

Mikrobiyal Kalsiyum Karbonat Oluşum Mekanizmaları ve Uygulama Alanları

Nazlhan YILDIRIM¹, Yeşim GÜRTÜĞ², Cenk SESAL^{1*}

¹Marmara Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

²Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Dünya nüfusunun artmasına bağlı olarak, kentleşme oranının yükselmesiyle ihtiyaç duyulan konut ve iş alanı sayısı artmıştır. Bu nedenle, dayanaksız inşaat alanlarının, mühendislik uygulamaları ile güçlendirilmesi gerekliliği ortaya çıkmıştır. Günümüzde, çoğu güçlendirme teknikleri arasında biyolojik onarım etkili bir yöntemdir. Bu bağlamda, son yıllarda, inşaat ve çevre alanında biyokimyasal kalsiyum karbonat (CaCO₃) oluşumu ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Mikrobiyal CaCO₃ oluşumu, alkalofilik mikroorganizmalar tarafından çeşitli biyokimyasal mekanizmalar ile gerçekleştirilen bir süreçtir. Bu süreç ile ilgili, inşaat mühendisliği alanında çatlak onarılması, alt yapısı yetersiz bölgelerin iyileştirilmesi, inşaat yapılarındaki sıvıya bağlı basıncın azaltılması, tarihi eserlerin onarılması gibi uygulamalara ilişkin çalışmalar yapılmaktadır. Ayrıca, çevre mühendisliği alanında özellikle endüstriyel atıkların doğaya ve insana verdikleri zararı ortadan kaldırmak için ağır metallerin çöktürülerek uzaklaştırılması işleminde mikrobiyal CaCO₃ oluşum metodu kullanılmaktadır. Bu derlemede, mikrobiyal CaCO₃ oluşum mekanizmaları hakkında bilgi verilecek ve bu mekanizmalar ile son yıllarda inşaat ve çevre mühendisliği alanında sıklıkla adı geçen ağır metallerin çöktürülerek uzaklaştırılması, biyoçimentolama ve biyoonarım üzerine yapılan araştırmalar ele alınacak ve bu alanda etkili prokaryotik organizmalardan bahsedilecektir.

Anahtar kelimeler: Biyoçimentolama, Biyolojik onarım, Biyomineralizasyon, Mikrobiyal ağır metal uzaklaştırılması

Microbial Calcium Carbonate Formation Mechanisms and Application Areas

ABSTRACT

With rising world population the urbanization and the demand for house and office construction are considerably increased. Accordingly, weak construction sites should be stabilized for the required engineering properties. Among many stabilization techniques, nowadays, biological stabilization is the efficient method. Therefore, civil and environmental studies on biochemical calcium carbonate formation are considerably increased. Microbial calcium carbonate formation is a biochemical mechanism employed by alkalophilic microorganisms. Many applications can be utilized via calcium carbonate formation method such as remediation of crack formation, the stabilization of problematic areas, reducing water pressures in construction sites, restoration of historical buildings. Moreover, in environmental engineering the calcium carbonate formation method is used in removal of heavy metals from industrial wastes to reduce harm to the nature and human health. In this review, the formation of calcium carbonate mechanisms will be explained and its use in civil and environmental engineering, like biocementation and formation of heavy metals in industrial wastes will be discussed. Published studies in this regard will be summarized and efficient prokaryote organisms will be mentioned.

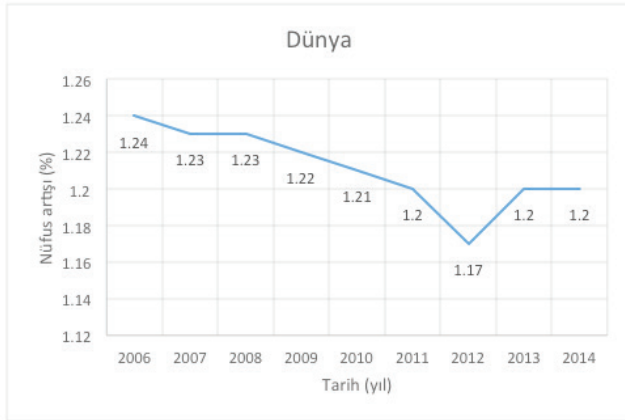
Keywords: Biocementation, Bioremediation, Biomineralization, Microbially heavy metal removal

1.GİRİŞ

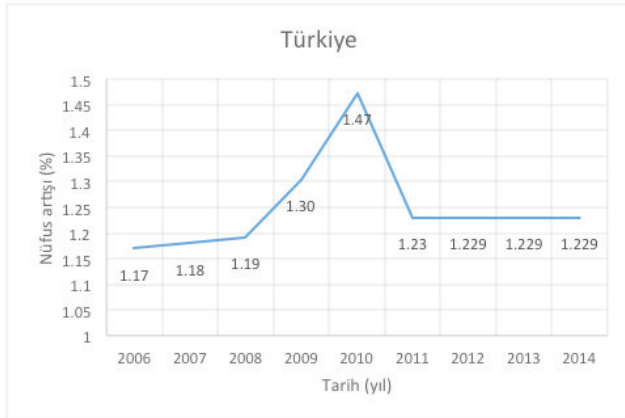
Dünya bankası verilerine göre, 2014 yılında dünya nüfus artış oranı, bir önceki seneye göre % 1,2 lik bir artış göstermiştir. Türkiye’de ise bu artışın %1,22 olarak gözlemlendiği belirtilmektedir (Şekil 1-2). Dünya nüfusunun artışı, bilim ve teknolojinin gelişmesiyle birlikte, özellikle

yol, konut ve fabrika gibi yaşam ve iş alanlarının inşaa edilmesi ihtiyacını beraberinde getirmiştir. Bu durum, inşaat sektörüne yapılan yatırımların artışı doğurmuş ve inşaat sektörünün sağladığı ekonomik boyut önemli hale gelmiştir. Dünyada inşaat sektöründe gözlenen artış, aynı zamanda çevresel sorunları da beraberinde getirmektedir. Bu durum

inşaat sektöründe çimento, kireç gibi inşaat malzemelerinin üretim ve tüketimini de artırmıştır. Dünyada çimento üretim sıralamasında Türkiye 5. sırada yer almaktadır. Ülkemizde, 2014 yılında üretim 69,7 milyon ton ve tüketim ise 61,8 milyon tondur. Kentsel dönüşümün etkisiyle bu üretimin ve tüketiminin 2023 yılına kadar daha fazla artış göstereceği öngörülmektedir (Çimento Sektörü Raporu, 2015).



Şekil 1. 2006 – 2014 yılları arasında Dünya nüfus artış grafiği



Şekil 2. 2006 – 2014 yılları arasında Türkiye nüfus artış grafiği

Ancak çimento üretimi gerçekleştirilen fabrikalarda çevreyi korumak için yeterli oranda önlemler alınmamaktadır. Çimento üretim sürecinde yüksek sıcaklık, toz, toksik ve alerjik kimyasallar, ağır metaller ve en önemlisi de baca emisyonlarındaki atık gazlar gün geçtikçe canlı ve cansız tüm ortamlara zarar vermektedir. Bunun yanında çimentoyla birlikte, akrilamid, epoksi poliüretan gibi çimento esaslı malzemeler de çevreye zarar veren maddeler arasında yer almaktadır. Üretilen çimentonun bileşenleri yüksek miktarda

