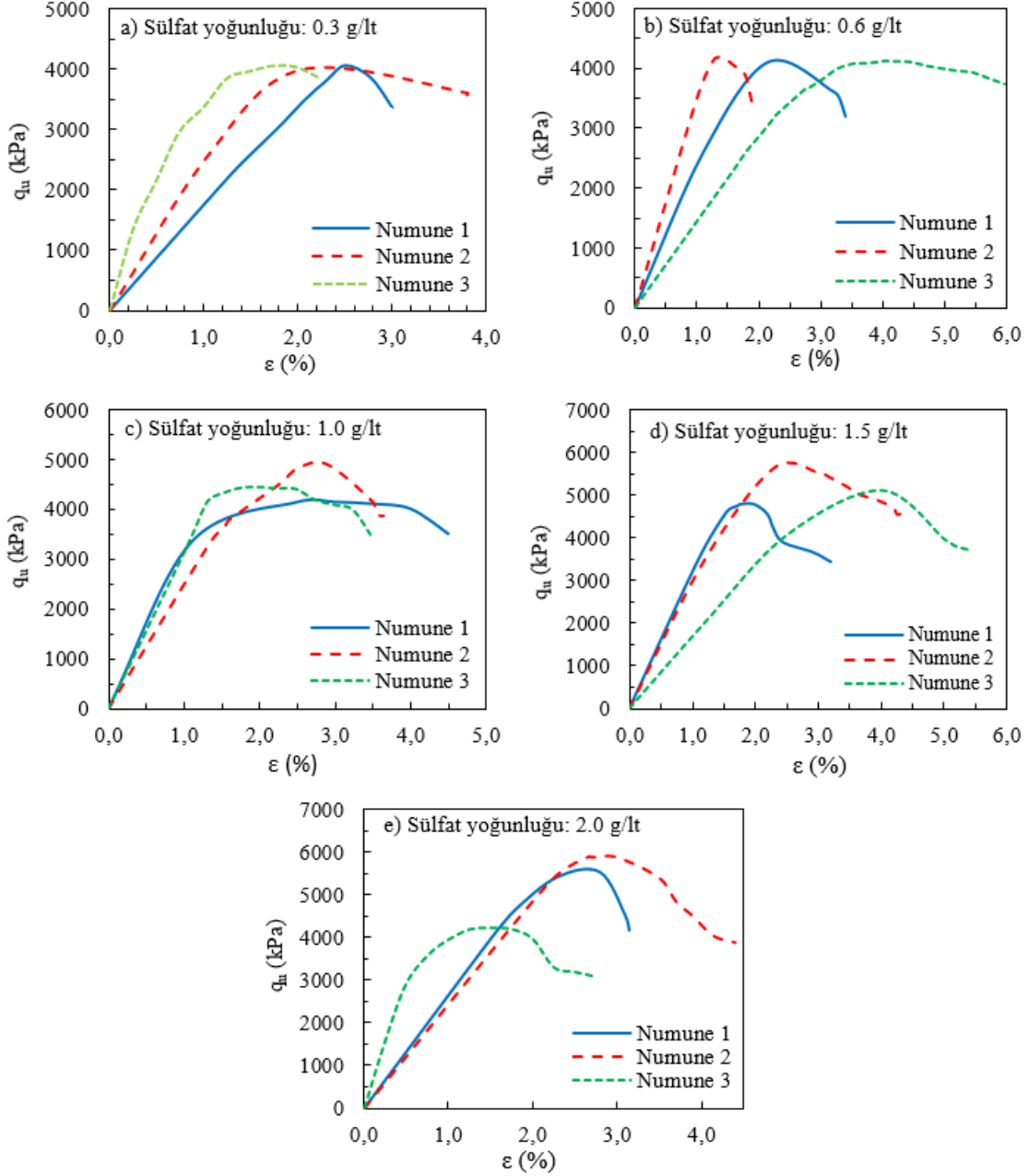


Şekil 5.22. Tuzlu su ortamında MKKÇ sürecinde iyileşme öncesi pH değerleri

5.2.1.3. Sülfatlı yeraltı suyu ortamında iyileştirme

Farklı sülfatlı su konsantrasyonlarına sahip bir ortamda iyileştirilmiş çeşitli numunelerin aksel basınç-deformasyon sonuçları Şekil 5.23'te göstermektedir. Numunelerin gerilme ve deformasyon analizleri yapılmış olup, sonuçlar Çizelge 5.6 ve Şekil 5.24'de yorumlanmıştır.

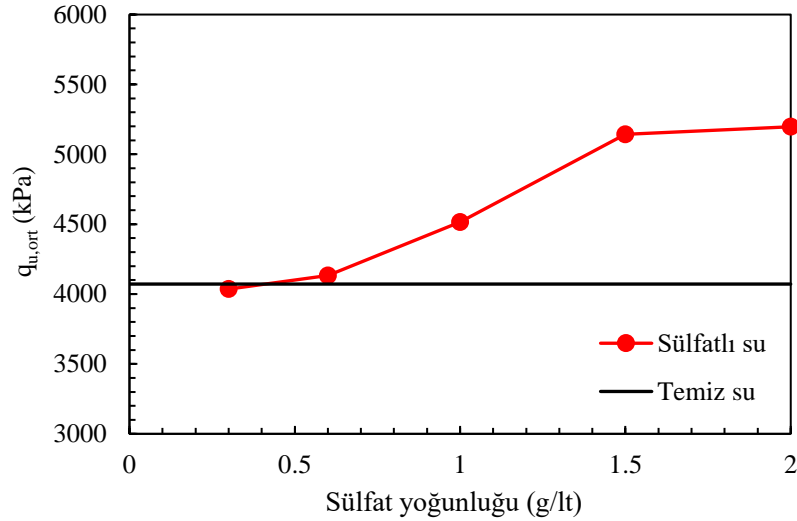
0.3 g/l ile 1.5 g/l arasındaki sülfatlı sularda UCS direncinin önemli ölçüde artması, magnezyum sülfatın MKKÇ sürecini destekleyerek zeminin kohezyonunu ve direncini iyileştirdiğini göstermektedir. Ancak, 1,5 g/l'nin üzerindeki sülfat oranlarında direnç artışı oldukça az olup yalnızca %1 seviyesinde kalmaktadır. Bu durum, aşırı miktarda magnezyum sülfatın artık zeminin yapısını iyileştirmediğini ve hatta olumsuz etkiler yaratabileceğini göstermektedir. Özellikle, kimyasal dengenin bozulması veya aşırı kristalleşmenin teşvik edilmesi, bu olumsuz etkilerin başlıca nedenleri olabilir.



Şekil 5.23. Sülfatlı su ortamında Mikrobiyal Kalsit Çökeltmesi ile iyileştirilmiş zeminlerin UCS deney sonuçları ($D_r=50\%$, $T=20^\circ\text{C}$, $BY=109$ hücre/ml)

Çizelge 5.6. Sülfatlı su Ortamında MKKÇ ile İyileştirilmiş Zeminlerin Tek Eksenli ve Serbest Basınc Dayanımı (UCS) ile Deformasyon Sonuçları

Deney No	Sülfat yoğunluğu (g/l)	PH	Numune 1		Numune 2		Numune 3		Ortalama	
			UCS (kPa)	ϵ (%)	UCS (kPa)	ϵ (%)	UCS (kPa)	ϵ (%)	UCS (kPa)	ϵ (%)
1	0.3	6.83	4059.7	2.54	4000.0	2.04	4045.5	1.73	4035.7	2.10
2	0.6	6.81	4100.0	2.15	4172.6	1.30	4127.3	4.00	4133.3	2.48
3	1.0	6.78	4200.0	2.73	4899.3	2.90	4444.4	1.76	4514.5	2.46
4	1.5	6.77	4791.8	2.00	5540.0	3.00	5097.2	4.00	5143.0	3.00
5	2.0	6.73	5542.2	2.80	5858.6	3.00	4222.8	1.51	5196.9	2.43

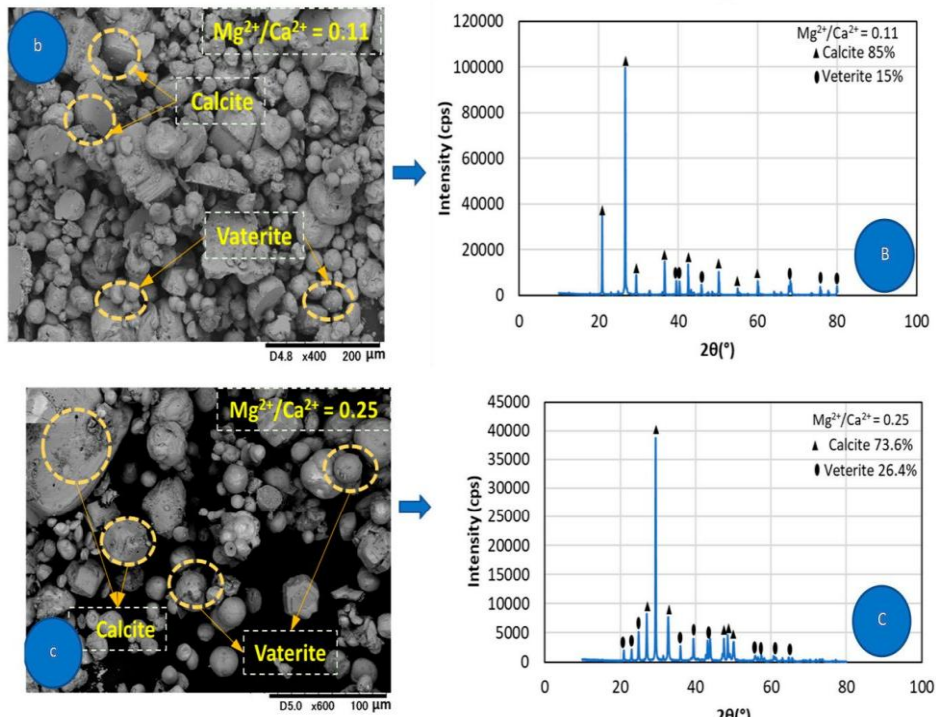


Şekil 5.24. Sülfatlı su ortamında tek eksenli basınç dayanımına etkisi.

Mg^{2+} iyonlarının kalsit çökmesini engelleyebildiği bilinmektedir. Bu durum, Mg^{2+} iyonlarının Ca^{2+} iyonlarının yerine kristal yapıya dâhil olmasıyla açıklanır. Böylece kristal morfolojisi değişir ve büyüme hızı azalır. Ayrıca, çökme oranındaki bu düşüşün, çözeltideki Mg^{2+} ve Ca^{2+} iyonlarının konsantrasyon oranına bağlı olduğu düşünülmektedir (Zhang ve Dawe, 2000). Magnezyum iyonlarının (Mg^{2+}) düzensiz şekilde kristal yüzeyine dâhil olması, kalsit büyümesini engeller ve Mg^{2+} içeriği yüksek, daha yavaş büyüyen yeni kristal yüzeylerinin oluşumuna yol açar. Kristallerin morfolojisindeki bu değişim, denizel kalsitlerin laboratuvar ortamında üretilenlere kıyasla daha yüksek Mg^{2+} içeriğine sahip olmasını açıklayabilir (Zhang ve Dawe, 2000).

Xu vd., (2020), kumlu zemini *Sporosarcina pasteurii* (ATCC11859) ile biyolojik iyileştirmiştir. *S. pasteurii*, maya ekstraktı bazlı bir besiyerinde (20 g/L maya ekstraktı, 10 g/L amonyum sülfat, 0.1 mM NiCl, pH 8.5–9.0) steril aerobik koşullarında yetiştirildi. Bakterilerin kum yüzeyine daha iyi tutunmasını sağlamak için 0.05 M kalsiyum asetat ($Ca(CH_3COO)_2$) çözeltisi kullanılmıştır. Ana çimentolama solüsyonu, 0.5 M üre + 0.5 M kalsiyum asetat ve farklı oranlarda $MgCl_2$ eklenmiştir (0.001 M $MgCl_2$ (0.02g/l) ile 0.5 M $MgCl_2$ (12.2g/l) arasında. Numunelerin dayanımı $MgCl_2$ oranı arttıkça artmaktadır ve 5-35MPa arasında dayanım elde edilmiştir. Bu sonuç kontrollü bir MKKÇ süreci ile sülfatlı ortamlarda da yeterince iyileştirmenin sağlanabileceğini göstermektedir. Deneysel sonuçlar, Mg (magnezyum) iyonlarının MKKÇ (Mikrobiyal İndüklenmiş Kalsiyum Karbonat Çökmesi) sistemine katılımının, kalsiyum karbonat kristal polimorfunu (yani oluşan kristal yapısını) değiştirdiğini göstermektedir.

Imran vd., (2021) enzim indüklemeli çökeltme (EICP) yöntemiyle zemin iyileştirmesini incelemekte olup, biyolojik bir katalizör olarak karpuz tohumlarından elde edilen üreaz enzimini kullanmaktadır. Amaç, Mg^{2+}/Ca^{2+} mol oranlarının ayarlanması yoluyla, kum taneleri arasındaki bağları güçlendirmek amacıyla başta kalsit, vaterit ve aragonit olmak üzere karbonat kristallerinin oluşumunu optimize etmektir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve X-ışını kırınımı (XRD) analizleri, kalsiyum karbonatın bu farklı polimorfik formlarının oluştuğunu doğrulamıştır (Şekil 5.25). Aynı zamanda, zeminlerin mekanik davranışını değerlendirmek amacıyla farklı Mg^{2+}/Ca^{2+} oranlarının (0.00; 0.11; 0.25; 0.43; 0.67; 1.00) etkisinin incelendiği serbest basınç dayanımı (UCS) testleri yapılmıştır. Sonuçlar, magnezyum katkısı olmadan 1.2 MPa'lık orta düzeyde bir UCS değerine ulaşıldığını, buna karşın 0.11 oranında maksimum 2.5 MPa'lık bir dayanım elde edildiğini göstermektedir (14 günlük kür süresi sonunda). Bu oranın üzerine çıkıldığında ise dayanım kademeli olarak azalarak Mg^{2+}/Ca^{2+} oranı 1.00 olduğunda 1.5 MPa'ya düşmektedir. Bu bulgular, magnezyumun çökeltme ve iyileştirme sürecindeki kritik rolünü ortaya koymakta ve 0.11–0.25 oranı arasındaki ölçülü bir katkının EICP işleminin etkinliğini %50'ye kadar artırabileceğini göstermektedir. Bu yaklaşım, ham ekstrakt bazlı EICP yönteminin sürdürülebilir ve yüksek performanslı biyo-geoteknik uygulamalar için potansiyelini doğrulamaktadır.



