

ÇEŞİTLİ SEDİMANLARDAN SPOR VE POLLEN ELDE EDİLMESİ

R. COQUEL, S. LOBOZÍAK ve E. NAKOMAN

Lille Fen Fakóltesi Paleobotanik Lâboratuvarı

ÖZET. — Biz burada, çeşitli sedimanlardan spor ve pollen elde etmek için, Lille Fen Fakóltesi Paleobotanik Laboratuvarında kullanılan maserasyon metodlarının etraflıca tariflerini sunmaktayız.

Bu yazımızda, Lille Fen Fakóltesi Paleobotanik Laboratuvarında kullanılan, kömür ve sterillerden spor ve pollen elde etme metodları tariflerini öngörmekteyiz, ilkönce uçucu madde tenörü % 25 in üstünde olan primer taşkömürleri, sonra kömürleşme derecesi nispeten az olan Tersiyer linyitleri ve nihayet sterilleri (şist ve gre) mütalâa edeceğiz.

Spor ve pollenler, lagün sularında solüsyon halinde bulunan bitkisel maddelerin kimyasal çökmesi neticesinde teşekkül etmiş, hiçbir strüktüre malik olmıyan bir hamur içinde bulunmaktadırlar. Bu hamur içinde muhafaza edilmiş olmalarına, formülü $C_{90} H_{29} O_{12} (OH)_{15}$ e karşılaşan ve bazı kimyasal grupların bileşimine tekabül eden sporopolleninden müteşekkil, gayet dayanıklı kabukları sebep olmuştur.

Bu mikrofosilleri elde etme prensibi, maserasyon esnasında çabuk ve düzgün bir etki elde edebilmek için daha evvelce öğütölmüş numunenin kimyasal maddelerle muamele edilmesine dayanır. Böylece, çeşitli asit ve likörlerle, numunenin mineral ve kömürlü kısımları elimine edilir ve potasyum veya sodyum hidroksitle hümik maddeler ayrıştırılır.