Mangan (Mn), Magnezyum (Mg), TiO_2 (titanyum dioksit) gibi maddeler içermektedir. Çimento endüstrisi, başta kadmiyum (Cd), krom (Cr), bakır (Cu), civa (Hg), kurşun (Pb), Selenyum (Se), çinko (Zn), Mn, gibi birçok ağır metal atığının doğaya salınmasına ve çevre kirliliği oluşmasına yol açmaktadır (Marlowe ve Mansfield, 2002, Al Smadi ve ark., 2009, ÇED Rehberi, 2009). Yarım ton çimento üretebilmek için yaklaşık 0,75 ton hammadde, 0,15 ton hava ve 0,47 ton CO_2 (karbondioksit) atmosfere salınmaktadır. Çimento ile yapılan inşaat çalışmaları, dünya çapında yaklaşık %50 CO_2 emisyonuna sebep olduğu bilinmektedir. Bu da günümüzün en önemli çevre sorunlarından küresel ısınma üzerinde çimento sanayisinin etkisinin büyüklüğünü göstermektedir (Cuzman ve ark., 2015). Çimento endüstrisinin oluşturduğu gaz ve metal emisyonları toprağın yapısını bozarak toprak verimini düşürmekte, bitkilerde çürümelere sebep olmakta ve tarım sektörünü olumsuz etkilemektedir. Beraberinde toprak içerisinde madde döngülerini sağlayan mikrobiyal canlı çeşitliliğini de etkileyerek, canlılığın yok olmasına yol açmaktadır. Sonuç olarak, özellikle zemin uygulamalarında çimento ve türevlerinin kullanılmasının toprağın kimyasal özelliğini ve topraktaki canlı çeşitliliğini olumsuz etkilediği görülmektedir (Karol, 2003, Hooda ve ark., 2014). Son yıllarda, bu durum, araştırmacıları, çimento üretimi ve çimento bazlı malzemelerle onarım işleminde atıkların önlenmesi için çevreyle dost bir üretim ve kullanım şekli geliştirmeye yönlendirmiştir.

Yapılan yeni çalışmalar, çimentonun bileşiminde barındırdığı bileşiklerin doğada kendiliğinden oluşması sayesinde, doğayı taklit ederek (biyomimik) onarım işleminin gerçekleştirilebileceği yönündedir. Özellikle onarım işleminde kullanılan çimento esaslı kompozitler olan beton ve harç gibi malzemeler, kimyasal ve biyokimyasal yollarla geliştirilebilmektedir. Bilindiği üzere, çimento yapısı kalker ve kilden oluşmaktadır. Çimentoyu oluşturan kalkerin ise %90'ı $CaCO_3$ 'tür. Bu nedenle toplamda çimento bileşenin %65-70'ini $CaCO_3$ oluştururken, geri kalan kısmını ise kil bileşenleri yani $MgCO_3$ (magnezyum karbonat), SiO_2 (silisyum dioksit), Al_2O_3 (alüminyum oksit) gibi bileşikler içermektedir (Kapkaç, 2012, De Mynck ve ark, 2010).

Bu bağlamda, son yıllarda özellikle, çimentoyla onarım süreci olarak mikroorganizmaların biyokimyasal aktiviteleri sonucu $CaCO_3$ oluşumu üzerine inşaat mühendisliği alanında çalışmalar yapılmaktadır (Shackelford, 2000, Vekariya ve Pitroda, 2013)

Bu derleme ile mikrobiyal $CaCO_3$ oluşum mekanizmaları incelenecek ve bu mekanizmalar ile son yıllarda inşaat ve çevre mühendisliği alanında sıklıkla adı geçen ağır

metallerin çöktürülerek uzaklaştırılması, biyoçimentolama ve biyoonarım üzerine yapılan araştırmalara yer verilecektir. Her iki alanda mevcut veya potansiyel uygulamaları özetleyerek, potansiyel biyoçimentolama, biyoonarım ve ağır metalleri çöktürme özelliklerine sahip bazı prokaryot gruplarını belirlemek hedeflenmiştir.

2. Biyomineralizasyon ve Mikrobiyal CaCO₃ Oluşum Mekanizmaları

Mineralizasyon, literatürde organik maddelerin kendilerini oluşturan inorganik maddelere dönüşmesi olayı olarak tanımlanmaktadır (Ståhlberg ve ark., 2006). Mineralizasyon olayı, gerek kimyasal gerekse biyolojik olarak doğada kendiliğinden meydana gelmektedir. Biyomineralizasyon olayı ise canlılar tarafından özellikle prokaryotlar ile meydana getirilen mineralleşme olarak belirtilmektedir. Biyomineralizasyon sürecinde oluşan biyopolimerler özellikle kalsiyum iyonu (Ca²⁺) ile oluşturulan CaSO₄

(kalsiyum sülfat), Ca₃(PO₄)₂ (kalsiyum fosfat), CaCO₃ gibi mineralli bileşiklerdir (Knoll, 2003).

Mikrobiyal CaCO₃ oluşumu, yaygın olarak toprak, su ve deniz çökeltilerinde görülen bir oluşumdur (Canaveras ve ark., 2001). Literatürde bu oluşumla ilgili olarak farklı yollara yer verilmiştir (Tablo 1), (Achal ve ark., 2015, Dhami ve ark., 2013). Bu yollar :

- Fotosentetik mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen siyanobakteriyel fotosentez,
- Sülfat indirgeyen bakteriler tarafından sülfat indirgenmesi
- Nitrat indirgeyen bakteriler tarafından denitrifikasyon
- Amonifikasyon
- Ürolitik bakteriler tarafından gerçekleştirilen üre hidrolizi

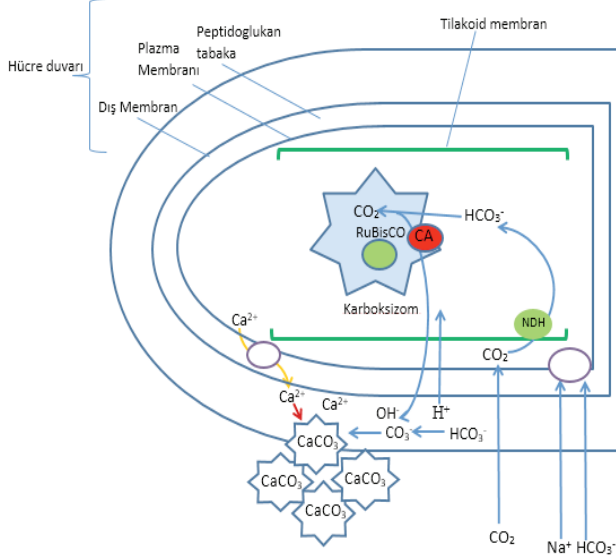
Tablo 1. Bakteri gruplarına bağlı mikrobiyal CaCO₃ oluşum mekanizmaları

Bakteri Grubu	Bakteri Çeşitleri	Metabolizma	Reaksiyon	Yan Ürün
Siyanobakter ve Alg	<i>Nostoc calcicola</i>	Fotosentez	$2\text{HCO}_3^- + \text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{CH}_2\text{O} + \text{CaCO}_3 + \text{O}_2$	O ₂ , CH ₂ O
	<i>Oscillatoria willei</i>			
	<i>Anabaena cycadae</i>			
Ürolitik Bakteriler	<i>Bacillus pasteurii</i>	Üre hidrolizi	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{Ca}^{2+} + \text{Cell} \rightarrow 2\text{NH}_4^+ + \text{Cell-CaCO}_3$	NH ₄ ⁺
	<i>Bacillus sphaericus</i>			
	<i>Bacillus megaterium</i>			
Nitrat İndirgeyen Bakteriler	<i>Diaphorobacter nitroreducens</i>	Denitrifikasyon	$\text{CH}_2\text{COO}^- + 2,6\text{H}^+ + 1,6\text{NO}_3^- \rightarrow 2\text{CO}_2 + 0,8\text{N}_2 + 2,8\text{H}_2\text{O}$ $\text{Ca}^{2+} + \text{CO}_{2(\text{aq})} + 2\text{OH}^- \rightarrow \text{CaCO}_{3(\text{s})} + \text{H}_2\text{O}$	CO ₂ + N ₂ NO + N ₂ O
	<i>Nitrosomonas</i> türleri			
	<i>Nitrobakter</i> türleri			
Miksobakteriler	<i>Myxococcus xanthus</i>	Amonifikasyon	$\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$ $\text{Ca}^{2+} + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{H}^+$	NH ₃
Sülfat İndirgeyen Bakteriler	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Sülfat İndirgenmesi	$\text{SO}_4^{2-} + 2[\text{CH}_2\text{O}] + \text{OH}^- + \text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{HS}^-$	CO ₂ HS ⁻
	<i>Desulfobacterium autotrophicum</i>			

2.1. Siyanobakteriyal fotosentez

Siyanobakterler, yeryüzünün tabakaları incelendiğinde özellikle tatlı su, deniz ve karasal ortamlarda bulunan fotosentetik özellik taşıyan mikroorganizmalardır. Belirtilen ortamlarda karbonat çökelmelerine katkı sağladıkları belirtilmektedir (Rahman ve Halfar, 2014, Mavromatis ve ark., 2012). Siyanobakterler tarafından gerçekleştirilen fotosentez sırasında, HCO_3^- (bikarbonat) ve OH^- iyonları arasında değişimler gerçekleşmekte, bikarbonat iyonları, CO_2 ve OH^- iyonlarına ayrışarak ortamın pH'ını artırmaktadır. Ortamda Ca^{2+} iyonları varlığında, oluşan HCO_3^- iyonları bileşik oluşturarak CaCO_3 kristalleri halinde çökelmektedir (Kamennaya ve ark., 2012)(Şekil 3).