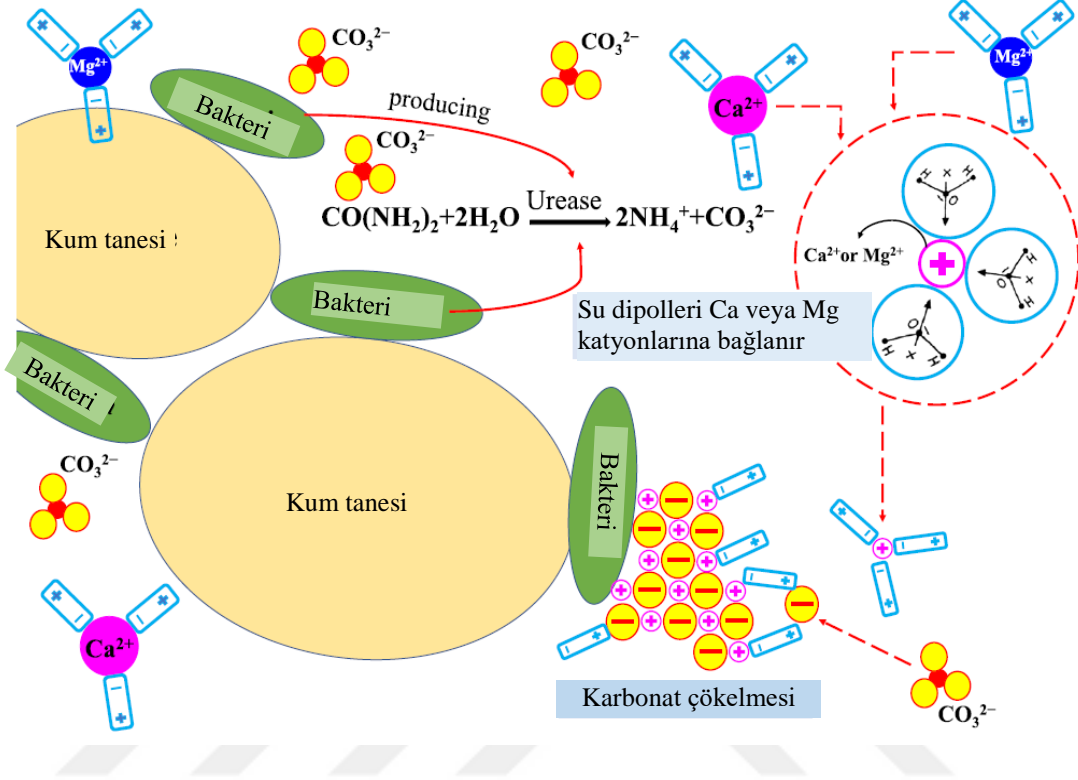
Şekil 5.25. Farklı Mg^{2+}/Ca^{2+} oranlarında çöktürülen $CaCO_3$ kristallerine ait SEM görüntüleri (a–c), oluşan polimorfı belirlemek amacıyla yapılan X-ışını kırınımı (XRD) analiziyle birlikte sunulmuştur (Imran vd., 2021)

Mg²⁺ iyonlarının ve karbonat ürünlerinin çözeltideki konsantrasyonunun, çökeltme başlangıcı için indüksiyon süresi ve kalsiyum karbonatın farklı mineralojilerinin oluşumu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Mg²⁺ iyonlarının, deniz suyu gibi doymuş çözeltilerden kalsiyum karbonatın kendiliğinden çökmesini, kalsiyum karbonat mineraline kıyasla geciktirdiği gözlemlenmiştir. Bu durum, açık okyanusta yalnızca biyo-genetik olarak çöken kalsiyum karbonat iskeletinin mümkün olmasına yol açmaktadır. Düşük Mg²⁺ iyonu konsantrasyonları, kalsit oluşumunu teşvik ederken, yüksek magnezyum konsantrasyonlarında aragonit oluşmaktadır. Ayrıca, çözeltideki Mg²⁺ konsantrasyonunun artmasıyla birlikte, magnezyum kalsit MgCO₃ molar yüzdesi ve CO₃²⁻ iyonlarının varlığında bu oran artmaktadır (Rushdi vd., 1992).

Yan vd., (2022) Alkalin ortamda sülfat iyonları (SO₄²⁻), magnezyum varlığında kalsiyum karbonat (CaCO₃) çökmesini olumlu yönde etkiler. MgCl₂ içeren çözeltilerle karşılaştırıldığında, MgSO₄ içeren çözeltilerde kalan kalsiyum (Ca²⁺) konsantrasyonları daha düşüktür; bu da daha etkili bir çökelmeyi gösterir. Mg/Ca molar oranı 2'den 11'e çıktıkça, Ca²⁺ konsantrasyonları MgSO₄ grubunda MgCl₂ grubuna kıyasla sistematik olarak daha düşük kalmıştır. Ayrıca, sülfat içeren grupta kalsiyum çökeltme oranları (86.7 %, 70.9 %, 53.0 %, 46.9 %, 38.6 %), klorür içeren gruba göre (85.7 %, 60.5 %, 48.1 %, 45.1 %, 38.3 %) daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, magnezyumun CaCO₃ oluşumu üzerindeki olumsuz etkisini sülfat iyonlarının klorür iyonlarına göre daha iyi hafiflettiğini ve çökeltme sürecinde belirgin biçimde (p < 0.01) faydalı bir rol oynadığını açıkça ortaya koymaktadır.

MKKÇ süreci, üre hidroliziyle başlar ve bu reaksiyon sonucunda karbonat iyonları (CO₃²⁻) açığa çıkar. Bu karbonat iyonları daha sonra çökeltme oluşturmak için katyonlarla birleşir. Ancak çözeltide bulunan katyonlar (örneğin kalsiyum ve magnezyum iyonları), su moleküllerinin dipolleri tarafından sarılır (hidrasyon oluşur). Bu nedenle karbonat iyonlarını çekmeden önce, çözeltideki katyonların sudan arınması (dehidrasyon) gerekir. Magnezyum iyonlarının hidrasyon enerjisi daha yüksek olduğu için, kalsiyum iyonlarına kıyasla sudan arındırılması daha zordur. Bu nedenle, Mg⁺² iyonlarına kıyasla Ca⁺² iyonları çözeltide karbonat iyonlarını çekmede önceliklidir ve bu da MgCO₃ yerine CaCO₃ kristallerinin çökmesine yol açar. Bu süreçte bakteriyel üre hidrolizi, katyonların sudan arınması ve kristalleşme birlikte işler (Şekil 5.26). Mg iyonlarının dehidrasyonu zor olduğundan, çözeltide Mg iyonlarının konsantrasyonu arttıkça bu hidratlanmış Mg iyonları kristal yüzeylerinde büyüme bölgelerini engelleyerek kristalleşmeyi etkiler. Ayrıca kalsit ve aragonit kristallerinin farklı yapıları,

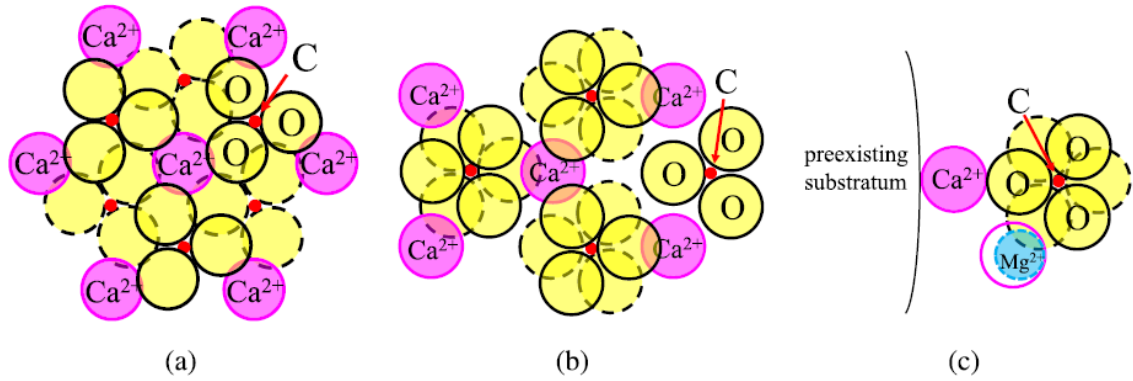
magnezyumun kalsit büyümesini engellemesine ve aragonit çökmesini teşvik etmesine neden olur (Xu vd., 2020).



Şekil 5.26. Sülfatlı su ortamında MKKÇ oluşum süreci (Xu vd., 2020)

Şekil 5.27’de kalsit ve aragonit kristal yapıları gösterilmektedir. Kalsit kristalinde her Ca iyonu altı farklı karbonat grubuna ait oksijen atomuyla bağ yapar. Mg iyonları, Ca iyonlarından daha küçük olduğu için, kristal kafese katıldıklarında yapıyı bozarlar ve bazı kısımlar magnezyum kalsite dönüşebilir. Ancak magnezyum kalsitin çözünürlüğü saf kalsite göre daha yüksek olduğu için, bu durum kristalleşme için gereken termodinamik itici gücü azaltır ve sonuçta kalsit büyümesi engellenmiş olur. Aragonit kristalinde ise her Ca iyonu da altı karbonat grubuyla bağ yapar ama bağlantı şekli farklıdır. Şekil 5.26b’de gösterildiği gibi, aragonitte bir Ca iyonu dokuz oksijen atomuyla bağ kurar. Şekil 5.26c, Mg iyonlarının aragonit kristalinde Ca iyonlarının yerini neden alamayacağını açıklar: daha küçük Mg iyonlarının oksijen atomlarıyla kurduğu bağlar daha zayıftır. Mg iyonları sadece iki oksijen atomuna bağlanabilirken, Ca iyonu en az üç oksijen atomuna bağlanır. Bu nedenle, Mg iyonları aragonit kristal yüzeyine tutunsa bile, daha sonra gelen Ca iyonları tarafından yüzeyden uzaklaştırılır. Böylece Mg iyonları aragonit oluşumunu engelleyemez (Xu vd., 2020). Sonuç olarak, Mg iyonlarının kalsiyum karbonat kristal

türü üzerindeki etkilerine dair teorik analiz, deneysel sonuçları desteklemektedir: Mg iyonları kalsit kristalleşmesini engeller, ancak aragonit büyümesini teşvik eder.



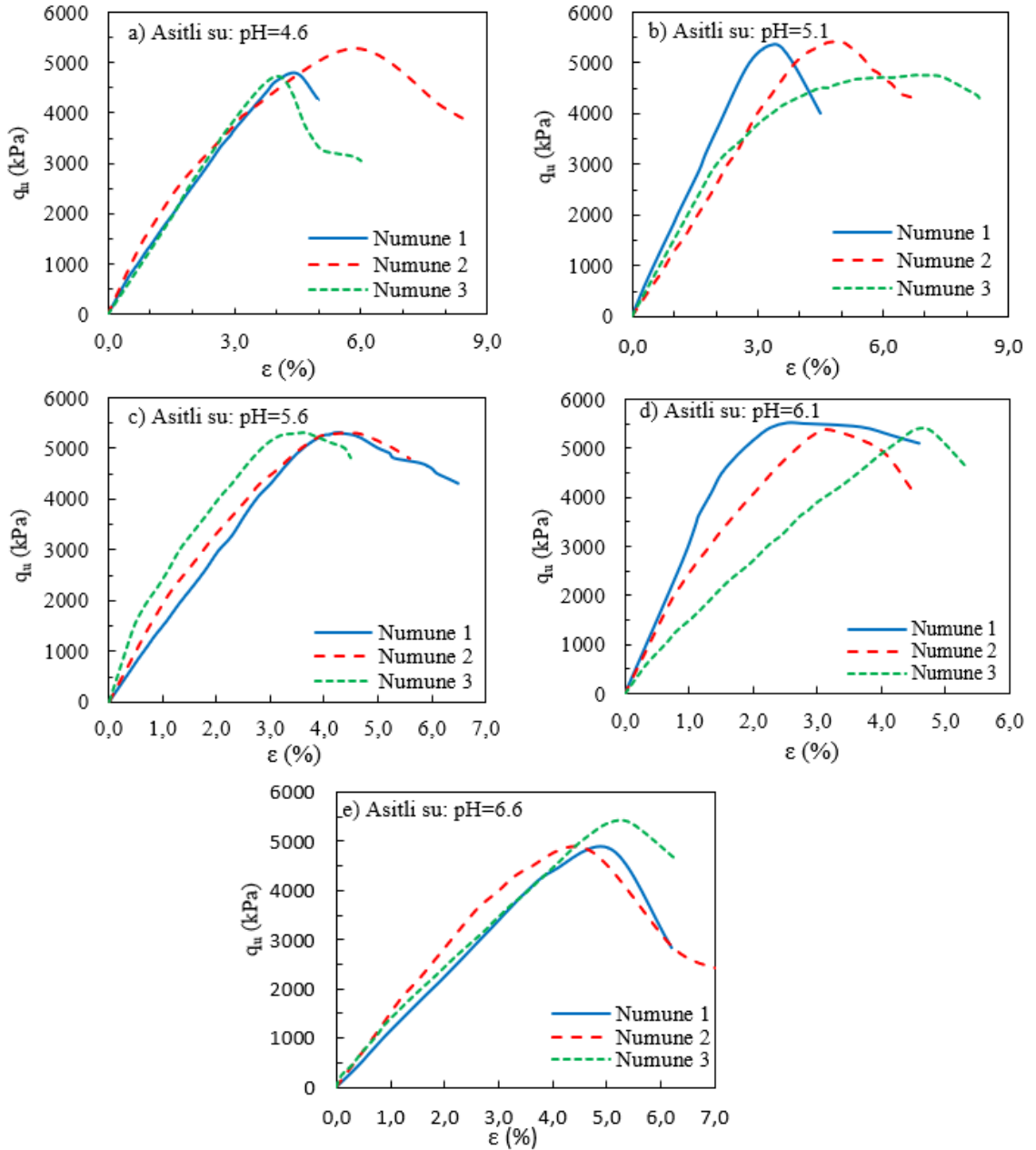
Şekil 5.27. Kalsit ve aragonit kristal yapısı ve Mg iyonlarının dahil edilmesi: (a) kalsit, (b) aragonit ve (c) Mg iyonlarının aragonitteki Ca iyonlarının yerini işgal edemeyeceğinin gösterimi (Xu vd., 2020)

5.2.1.4. Asitli yeraltı suyu ortamında iyileştirme

Asidik bir ortamda iyileştirilmiş çeşitli numunelerin serbest basınç deney sonuçları Şekil 5.28'de sunulmuştur. Numunelerin basınç dayanımı ve birim deformasyon değerleri belirlenmiş olup, sonuçlar Çizelge 5.7'de verilmiştir

Çizelge 5.7. Asitli su Ortamında MKKÇ ile İyileştirilmiş Zeminlerin Tek Eksenli ve Serbest Basınç Dayanımı (UCS) ile Deformasyon Sonuçları

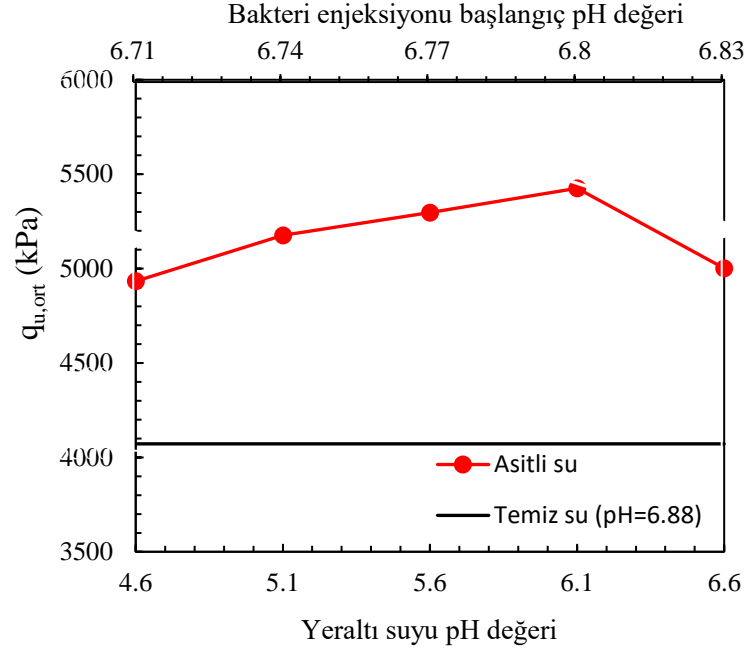
Deney No	Yeraltı suyu pH	Başl. Enjek. PH	Numune 1		Numune 2		Numune 3		Ortalama	
			UCS (kPa)	ϵ (%)	UCS (kPa)	ϵ (%)	UCS (kPa)	ϵ (%)	UCS (kPa)	ϵ (%)
1	4.6	6.71	4783.5	4.5	5271.5	5.81	4744.2	4.00	4933.1	4.77
2	5.1	6.73	5365.7	3.5	5418.5	5.03	4745.0	7.08	5176.4	5.27
3	5.6	6.76	5300.0	4.2	5300.0	4.62	5290.0	3.66	5296.7	4.16
4	6.1	6.79	5517.0	2.5	5370.0	3.21	5389.6	4.53	5425.3	3.42
5	6.6	6.83	4821.0	5.1	4821.3	4.68	5360.0	5.45	5000.8	5.08



Şekil 5.28. Asitli su ortamında Mikrobiyal Kalsit Çökeltmesi ile iyileştirilmiş zeminlerin UCS deney sonuçları (D_r =%50, T =20°C, BY = 10^9 hücre/ml)

Hafif asidik bir ortamda pH'nın MKKÇ (Mikrobiyal Olarak İndüklenen Kalsit Çökeltmesi) üzerindeki önemli etkisini açıkça göstermektedir. pH 6.71 ile 6.83 arasında, Tek Eksenli Sıkışma Dayanımı (UCS), pH 6.79'da en yüksek değerine ulaşarak 5425.3 kPa ve minimum deformasyon oranıyla %3.42 ile sağlam ve iyi konsolide olmuş bir malzeme olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 5.29). Buna karşılık, başlangıç pH'ının biraz daha artarak nötr pH'a yaklaşmasıyla (6.83), dayanım 4933.06 kPa'ya düşmüş ve deformasyon %4.77'ye yükselmiştir. Bu da biyo-çimentasyonun etkinliğinin azaldığını, muhtemelen kalsit çökeltmesinin bozulması ve bakteri aktivitesinin azalması nedeniyle

olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, MKKÇ'nin etkinliğinin pH ile yakından ilişkili olduğunu, pH 6.79 civarında optimal performans sağlandığını, ancak çok asidik veya hafifçe yüksek pH değerlerinin malzemenin stabilizesini ve dayanımını bozduğunu vurgulamaktadır.