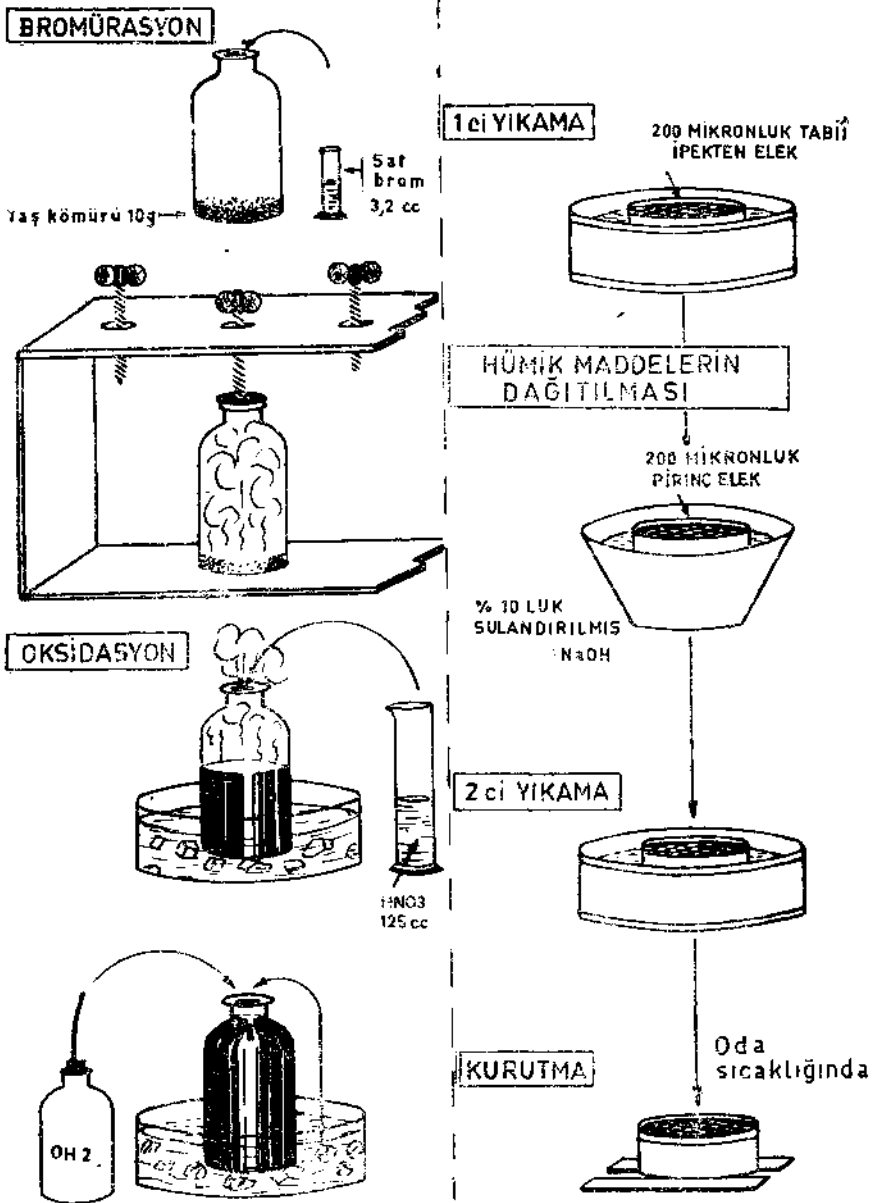
I. PRİMER TAŞKÖMÜRLERİNİN MASERASYONU

Primer taşkömürlerinden spor ve pollen elde edilmesinde, genellikle iki metod kullanılır : boyu 0.2 mm den büyük sporların (megaspor) elde edilmesinde daha çok Zetzsche ve Kâlin, 0.2 mm den küçük sporların (mikrospor) elde edilmesinde Schulze metodu tercih edilmektedir.

1. Zetzsche ve Kâlin Metodu (Şek. 1)

Bir litrelik temiz ve kuru bir şişeye, çapları 5-2 mm arasında olan 10 gram taşkömürü parçaları konup, 3.2 cc brom ilâve edildikten sonra cam bir tıkaçla derhal kapatılır, içinde yüksek bir basınç hâsil olduğundan, şişe ters olarak bir kasa içine yerleştirilir ve kasanın üzerinde bulunan vidalar vasıtasıyla sıkıştırılır. Fransa Kuzey Baseni taşkömürleri için bromürasyon elzendir. Bromun tesiri sporların ayrılmasına yardım edip, oksijene karşı spor kabuklarının dayanıklılığını sağlar. Gerçekten brom, sporopolleninin serbest valânslarıyla birleşir ve sonra da nitrik asitle muamele esnasında oksijenin bu serbest valânslarla birleşmesini önler. Hemen hemen 17 saat süren bu halojenasyondan sonra, şişe açılır ve teşekkül etmiş bromhidrik asitlerin dışarı çıkmasını sağlamak için yan yatırılır.

Bundan sonra 125 cc derişik nitrik asit ilâve edilir. Husule gelen reaksiyon ekso-termiktir; bu sebeple, şişeyi su ve buz ihtiva eden bir kaba yerleştirmek gerekir. Reaksiyonun şiddetli olmaması için asidin ilk damlalarını yavaş yavaş dökmek lâzımdır ve ısınmanın şiddetli olması önlenmelidir. Asidin geri kalanı genellikle yavaş yavaş ilâve



Şek. 1 - Zetzsche ve Kalin maserasyon metodu.

edilmesine rağmen, Fransa Kuzey Baseni taşkömürleri için bu ameliye çabuk yapılabilir. Nitrik asitle muamele zamanı kısa olup, 17 saatlik bir bromürasyon için yarım saati geçmemesi lazımdır. Daha uzun süreli bir muamele sporları yıpratır. Fakat bu zamanı gerekince uzatmak, bilhassa kömürleşme derecesi yüksek taşkömürlerinde¹ sporları birbirinden ayırarak ayıklama muamelesini kolaylaştırması bakımından faydalıdır.