Vaithiyalingam ve ark. (2014), yaptığı biyolojik onarım çalışmasında, *Oscillatoria willei* BDU130791 ve *Phormidium valderianum* BDU20041 adlı iki farklı siyanobakter türü kullanmıştır. Bakteriyel aktivite sonucunda CaCO_3 oluşumunu gözlemlemiştir.

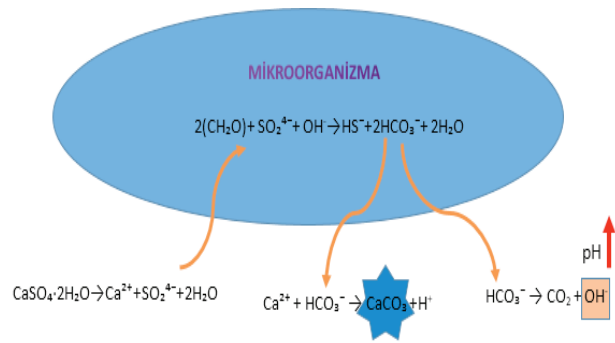


Şekil 3. Siyanobakterler aracılığı ile CaCO_3 oluşumu

2.2. Sülfat İndirgenmesi

Sülfat indirgeyen bakteriler, çoğunlukla toprak ve su içerisinde yaşamlarını sürdürmektedir. Bakteriler ortamda bulunan sülfat ve organik karbonlu bileşikleri HCO_3^- ve SO_3^{2-} 'e (sülfid) indirgemektedir. Oluşan HCO_3^- kararsız bileşik olduğu için CO_2 ve OH^- iyonlarına dönüşerek ortamın pH'ını artırmaktadır. Bununla birlikte ortamda Ca^{2+} iyonlarının varlığında bikarbonat iyonları, Ca^{2+} iyonları ile bileşik oluşturarak CaCO_3 kristalleri şeklinde çökelmektedir (Şekil 4).

Yapılan çalışmalarda ağır metal iyonu oranlarının yüksek olduğu bölgelerde, sülfat indirgeyen bakterilerin varlığında karbonat oluşturulması ile ortamdaki ağır metallerin çöktürülmesi halinde uzaklaştırılması sağlanmıştır (Braissant ve ark., 2007, Baumgartner ve ark., 2006). Almahamedh (2013) yaptığı çalışmada, karbon çelik boru hattındaki korozyonu engellemek amacıyla, sülfat indirgeyen bir bakteri olan *Desulfovibrio desulfuricans* türünü kullanarak, CaCO_3 çökmesini sağlamış ve korozyon değerlerinde önemli bir düşüş gözlemlemiştir.

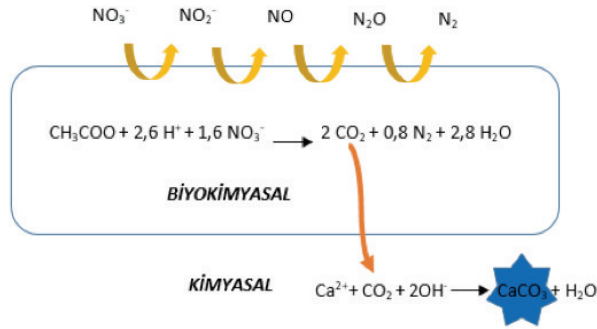


Şekil 4. Sülfat indirgeyen bakteriler aracılığı ile CaCO_3 oluşumu

2.3. Denitrifikasyon

Toprak içerisinde bulunan NO_3^- (nitrat) ve NO_2^- (nitrit) bileşiklerinin, mikroorganizmalar tarafından anaerobik koşullarda redüksiyona uğratılması ile NH_3 (amonyak) ve elementer azota dönüştürülmesi olayı denitrifikasyon olarak tanımlanmaktadır. Bu reaksiyonda NH_3 önce *Nitrosomonas* ve *Nitrosococcus* cinsi bakteri türleri tarafından NO_3^- 'a, NO_3^- ise *Nitrobacter* cinsi bakteri türleri tarafından NO_2^- 'e dönüştürülmektedir. Süreç esnasında H^+ iyonları tüketilirken, OH^- iyonları üretilmektedir. Bu nedenle, ortamın pH'sı yükselmeye başlamaktadır. Bununla birlikte oluşan CO_2 , ortamdaki Ca^{2+} ve OH^- iyonları ile reaksiyona girerek CaCO_3 kristalleri şeklinde çökelmektedir (Del Río ve ark., 2015, Ivanov ve Chu, 2008).

Erşan ve ark. (2015) yaptığı çalışmada, beton dayanımı ve endüstriyel atıkların ortamdaki uzaklaştırılması için iki farklı denitrifikasyon bakterisi olan *Pseudomonas aeruginosa* ve *Diaphorobacter nitroreducens*'i kullanmış ve denitrifikasyon yolu ile CaCO_3 kristallerinin çöktüğünü gözlemlemiştir. 2 günlük işlem sonucunda, *D. nitroreducens* ve *P. aeruginosa* aracılığıyla 14.1 g CaCO_3 ve 18.9 g NO_3^- N çöktürülmüştür.

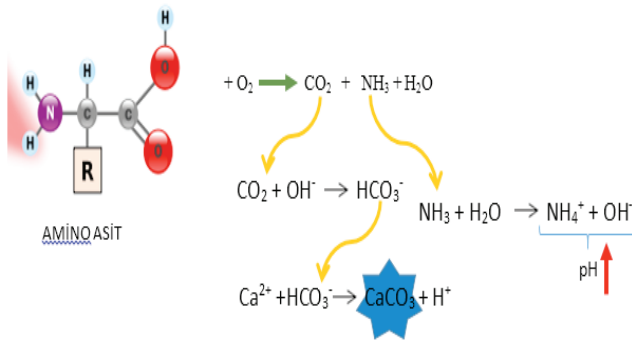


Şekil 5. Nitrat indirgeyen bakteriler aracılığı ile CaCO₃ oluşumu

2.4. Amonifikasyon

Amonifikasyon, çeşitli organik atıkların, ölü bitki ve hayvan kalıntılarının proteinlerinin parçalanmasıyla NH₃'ün ortaya çıkması olayıdır (Al-Thawadi, 2011). Bu süreçte oluşan NH₃ ortamın pH'sını arttırırken, CO₃⁻ (karbonat) iyonları ile Ca²⁺ iyonları birleşerek kristal halinde çökelmektedir (Şekil 5).

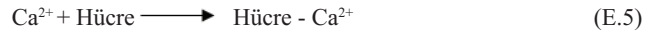
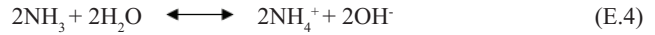
Literatürde, bu mekanizma ile ilgili mikrobiyal CaCO₃ oluşturma üzerine birçok çalışma yer almaktadır. Bu mekanizma ile kristal oluşumunu sağlayan *Myxococcus xanthus*, ortamdaki aminoasitleri parçalayarak NH₃ ve CO₃⁻ iyonlarını oluşturmaktadır. Rodriguez-Navarro ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada, *M. xanthus*'un oluşturduğu bu mekanizma sonucu ortamın pH'sını 8 den 8,7 ye kadar yükselttiğini gözlemlemişlerdir. Aynı zamanda *M. xanthus* ile muamele edilen ortamlarda, por dağılımının %24-32'den, %24-26 oranına kadar azaldığı gözlenmiştir. Diğer bir çalışmada, *M. xanthus*'un oluşturduğu CaCO₃ oluşumu ile ortamdaki uranyum radyoaktifini arındırdığı belirtilmiştir (Jimenez-Lopez ve ark., 2007).