Şekil 5.29. Asitli su ortamında tek eksenli basınç dayanımına etkisi.

Achal ve Pan (2011) tarafından belirtildiği gibi, MKKÇ için optimal pH aralığı 7 ile 9 arasındadır. Üreaz enzimi yalnızca üre hidrolizine özgü pH değerlerinde aktif olacağından, kalsit çökmesi pH'dan etkilenir. Birçok araştırmacı üreaz için optimum pH'ın 8.0 olduğunu ve bunun üzerinde enzim aktivitesinin azaldığını bildirmiştir (Gorospe vd., 2013; Stocks-Fischer vd., 1999).

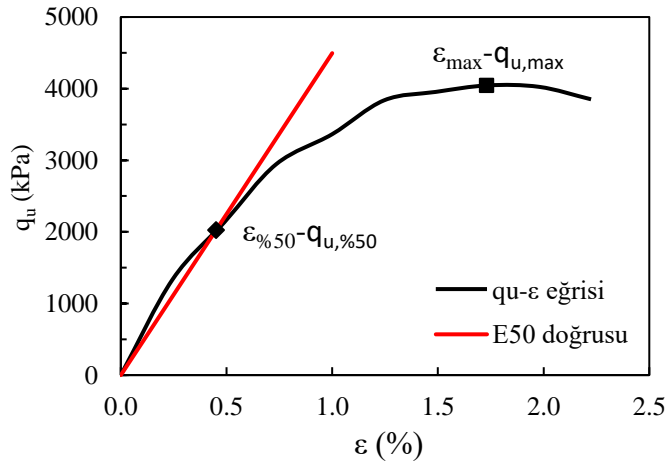
Yüksek pH, ürenin hidrolizi sonucu amonyak üretimi için kritik bir faktördür. Aerobik bakteriler hücresel solunum sırasında CO₂ salgılar ve bu süreçte oluşan amonyak, pH seviyesinin yükselmesine neden olur (Ng vd., 2012b).

pH düştüğünde, karbonat çökmek yerine çözünme eğilimindedir (Loewenthal ve Marais, 1978). Kalsit çökelişi genellikle pH'ın 8.7 ile 9.5 arasında olduğu alkali koşullarda gerçekleşir (S. Dupraz vd., 2009; F.g vd., 2003; Stocks-Fischer vd., 1999). Ancak, (Mobley vd., 1995), bazı asidik üreazların optimum aktivitesinin neredeyse nötr pH seviyelerinde gerçekleştiğini gözlemiştir.

5.2.2. Elastisite Modülü

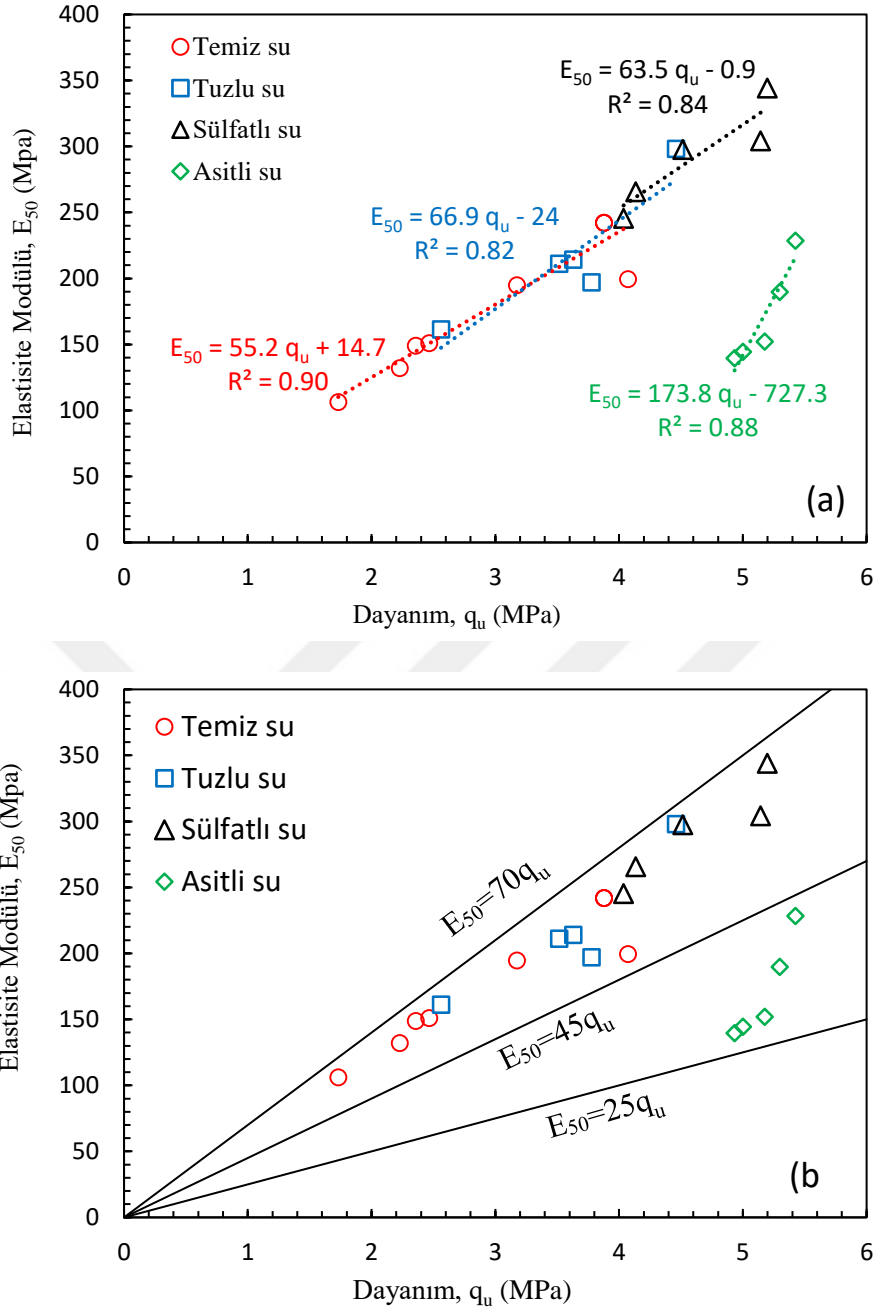
Zemin iyileştirme çalışmalarında, stabilizasyon sonrası zeminin dayanımı taşıma gücünü etkilerken, zemin ortamındaki deformasyonların (oturma) belirlenmesi için iyileşmiş zeminin elastisite modülünü bilmek gerekmektedir.

Temiz, tuzlu, sülfatlı ve asitli su ortamlarındaki iyileştirilmiş numunelerin elastisite modülleri, sekant modülü (E_{50}) olarak hesaplanmıştır. E_{50} , gerilme-birim deformasyon grafiğinde başlangıç noktası ile maksimum gerilmenin %50'sine karşılık gelen noktayı birleştiren doğrunun eğimidir (Şekil 5.30).



Şekil 5.30. Sekan modülünün (E_{50}) hesaplanması

Temiz, tuzlu, sülfatlı ve asitli su ortamlarında MKKÇ ile iyileştirilen zeminlerin elastisite modülü değerleri Şekil 5.31'de verilmiştir. Farklı su ortamları için elde edilen regresyon denklemleri ($R^2=0.82-0.90$) ile numunenin dayanımı kullanılarak elastisite modülü hesaplanabilir. Temiz, tuzlu ve sülfatlı su ortamlarındaki numunelerin dayanım-elastisite modülü arasındaki ilişki birbirine yakın olmaktadır. Ayrıca, temiz, tuzlu ve sülfatlı su ortamlarında E_{50} , $45q_u$ ile $70q_u$ arasında iken, asitli su ortamlarında $25q_u$ ile $45q_u$ arasında olmaktadır. Asitli su ortamında MKKÇ ile iyileştirilen zeminlerin dayanımı yüksek olmakla birlikte, diğer boşluksuyu ortamlarına göre daha sünek bir yapıdadır.



Şekil 5.31. Temiz, tuzlu, sülfatlı ve asitli ortamlardaki numunelerin dayanım-sekant modülü ilişkileri a) regresyon denklemleri, b) q_u - E_{50} ilişkisi

5.2.3. Kalsit Miktarı

Mikrobiyal İndüklenmiş Kalsiyum Karbonat Çökmesi (MKKÇ) yöntemiyle zemin iyileştirmesi yapıldığında, oluşan kalsit miktarını belirlemek için asitle yıkama yöntemi sık kullanılan, pratik ve etkili bir tekniktir. Bu yöntem, örnek içerisindeki kalsiyum karbonatı çözündürerek miktarını dolaylı yoldan ölçmeyi sağlar. Bu yöntemde

temel prensip, kalsiyum karbonat (CaCO_3), asitle reaksiyona girerek çözünür ve karbondioksit gazı açığa çıkar:



Bu reaksiyondan sonra numunede çözünen CaCO_3 miktarı hesaplanabilir. İyileştirilmiş zemin numunelerinden yaklaşık 30-40g numune alınmış (W_1) ve plastik tokmakla ufalanmıştır. Daha sonra, 1M HCl çözeltisi hazırlanmış ve numune bu çözelti içerisinde 15-20dk bekletilmiştir. Bu sırada oluşan tepkime ile karbon dioksit gazı ortaya çıkmıştır. Asit ve numune karışımı 200 numaralı elekten yıkanmış ve elek üstünde kalan numune kurutulmuştur. Kuru numunenin kütlesi W_2 olarak tartılmıştır. İyileştirilmiş numunenin içerisindeki kalsit miktarı;

$$\% \text{CaCO}_3 = (W_1 - W_2) / W_1 * 100 \quad (5.2)$$

formülü ile hesaplanmıştır.

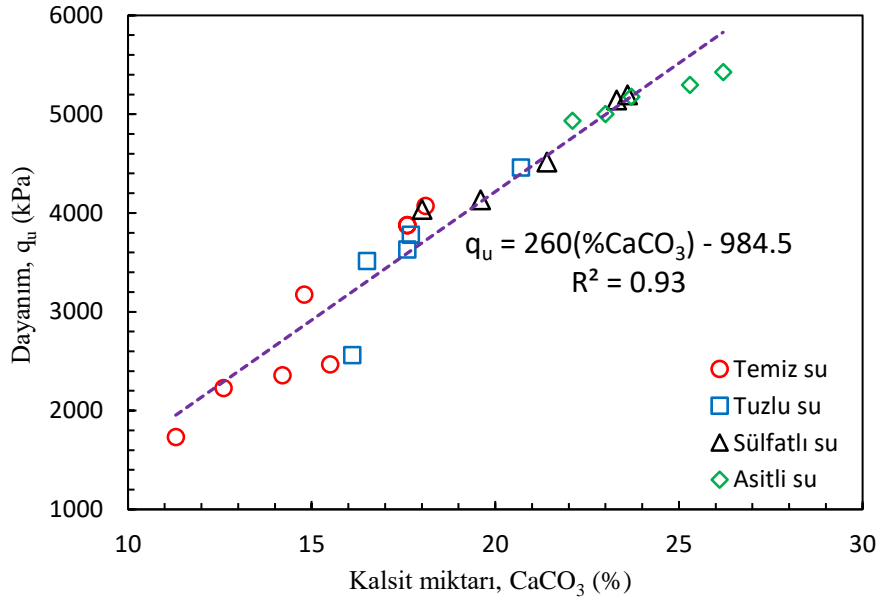
Temiz su ortamındaki iyileşmiş zeminlerde CaCO_3 miktarı %11.3-18.1 arasında olurken, dayanımları 1730.4-4071.5 kPa aralığında değişmektedir.

Tuzlu su ortamındaki iyileşmiş zeminlerde CaCO_3 miktarı %16.1-20.7 arasında olurken, dayanımları 2561.1-4460.3 kPa aralığında değişmektedir.

Sülfatlı su ortamındaki iyileşmiş zeminlerde CaCO_3 miktarı %18.0-23.6 arasında olurken, dayanımları 4035.7-5196.9 kPa aralığında değişmektedir.

Asitli su ortamındaki iyileşmiş zeminlerde CaCO_3 miktarı %22.1-26.2 arasında olurken, dayanımları 4933.3-5425.3 kPa aralığında değişmektedir.

Tüm numuneler için kalsit miktarı dayanım ilişkisi Şekil 5.32'de verilmiştir. Genel olarak MKKÇ ile iyileştirilen zeminlerde, kalsit miktarının artmasıyla dayanımın arttığı görülmektedir. Ayrıca, zemin taneleri arasında çökelen kalsit miktarının temiz su, tuzlu su, sülfatlı su ve asitli su ortamlarında giderek arttığı görülmektedir.



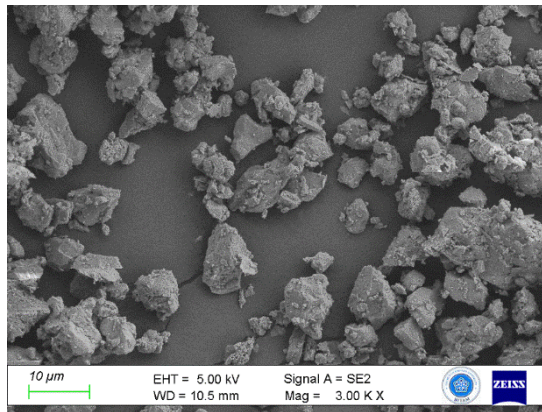
Şekil 5.32. Kalsit miktarı ve dayanım arasındaki ilişki

5.3. Mineralojik Özellikler

MKKÇ ile iyileştirilen kumlu zeminlerde dayanım artışları görülmüştür. Bu sonucun desteklenmesi için numunelerin mikro yapısı taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. MKKÇ ile iyileştirilen numunelerin mikro yapısında kalsit, vaterit ve aragonit gibi kristal yapılar oluşabilmektedir. Bunların tespiti için SEM, EDS ve FTIR analizleri gerçekleştirilmiştir.

5.3.1. SEM ve EDS analizleri

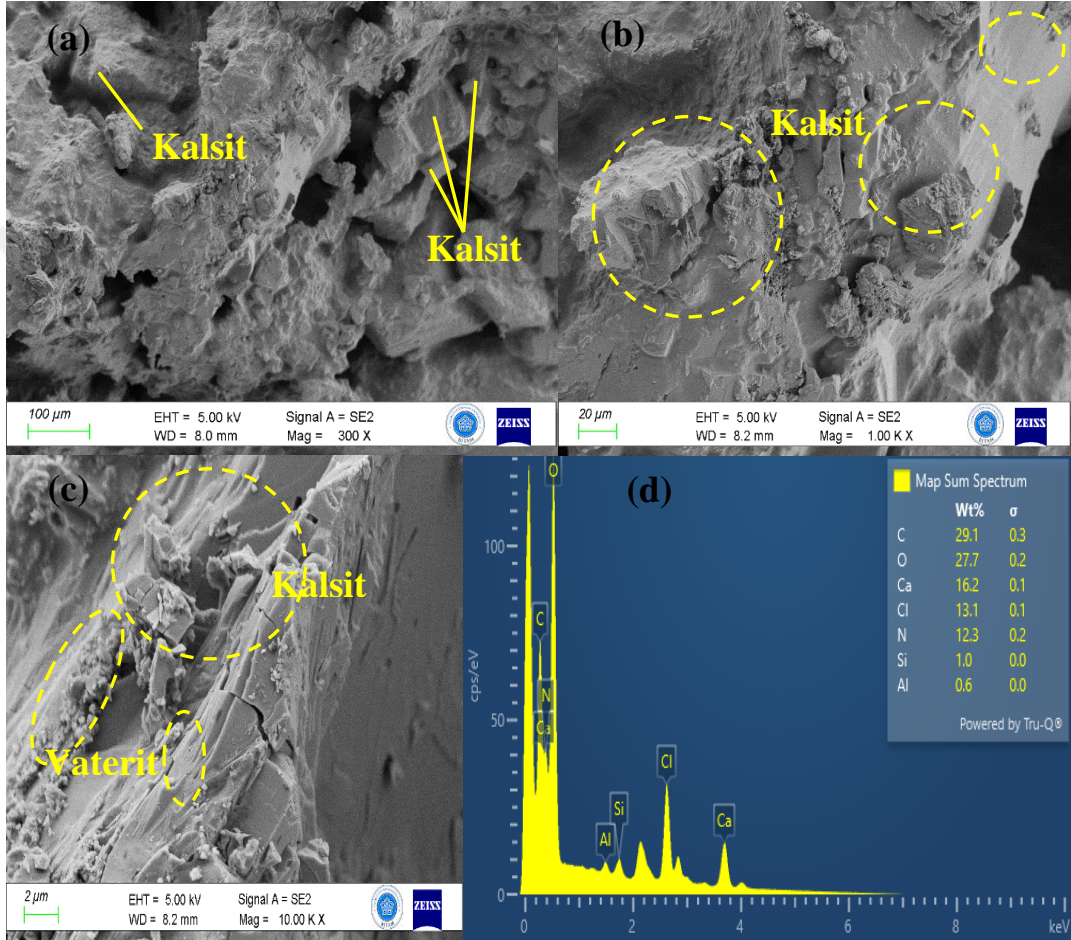
Kumlu zeminin iyileştirme öncesindeki SEM görüntüsü Şekil 5.33’de verilmiştir. Kum tanelerinin ayırık bir yapıda ve genellikle düzensiz ve köşeli tanelerden oluştuğu görülmektedir.