Oksidasyon zamanı bitince, şişeye reaksiyonu kısmen nötralize etmek ve sporları kömürden ayırmak için birkaç buz parçası atılır. Bu reaksiyon da ekso termik olup, bu

¹ Uçucu maddeleri % 25 ten az olan kömürlerin maserasyonu zor olarak vasıflandırılmaktadır. Bu tip kömürler üzerinde yaptığımız bazı denemelerde, halojenasyonu 27-41 saat, oksidasyonu da yarım saatten fazla bir zaman devam ettirerek memnuniyet verici neticeler elde ettiğimizi belirtmek isteriz.

ameliyeyi gayet yavaş icra etmek lâzımdır. Aksi halde, şiddetle artan ısı neticesi bol miktarda köpüklenme hâsıl olur, Bundan sonra şişeye su ilâve edilerek asidin yüzdesi düşürülür.

Şişe muhtevası 0.2 mm lik tabii ipekten eleğe dökülerek, bir küvet içinde bulunan suya birçok defa daldırılıp çıkarılmak suretiyle yıkanır. İpek elekte kalan parçalar, 0.2 mm lik piriç elek üzerine aktarılıp ,% 10 luk sodyum hidroksit içine daldırılır. 10-15 saniye süren bu banyo hümik maddeleri dağıtmaya yarar. Bu işlemden sonra elekteki maddeler ikinci defa yıkamaya tabi tutulur.

Böylece elek üzerinde bitkisel kalıntılarla, megasporlar kalmıştır ve bunlar oda sıcaklığında kurutularak analize hazır bir vaziyette kutu içinde saklanır.

Bu brom ve nitrik asitli maserasyon tekniği, genellikle megasporların elde edilmesinde kullanılır; fakat, mikrosporları da elde etmeye yarar. Taşkömürlerimiz için şimdiye kadar bu amaçla kullanılmış değildir. Elde edilen megasporlar genellikle bozulmamış ve birbirinden iyice ayrılmış vaziyettedirler². Bu metotla iyi neticeler elde etmek için, taşkömürü cinslerine göre, halojenasyon ve oksidasyon zamanlarını ayarlamak gerekir.

2. Schulze Metodu (Şek. 2)

Eskiden kömürlerin ayrıştırılmasında kullanılan Schulze metodu şiddetli bir oksidasyon hâsıl eder; bu sebeple, kuvvetli kimyevi maddelere tahammül edebilen mikrosporların elde edilmesine münhasır kalmıştır.