Şekil 6. Amonifikasyon bakterileri aracılığı ile CaCO₃ oluşumu

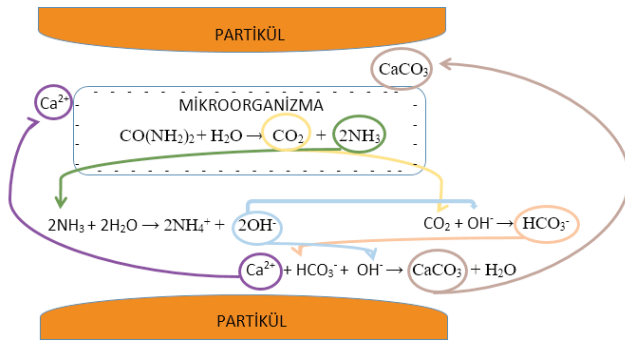
2.5. Üre hidrolizi

Üre, alkofilik mikroorganizma tarafından üretilen üreaz enzimi ile biyokimyasal reaksiyona girerek 1 mol NH₃ ve 1 mol NH₂COOH (karbamik asit) oluşturmaktadır (E.1), bu maddeler ise kendiliğinden 1 mol NH₄⁺ ve 1 mol karbonik asite (H₂CO₃) dönüşmektedir (E.2). Çıkan ürünler, kolay ayrışabilen bir yapıya sahiptir. Bu nedenle H₂CO₃, HCO₃⁻ ve H⁺ iyonlarına (E.3), NH₃ ise su ile birleşerek 2 mol NH₄⁺ (amonyum) ve 2 mol OH⁻ (E.4)'e ayrılmaktadır. Bu süreçler sonucunda pH artmakta ve buna bağlı olarak ortamdaki Ca²⁺, negatif yüklü bakteri hücresi ile birleşmekte ve alkali ortamda ayrılmış HCO₃⁻ iyonları da oluşan yapıyla birleşerek çökelmektedir (Hall-stoodley ve ark., 2004, Patro ve ark., 2015), (E.5,6), (Şekil 6).



Üre hidrolizi için literatürde model organizma olarak çoğunlukla *Bacillus* cinsi bakteriler ile yapılan çalışmalar yer almaktadır. Bu bakterilerden en çok bilinenleri *B. sphaericus* ve *Sporosarcina pasteurii* (*B. pasteurii*)'dir. Tobler ve ark. (2011) yaptığı çalışmada, seçtikleri bölgelerden aldıkları yeraltı sularındaki yerli türlerin üreaz aktivitelerini belirlemek için standart olarak *S. pasteurii* türünü kullanmışlardır. Oksijensiz ortamda yaşayan yerli türlerin üreaz aktivitesi değerleri ile model organizmadan elde edilen veriler karşılaştırılmıştır. Sonuçta yeraltı sularında bu bakterilerin üreaz aktiviteleri kullanılarak, CaCO₃ çökmesi ile zararlı kimyasal maddelerin ortamdaki uzaklaştırılabileceği belirtilmiştir.

Kim ve ark.(2013) çalışmalarında, yukarıda belirtilen *B. sphaericus* ve *S. pasteurii* model organizmalarını kullanarak, CaCO₃ oluşturma durumlarını ve dayanıklılık farklılıklarını belirlemiştir. Beton örneklerini bu bakteri süspansiyonları ile muamele etmiş ve ortamdaki CaCO₃ kristallerini XRD ve SEM ile görüntülemişlerdir. Sonuç olarak, *B. sphaericus* türünün, *S. pasteurii* bakterisine göre daha fazla miktarda CaCO₃ kristalleri oluşturduğu belirlenmiştir. Model organizmaların üreaz aktivitesi sonucu oluşan CaCO₃'ün, beton örneklerinde su geçirgenliğini de belirgin derece düşürdüğünü gözlemlemişlerdir.



Şekil 7. Ürolitik bakteriler aracılığı ile CaCO₃ oluşumu

Mahanty ve ark. (2014) son yıllarda bu alana olan ilginin artması sebebiyle, *S. pasteurii* için farklı stres koşulları ve abiyotik faktörlere bağlı değişkenlerin etkilerini inceleyerek, CO₂ ve NH₃ değerlerinin ayarlanabilmesi için biyokinetik bir model oluşturmuşlardır. Ayrıca, çözülmüş inorganik karbon ve azotun, Ca²⁺ içeren maddelerin ve yük dengesinin değerlerini hesaplamışlardır.

Belirtilen reaksiyonlar göz önüne alındığında CaCO₃ çökmesinde 4 önemli faktör yer aldığı görülmektedir (Belie, 2010). Bu faktörler:

- 1) Çözülmüş inorganik karbon konsantrasyonu
- 2) pH
- 3) Ca²⁺ iyonlarının konsantrasyonu
- 4) Çekirdeklenme

CaCO₃ oluşumunda en fazla, ürolitik bakteriler tarafından gerçekleştirilen yolak ile ilgili çalışmalar literatürde yer almaktadır (Achal ve ark., 2015, Reddy ve ark., 2013, Dejong, 2014, Belie, 2010). Üre hidrolizi yolu ile biyoçimentolama, biyolojik onarım, biyolojik tkama ve biyolojik tortulaşma gibi işlemlerin yapılması için yol gösterici daha birçok çalışma literatürde mevcuttur.

Bu yollarla meydana getirilen mikrobiyal CaCO₃ oluşumu, çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Achal ve Mukherjee, 2015). Özellikle son yıllarda yapılan araştırmalar atık suların arıtılması (Hammes ve ark., 2003), toprak ve sulardaki ağır metallerin uzaklaştırılması (Achal ve ark., 2012), toprak güçlendirilmesi ve zemin iyileştirilmesi (Dejong ve ark., 2006), taş malzemelerin ve tarihi eserlerin restorasyonu (Tiano ve ark.; 1999), dayanıklı beton yapılarının oluşturulması (Achal ve ark., 2011), inşaat ve yapı malzemelerinin güçlendirilmesi (De Muynck ve ark., 2008), boya endüstrisi gibi alanlar üzerinedir.

Böylelikle son yıllarda, biyomineralizasyon sürecinde

oluşan CaCO₃ kristalleri ile biyolojik çimentolama ve biyolojik onarım çalışmaları hız kazanmıştır.

3. Biyoteknoloji alanında mikrobiyal CaCO₃ oluşumunun kullanılması

3.1. Biyoçimentolama

Özellikle toprak içerisinde yaşayan alkalofilik bakteriler tarafından üretilen üreaz enziminin, üre substratı ve kalsiyum kaynağı ile reaksiyona girerek CaCO₃ oluşturulması olayı biyoçimentolama olarak adlandırılmaktadır. Bu işlem ile ilgili çalışmalar, yaygın olarak zemin iyileştirme ve güçlendirilmesi ve restorasyon gibi alanlarda yapılmaktadır.

Literatürde yapılan çalışmalarda çoğunlukla biyolojik bir katalizör olarak *Bacillus* (*B. sphaericus*, *B. pasteurii*, *B. megaterium*, *B. subtilis* vs.), *Nitrosomonas*, *Lactobacillus* (*L. reuteri*, *L. fermentum*), siyanobakterler (*Anabaena cycadae*), *M. xanthus*, *D. desulfuricans* gibi bakteriler kullanılmaktadır. Fakat yaygın olarak kullanılan mikroorganizmalar Gram-pozitif, aerobik ve üreaz aktivitesi olan ürolitik bakterilerdir. Literatürde en fazla *Bacillus* cinsi bakteriler dikkat çekmektedir.