Şekil 5.33. İyileştirilmemiş kumlu zeminin SEM görüntüsü

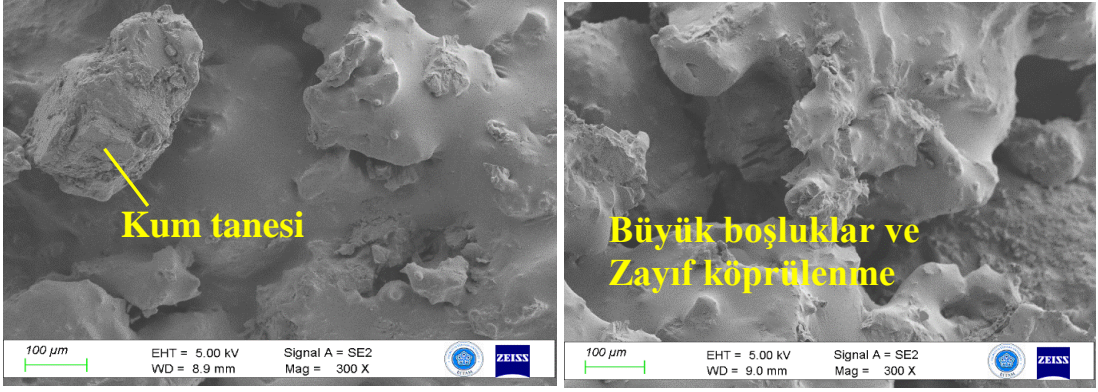
5.3.1.1. Temiz su ortamındaki iyileştirilmiş zeminler

Dr=%50, T=30°C, BY=10⁹ hücre/ml olan iyileştirilmiş zemin numunesinin mikro yapısı incelendiğinde, kum tanelerinin birbirine bağlandığını, yaklaşık 0.5 µm boyutlarında Vaterit ve 5-20 µm çaplarında kalsit kristalleri oluşmuştur. Numune atomik yapısında yaklaşık %16 Ca⁺² bulunmaktadır (Şekil 5.34).



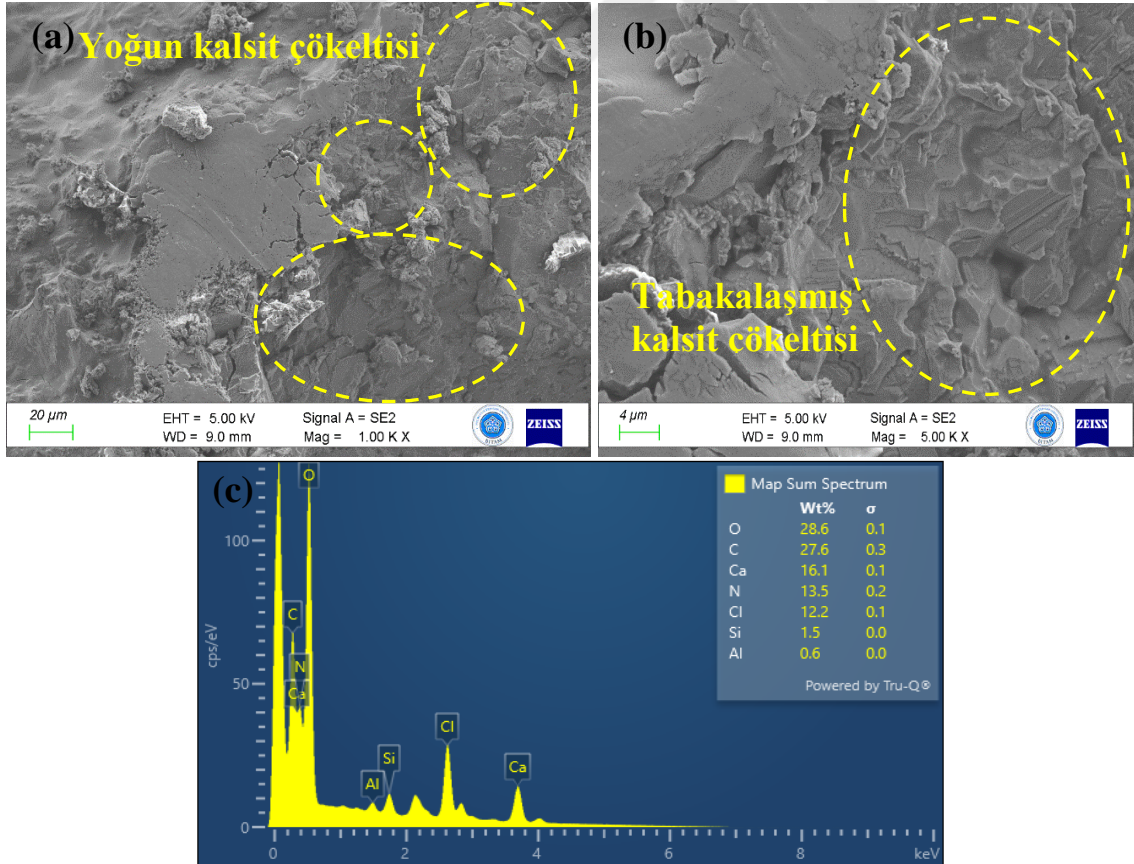
Şekil 5.34. Temiz su ortamındaki iyileştirilmiş zemin numunesine ait a, b, c) SEM görüntüleri ve d) EDS sonuçları (Dr=%50, T=30°C, BY=10⁹ hücre/ml)

Dr=%70, T=30°C, BY=10⁹ hücre/ml olan iyileştirilmiş zemin numunesinin mikro yapısı incelendiğinde, boşluk oranının az olması nedeniyle taneler arasında çökelen kalsit miktarının azaldığı ve büyük boşlukların (100 µm) oluşarak zayıf bir köprülenmenin olduğu görülmektedir (Şekil 5.35). Numunenin mikro yapı özellikleri, en düşük dayanımlı numune olmasını açıklamaktadır.



Şekil 5.35. Temiz su ortamındaki iyileşmiş zemin numunesine ait SEM görüntüleri (Dr=%70, T=30°C, BY=10⁹ hücre/ml)

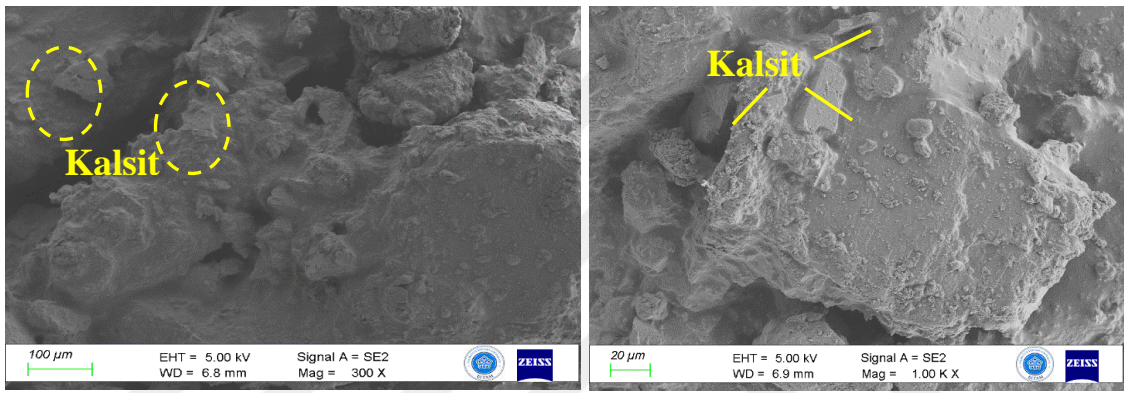
Dr=%50, T=20°C, BY=10⁹ hücre/ml olan iyileştirilmiş zemin numunesinin mikro yapısı incelendiğinde, boşluksuz bir yapıya sahip olduğu, kum tanelerinin arasının ve etrafının kalsit çökelleriyle kaplandığı görülmektedir. Aynı zamanda, kalsit çökellerinin zamanla üst üste gelerek konsolide olduğu ve 40-80 µm genişliğinde tabakalaşma meydana getirdiği görülmektedir (Şekil 5.36).



Şekil 5.36. Temiz su ortamındaki iyileşmiş zemin numunesine ait a, b) SEM görüntüleri ve c) EDS sonuçları (Dr=%50, T=20°C, BY=10⁹ hücre/ml)

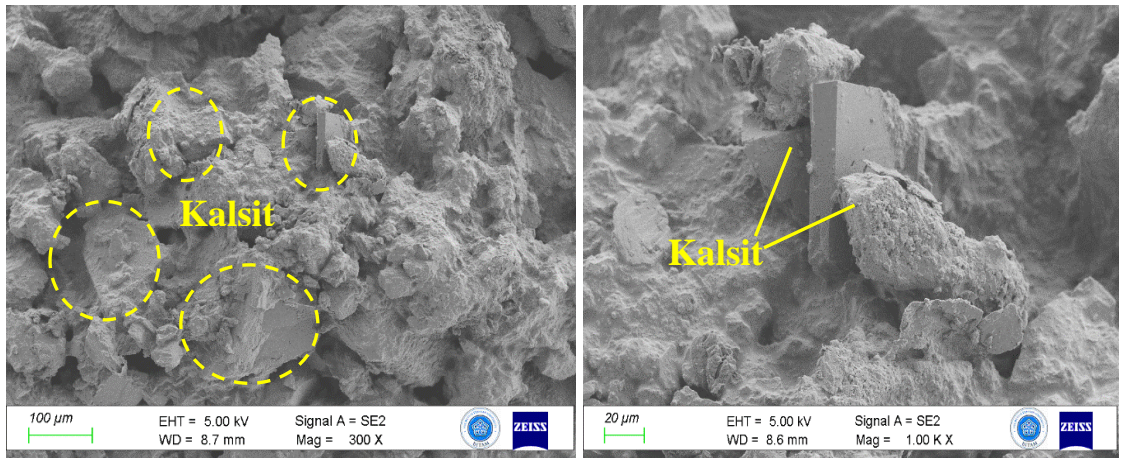
Şekil 5.36'da tabakalaşmanın görülmesi, MKKÇ sürecinin zamana bağlı olarak devam ettiğini, bakterilerin hücresel faaliyetleri devam ettikçe kalsit çökeltisinin oluştuğunu ve bu çökellerin üst üste gelerek daha büyük ve sağlam bileşikler meydana getirdiğini göstermektedir. Bu nedenle, en yüksek dayanım orta sıkı kumda, 20°C ortam sıcaklığında ve en yüksek bakteri yoğunluğunda elde edilmiştir. Ayrıca, numunede %16 oranında Ca atomu tespit edilmiştir.

Dr=%50, T=30°C, BY=10⁷ hücre/ml olan iyileştirilmiş zemin numunesinin mikro yapısı incelendiğinde, başlangıçtaki bakteri sayısının az olması nedeniyle kalsit miktarının az olduğu görülmektedir (Şekil 5.37).



Şekil 5.37. Temiz su ortamındaki iyileşmiş zemin numunesine ait SEM görüntüleri (Dr=%50, T=30°C, BY=10⁷ hücre/ml)

Dr=%50, T=30°C, BY=10⁸ hücre/ml olan iyileştirilmiş zemin numunesinin mikro yapısı incelendiğinde, oluşan kalsit miktarı ve numune dayanımı 10⁷ hücre/ml bakteri sayısından daha fazla olmuştur (Şekil 5.38).

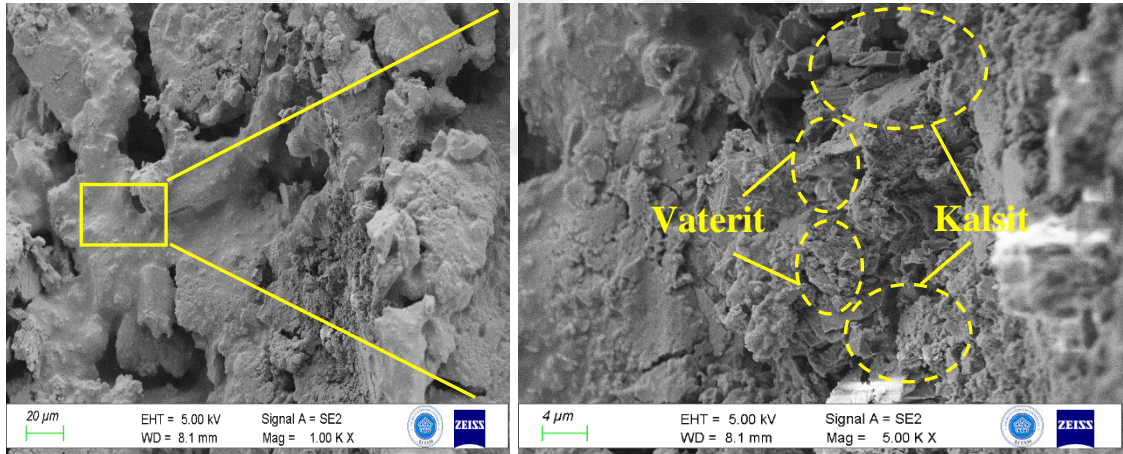


Şekil 5.38. Temiz su ortamındaki iyileşmiş zemin numunesine ait SEM görüntüleri (Dr=%50, T=30°C, BY=10⁸ hücre/ml)

5.3.1.2. Tuzlu su ortamındaki iyileştirilmiş zeminler

10g/lt tuzlu su ortamındaki iyileşmiş zemin numunesine ait SEM görüntülerine göre, numune iç yapısında kalsit ve Vaterit kristalleri bulunmaktadır (Şekil 5.39). Tuzlu suda bulunan NaCl, suda tamamen çözündüğü için atomik yapıda Na^+ katyonunun olması beklenmemektedir. Tuz konsantrasyonu 10g/lt iken en yüksek dayanım elde edilmiştir. Fakat, diğer tuz konsantrasyonlarında da yüksek dayanım değerlerine ulaşılmıştır. 100g/lt gibi çok yüksek tuzluluk oranında MKKÇ ile iyileştirilen zeminin dayanımı 2.6MPa olmaktadır. Bu dayanım değeri bile zemin iyileştirmesi için yeterlidir.

Temiz su ortamına göre, tuzlu su ortamında oluşan kalsit çökeltilerinin boyutu (yaklaşık 2-15 μm) daha küçüktür. Fakat tuzlu su ortamındaki dayanım değerleri temiz su ortamına yakın veya daha yüksek elde edilmiştir. Bu sonuç, tuzlu su ortamında kalsit çökellerinin kum taneleri arasındaki daha küçük boşluklara girerek köprülenme yaptığını göstermekte ve yüksek dayanım elde edilmesini açıklamaktadır.