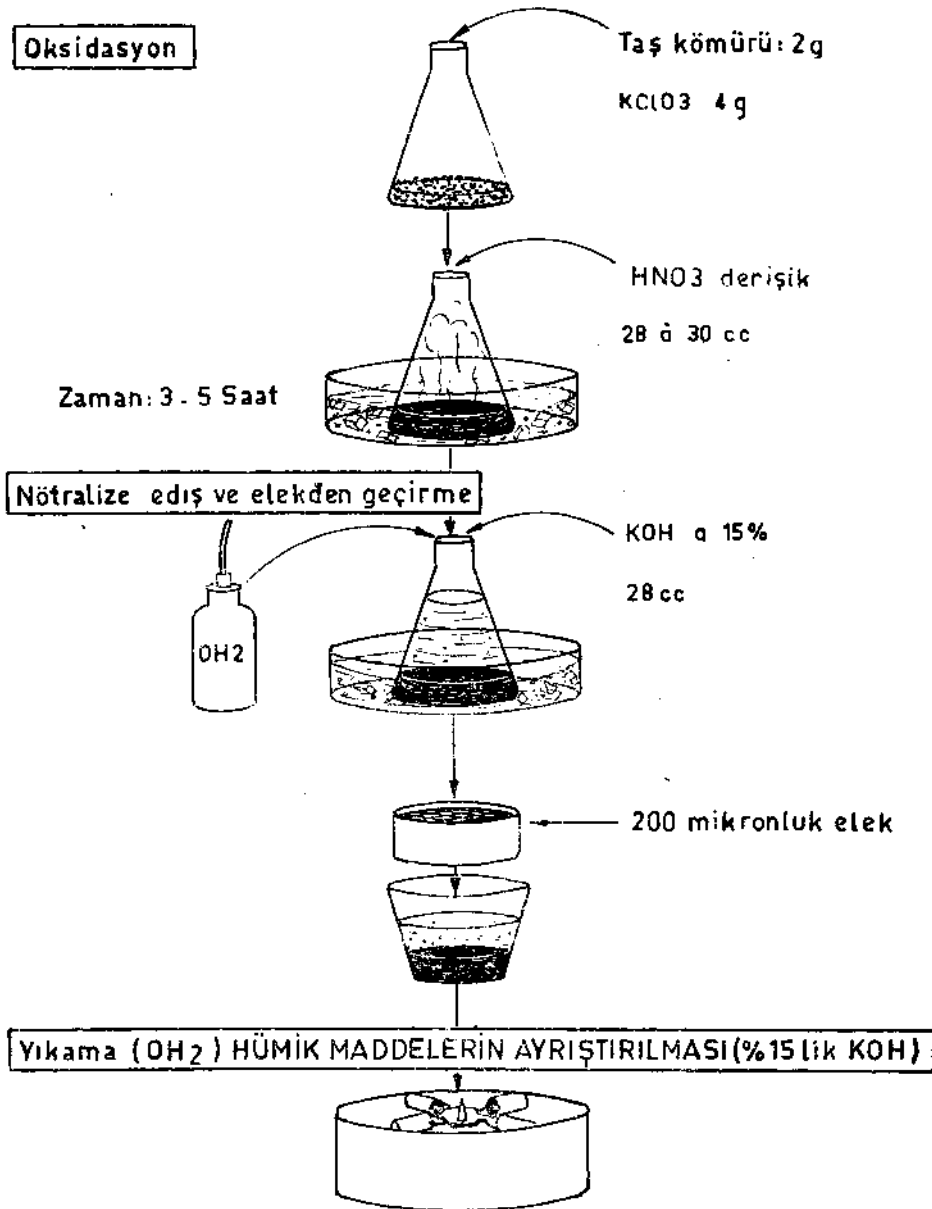
Maserasyona başlamadan evvel, numuneyi mineral kısmından ayırmak için, benzen-karbon tetraklorür karışımını bir ağır likörle muamele etmek faydalıdır. Böylece numunenin organik kısmı elde edildikten sonra kurutulur. 2 gr taşkömürü (çapları 2-0.2 mm) tartılarak bir erlenmayere konur. Çok ince ezilmiş 4 gr potasyum kloro ilâve edilerek iyice karıştırılır ve erlenmayer, içinde su ve buz bulunan bir küvete yerleştirilir. Üzerine 28-30 cc derişik nitrik asit ($d=1.52$), reaksiyonun çok eksotermik olması sebebiyle, âzami dikkatle dökülür. Taşkömürünün uçucu madde tenörüne göre 3-5 saat bırakılır. Oksidasyon, solüsyon siyahımsı kahverengi bir renk aldığı ve büyük taneli kömür parçaları kalmadığı zaman son bulmuştur.

Bu maserasyondan sonra, solüsyona, nötralize etmek için 28 cc % 15 lik potasyum hidroksit ve seyreltmek için de su katılır. Erlenmayerin muhtevası 0.2 mm lik ipek elekten geçirilerek bir kaba aktarılır; birkaç saat çökmesi beklenir.

Çökelti santrifüj godelerinde toplanır ve santrifüjle yıkanır. Bu yıkama ameliyesi godelerdeki su berraklaşınca kadar devam eder. Godelere, hümik maddeleri dissosiyeye etmek için potasyum hidroksit ilâve edilir ve yıkama tekrarlanır. Geri kalan maserasyon neticesi muhafaza edilmesi için, içinde gliserinli alkol (% 80 alkol ve % 20 gliserin) bulunan şişelere aktarılır.

Mikrosporları Schulze likörü kullanarak elde etme tekniği, genel hatları ile çeşitli Palinoloji laboratuvarlarında tatbik edilmektedir. Hakikatte değişen, Fransa Kuzey Baseni taşkömürleri için 3-5 saat olan oksidasyon zamanıdır. Bu zaman, masere edilebilir olarak vasıflandırılan bütün taşkömürü kategorileri için kâfi addedilmektedir. Sporlar ve pollenler bozulmamış olup, sayıları önemli miktarda fazladır.