Belie ve ark. (2010) yaptığı çalışmada, *B. sphaericus*'un kireç taşları üzerinde, farklı üre ve CaCl₂ konsantrasyonlarındaki etkisini belirlemişler ve en fazla mikrobiyal CaCO₃ çökmesinin 20 g/l üre ve 50 g/l CaCl₂ (kalsiyum klorür) içeren solüsyonunda olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca bu gruptaki mikrobiyal aktivitenin zamana bağlı değişimini inceleyerek, ortamdaki Ca²⁺ iyonlarının azaldığını ve toplam nitrojen miktarının arttığını belirlemişlerdir. Dejong ve ark. (2014), farklı bölgelerden aldıkları toprakları, üre ve Ca kaynağı içeren solüsyon ve bakteri süspansiyonu ile muamele etmiş ve su geçirgenliklerinde yüksek miktarda azalma olduğunu gözlemlemişlerdir.

Abdel - Gawwad (2012) yaptığı çalışmada, 28 gün çeşitli konsantrasyonlardaki *B. pasteurii* hücreleri ile muamele ettiği çimento harcı örneklerini, işleme tabi tutulmayan örneklerle karşılaştırıldığında, yaklaşık % 33 lük bir mukavemet artışı olduğunu gözlemlemiştir. Yine beton ve harçlarla yapılan deneylerde, ürolitik bakterilerin üreaz aktivitesi sonucunda oluşan CaCO₃'ün, örneklerin sıkışabilirlik gücünü artırdığı ve SEM ile yapılan örnek analizlerinde bakteri hücrelerinin karbonat kristalleri ile birleşmiş halde bulunduğu belirtilmiştir (Achal, 2011).

Paassen (2009), çalışmasında kum içeren 5 metrelik sütunları bakteri süspansiyonu ile muamele etmiş ve deney sonunda enjeksiyon noktasının yaklaşık 1. metresinde

CaCO₃ miktarının en fazla olduğunu ve buna bağlı olarak, mukavemetin arttığını belirlemiştir. Ayrıca mukavemet testlerinin yapıldığı çalışmalarda, mikrobiyal CaCO₃ sürecine tabi tutulan toprakların daha dayanıklı olduğu ve bununla birlikte mikroorganizma sayısı arttıkça mukavemetin de arttığı belirlenmiştir (DeJong ve ark., 2014).

Bazı araştırmalarda, mikrobiyal çimentolama sonucu CaCO₃ çökmesinin, su iletkenliğini ve poroziteyi azalttığı belirlenmiştir (Chou ve ark., 2010). Achal (2011) yaptığı çalışmada, harç örneklerinin yüzeyinde ve porlar arasında mikrobiyal CaCO₃ oluşumu sonucu, porozitede azalma gözlemlenmiştir. Buna bağlı olarak, su geçirgenlik testinde, örneklere üst yüzeyden uygulanan sıvının kontrol gruplarında 33-41 mm kadar ilerlediğini, deney gruplarında ise 9-20 mm'e kadar ilerleyerek sabitlendiğini gözlemlenmiştir. Böylelikle porozite azaldıkça suyun iletiminin de azaldığını belirlemiştir. Bunun yanında DeJong ve ark.'nın (2014) yaptığı çalışmalarda, hücreler ve hücre dışı polimerik madde birikiminden oluşan biyofilmlerin, toprak içerisindeki su geçirgenliğini düşürdüğü aynı zamanda oluşturduğu CaCO₃ çökeltisi ile partiküller arasında bağlantı kurarak toprak porozitesini azalttığı gözlenmiştir.

3.2. Çevredeki Ağır Metallerin Çöktürülerek Uzaklaştırılması

Günümüzde endüstrinin gelişmesine bağlı olarak, doğada endüstriyel atıkların gün geçtikçe artması gerek canlı gerekse cansız ortamlarda önemli derecede kirliliğe yol açmaktadır. Bu kirliliğin önemli boyutunu fabrikalardan doğal ortama verilen ağır metaller oluşturmaktadır. Endüstriyel atıklar ile doğaya salınan arsenik (As), Hg, Pb, Cd, Zn, Se, Cu gibi ağır metaller toprak ve suya karışarak insan ve çevre üzerine kanserojen, alerjenik ve mutajenik etkiler bırakmaktadır. Ağır metaller, normal durumda toprak içerisinde eser miktarlarda bulunmaktadır (Özay ve Mammadov, 2013). Fakat optimum miktarın üzerine çıktığında, bulunduğu ortamın kimyasal dengesini bozmakta ve ortamdaki bitki ve hayvanların yok olmasına sebebiyet vermektedir. Bu nedenle, çevre kirliliğinde ağır metal atıklarının verdiği zararların önüne geçilmesi için, son yıllarda mikrobiyal mineralizasyon ile ağır metallerin çöktürülerek uzaklaştırılması üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Coelho ve ark., 2015).

Zhan ve Qian (2016) yaptıkları çalışmada, *Paenibacillus mucilaginosus* adlı bakteriyi kullanarak, farklı konsantrasyonlarda ZnSO₄ içeren solüsyonlarda mikrobiyal aktivite sonucu, negatif yüklü mikroorganizma yüzeyine tutunmuş Zn²⁺ iyonlarının, karbonat iyonları

ile birleşerek çinko karbonat şeklinde çöktüğünü gözlemlenmiştir. Cuzman ve ark. (2015), çimento sanayisinde oluşturulan çimento fırın tozu ve kireç fırın tozu atığının geri dönüştürülmesi için, üreaz aktivitesi gösteren *S. pasteurii* bakterisini kullanarak mikrobiyal CaCO₃ oluşum mekanizmasını araştırmışlardır. Sonuçta atıkların geri dönüştürülebilmesi ile çevre kirliliğinin önlenebileceğini göstermişlerdir. Yine literatürde Se ağır metalinin biyomineralizasyon mekanizması ile atık suların toplanması üzerine yapılan çalışmalardan bahsedilmektedir (Nancharaiah ve Lens, 2015).

Başka bir çalışmada, üreaz aktivitesi olan *Pestalotiopsis* sp. ve *Myrothecium gramineum* adlı mantar türleri kullanılarak Ca²⁺ ve Sr²⁺ iyonlarının atık suların toplanması üzerine çalışmalar yapılmıştır. Burada farklı konsantrasyonlarda CaCl₂ ve SrCl₂ (stronsiyum klorür) içeren üreli solüsyonlar içerisinde mantarlar inoküle edilerek, CaCO₃ kristallerinin oluşum şekilleri ve SrCO₃ (stronsiyum karbonat) mineralizasyonu incelenmiştir. Sonuçta, ortamdan Sr²⁺ ve Ca²⁺ iyonlarının belirgin miktarda çöktürülerek uzaklaştırıldığı gözlenmiştir (Li ve ark., 2015).

Yapılan çalışmalarda mikrobiyal CaCO₃ oluşumu ile zemindeki su içerisinde bulunan ağır metallerin giderildiği (Warren ve ark., 2001) ve atık suların Ca²⁺ iyonlarının arındırıldığı belirtilmiştir (Hammes ve ark., 2003). Mikrobiyal CaCO₃ oluşumunun özellikle taştan yapılmış heykellerin korunmasında çevreyle dost bir süreç olduğu çoğu literatürde gösterilmektedir (Belie, 2010). Güçlendirme işlemlerinde uygulanan çeşitli inorganik ve organik maddelerin, yapının yüzeyinde zararlı filmler oluşturduğu ve oluşan bu filmlerin zararlı çözücüler salarak çevreye zarar verdiği belirlenmiştir (Rodriguez-Navarro ve ark., 2003).

3.3. Biyolojik Onarım

İnşaat mühendisliği alanında, özellikle yapıda meydana gelen çatlaklar önemli bir problem oluşturmaktadır. Yapı oluşturulurken kullanılan beton malzemesinde, zaman geçtikçe büzülme meydana gelerek yüzeyinde çatlaklara sebep olmaktadır. Oluşan çatlakların onarılması için, çimento esaslı bir malzemeyle onarım işlemine gerek duyulmakta, bu ise yine bir maliyet artışına sebep olabilmektedir. Bunun önüne geçilmesi için, araştırmacılar, mikrobiyal CaCO₃ oluşum mekanizmalarının çatlak onarımında kullanılması üzerine çalışmalar yapmaktadır. Özellikle hem çatlak onarımı hem de porların kapatılarak su geçirgenliklerini azaltma yönünde çalışılmaktadır.