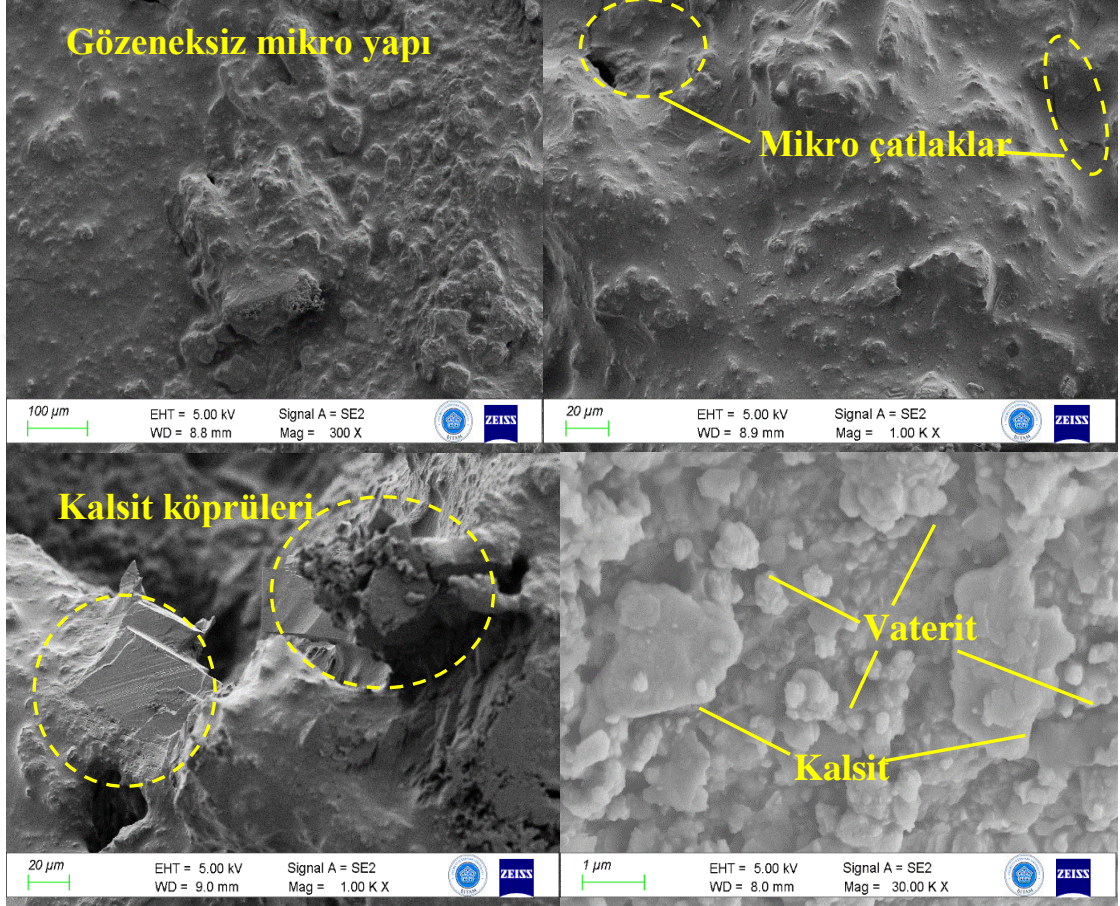


Şekil 5.39. 10g/lt tuzlu su ortamındaki iyileşmiş zemin numunesine ait SEM görüntüleri (Dr=%50, T=20°C, BY=109 hücre/ml)

5.3.1.3. Sülfatlı su ortamındaki iyileştirilmiş zeminler

2g/lt sülfatlı su ortamındaki iyileşmiş zemin numunesine ait SEM görüntüleri incelendiğinde, boşluksuz bir mikroya ile karşılaşılmaktadır. Numune iç yapısındaki mikro çatlakların genişliği 2 μm 'dan daha küçüktür. 20-40 μm genişliğinde kalsit çökelleri veya köprüleri görülürken, Vaterit kristallerinin boyutları yaklaşık 0.5 μm olmaktadır (Şekil 5.40). Vaterit kristallerinin kalsite göre daha erken dönemde oluştuğu bilinmektedir. Buna göre, öncelikli oluşan Vaterit kristalleri kum taneleri arasındaki daha

küçük boşlukları doldururken, daha sonra oluşan kalsit kristalleri ise arta kalan ve daha büyük çaplı boşlukları doldurmaktadır. Bu nedenle normal su ortamına göre çok daha boşluksuz bir mikro yapı meydana gelmektedir. Sonuç olarak sülfatlı su ortamlarında iyileştirilmiş zemin numunelerinin dayanımları 4.0-5.1 MPa arasında değişmektedir.

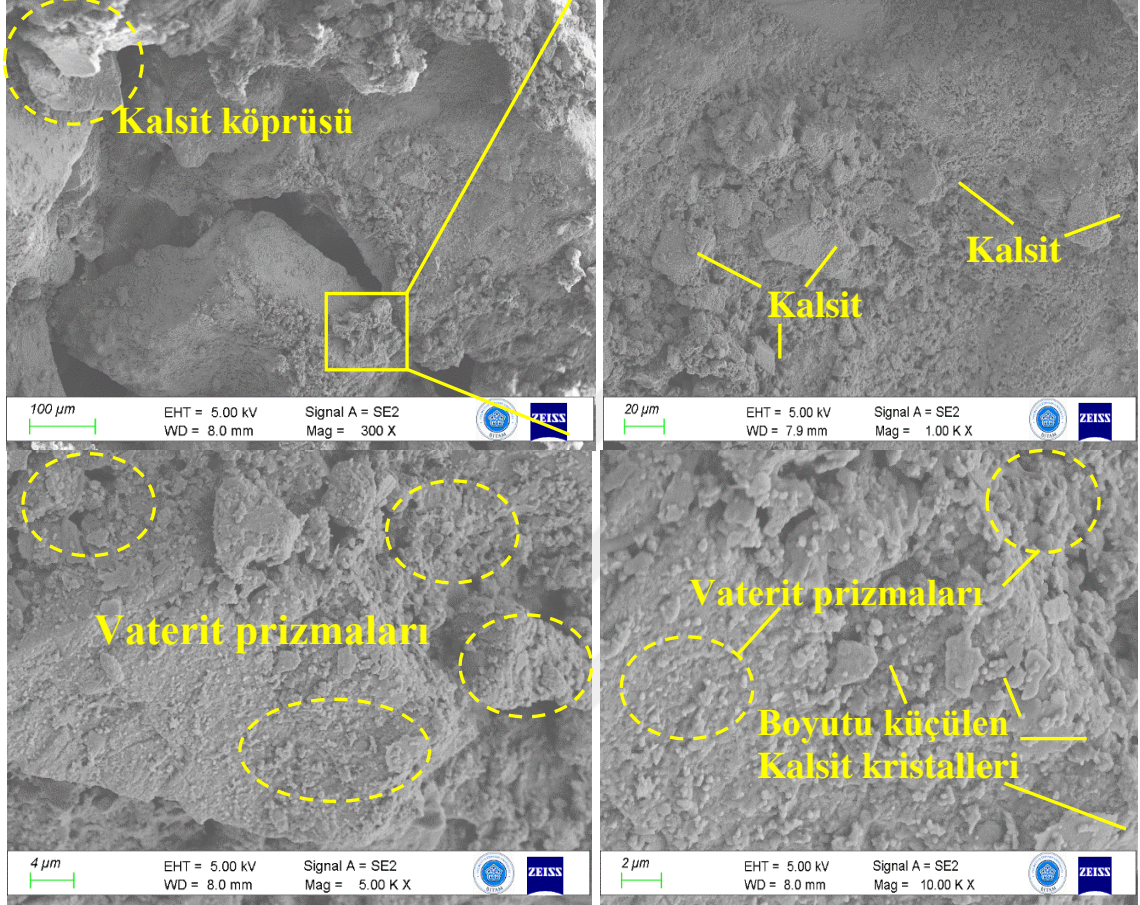


Şekil 5.40. 2g/lt sülfatlı su ortamındaki iyileşmiş zemin numunesine ait SEM görüntüleri ($D_r=50\%$, $T=20^\circ\text{C}$, $BY=10^9$ hücre/ml)

5.3.1.4. Asitli su ortamındaki iyileştirilmiş zeminler

Başlangıç pH=6.1 olan asitli su ortamındaki iyileşmiş zemin numunesine ait SEM görüntüleri incelendiğinde, 300 kat büyütmede boşluklu bir yapı görünmesine rağmen, boşluk çapları küçüktür (yaklaşık 10-20 μm). Ayrıca kum tanelerinin yüzeyinin ve boşlukların kalsit ve Vaterit prizmalarıyla dolduğu görülmektedir (Şekil 5.41). Normal, tuzlu veya asitli su ortamlarına göre kalsit boyutları yakın olmakla birlikte, Vaterit yoğunluğunun daha fazla arttığı görülmektedir. Bu sonuçlar, MKKÇ sürecinin kontrollü bir şekilde yürütüldüğünü, asitli yeraltı suyu ortamlarında hidroliz reaksiyonlarının

gerçekleştiğini ve biyoçimentolanma ürünlerinin oluştuğunu teyit etmektedir. Asitli su ortamlarında 4.9-5.4MPa dayanımın elde edilmesi, küçük boyutlarda olsa bile daha yoğun ve boşlukları dolduran biyoçimentolanma ürünlerinin varlığından dolayıdır.

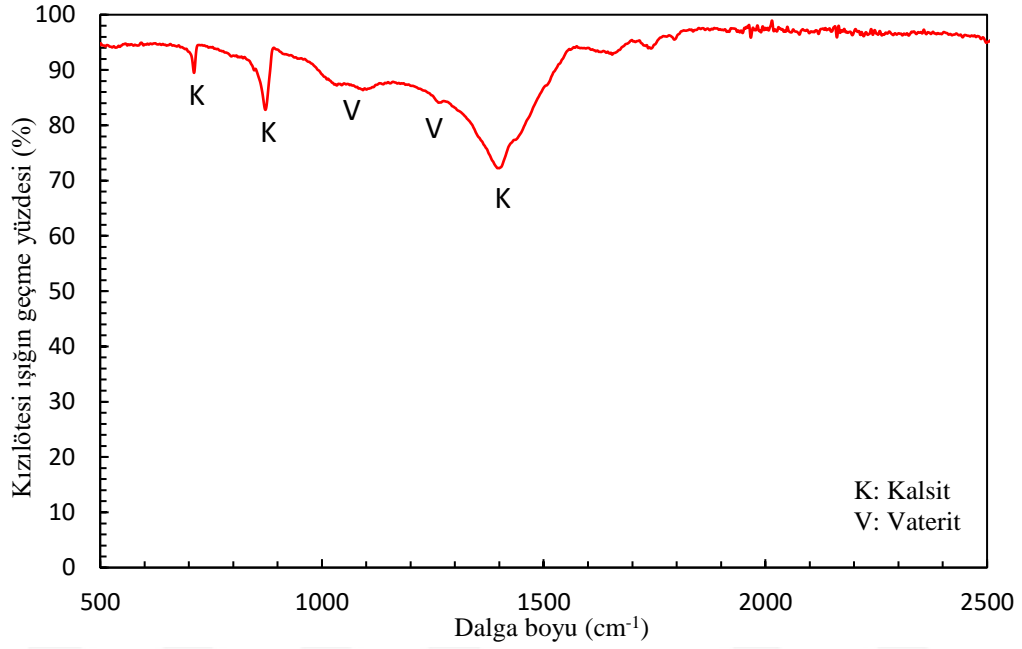


Şekil 5.41. Başlangıç pH=6.1 olan asitli su ortamındaki iyileşmiş zemin numunesine ait SEM görüntüleri (Dr=%50, T=20°C, BY=10⁹ hücre/ml)

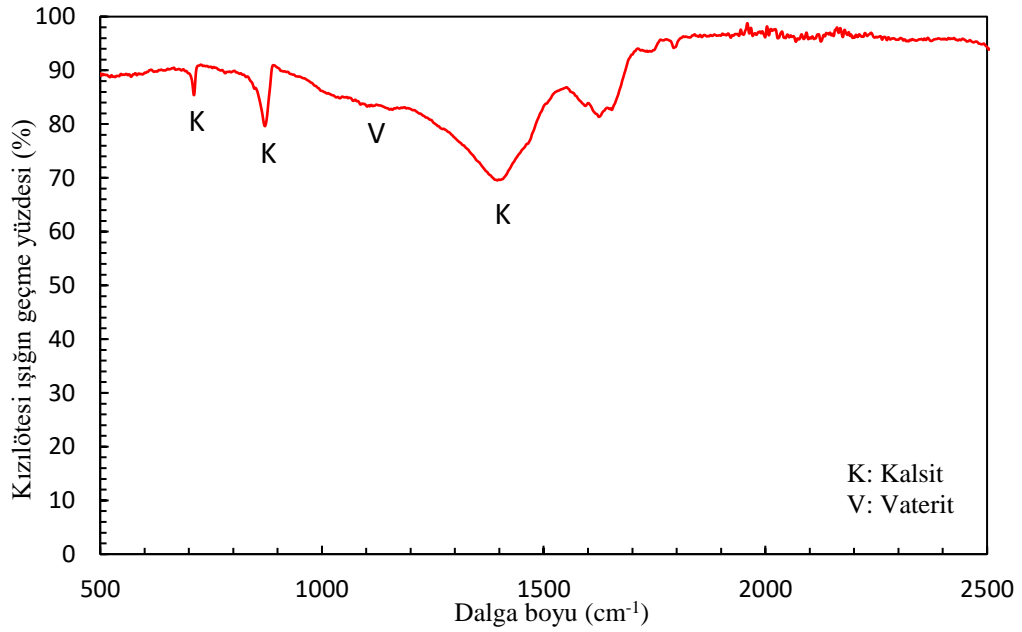
5.3.2. FTIR analizleri

Kalsit ve vaterit, kimyasal olarak aynı bileşiğe (CaCO₃ – kalsiyum karbonat) sahip olsalar da farklı kristal yapıları nedeniyle FTIR spektrumlarında farklı pikler verirler. Bu fark, onların FTIR analizinde ayırt edilmesini sağlar. Şekil 5.42-Şekil 5.46 arasında bazı numunelerin FTIR analiz sonuçları verilmiştir. Bu numunelerde, 714, 874 ve 1392 cm⁻¹ dalga boylarında kalsit, 1100 cm⁻¹ dalga boyunda ise vaterit tespit edilmiştir. Kalsit ve vaterit kristallerinin tespitinde, kızıl ötesi ışığın geçme yüzdesinin azalması o bileşiğin daha fazla ışığı absorbe etmesi anlamına gelmektedir. Bu nedenle, normal su ortamından, sırasıyla tuzlu, sülfatlı ve asitli ortamlara geçildikçe ışık geçirgenliği azalırken daha

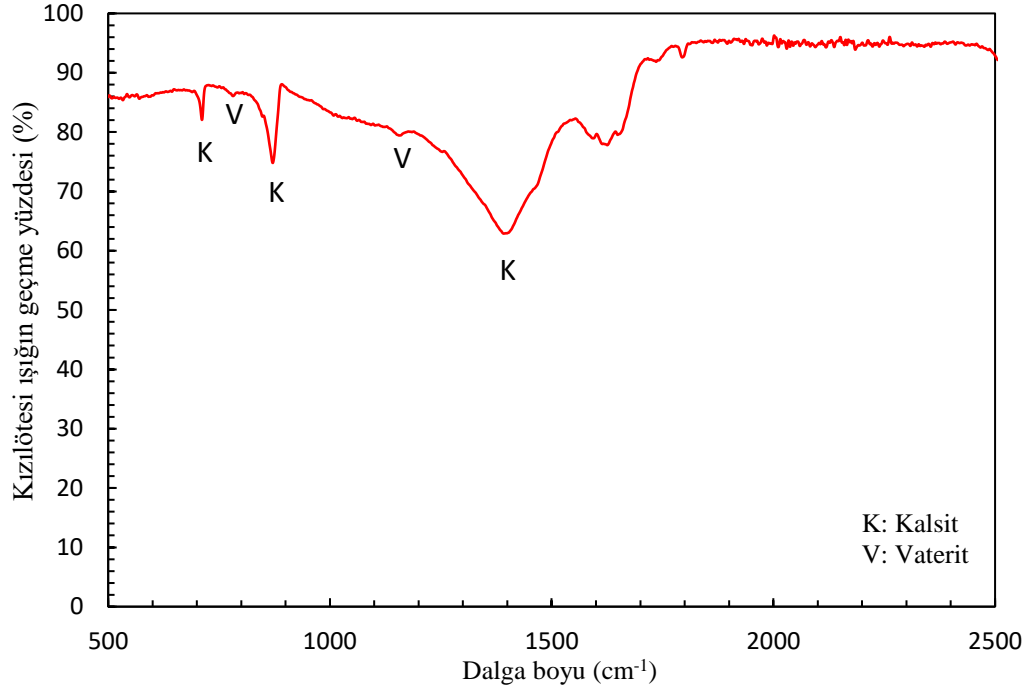
kararlı ve yoğun bir mikroyapıyla karşılaşılmaktadır. Bu sonuç da dayanım ve SEM görüntülerinden elde edilen sonuçları desteklemektedir. Örneğin, asitli su ortamında (başlangıç pH=6.1) en yüksek dayanım (5.4MPa) elde edilmiş ve SEM görüntülerinde tabakalaşan kalsit köprüleri tespit edilmişti. FTIR spektrumları elde edilen sonuçları doğrulamaktadır.