² Sporlar bazan birbirine yapışmış vaziyettedirler. Bu takdirde, kalıntılar ikinci bir muameleye tabi tutulur. Piridin içinde 24 saat bırakıldıktan sonra alkolle yıkanıp, 2-4 dakika müddetle potasyum hidroksit içine atılırlar. Sporlar böylece birbirinden ayrılırlar.



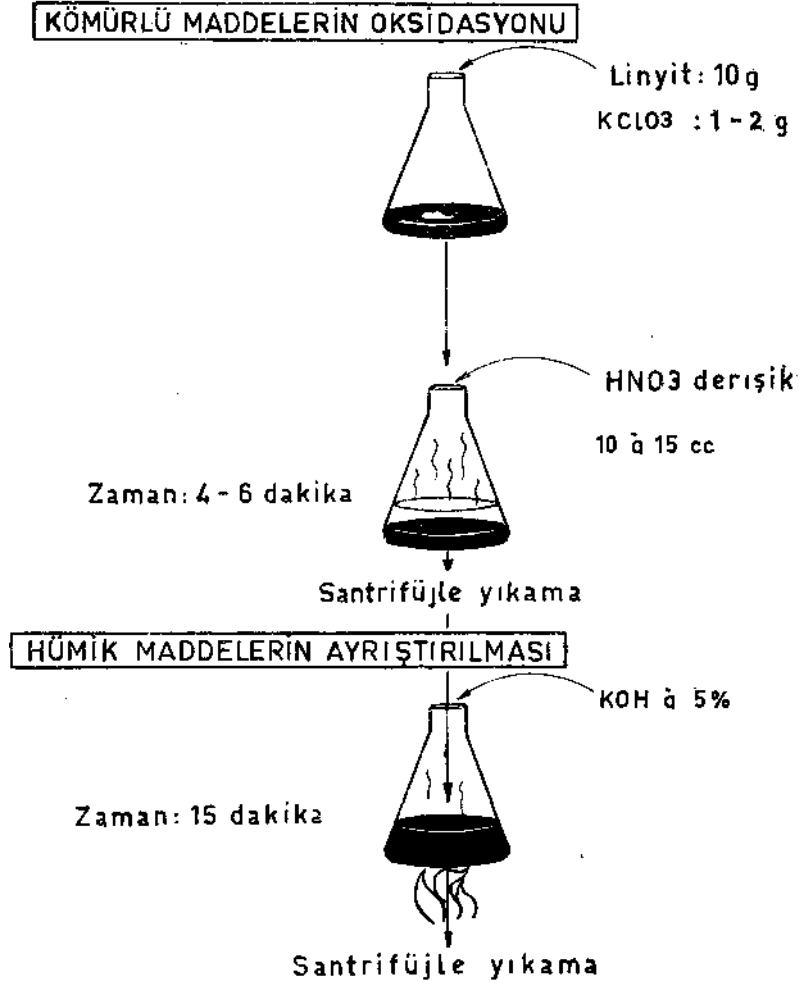
Şek. 2 - Schulze likörü ile primer taşkömürleri maserasyon metodu.

II. TERSİYER LİNYİTLERİN MASERASYONU (Şek. 3)

Primer taşkömürlerinde olduğu gibi, Tersiyer linyitlerinden spor pollen elde etme metodu, bir oksidasyonu mütaakip hümik maddelerin ayrıştırılmasından ibarettir.

1. Oksidasyon

Linyitlerin kömürlü kısımlarının oksidasyonu, çeşitli oksitleyici maddelerle yapılabilir.



Şek. 3 - Tersiyer linyitleri maserasyonu.

a) Schulze likörü, yukarda gördüğümüz gibi nitrik asit ve potasyum klorattan müteşekkildir. Bu maddelerin oranları, muamele edilecek numuneye göre değişebilir. Linyitler, daha genç olmaları ve taşkömürlerine nazaran daha fazla uçucu madde ihtiva etmeleri sebebiyle, primer kömürler için kullanılan likörden daha az enerjik bir likörle muamele edilmelidirler. En iyi neticelerin 1 gr KClO₃ ve 10-15 cc HNO₃ ten müteşekkil bir likörle elde edildikleri görülmektedir.