Zemin iyileştirmede genellikle yüzeysel teknik olarak kullanılan kireç suyu tekniğinde, porlar arasında CaCO_3 birikiminin çok az olduğu literatürde belirtilmektedir (Clifton ve Frohndorff, 1982). Mikroorganizmalar toprak içerisindeki por boyutlarından daha küçük oldukları için, toprak içerisinde kolaylıkla hareket edip, daha fazla bölgede CaCO_3 birikimini sağlayabilmektedir (Mitchell ve Santamarina, 2005). Buna bağlı olarak zeminde oluşabilecek çatlaklar mikrobiyal CaCO_3 oluşumu ile onarılabilmektedir (Jyothsna ve ark., 2015).

Qian ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada, hazırladıkları beton harcının üzerine, farklı genişliklerde yapay çatlaklar oluşturmuşlardır. Bu çatlaklar üzerine bakteri süspansiyonu inoküle edilerek, mikrobiyal CaCO_3 oluşumu gözlenmiştir. İşlem sonucunda SEM ve XRD incelemeleri yapılmış ve çatlaklarda belirgin derecede kapanma gözlenmiştir. Bunun yanında betonlardaki su geçirgenliğinde de azalma görülmüştür. Khaliq ve Ehsan (2016) çalışmalarında, *B. subtilis* türünün mikrobiyal aktivitesi ile hafif agregat içeren beton örneklerinde basınç dayanımının artırılabilirdiğini göstermişlerdir. SEM görüntüleri ile de mineral formasyonlarını belirlemişlerdir. Wang ve ark. (2014), mikroenkapsüle ettikleri *B. sphaericus* sporlarını beton örneklerine enjekte etmiş ve çatlak onarımını SEM ile görüntülemişlerdir. Porlarda ve çatlaklarda zaman ilerledikçe mikrobiyal aktivite aracılığı ile CaCO_3 mineralizasyonu artmış ve su geçirgenliğinde düşüş gözlenmiştir. Diğer bir çalışmada *B. sphaericus* bakterisi ile çatlaklarda biyolojik onarım gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, iyileştirme yapılan çatlaklarda çatlak inceleme mikroskopisi, ultrases iletim ölçümleri ve su geçirgenliği testleri yapılmıştır. Sonuçta, mikroskobik incelemelerde çatlaklar arasında CaCO_3 köprüleri görülmüş, ultrases iletim hızında belirgin düşme olmuş ve yine su geçirgenliği azalmıştır (Belie ve Muynck, 2008). Ramachandran ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada, betonda, bakteri aşılansız kum karışımı uygulanan 25,4 mm derinlikteki çatlak ile bakteri aşılansız 25,4 mm derinlikteki çatlak karşılaştırıldığında mukavemetin yaklaşık %61 oranında arttığı gözlemlenmiştir.

4. Gelecekteki Uygulamalar

Mikrobiyal mineralizasyon olayı, yaklaşık 15 yıldır bilim adamlarının araştırma konusu haline gelmiştir. Özellikle çatlak onarımı, endüstriyel atıkların doğadan temizlenmesi, geçirgenliğin azaltılması ve zemin iyileştirilmesi gibi alanlarda çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir.

Biyolojik mineralizasyon esas olarak mikrobiyal aktivite mekanizması ile gerçekleştiği için, uygulama çalışmalarında mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Genelde yararlanılan bakteriler alkalofilik, Gram pozitif ve spor oluşturabilen türlerdir. Alkalofilik olmaları sayesinde, çimento bazlı malzemelerle onarım esnasında yükselen pH değerlerine karşı dayanabilmektedirler. Bu nedenle inşaat sektöründe yüksek pH değerlerine sahip çimento esaslı yapı malzemeleri içerisinde kullanılabilecekleri açıktır. Bunun yanında spor formları oluşturabilmeleri, onları buldukları yapı içerisinde yıllarca kalıcı kılmaktadır. Bu nedenle örneğin, yeni inşa edilen bir yapı içerisine inoküle edilmiş spor formundaki bakteriler, zaman geçtikçe hava değişimi ya da pH değişimi gibi durumlarda zarar gören yapının dışına çıkararak, biyokimyasal aktivite sonucu yenilenmeyi sağlayabilecektir. Böylelikle mikrobiyal CaCO_3 oluşumunun boya ve dış cephe kaplama işlemlerinde kullanılabilirlik derecesi artmaktadır.

İnşaat yapılarında çatlak oluşumu, dayanıklılık ve görüntü açısından büyük önem arz etmektedir. Aşırı terleme, sık hava değişimi, suyun donması ve genleşmesi gibi durumlardan dolayı yapılarda farklı tiplerde çatlaklar meydana gelmektedir. Meydana gelen çatlakların onarılması için, çimento şerbeti, çimento harcı, epoksi reçine, killi malzemeler gibi maddeler kullanılmaktadır. Bu maddeler, çatlak içerisine uygulanırken, en derin noktaya kadar iletilmemektedir. Bu nedenle çatlak, iç kısımlarda ilerlemeye devam etmektedir. Ayrıca, yapının su alması halinde iyi kapatılmayan çatlaklarda su sızıntısı meydana gelerek, betonarme yapının iç kısımlarına ilerlemektedir. Bir süre sonra betonarme yapı içerisindeki demirler, sızan su ile paslanmaya ve çürümeye başlamaktadır. Mikrobiyal CaCO_3 oluşumu ile onarım ise belirtilen olumsuzlukları en aza indirgeyerek yapıdaki çatlakların tamamen kapanmasına yardımcı olmaktadır. Mikroorganizmalar, betonarme yapıdaki porlardan daha küçük boyutlara sahip oldukları için, çatlak içerisinde kolaylıkla ilerleyerek, çimento şerbetinin ulaşamadığı yerlere ulaşabilmektedir. Böylelikle, hem çatlak arasındaki boşlukları kapatırken hem de betonarme yapıdaki porları da doldurmaktadır. Mikrobiyal CaCO_3 oluşumu ile çatlak onarımı sonrasında su ile muamele edilen yüzeyde, su sızıntıları en az derecede gerçekleşeceği için, yapı içindeki demirlerin paslanması da azaltılabilecektir. Bununla birlikte, yapılarda doğrudan mikroorganizmaların spor formlarını içeren harc malzemelerinin kullanılması sayesinde, ileride oluşacak çatlaklarda kendiliğinde onarım gerçekleşebilecektir. Örneğin, asit yağmurlarına maruz kalmış bir yapıda

meydana gelen çatlak, mikroorganizmaların spor formlarından vejetatif forma geçerek ortama yapılan besin ilavesi ile CaCO_3 oluşturmaları sayesinde onarım sağlanabilecektir.

Tarihi eserlerin korunması ve yüzey çatlaklarının onarılması için hidrolik kireç, horasan harcı gibi koruyucu ve yapıştırıcı maddeler kullanılmaktadır. Fakat bu maddeler renkli, kokulu ve yüzeyel kapatıcı maddelerdir. Renkli olmaları sebebiyle, tarihi eser yapılarının renkleri ile uyuşmamakta ve tarihi eserlerin kendi yapısal görünüşlerini değiştirmektedir. CaCO_3 ise beyaz renkli ve kokusuzdur. Bu özellikleri ile tarihi eser yapısının rengi ile uyum sağlayabilir ve kötü koku oluşturmazlar. Ayrıca, mikrobiyal CaCO_3 oluşumu, yapıtlarda zamanla oluşan aşınma ve kopmaların tekrardan onarılmasını sağlamaktadır. Mikroorganizmalar tarihi yapıları oluşturan taşlar arasındaki boşluklu bölgelere kolaylıkla yerleşmektedir. Bu sayede, mikroorganizmalar porlu bölgelerde de CaCO_3 oluşumunu sağlayarak, sadece yüzeyel değil, iç kısımlarda da güçlendirme yapılabileceklerdir. CaCO_3 , belirtilen özellikleri sayesinde, özellikle tarihi eserlerin onarım ve koruma uygulamalarında, görünüş ve şekli bozmadan etkili onarım yapan bir madde olarak tercih edilebilecektir.