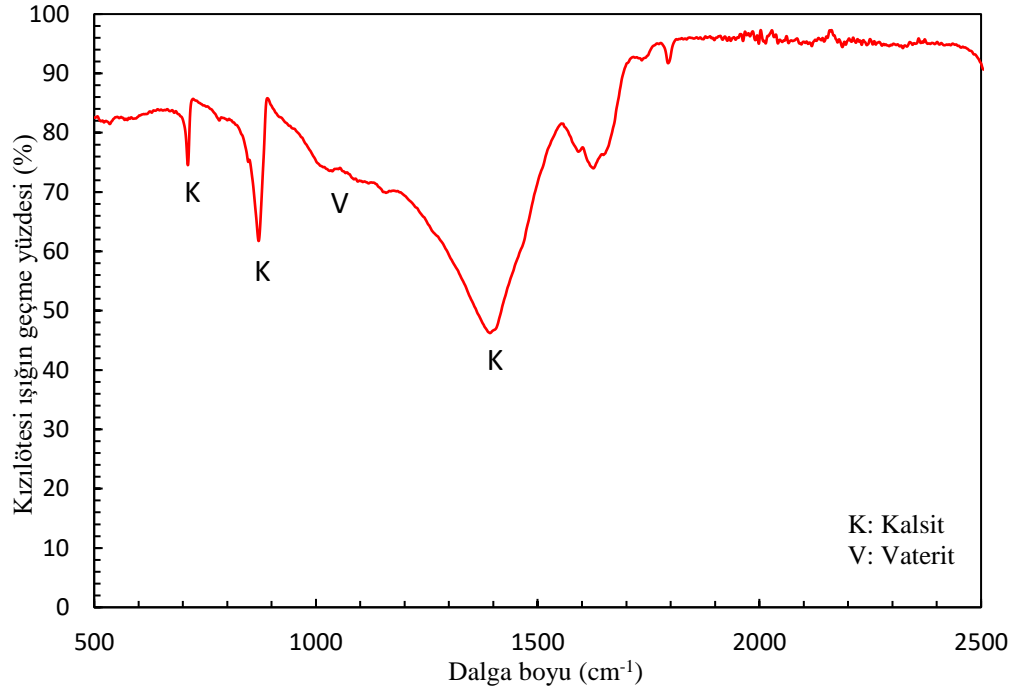
Şekil 5.42. Temiz su ortamındaki iyileştirilmiş zemin numunesine ait FTIR spektrumu (Dr=%50, T=30°C, BY=109 hücre/ml)



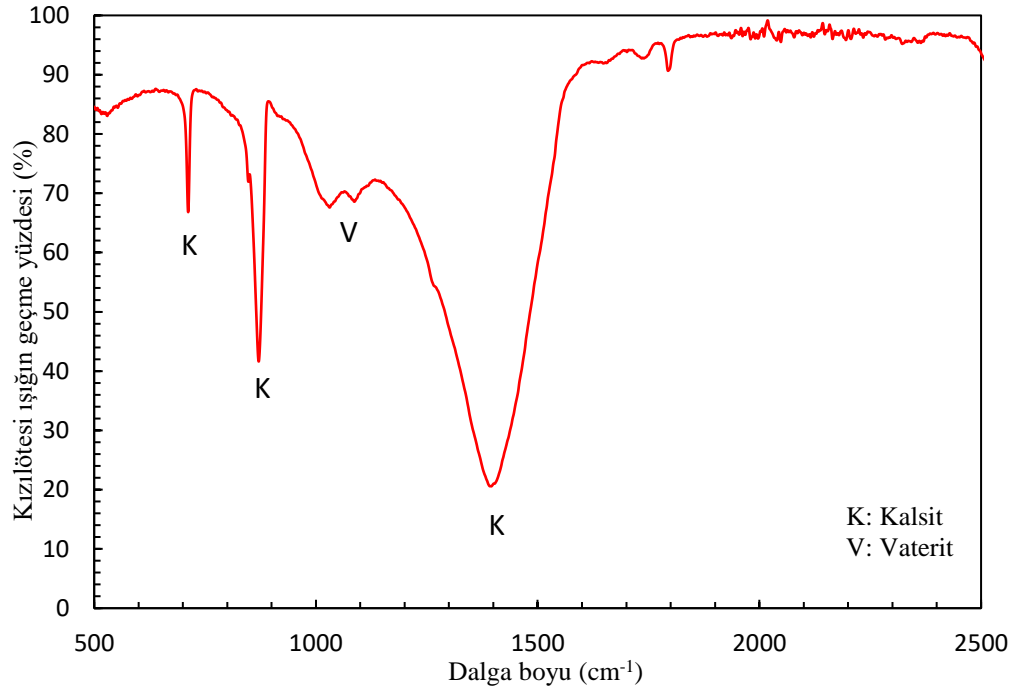
Şekil 5.43. Temiz su ortamındaki iyileştirilmiş zemin numunesine ait FTIR spektrumu (Dr=%50, T=20°C, BY=10⁹ hücre/ml)



Şekil 5.44. 10g/lit tuzlu su ortamındaki iyileştirilmiş zemin numunesine ait FTIR spektrumu (Dr=%50, T=20°C, BY=10⁹ hücre/ml)



Şekil 5.45. 2g/lit sülfatlı su ortamındaki iyileştirilmiş zemin numunesine ait FTIR spektrumu (Dr=%50, T=20°C, BY=10⁹ hücre/ml)



Şekil 5.46. Başlangıç pH=6.1 olan asitli su ortamındaki iyileştirilmiş zemin numunesine ait FTIR spektrumu (Dr=%50, T=20°C, BY=10⁹ hücre/ml)

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında, iyi derecelenmiş kumlu bir zemin (SW), biyolojik yöntem ile iyileştirilmiştir. Çalışmada kullanılan bakteri, *Sporosarcina pasteurii*, üreaz üretme ve üreyi hidrolize ederek amonyak ve bikarbonat iyonları oluşturma yeteneğiyle tanınan bir bakteri türüdür. Besi ortamı, yeast extract, üre, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (hidratlı kalsiyum klorür) ve sudan oluşmaktadır. Asit, sülfat ve tuzlu yeraltı suyu durumlarını benzetmek amacıyla sırasıyla %37 saflıkta hidroklorik asit (HCl), %48 saflıkta MgSO_4 ve sodyum klorür (NaCl) kullanılmıştır.

Temiz su ortamındaki çalışmalarda, iyileştirilmemiş zeminin sıklık derecesi %30-50-70 seçilerek gevşek, orta sıkı ve sıkı durumdaki zeminlerde MKKÇ oluşum etkisi incelenmiştir. Ortam sıcaklıkları 20-30-45°C ve bakteri yoğunluğu 10^7 - 10^8 - 10^9 hücre/ml seçilmiştir. Çalışmanın diğer bölümünde, farklı konsantrasyonlardaki kimyasal boşluk sıvısına sahip kumlu zeminlerde MKKÇ oluşumu ve iyileştirilmiş zemin özellikleri araştırılmıştır. Bu bölümde iyileştirilmemiş kumlu zeminin sıklık derecesi %50, ortam sıcaklığı 20°C ve bakteri yoğunluğu 10^9 hücre/ml olarak sabit tutulmuştur. Tuz konsantrasyonu 1-100 g/l aralığında ve sülfat konsantrasyonu 0,3-2 g/l aralığında belirlenmiştir. Asitli yeraltı suyu durumunu incelemek için pH değerleri 4.6-6.6 arasında olan seyreltik HCl çözeltileri hazırlanmıştır.

Bakteriyel çözeltiler, bakteri kültürü ve besiyer çözeltilerinden oluşmaktadır. Bakteri kültürü mikrobiyoloji laboratuvarı ortamında hazırlandığı için saf su ile çoğaltılmıştır. Besi çözeltileri hazırlanırken, yeast extract, kalsiyum klorür dihidrat ve üre “su” ile karıştırılmıştır. Besi çözeltilerindeki su, çeşme suyu, asitli, sülfatlı veya tuzlu su olabilmektedir. Daha sonra, zemin sıklığına bağlı olarak zemindeki boşluk hacminin yarısı bakteri kültürü, diğer yarısı besiyer çözeltileri olacak şekilde bakteri+besiyer çözeltileri hazırlanmıştır. Kalıplara yerleştirilen iyileştirilmemiş zemin üzerine, zemin boşluk hacmi kadar bakteri+besiyer çözeltileri şırınga yardımıyla enjekte edilmiştir. Bakterilerin yaşamlarını sürdürebilmeleri ve MKKÇ oluşumunun artırılması amacıyla, numunelere 5 gün boyunca ve gün aşırı olmak üzere besiyer çözeltileri enjekte edilmiştir. 5 gün sonunda, bakterilerin tamamen ölmesine kadar ve MKKÇ oluşumunun maksimum seviyeye gelmesi için 7 gün boyunca hiçbir işlem yapmadan ortam sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Bakteri enjeksiyonuyla iyileştirilen kumlu zeminlerin fiziksel, mekanik ve mineralojik özelliklerini belirlemek amacıyla birtakım deneyler yürütülmüştür. Fiziksel özellikler belirlenirken iyileştirilmiş zeminin yoğunluk ve pH ölçümleri yapılmıştır.

Mekanik özellikleri belirlemek amacıyla serbest basınç deneyleri yapılmış ve dayanım (q_u) ile sekant modülü (E_{50}) belirlenmiştir. Mineralojik özelliklerin belirlenmesi için ise SEM, EDS ve FTIR analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

Temiz yeraltı suyu ortamında

- Temiz yeraltı suyu ortamında bakteri enjeksiyonu ile iyileştirilen zemin numunelerinin birim hacim ağırlıkları $16.4-18.1 \text{ kN/m}^3$ arasında değişmektedir.
- Bakteri kültürlerinin pH değerleri $8.03-8.38$ (bazik) olmasına karşın, bakteri ve besiyer çeşme suyu ile karıştırıldığında ortamın pH değeri azalarak asidik konuma ($\text{pH}=6.71-6.88$) gelmektedir.
- Maksimum dayanım %50 sıklık oranında elde edilirken, daha düşük ($D_r=\%30$) veya daha yüksek ($D_r=\%70$) sıklık oranları zemin direncini azaltmaktadır. Gevşek kumda, boşluk çapı büyük olduğu için boşlukların hepsi kalsit ile dolamamaktadır. Sıkı kumda ise porozitenin az olması, bakterilerin hareketini engellemekte ve kalsitin homojen dağılımını önlemektedir, bu da zeminin mukavemetinin azalmasına neden olmaktadır. Orta düzeyde bir sıkıştırma oranı optimum gözenekliliğin elde edilmesini sağlayarak bakteri ve besin maddelerinin dolaşımını teşvik etmektedir.
- UCS deney sonuçları, basınç direncinin 20°C 'de maksimum seviyede olduğunu, 30°C 'de biraz daha düşük olduğunu (%4.8 azalma) ve 45°C 'de önemli ölçüde azaldığını (%45) göstermektedir.
- Bakteri yoğunluğunun 10^7 hücre/ml'den 10^8 hücre/ml'ye artması iyileştirilmiş kumun dayanımını %5 artırırken, 10^9 hücre/ml yoğunlukta dayanım artışı %65 olmuştur.
- Temiz su ortamındaki iyileştirilmiş kum zeminlerde CaCO_3 miktarı %11.3-18.1 arasında olurken, basınç dayanımı $1.7-4.1 \text{ MPa}$ arasında değişmektedir.
- Temiz su ortamında MKKÇ ile iyileştirilen kumların sekant modülü (E_{50}) ile serbest basınç dayanımı (q_u) arasında $E_{50}=55.2q_u+14.7$ ($R^2=0.90$) şeklinde bir ilişki bulunmaktadır.
- İyileştirilmiş zeminlerin mikro yapısında kalsit kristalleri ($40-80 \mu\text{m}$ kalınlığında) tespit edilmiştir. Fakat kalsit kristallerinin miktarı ve boyutu, zemin sıklığına, ortam sıcaklığına ve bakteri hücre sayısına göre değişmektedir.

Tuzlu yeraltı suyu (NaCl) ortamında

- Tuzlu yeraltı suyu ortamında bakteri enjeksiyonu ile iyileştirilen zemin numunelerinin birim hacim ağırlıkları, tuz yoğunluğu 10g/lt değerine kadar artmakta, daha sonra azalmaktadır. Birim hacim ağırlık değerleri 17.2-18.2 kN/m³ arasında değişmektedir.
- Bakteri solüsyonu enjekte edildiği anda tuz yoğunluğuna bağlı olarak ortamın pH değerleri 6.69-6.85 arasında değişmektedir.
- Tuzlu su ortamındaki iyileştirilmiş kum zeminlerin CaCO₃ miktarı %16.1-20.7 arasında ve basınç dayanımı 2.6-4.5MPa arasında değişmektedir. Tuz yoğunluğu 1g/lt'den 10g/lt'ye arttığında dayanım artarken, daha yüksek tuz konsatrasyonlarında dayanım azalmaktadır. Dayanım 10g/lt tuzlu su ortamında maksimum olmaktadır. Bu ortamdaki dayanım temiz su ortamından %9.5 daha yüksektir. Yüksek tuzluluk oranlarında bile (deniz suyu, %35 tuzluluk) dayanımın 3.8MPa olması, MKKÇ yönteminin deniz/okyanus kıyılarında veya tabanında uygulanabileceğini göstermektedir. Tuzlu suyun kapiler kuvvetleri artırması sonucu bakteriyel enjeksiyon kum taneleri arasındaki küçük boşluklara bile nüfuz ederek, yüksek dayanımlar elde edilmesini sağlamıştır.
- Bakteri kültürü sonradan tuzlu su içerikli besiyerle karşılaştığı için, bu duruma adaptasyon göstererek hücre içi osmoregülasyon artmış ve üreaz aktivitesi baskılanmamıştır. Yüksek NaCl içeriği, CaCO₃ kristallerinin yoğun çökmesine neden olmuştur. Aragonit veya vaterit gibi bileşikler yerine büyük hacimli ve köprüleyici kalsit kristallerinin oluşmasıyla kum taneleri arasında daha güçlü bağlar kurulmuştur.
- Tuzlu su ortamında MKKÇ ile iyileştirilen kumların sekant modülü (E₅₀) ile serbest basınç dayanımı (q_u) arasında E₅₀=66.9q_u-24 (R²=0.82) şeklinde bir ilişki bulunmaktadır.
- SEM görüntülerinde, tuzlu su ortamında oluşan kalsit çökeltilerinin boyutunun (yaklaşık 2-15 µm) temiz su ortamına göre daha küçük olduğu tespit edilmiştir. Halbuki tuzlu su ortamındaki dayanım değerleri temiz su ortamına yakın veya daha yüksek elde edilmiştir. Bu sonuç, tuzlu su ortamında küçük boyutlu kalsit çökellerinin kum taneleri arasındaki daha küçük boşluklara girerek köprülenme yaptığını ve yüksek dayanım elde edilmesini açıklamaktadır.

Sülfatlı yeraltı suyu ortamında

- Sülfatlı yeraltı suyu ortamında bakteri enjeksiyonu ile iyileştirilen zemin numunelerinin birim hacim ağırlıkları, sülfat yoğunluğu ile birlikte artmaktadır. Birim hacim ağırlık değerleri 17.3-18.4 kN/m³ arasında değişmektedir.
- Bakteri solüsyonu enjekte edildiği anda sülfat yoğunluğuna bağlı olarak ortamın pH değerleri 6.73-6.83 arasında değişmektedir.
- Sülfatlı su ortamındaki iyileştirilmiş kum zeminlerin CaCO₃ miktarı %18.0-23.6 arasında iken basınç dayanımı 4.0-5.2MPa arasında değişmektedir. 0.3-0.6 g/lit MgSO₄ yoğunluğuna sahip kumların dayanımı temiz su ortamındakine yakın olmakla birlikte, sülfat yoğunluğu arttıkça dayanım artmaktadır. Dayanım artışı 1.5 g/lit'nin üzerindeki sülfat oranlarında direnç artışı oldukça az olup yalnızca %1 seviyesinde kalmaktadır.
- Sülfatlı su ortamında MKKÇ ile iyileştirilen kumların sekant modülü (E₅₀) ile serbest basınç dayanımı (q_u) arasında E₅₀=63.5q_u-0.9 (R²=0.84) şeklinde bir ilişki bulunmaktadır.
- İyileştirilmiş zeminin mikro yapısında, 20-40 µm genişliğinde kalsit çökelleri veya köprüleri görülürken, Vaterit kristallerinin boyutları yaklaşık 0.5 µm olmaktadır. Mg iyonları kalsit kristalleşmesini engellerken aragonit büyümesini teşvik etmektedir.