b) Dumanlı nitrik asit ve sodyum klorür bileşiminden müteşekkil Luber karışımı. Bu elemanların oranları da maserasyonu yapılacak maddeye göre değişebilir. Luber karışımı, Schulze likörüne nazaran daha yavaş ve daha az enerjik bir tesire maliktir.

c) Derişik nitrik asit, $d=1.49$. Bu oksidan daha az şiddetlidir ve daha yavaş tesir eder. Elverişli bir oksidasyon, 2-24 saat zarfında elde edilebilir. Nitrik asit kullanmanın avantajı, oksidasyon reaksiyonu esnasında kontrol numuneleri alıp inceliyerek, oksidasyonun bitme anını tesbit etmektir.

Bu üç oksitleyici maddeden biz umumiyetle, Luber karışımı daha uzun bir zamana ihtiyaç göstermesi ve daha az tesirli olması sebebiyle, Schulze likörünü veya nitrik asidi kullandık.

Linyitlerin oksidasyon süresi şunlara bağlıdır:

- Karbonlaşma derecesi: Bu derece ne kadar yüksekse numunenin oksitlenmesi de o kadar zorlaşır.
- Kullanılan oksidan: Schulze likörü ile yapılan oksidasyon, oda sıcaklığında 10-20 dakikaya ihtiyaç gösterir. Luber karışımı ise, 30-60 dakika arasında değişen bir zaman sonunda oksidasyon hâsil eder.
- Reaksiyonun meydana geldiği sıcaklık: Kömürlü maddelerin oksidasyonu eksotermik bir olay olduğundan, çok kimseler erlenmeyerleri soğutmak için, içi su ve buz dolu kaplara daldırmaktadırlar. Biz, çıkan sıcaklıktan oksidasyon hızını artırmak için istifadeyi tercih ediyoruz; böylece, enerjik karışımlar kullandığımız hallerde dahi erlenmeyerleri soğutmaktan kaçınıyoruz. Bundan dolayı Schulze likörü ile oksidasyon 4-6 dakikaya düşmektedir.
- Numunenin havada oksitlenme derecesi: Numunelerin hava tesiri ile alterasyonu çok raslanan bir olaydır. Bu alterasyonun çok ilerlemiş bir stadda olmaması lâzımdır; bu sebeple, bu alterasyonun önüne geçilmesi elzem olduğundan, numune, iyice kapanmış kâğıt veya plâstik paketler içinde saklanmalıdır. Damar aflörmanlarından numune alınması, damarın en az altere olmuş noktaları seçilerek icra edilmelidir.

Oksidasyon, oksitleyici maddenin elimine edilmesi ile durdurulabilir. Bu iki şekilde mümkündür:

a) *Dekantasyon.* — Solüsyonun asiditesini azaltmak için çok miktarda (1-2 litre) soğuk su (arı su olmayabilir) ilâve edilir ve ince tanecikler dipte toplanmaya kadar beklenir. Bu ameliye hemen hemen üç saat sürer ve potasyum hidroksit veya sodyum hidroksitle muameleye geçmeden evvel 2-3 defa tekrarlanır.

b) *Santrifügasyon.* — Solüsyonun yıkanması için biz santrifügasyon kullanmayı tercih ediyoruz. Bu metod daha çabuk ve tesirli olması sebebiyle avantajlıdır. Şu şekilde icra edilir: Solüsyon santrifüj aletinin godelerine konur ve dakikada 1500-2000 turluk bir dönme 2 dakika müddetle temin edilir. Neticede çok ince parçalar godelerin diplerinde birikir; godelerdeki su dökülür. Asidin hepsini elimine etmek için, ameliye birkaç defa tekrar edilir.

2. Hümik maddelerin ayrıştırılması

Santrifügasyon veya dekantasyondan kalan maddelere % 5 lik potasyum hidroksit ilâve edilir. Solüsyon kahverengimsi bir renk alınca, ayrıştırma tamamlanmış demektir. Bunun için 15 dakika kâfidir. Bununla beraber, bu zaman, solüsyonu 70°C de ısıtmak suretiyle daha da kısaltılabilir. Bu takdirde, reaksiyonu yakından takibedip kaynamaya meydan vermemek lâzımdır. Fasıllı olarak ısıtmak tercihe şayandır.