Atık suların depolanması için oluşturulan atık depolarının, belirli bir süre sonra duvar kısımlarında çatlak ve şişme oluşması çevre açısından büyük tehlike arz etmektedir. Bu nedenle, bu atık depolarının inşası sırasında biyoçimentolama mekanizmasından yararlanılması, hem beton yapısının sağlamlığını devam ettirmesine yardımcı olabilecek, hem de mikroorganizmanın ağır metal iyonlarının çöktürme özelliği sayesinde, atık sulardaki kanserojenik, toksik ve mutajenik maddelerin uzaklaştırılmasını sağlayabilecektir. Aynı zamanda, betonda oluşmuş çatlakların daha sonra kapatılması, yeniden bir maliyetle sonuçlanmaktadır. Bu nedenle ilk safhada normal çimento esaslı malzemenin uygulanması işlemine göre daha ucuz maliyetli olan biyoçimentolamanın yapılması maddi açıdan da yarar sağlayacaktır. Böylelikle özellikle yurtdışında, son yıllarda çok fazla çalışılan mikrobiyal CaCO_3 işleminin, rutin olarak yapılan zemin iyileştirme uygulamalarından daha düşük maliyet, zeminde mukavemet artışı ve su geçirgenliğinde azalış sağlayacağı öngörülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Marmara Üniversitesi BAPKO tarafından FEN-C-YLP-100615-0274 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- 1) Abdel-Gawwad H.A., Abo-El-Enein S.A., Ali A.H., Talkhan F.N. (2012). Utilization of Microbial Induced Calcite Precipitation for Sand Consolidation and Mortar Crack Remediation, HBRC Journal 8, 185-192.
- 2) Achal V., Pan X., Zhang D., Fu Q.L. (2012). Bioremediation of Pb-contaminated soil based on microbially induced calcite precipitation. J Microbiol Biotechnol; 22:244–7.
- 3) Achal V., Pan X., Özyurt N. April (2011). Improved strength and durability of fly ash-amended concrete by microbial calcite precipitation, Ecological Engineering, Volume 37, Issue 4, Pages 554-559.
- 4) Achal, V., & Mukherjee, A. (2015). A review of microbial precipitation for sustainable construction. Construction and Building Materials, 93, 1224-1235.
- 5) Achal, V., Mukherjee, A., Kumari, D., Zhang, Q. (2015). Biomineralization for sustainable construction—A review of processes and applications. Earth-Science Reviews, 148, 1-17.
- 6) Al Smadi B.M., Al-Zboon K. K. ve Shatnawi K. M. (2009). Assessment of Air Pollutants Emissions from a Cement Plant: A Case Study in Jordan Jordan Journal of Civil Engineering, Volume 3, No. 3.
- 7) Almahamedh, H. H. (2013). Sulfate reducing bacteria influenced calcium carbonate precipitation. In CORROSION 2013. NACE International.
- 8) Al-Thawadi, S. M. (2011). Ureolytic bacteria and calcium carbonate formation as a mechanism of strength enhancement of sand. J. Adv. Sci. Eng. Res, 1(1), 98-114.
- 9) Baumgartner, L. K., Reid, R. P., Dupraz, C., Decho, A. W., Buckley, D. H., Spear, J. R. ve Visscher, P. T. (2006). Sulfate reducing bacteria in microbial mats: changing paradigms, new discoveries. Sedimentary Geology, 185(3), 131-145.
- 10) Belie N., Muynk W., Verbeke K., Verstraete W. (2010). Influence of Urea and Calcium Dosage on the Effectiveness of Bacterially Induced Carbonate Precipitation on Limestone, Ecological Engineering, 36, 99-111.
- 11) Braissant, O., Decho, A. W., Dupraz, C., Glunk, C., Przekop, K. M. ve Visscher, P. T. (2007). Exopolymeric substances of sulfate-reducing bacteria: interactions with calcium at alkaline pH and implication for formation of carbonate minerals. Geobiology, 5(4), 401-41.
- 12) Cañveras J. C., Sanchez-Moral S., Sloer V., Saiz-Jimenez C. (2001). Microorganisms and Microbially Induced Fabrics in Cave Walls, Geomicrobiology Journal Volume 18, Issue 3, pages 223-240.
- 13) Chou C., Seagren E.A., Aydılek A.H., Lai M. (2010). "Biocalcification of Sand through Ureolysis", J. of Geotech. and Geoenvironmental Engineering, ASCE, in press.
- 14) Clifton J.R., Frohnsdorff G.J.C. (1982). Stone consolidating materials: a status report. In: Conservation of Historic Stone Buildings and Monuments, National Academy Press, Washington, DC, pp. 287–311.
- 15) Coelho, L. M., Rezende, H. C., Coelho, L. M., de Sousa, P. A., Melo, D. F. ve Coelho, N. M. (2015). Bioremediation of