Asitli yeraltı suyu ortamında

- Asitli yeraltı suyu ortamında bakteri enjeksiyonu ile iyileştirilen zemin numunelerinin birim hacim ağırlıkları, ortamın pH değeri 6.1'e kadar artmakta, daha yüksek pH değerinde azalmaktadır. Birim hacim ağırlık değerleri 17.7-18.8 kN/m³ arasında değişmektedir.
- Bakteri solüsyonu enjekte edildiği anda asit yoğunluğuna bağlı olarak ortamın pH değerleri 6.71-6.83 arasında değişmektedir.
- Asitli su ortamındaki iyileştirilmiş kum zeminlerin CaCO₃ miktarı %22.1-26.2 arasında iken basınç dayanımı 4.9-5.4MPa arasında değişmektedir. Asitli su ortamında elde edilen dayanımlar, temiz su (pH=6.88) ortamından daha yüksek olmuştur. Bakteri enjeksiyonunun başlangıç pH değeri 6.8'e kadar dayanım artarken, başlangıç pH'nın daha fazla artması dayanımı düşürmektedir.

- Asitli su ortamında MKKÇ ile iyileştirilen kumların sekant modülü (E_{50}) ile serbest basınç dayanımı (q_u) arasında $E_{50}=173.8q_u-727.3$ ($R^2=0.88$) şeklinde bir ilişki bulunmaktadır.

Biyolojik yöntemle zemin stabilizasyonunun yapıldığı çalışmalarda, özellikle tuzlu ve sülfatlı su koşullarında, bakteri kültürü çoğaltılırken tuzlu/sülfatlı su koşulunda yetiştirildiği görülmektedir. Bu durumda bakterilerin sayısı ve üreaz aktivitesinin azaldığı, sonuç olarak da kimyasal boşluk sıvısının olduğu ortamlarda iyileştirmenin olumsuz etkilendiği raporlanmıştır. Fakat, tez çalışması kapsamında bakteriler distile su ortamında çoğaltılmış (bakteri kültürü), zemin iyileştirmesi aşamasında bakteri kültürü besi solüsyonu ve kimyasal boşluk sıvısı (tuz, sülfat veya asit) ile karıştırılmıştır. Bu yöntem ile, bakteriler sonradan kimyasal sıvı ile temas ettiği için ortama adaptasyon göstererek üreaz aktiviteleri baskılanmamıştır. Ayrıca, tuzlu, sülfatlı veya asitli yeraltı suyunun bulunduğu kumlu zeminlere bakteri+besiyer çözeltisi enjekte edildiğinde, ortamın pH değerleri genellikle 6.7-6.9 aralığında değişmektedir. Bu durumda ortam asidik olmakla birlikte nötr pH değerine yakındır. Bakterilerin hücresel faaliyetleri ile bu pH değerinin bir miktar daha yükselmesi ve ortamın bazik olması beklenmektedir. Bakterilerin hücresel faaliyetlerinin devam etmesi için optimum pH değerinin 7-8 arasında olduğu düşünülürse, biyolojik reaksiyonların farklı kimyasal boşluk sıvısına sahip kumlu zeminlerde başarılı olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, MKKÇ ile zemin stabilizasyonu işleminde, bakteriyel enjeksiyon zemine ilk kez enjekte edildikten sonra, 5gün boyunca ortama besi solüsyonu ilave edilmiştir. Bu sayede bakterilerin çoğalması teşvik edilmiş, süreç boyunca kalsit çökeltisi oluşumu desteklenmiştir. Çalışmaların bu metodoloji ile yürütülmesi sonucunda;

- Bakteri popülasyonunun korunması,
- Başlangıç pH'ının 6.7-6.9 aralığında olması ile üreaz üretimi ve aktivasyonu optimize edilmiş olması,
- Üroliz reaksiyonları ile kontrollü pH artışı ve üre hidrolizinde devamlılık,
- Boşluk sıvısının kimyasal özelliklerine göre değişken boyutlarda kalsit veya vaterit kristal çökeltilerinin oluşması sağlanmıştır.

Tuzlu, sülfatlı veya asitli boşluk sıvısının olduğu kumlu zeminlerde, MKKÇ ile iyileştirme sonrasında 2.6-5.4MPa serbest basınç dayanımı elde edilmiştir. Zemin iyileştirme çalışmalarında genellikle 1MPa dayanımın yeterli olduğu düşünülürse, MKKÇ ile iyileştirilmiş zeminlerin basınç dayanımı yeterince yüksektir. Ayrıca, temiz, tuzlu ve sülfatlı su ortamlarında E_{50} , $45q_u-70q_u$ arasında iken, asitli su ortamlarında $25q_u-45q_u$ arasında olmaktadır. Kumlu zeminlerin mekanik özelliklerindeki iyileşme, MKKÇ sürecinde çökelen kalsit miktarıyla doğru orantılıdır. Serbest basınç dayanımı (q_u) ile çökelen kalsit ($CaCO_3$) miktarı arasında $q_u=260(\%CaCO_3)-984.5$ ($R^2=0.93$) şeklinde bir ilişki kurulmuştur. Mineralojik özellikler ise boşluk sıvısının kimyasından etkilenmektedir. MKKÇ süreci sonunda kalsit ve vaterit kristallerinin oluşumu gözlenmiştir. Fakat, kalsit ve vaterit kristallerinin miktarı ve boyutu boşluk sıvısının kimyasal özelliğine göre değişmektedir. Temiz su ortamında daha büyük boyutlu ama az miktarda biyo-çimentolanma ürünleri oluşurken, ortamın sırasıyla tuzlu, sülfatlı ve asitli olması halinde biyo-çimentolanma ürünlerinin boyutlarının küçülerek ama miktarlarının artarak oluştuğu belirlenmiştir.

7. KAYNAKLAR

- Achal, V., Mukherjee, A., Basu, P. C., & Reddy, M. S. (2009). Strain improvement of *Sporosarcina pasteurii* for enhanced urease and calcite production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(7), 981-988. <https://doi.org/10.1007/s10295-009-0578-z>
- Achal, V., & Pan, X. (2011). Characterization of Urease and Carbonic Anhydrase Producing Bacteria and Their Role in Calcite Precipitation. *Current Microbiology*, 62(3), 894-902. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9801-4>
- Achal, V., & Pan, X. (2014). Influence of Calcium Sources on Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation by *Bacillus* sp. CR2. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173(1), 307-317. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0842-1>
- Allahyari, H., Heidarpour, A., & Shayan, A. (2021). Experimental and analytical studies of bacterial self-healing concrete subjected to alkali-silica-reaction. *Construction and Building Materials*, 310, 125149. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.125149>
- Anbu, P., Kang, C.-H., Shin, Y.-J., & So, J.-S. (2016). Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. *SpringerPlus*, 5(1), 250. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1869-2>
- Aspiotis, K., Sotiriadis, K., Ntaska, A., Mácová, P., Badogiannis, E., & Tsvivilis, S. (2021). Durability assessment of self-healing in ordinary Portland cement concrete containing chemical additives. *Construction and Building Materials*, 305, 124754. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.124754>
- ASTM D216. (2016). *Standard Test Method for Unconfined Compressive Strength of Cohesive Soil*. https://store.astm.org/d2166_d2166m-13.html
- Bagriacik, B., Sani, Z. K., Uslu, F. M., Yigittekin, E. S., & Dincer, S. (2021). An experimental approach to microbial carbonate precipitation in improving the engineering properties of sandy soils. *Annals of Microbiology*, 71(1), 37. <https://doi.org/10.1186/s13213-021-01644-6>
- Bansal, R., Dhama, N. K., Mukherjee, A., & Reddy, M. S. (2016). *Biocalcification by halophilic bacteria for remediation of concrete structures in marine environment*.
- Barkouki, T. H., Martinez, B. C., Mortensen, B. M., Weathers, T. S., De Jong, J. D., Ginn, T. R., Spycher, N. F., Smith, R. W., & Fujita, Y. (2011). Forward and Inverse Bio-Geochemical Modeling of Microbially Induced Calcite Precipitation in Half-Meter Column Experiments. *Transport in Porous Media*, 90(1), 23-39. <https://doi.org/10.1007/s11242-011-9804-z>
- Bartlett, R. (1998). *Solution Mining: Leaching and Fluid Recovery of Materials*. Routledge. <https://doi.org/10.4324/9780203357613>

- Beauchamp, J. (2016). *Qualite et pollution des eaux souterraines*. <https://www.u-picardie.fr/beauchamp/cours.qge/du-8.htm?utm>.
- Bernardi, D., DeJong, J. T., Montoya, B. M., & Martinez, B. C. (2014). Bio-bricks: Biologically cemented sandstone bricks. *Construction and Building Materials*, 55, 462-469. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2014.01.019>
- Chen, B., Sun, W., Sun, X., Cui, C., Lai, J., Wang, Y., & Feng, J. (2021). Crack sealing evaluation of self-healing mortar with *Sporosarcina pasteurii*: Influence of bacterial concentration and air-entraining agent. *Process Biochemistry*, 107, 100-111. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.05.001>
- Cheng, L., Cord-Ruwisch, R., & Shahin, M. (2013). Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of saturation. *Canadian Geotechnical Journal*, 50, 81-90. <https://doi.org/10.1139/cgj-2012-0023>
- Cheng, L., Shahin, M., & Cord-Ruwisch, R. (2014). Bio-cementation of sandy soil using microbially induced carbonate precipitation for marine environments. *Géotechnique*, 64, 1010. <https://doi.org/10.1680/geot.14.T.025>
- Cheng, L., Shahin, M., Cord-Ruwisch, R., Addis, M., Hartanto, T., & Elms, C. (2014). *Soil stabilisation by Microbial-Induced Calcite Precipitation (MICP): Investigation into some physical and environmental aspects*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Soil-stabilisation-by-Microbial-Induced-Calcite-and-Cheng-Shahin/de32b9b9058c3149262abb968b533e9d92011992>
- Chittoori. (2008). *Clay mineralogy effects on long-term performance of Chemically treated expansive clays*.
- Choi, S.-G., Wang, K., Wen, Z., & Chu, J. (2017). Mortar crack repair using microbial induced calcite precipitation method. *Cement and Concrete Composites*, 83, 209-221. <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2017.07.013>
- Chu, J., Ivanov, V., Naeimi, M., Stabnikov, V., & Liu, H.-L. (2014). Optimization of calcium-based bioclogging and biocementation of sand. *Acta Geotechnica*, 9(2), 277-285. <https://doi.org/10.1007/s11440-013-0278-8>
- Chu, J., Varaksin, S., Klotz, U., Meng, & Patrick. (2009). Construction Processes. *İçinde Proceedings of the 17th International Conference on Soil Mechanics and Geotechnical Engineering (Volumes 1, 2, 3 and 4)* (ss. 3006-3135). IOS Press. <https://doi.org/10.3233/978-1-60750-031-5-3006>
- Clarà Saracho, A., Haigh, S. K., Hata, T., Soga, K., Farsang, S., Redfern, S. A. T., & Marek, E. (2020). Characterisation of CaCO₃ phases during strain-specific ureolytic precipitation. *Scientific Reports*, 10(1), 10168. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66831-y>
- Cui, M.-J., Zheng, J.-J., Zhang, R.-J., Lai, H.-J., & Zhang, J. (2017). Influence of cementation level on the strength behaviour of bio-cemented sand. *Acta Geotechnica*, 12(5), 971-986. <https://doi.org/10.1007/s11440-017-0574-9>

- Cuzman, O. A., Richter, K., Wittig, L., & Tiano, P. (2015). Alternative nutrient sources for biotechnological use of *Sporosarcina pasteurii*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(6), 897-906. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1844-z>
- Dadda, A., Geindreau, C., Emeriault, F., du Roscoat, S. R., Garandet, A., Sapin, L., & Filet, A. E. (2017). Characterization of microstructural and physical properties changes in biocemented sand using 3D X-ray microtomography. *Acta Geotechnica*, 12(5), 955-970. <https://doi.org/10.1007/s11440-017-0578-5>
- Dawoud, O., Chen, C., & Soga, K. (2014). *Microbial Induced Calcite Precipitation for Geotechnical and Environmental Applications*. 11-18. <https://doi.org/10.1061/9780784413456.002>
- De Muynck, W., Cox, K., Belie, N. D., & Verstraete, W. (2008). Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete. *Construction and Building Materials*, 22(5), 875-885. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2006.12.011>
- De Muynck, W., De Belie, N., & Verstraete, W. (2010). Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review. *Ecological Engineering*, 36(2), 118-136. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.02.006>
- DeJong, J. T., & al. (2013). *Biogeochemical processes and geotechnical applications: Progress, opportunities and challenges*.
- DeJong, J. T., Mortensen, B. M., Martinez, B. C., & Nelson, D. C. (2010). Bio-mediated soil improvement. *Ecological Engineering*, 36(2), 197-210. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.12.029>
- Dhami, N. K., Reddy, M. S., & Mukherjee, A. (2013a). Biomineralization of calcium carbonates and their engineered applications: A review. *Frontiers in Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00314>
- Dikshit, R. (2021). *Sporosarcina pasteurii can Efficiently Precipitate Calcium Carbonate at High Salt Concentration*. <https://doi.org/10.6084/M9.FIGSHARE.17501689>
- Dong, B., Liu, S., Cai, Y., & Tu, B. (2021). Evaluation of the effect of natural seawater strengthening calcareous sand based on MICP. *Yantu Lixue/Rock and Soil Mechanics*, 42. <https://doi.org/10.16285/j.rsm.2020.1068>
- Dupraz, C., & Visscher, P. T. (2005). Microbial lithification in marine stromatolites and hypersaline mats. *Trends in Microbiology*, 13(9), 429-438. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.07.008>
- Dupraz, S., Ménez, B., Gouze, P., Leprovost, R., Bénézech, P., Pokrovsky, O., & Guyot, F. (2009). Experimental Approach of CO₂ Biomineralization in Deep Saline Aquifers. *Chemical Geology*, 265, 54-62. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2008.12.012>

- Ekinci, A. (2011). Zemin iyileştirme yöntemleri, zemin etüdü ve uygulama alanlar. *oct 2011*.
- Erşan, Y. Ç., Verbruggen, H., De Graeve, I., Verstraete, W., De Belie, N., & Boon, N. (2016). Nitrate reducing CaCO₃ precipitating bacteria survive in mortar and inhibit steel corrosion. *Cement and Concrete Research*, 83, 19-30. <https://doi.org/10.1016/j.cemconres.2016.01.009>
- F.g, F., V, P., Y, F., & R.w, S. (2003). *KINETICS OF CALCITE PRECIPITATION INDUCED BY UREOLYTIC BACTERIA AT 10 TO 20°C IN ARTIFICIAL GROUNDWATER*. <https://repository.geologyscience.ru/handle/123456789/36539>
- Fu, Q., Wu, Y., Liu, S., Lu, L., & Wang, J. (2022). The adaptability of *Sporosarcina pasteurii* in marine environments and the feasibility of its application in mortar crack repair. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/359753162_The_adaptability_of_Sporosarcina_pasteurii_in_marine_environments_and_the_feasibility_of_its_application_in_mortar_crack_repair
- Fujita, Y., Taylor, J. L., Gresham, T. L. T., Delwiche, M. E., Colwell, F. S., McLing, T. L., Petzke, L. M., & Smith, R. W. (2008). Stimulation Of Microbial Urea Hydrolysis In Groundwater To Enhance Calcite Precipitation. *Environmental Science & Technology*, 42(8), 3025-3032. <https://doi.org/10.1021/es702643g>
- Gandolfi, P. (2021). *Assessing the effect of pore-scale heterogeneity on glass beads treated with microbially induced calcite precipitation* [Laurea, Politecnico di Torino]. <https://webthesis.biblio.polito.it/19894/>
- Gao, Y., Hang, L., He, J., & Chu, J. (2019a). Mechanical behaviour of biocemented sands at various treatment levels and relative densities. *Acta Geotechnica*, 14. <https://doi.org/10.1007/s11440-018-0729-3>
- Gao, Y., Hang, L., He, J., & Chu, J. (2019b). Mechanical behaviour of biocemented sands at various treatment levels and relative densities. *Acta Geotechnica*, 14(3), 697-707. <https://doi.org/10.1007/s11440-018-0729-3>
- Geburu, K. A., Kidanemariam, T. G., & Gebretinsae, H. K. (2021). Bio-cement production using microbially induced calcite precipitation (MICP) method: A review. *Chemical Engineering Science*, 238, 116610. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2021.116610>
- Gorospe, C. M., Han, S.-H., Kim, S.-G., Park, J.-Y., Kang, C.-H., Jeong, J.-H., & So, J.-S. (2013). Effects of different calcium salts on calcium carbonate crystal formation by *Sporosarcina pasteurii* KCTC 3558. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18(5), 903-908. <https://doi.org/10.1007/s12257-013-0030-0>
- Güneş, G. (2018, Ekim 27). *Yeraltı Suyu Kalitesinin Fizikokimyasal Parametrelerle Belirlenmesi: Bartın İli Örneği*.