Şunu da söylemek lâzımdır ki, ayrıştırmanın muvaffakiyeti, kömürlü maddelerin oksitlenmiş olmasına sıkıca bağlıdır. Hümik asitlerin nötralizasyonunu belirten kahverengimsi renk, ancak iyi neticelenmiş bir oksidasyon sonunda müşahade edilebilir. Maserasyon esnasında az oksitlenmiş veya hümik asitlerce zengin numunelerin, alkali madde ile daha uzun bir zaman muamele edilmesi gerekmektedir. Böylece az veya hiç oksitlenmiş linyitlerin ayrıştırılması için, bazan, 2-5 saata ihtiyaç vardır.

Nihayet, birbirini tâkibeden santrifügasyonlarla, hümik asitleri elimine etmek için numune yıkanır. Geri kalan maddeler gliserinli alkol içinde saklanır.

III. STERİLLERİN MASERASYONU

Zamanımızın palinolojistleri, yalnız kömürlerin ihtiva ettikleri spor ve pollenleri incelemekle yetinmemektedirler. Taşkömürü basenlerinin büyük bir kısmını teşkil eden sterillerin palinolojik etüdlерinden, kömürler az miktarda uçucu madde ihtiva ettikleri, yani maserasyona imkân vermedikleri zaman, gayet ilginç neticeler elde edilmektedir. Fransa Kuzey Baseni sterillerinin palinolojik etüdü, araştırmalarımızı, kömürlerin etüdünden hiçbir pozitif netice alamadığımız zonlara doğru genişletmiştir.

Maserasyonun özü, Schulze likörü ile numuneyi oksitleme prensibine dayanır. Bu işlemden evvel, kayacın ihtiva ettiği mineral elemanları (karbonatlar, silis ve silikatlar) elimine etmek gerekmektedir.

1. Mineral kısımların elimine edilmesi (Şek. 4)

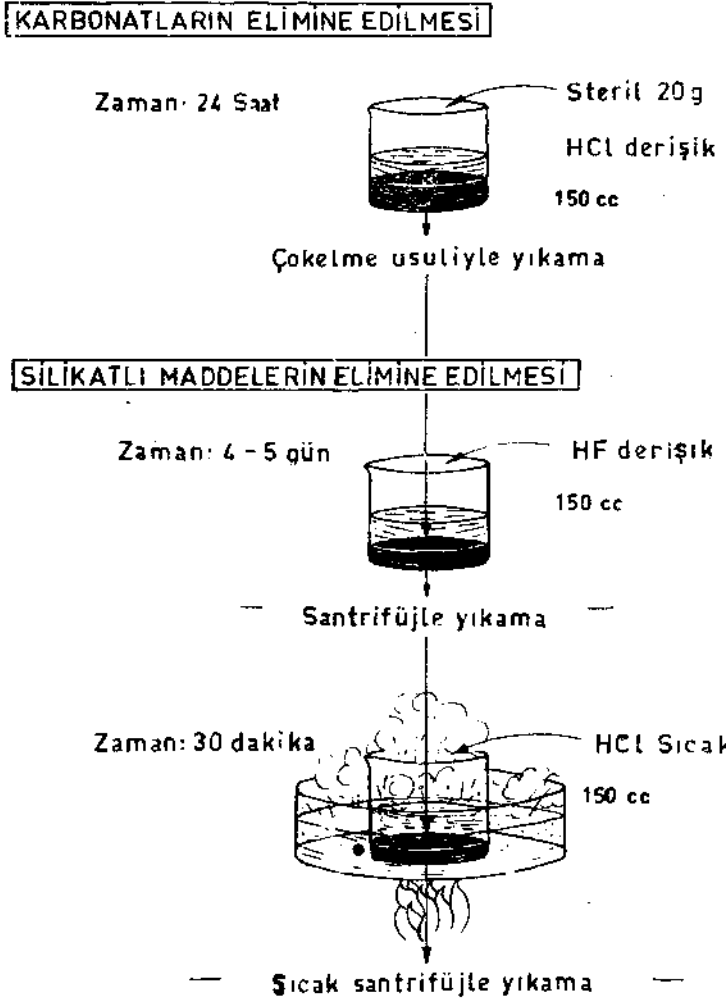
a) Karbonatların eliminasyonu. — 20 gr ezilmiş kayaç (çapı 2 mm den küçük), polietilenden yapılmış bir beher içine yerleştirilir ve üzerine 150 cc derişik klorhidrik asit dökülür. Reaksiyon, oda sıcaklığında 24 saat sürer. Burada gaye karbonatların eliminasyonudur; elimine edilmelikleri takdirde, ileride kullanılacak flüorhidrik asitle, suda erimiyen flüorürler teşkil ederler.