- Polluted Waters Using Microorganisms.
- 16) Cuzman, O. A., Rescic, S., Richter, K., Wittig, L. ve Tiano, P. (2015). Sporosarcina pasteurii use in extreme alkaline conditions for recycling solid industrial wastes. *Journal of biotechnology*, 214, 49-56.
 - 17) ÇED Rehberi – Çimento Fabrikaları. (Haziran 2009). T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı.
 - 18) Çimento Sektörü Raporu(2015/1).(2015). Sektörel Raporlar ve Analizler Serisi. T.C. Bilim Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı.
 - 19) De Belie, N. ve De Muynck, W. (November 2008). Crack repair in concrete using biodeposition. In *Proceedings of the International Conference on Concrete Repair, Rehabilitation and Retrofitting (ICCRRR)*, Cape Town, South Africa, pp. 291-292.
 - 20) De Muynck W, Cox K, De Belie N, Verstraete W. (2008). Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete. *Constr Build Mater*; 22:875–85.
 - 21) De Muynck, W., De Belie, N. ve Verstraete, W. (2010). Microbial carbonate precipitation in construction materials: a review. *Ecological Engineering*, 36(2), 118-136.
 - 22) Dejong J.T., ASCE M., Proto C., ASCE S.M., Kuo M., Gomez M. (2014). Bacteria, Bio-films, and İnvertebrates the Next Generation of Geotechnical Engineers?, *Geo-Congress 2014 Technical Papers*, GSP 234.
 - 23) Dejong, J.T., Fritzges M.B., Nusslein K. (2006). "Microbially Induced Cementation to Control Sand Response to Undrained Shear", *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, Vol. 132, (11), 1381-1392.
 - 24) Del Río, A. V., Buys, B., Campos, J. L., Méndez, R. ve Mosquera-Corral, A. (2015). Optimizing upflow velocity and calcium precipitation in denitrifying granular systems. *Process Biochemistry*, 50(10), 1656-1661.
 - 25) Dhami, N. K., Reddy, M. S. ve Mukherjee, A. (2013). Biomineralization of calcium carbonates and their engineered applications: a review. *Front. Microbiol*, 4(314), 10-3389.
 - 26) Dünya Bankası. (2012). "Population growth (annual %) (İngilizce) - Nüfus Büyüme (yıllık %)". Erişim tarihi: 24 Nisan 2016. https://www.google.com.tr/publicdata/explorer?ds=d5bncppjof8f9_&met_y=sp_pop_grow&hl=tr&dl=tr.
 - 27) Erşan, Y. Ç., De Belie, N. ve Boon, N. (2015). Microbially induced CaCO₃ precipitation through denitrification: an optimization study in minimal nutrient environment. *Biochemical Engineering Journal*, 101, 108-118.
 - 28) Hall-Stoodley L., Costerton J.W, Stoodley P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases, *Nat Rev Microbiol.*, 2(2):95-108.
 - 29) Hammes F, Boon N, Clement G, de Villiers J, Siciliano SD, Verstraete W. (2003). Molecular biochemical and ecological characterisation of a bio-catalytic calcification reactor. *Appl Microbiol Biotechnol*;62:191–201.
 - 30) Hooda P.S., Shaheen S.M., Tsadilas C.D. (2014). Opportunities and Challenges in the Use of Coal Fly Ash for Soil İmprovement: A Review, *Journal of Environmental Management* 145, 249-267.
 - 31) Ivanov, V. ve Chu, J. (2008). Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7(2), 139-153.
 - 32) Jimenez-Lopez, C., Jroundi, F., Rodríguez-Gallego, M., Arias, J. M. ve Gonzalez-Muñoz, M. T. (2007). Biomineralization induced by Myxobacteria. *Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology*, Formatex, Microbiology Series, (1), 1.
 - 33) Jyothsna P., Usha J., Pallavi P. (2015). Calcium Carbonate precipitation based improvement of concrete throughmicrobiologically induced precipitation, *GJTE-Vol(2)-Issue(2)*.
 - 34) Kamennaya, N. A. (2012). Ajo-Franklin, C. M., Northen, T. Ve Jansson, C. Cyanobacteria as biocatalysts for carbonate mineralization. *Minerals*, 2(4), 338-364.
 - 35) Kapkaç, F. (2012). Çimento Çeşitleri, Özellikleri, Hammaddeleri Ve Üretim Aşamaları. Erişim Tarihi: 25.04.2016, Maden Tetkik ve Arama Genel Müdürlüğü, Maden Etüt ve Arama Dairesi Başkanlığı – Ankara, http://www.mta.gov.tr/v2.0/birimler/redaksiyon/ekonomi-bultenleri/2012_16/223.pdf.
 - 36) Karol RH. (2003). *Chemical grouting and soil stabilization*, 3rd edn. M. Dekker, New york.
 - 37) Khaliq, W. ve Ehsan, M. B. (2016). Crack healing in concrete using various bio influenced self-healing techniques. *Construction and Building Materials*, 102, 349-357.
 - 38) Kim, H. K., Park, S. J., Han, J. I. ve Lee, H. K. (2013). Microbially mediated calcium carbonate precipitation on normal and lightweight concrete. *Construction and Building Materials*, 38, 1073-1082.
 - 39) Knoll, A. H. (2003). Biomineralization and evolutionary history. *Rev. Mineral. Geochem.* 54, 329–356.
 - 40) Li, Q., Csetenyi, L., Paton, G. I. ve Gadd, G. M. (2015). CaCO₃ and SrCO₃ bioprecipitation by fungi isolated from calcareous soil. *Environmental microbiology*, 17(8), 3082-3097.
 - 41) Mahanty, B., Kim, S. ve Kim, C. G. (2014). Biokinetic modeling of ureolysis in Sporosarcina pasteurii and its integration into a numerical chemodynamic biocalcification model. *Chemical Geology*, 383, 13-25.
 - 42) Marlowe I. ve Mansfield D. 2002. Toward a sustainable cement industry, environment, health and safety performance improvement, *World Business Council for Sustainable Development*, Substudy 10.
 - 43) Mavromatis, V., Pearce, C. R., Shirokova, L. S., Bundeleva, I. A., Pokrovsky, O. S., Benezeth, P. ve Oelkers, E. H. (2012). Magnesium isotope fractionation during hydrous magnesium carbonate precipitation with and without cyanobacteria. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 76, 161-174.
 - 44) Mitchell J. K., Santamarina J.C. (2005). Biological considerations in geotechnical engineering. *Journal of*

- geotechnical and geoenvironmental engineering, 131. 10, 1222-1233.
- 45) Nancharaiah, Y. V. ve Lens, P. N. (2015). Selenium biomineralization for biotechnological applications. *Trends in biotechnology*, 33(6), 323-330.
- 46) Özey C. ve Mammadov R. (2013). Ağır Metaller ve Süs Bitkilerinin Fitoremediasyonda Kullanılabilirliği. *BAÜ Fen Bil. Enst. Dergisi Cilt 15(1)* 67-76.
- 47) Paassen L.A. (2009). Biogrout, ground improvement by microbial induced carbonate precipitation. Ph D. thesis. Holland, [Delft University of Technology](http://www.tn.tudelft.nl/~paassen/).
- 48) Patro Sanjaya K., Chandra K.S, Sugandha S., Chand S., Sahu S.K., Manimaran S. (2015). Effect of bacteria on the properties of concrete using Portland slag cement, *Proceedings of the National Conference on Recent Advances and Future Prospects in Civil Engineering (RAFPCE-15)*, 89-98.
- 49) Qian C., Luo M., LI R., Rong H. (2015). Efficiency of concrete crack-healing based on biological carbonate precipitation. *Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed.*, 30(6), 1255-1259.
- 50) Rahman, M. A. ve Halfar, J. (2014). First evidence of chitin in calcified coralline algae: new insights into the calcification process of *Clathromorphum compactum*. *Scientific reports*, 4.
- 51) Ramachandran S.K., Ramakrishnan V., Bang S.S. (2001). "Remediation of Concrete Using Microorganisms", *ACI Materials Journal*, Vol. 98, (1), 3-9.
- 52) Reddy M.S., Achal V., Mukerjee A. (2013). Biogenic Treatment Improves the Durability and Remediate the Cracks of Concrete Structures, *Construction and Building Materials*, 48, 1-5.
- 53) Rodriguez-Navarro, C., Rodriguez-Gallego, M., Chekroun, K. B. ve Gonzalez-Munoz, M. T. (2003). Conservation of ornamental stone by *Myxococcus xanthus*-induced carbonate biomineralization. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(4), 2182-2193.
- 54) Shackelford C.D., Jefferis S.A. (2000). "Geoenvironmental Engineering for In Situ Remediation", *Int. Conf. on Geotech. and Geoenv. Eng.*, Melbourne, Australia, Technomic Publ. Co., Inc., Lancaster, PA, Vol. 1, 121-185.
- 55) Ståhlberg, C., Bastviken, D., Svensson, B. H. ve Rahm, L. (2006). Mineralisation of organic matter in coastal sediments at different frequency and duration of resuspension. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 70(1), 317-325.
- 56) Tiano P, Biagiotti L, Mastromei G. (1999). Bacterial bio-mediated calcite precipitation for monumental stones conservation: methods of evaluation. *J Microbiol Methods* 1999;36:139-45.
- 57) Tobler, D. J., Cuthbert, M. O., Greswell, R. B., Riley, M. S., Renshaw, J. C., Handley-Sidhu, S. ve Phoenix, V. R. (2011). Comparison of rates of ureolysis between *Sporosarcina pasteurii* and an indigenous groundwater community under conditions required to precipitate large volumes of calcite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75(11), 3290-3301.
- 58) Vaithiyalingam, S. U., Gnanasekaran, D., Gopalakrishnan, S., Lakshmanan, U. ve Prabakaran, D. (2014). Biocalcification Mediated Remediation of Calcium Rich Ossein Effluent by Filamentous Marine Cyanobacteria. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 2014.
- 59) Vekariya M.S. ve Pitroda J. September (2013). *Bacterial Concrete: New Era For Construction Industry*, *International Journal of Engineering Trends and Technology (IJETT)*, Volume 4 Issue 9.
- 60) Wang, J. Y., Soens, H., Verstraete, W. ve De Belie, N. (2014). Self-healing concrete by use of microencapsulated bacterial spores. *Cement and Concrete Research*, 56, 139-152.
- 61) Warren L.A., Maurice P.A., Parmar N., Ferris F.G. (2001). Microbially mediated calcium carbonate precipitation: implications for interpreting calcite precipitation and for solid-phase capture of inorganic contaminants, *Geomicrobiology Journal*, 18.1:93-115.
- 62) Zhan, Q. ve Qian, C. (2016). Microbial-induced remediation of Zn 2+ pollution based on the capture and utilization of carbon dioxide. *Electronic Journal of Biotechnology*, 19, 29-32.