- Hammes, F., Boon, N., Villiers, J., Verstraete, W., & Siciliano, S. (2003). Strain-Specific Ureolytic Microbial Calcium Carbonate Precipitation. *Applied and environmental microbiology*, 69, 4901-4909. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.8.4901-4909.2003>
- Hammes, F., & Verstraete*, W. (2002). Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 1(1), 3-7. <https://doi.org/10.1023/A:1015135629155>
- Han, Q., Xiao, Y., & Li, P. (2023). Study on the effects of different polymicrobial environments on *b. Pasteurii* survivability, urease activity, and crack healing. *ResearchGate*.
https://www.researchgate.net/publication/376121668_Study_on_the_effects_of_different_polymicrobial_environments_on_b_Pasteurii_survivability_urease_activity_and_crack_healing
- Imran, M., Nakashima, K., & Kawasaki, S. (2021). Bio-Mediated Soil Improvement Using Plant Derived Enzyme in Addition to Magnesium Ion. *Crystals*, 11. <https://doi.org/10.3390/cryst11050516>
- Jain, S., Mishra, P. N., Tiwari, S., Wang, Y., Jiang, N.-J., Dash, H., Chang, I., Kumar, A., Das, S., Scheuermann, A., & Bore, T. (2023). Biological perspectives in geotechnics: Theoretical developments. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 22. <https://doi.org/10.1007/s11157-023-09671-2>
- Jiang, N.-J., Yoshioka, H., Yamamoto, K., & Soga, K. (2016). Ureolytic activities of a urease-producing bacterium and purified urease enzyme in the anoxic condition: Implication for subseafloor sand production control by microbially induced carbonate precipitation (MICP). *Ecological Engineering*, 90, 96-104. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.073>
- Jonkers, H. M., Thijssen, A., Muyzer, G., Copuroglu, O., & Schlangen, E. (2010). Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. *Ecological Engineering*, 36(2), 230-235. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.12.036>
- Kang, C.-H., Han, S.-H., Shin, Y., Oh, S. J., & So, J.-S. (2014). Bioremediation of Cd by Microbially Induced Calcite Precipitation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(6), 2907-2915. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0737-1>
- Karol, R. (2003). *Chemical Grouting and Soil Stabilization*. <https://doi.org/10.4324/9780429213830>
- Khaliq, W., & Ehsan, M. B. (2016). Crack healing in concrete using various bio influenced self-healing techniques. *Construction and Building Materials*, 102, 349-357. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2015.11.006>
- Khoshtinat, S. (2023). *Advancements in Exploiting Sporosarcina pasteurii as Sustainable Construction Material: A Review*.
- Konhauser, K. O. (2009). *Introduction to Geomicrobiology* (1. bs). Wiley-Blackwell. <https://www.perlego.com/book/2762478/introduction-to-geomicrobiology-pdf>

- Konstantinou, C., Biscontin, G., Jiang, N.-J., & Soga, K. (2021). Application of microbially induced carbonate precipitation to form bio-cemented artificial sandstone. *Journal of Rock Mechanics and Geotechnical Engineering*, 13(3), 579-592. <https://doi.org/10.1016/j.jrmge.2021.01.010>
- Konstantinou, C., Wang, Y., Biscontin, G., & Soga, K. (2021). The role of bacterial urease activity on the uniformity of carbonate precipitation profiles of bio-treated coarse sand specimens. *Scientific Reports*, 11(1), 6161. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85712-6>
- Lauchnor, E. G., Schultz, L. N., Bugni, S., Mitchell, A. C., Cunningham, A. B., & Gerlach, R. (2013). Bacterially Induced Calcium Carbonate Precipitation and Strontium Coprecipitation in a Porous Media Flow System. *Environmental Science & Technology*, 47(3), 1557-1564. <https://doi.org/10.1021/es304240y>
- Li, W., Chen, W.-S., Zhou, P.-P., Cao, L., & Yu, L.-J. (2013). Influence of initial pH on the precipitation and crystal morphology of calcium carbonate induced by microbial carbonic anhydrase. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, 281-287. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.08.042>
- Mahawish, A., Bouazza, A., & Gates, W. P. (2018). Effect of particle size distribution on the bio-cementation of coarse aggregates. *Acta Geotechnica*, 13(4), 1019-1025. <https://doi.org/10.1007/s11440-017-0604-7>
- Martinez, B. C., DeJong, J. T., & Ginn, T. R. (2014). Bio-geochemical reactive transport modeling of microbial induced calcite precipitation to predict the treatment of sand in one-dimensional flow. *Computers and Geotechnics*, 58, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.compgeo.2014.01.013>
- Menglong, Z., Zhao, L., Li, G., Zhu, C., Dong, S., Li, Z.-B., Tang, C.-S., Chen, J., & Ji, J. (2021). Microbially Induced Magnesium Carbonate Precipitation and its Potential Application in Combating Desertification. *Geomicrobiology*, 38, 549-560. <https://doi.org/10.1080/01490451.2021.1900461>
- Mitchell, A. C., & Ferris, F. G. (2005). The coprecipitation of Sr into calcite precipitates induced by bacterial ureolysis in artificial groundwater: Temperature and kinetic dependence. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(17), 4199-4210. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2005.03.014>
- MITCHELL, J. K. (1981). *Soil Improvement—State-of-the-Art Report*. <https://www.issmge.org/publications/publication/soil-improvement-state-of-the-art-report>
- Mitchell, J. K., & Santamarina, J. C. (2005). Biological Considerations in Geotechnical Engineering. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 131(10), 1222-1233. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)1090-0241\(2005\)131:10\(1222\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-0241(2005)131:10(1222))

- Mobley, H. L., & Hausinger, R. P. (1989). Microbial ureases: Significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiological Reviews*, 53(1), 85-108. <https://doi.org/10.1128/mr.53.1.85-108.1989>
- Mobley, H. L., Island, M. D., & Hausinger, R. P. (1995). Molecular biology of microbial ureases. *Microbiological Reviews*, 59(3), 451-480. <https://doi.org/10.1128/mr.59.3.451-480.1995>
- Molins, S., Trebotich, D., Steefel, C. I., & Shen, C. (2012). An investigation of the effect of pore scale flow on average geochemical reaction rates using direct numerical simulation. *Water Resources Research*, 48(3), 2011WR011404. <https://doi.org/10.1029/2011WR011404>
- Mortensen, B. m., Haber, M. j., DeJong, J. t., Caslake, L. f., & Nelson, D. c. (2011). Effects of environmental factors on microbial induced calcium carbonate precipitation. *Journal of Applied Microbiology*, 111(2), 338-349. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05065.x>
- Mujah, D., Cheng, L., & Shahin, M. A. (2019). Microstructural and Geomechanical Study on Biocemented Sand for Optimization of MICP Process. *Journal of Materials in Civil Engineering*, 31(4), 04019025. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0002660](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0002660)
- Ng, W., Lee, M., & Hii, S. (2012a). An Overview of the Factors Affecting Microbial-Induced Calcite Precipitation and its Potential Application in Soil Improvement. *Journal of Civil and Environmental Engineering*. <https://www.semanticscholar.org/paper/An-Overview-of-the-Factors-Affecting-Calcite-and-in-Ng-Lee/204b6a9bfc98a91536fdf7e38b104d17b067e232>
- Ng, W., Lee, M., & Hii, S. (2012b). An Overview of the Factors Affecting Microbial-Induced Calcite Precipitation and its Potential Application in Soil Improvement. *Journal of Civil and Environmental Engineering*. <https://www.semanticscholar.org/paper/An-Overview-of-the-Factors-Affecting-Calcite-and-in-Ng-Lee/204b6a9bfc98a91536fdf7e38b104d17b067e232>
- Noiriel, C., Steefel, C. I., Yang, L., & Bernard, D. (2016). Effects of pore-scale precipitation on permeability and flow. *Advances in Water Resources*, 95, 125-137. <https://doi.org/10.1016/j.advwatres.2015.11.013>
- Okur, N., Çengel, M., & Göçmez, S. (2002). Influence of salinity on microbial respiration and enzyme activity of soils. *Acta Horticulturae*, 573, 189-194. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.573.21>
- Okwadha, G. D. O., & Li, J. (2010). Optimum conditions for microbial carbonate precipitation. *Chemosphere*, 81(9), 1143-1148. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.066>
- Qabany, A. A., M.ASCE, K. S., & A.M.ASCE, C. S. (2012). *Factors Affecting Efficiency of Microbially Induced Calcite Precipitation*.

- Qabany, A. A., & Soga, K. (2013). *Effect of chemical treatment used in MICP on engineering properties of cemented soils*.
- Qian, C., Wang, R., Cheng, L., & Wang, J. (2010). Theory of Microbial Carbonate Precipitation and Its Application in Restoration of Cement-based Materials Defects. *Chinese Journal of Chemistry*, 28(5), 847-857. <https://doi.org/10.1002/cjoc.201090156>
- Ramachandran, S. K., Ramakrishnan, V., & Bang, S. S. (2001). Remediation of Concrete Using Microorganisms. *ACI Materials Journal*, 98(1). <https://doi.org/10.14359/10154>
- Rowshanbakht, K., Khomehchiyan, M., Sajedi, R. H., & Nikudel, M. R. (2016). Effect of injected bacterial suspension volume and relative density on carbonate precipitation resulting from microbial treatment. *Ecological Engineering*, 89, 49-55. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.010>
- Rushdi, A. I., Pytkowicz, R. M., Suess, E., & Chen, C. T. (1992). The effects of magnesium-to-calcium ratios in artificial seawater, at different ionic products, upon the induction time, and the mineralogy of calcium carbonate: A laboratory study. *Geologische Rundschau*, 81(2), 571. <https://doi.org/10.1007/BF01828616>
- Sanchez-Roman, M., Rivadeneyra, M. A., Vasconcelos, C., & McKenzie, J. A. (2007). Biomineralization of carbonate and phosphate by moderately halophilic bacteria: Mineral precipitation by halophilic bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 61(2), 273-284. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00336.x>
- Sarda, D., Choonia, H. S., Sarode, D. D., & Lele, S. S. (2009). Biocalcification by *Bacillus pasteurii* urease: A novel application. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36(8), 1111-1115. <https://doi.org/10.1007/s10295-009-0581-4>
- Shahrokhi, R., O'Connell, B. C., & Kelly. (2016). *Improving sand with microbial-induced carbonate precipitation*. https://www.academia.edu/14070629/Improving_sand_with_microbial_induced_carbonate_precipitation
- Stocks-Fischer, S., Galinat, J. K., & Bang, S. S. (1999). Microbiological precipitation of CaCO₃. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(11), 1563-1571. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00082-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00082-6)
- Terzis, D., Bernier-Latmani, R., & Laloui, L. (2016). Fabric characteristics and mechanical response of bio-improved sand to various treatment conditions. *Géotechnique Letters*, 6(1), 50-57. <https://doi.org/10.1680/jgele.15.00134>
- Terzis, D., & Laloui, L. (2018). 3-D micro-architecture and mechanical response of soil cemented via microbial-induced calcite precipitation. *Scientific Reports*, 8(1), 1416. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19895-w>

- Terzis, D., & Laloui, L. (2019). A decade of progress and turning points in the understanding of bio-improved soils: A review. *Geomechanics for Energy and the Environment*, 19, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.gete.2019.03.001>
- TSE ve EPA. (2005). *TSE 266 ve EPA standartları*. Yandex. <https://www.yandex.com.tr/search/?text=TSE+266+ve+EPA+standartlar%C4%B1&clid=2411726>
- Van Paassen, L. A., Daza, C. M., Staal, M., Sorokin, D. Y., Van Der Zon, W., & Van Loosdrecht, Mark. C. M. (2010). Potential soil reinforcement by biological denitrification. *Ecological Engineering*, 36(2), 168-175. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.03.026>
- Wang, J. Y., Snoeck, D., Van Vlierberghe, S., Verstraete, W., & De Belie, N. (2014). Application of hydrogel encapsulated carbonate precipitating bacteria for approaching a realistic self-healing in concrete. *Construction and Building Materials*, 68, 110-119. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2014.06.018>
- Wang, Y., Liu, H., Zhang, Z., Xiao, P., He, X., & Xiao, Y. (2019). Study on Low-Strength Biocemented Sands Using a Temperature-Controlled MICP (Microbially Induced Calcite Precipitation) Method. İçinde H. Khabbaz, H. Youn, & M. Bouassida (Ed.), *New Prospects in Geotechnical Engineering Aspects of Civil Infrastructures* (ss. 15-26). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-95771-5_2
- Whiffin, V. S. (2004). *Microbial CaCO₃ precipitation for the production of biocement*. Murdoch University. <https://researchportal.murdoch.edu.au/esploro/outputs/doctoral/Microbial-CaCO3-precipitation-for-the-production/991005540291407891>
- Whiffin, V., van Paassen, L., & Harkes, M. P. (2007). Microbial Carbonate Precipitation as a Soil Improvement Technique. *Geomicrobiology Journal- GEOMICROBIOL J*, 24, 417-423. <https://doi.org/10.1080/01490450701436505>
- Whitman, W. B., Coleman, D. C., & Wiebe, W. J. (1998). Prokaryotes: The unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(12), 6578-6583. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.12.6578>
- Xanthakos, P. P., Abramson, L., & Bruce, D. A. (1994). Download Ground Control and Improvement. *PaidShitForFree*. <https://paidshitforfree.com/ground-control-and-improvement-by-petros-p-xanthakos-pdf/>
- Xiao, Y., Wang, Y., Wang, S., Evans, T. M., Stuedlein, A. W., Chu, J., Zhao, C., Wu, H., & Liu, H. (2021). Homogeneity and mechanical behaviors of sands improved by a temperature-controlled one-phase MICP method. *Acta Geotechnica*, 16(5), 1417-1427. <https://doi.org/10.1007/s11440-020-01122-4>
- Xu, X., Guo, H., Cheng, X., & Li, M. (2020). The promotion of magnesium ions on aragonite precipitation in MICP process. *Construction and Building Materials*, 263, 120057. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.120057>

- Yan, H., Han, Z., Tucker, M., & Zhao, H. (2022). Effects of Chloride, Sulfate and Magnesium Ions on the Biomineralization of Calcium Carbonate Induced by *Lysinibacillus xylanilyticus* DB1-12. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/361085926_Effects_of_Chloride_Sulfate_and_Magnesium_Ions_on_the_Biomineralization_of_Calcium_Carbonate_Induced_by_Lysinibacillus_xylanilyticus_DB1-12
- Yenginar, Y. (2013). *Zemin Özelliklerinin Mikrobiyolojik Yöntemlerle İyileştirilmesi*.
- Yenginar, Y. (2020). *Derin karıştırma kolonlarının performansını etkileyen faktörlerin model deneylerle araştırılması* [Doctoral Thesis, Konya Teknik Üniversitesi]. <https://gcris.ktun.edu.tr/handle/20.500.13091/1535>
- Zhang, Y., & Dawe, R. A. (2000). *Influence of Mg²⁺ on the kinetics of calcite precipitation and calcite crystal morphology*.
- Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., & Van 't Riet, K. (1990). Modeling of the Bacterial Growth Curve. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1875-1881. <https://doi.org/10.1128/aem.56.6.1875-1881.1990>