Bundan sonraki işlemlere geçmeden evvel, suyla yıkamak suretiyle asidi elimine etmek lâzımdır. Bunun için santrifügasyon kullanılabilir; fakat, taneciklerin boyu henüz küçülmediği ve aynı anda 10-12 numune üzerinde çalıştığımız için, dekantasyonla yıkamak vakit kazandırır.

b) Silikatların eliminasyonu. — Bundan sonra, flüorhidrik asitle (150 cc), silis ve çeşitli silikatların imhasına geçilir. Bu asit, silikatlara, ısıtmamak şartıyla, yavaş yavaş tesir eder ve böylece, 4-5 gün beklenir. Bununla beraber, ısıtmak suretiyle, bu zaman 2 saate kadar indirilebilir. Böylece, polietilen beherde, üzeri beyaz renkli, elimine edilmesi gereken flüorosilikatlarla örtülü bir çamur kalır. Eliminasyon ameliyesini dekantasyon usulüyle yapmak imkânsızdır. Yıkama, su ile ve birbirini tâkibeden santrifügasyonlarla icra edilir.

Yıkamayı takiben, Sekonder flüorosilikatların eliminasyonuna geçilir. Bunun için, elde edilen çamur, yeniden polietilen beher içine konur ve üzerine, 150 cc derişik klorhidrik asit dökülür. Benmari usulüyle 30 dakika ısıtılır. Burada gaye, flüorosilikatları suda eriyebilir hale getirmektir. Sonra, sıcak suda santrifügasyonla yıkamaya geçilir. Eliminasyonun mükemmel olabilmesi için, çok kere, 4-5 defa santrifügasyondan (1 dakika süreyle, dakikada 2 000 tur) geçirmek lâzımdır.

MİNERAL KISIMLARIN ELİMİNE EDİLMESİ



Şek. 4 - Sterillerden spor ve pollen elde edilmesi.

Solüsyon 0.2 mm lik ipek elekten geçirildikten sonra, % 10 luk potasyum hidroksitle, hümitik maddelerin dissosiyasyonu icra edilir. İcra ediş tarzı, taşkömürü ve linyitlerinkinin aynıdır.

İhtar.—Az kömürlü bazı şistler, karbonat ve silikatların eliminasyonundan, yani sıcak klorhidrik asitle muameleden sonra, çok ince tanelenmiş hale gelirler. Çamur mikroskopta incelenince, spor ve pollenler görülür. Bundan böyle, Schulze likörü ve hümitik maddelerin dissosiyasyonu için potasyum hidroksitle muameleye lüzum kalmaz.

IV. NETİCE

Esasta birbirinin aynı olan, spor ve pollenleri elde etme metodları, primer taşkömürü, Tersiyer linyitleri veya steriller olmak üzere, maserasyonu yapılacak maddelere

göre, çok az farklar arzederler. Steriller, gre, şist veya kömürlü kayaçlar bahis konusu olmak üzere, nispeten kömürlü madde ihtiva etmekte olup, değişik muamele sürelerine ihtiyaç gösterirler. Aşağıdaki tablo, Schulze likörünün kullanılış tarzını, yaptığımız etüdülerle elde ettiğimiz neticelere göre özetlemektedir.

<i>Sedimanlar</i>	<i>HNO₃</i>	<i>KClO₃</i>	<i>Süre</i>
Primer kömürler	28-30 cc (derişik)	4 gr	3-5 saat
Tersiyer linyitler	10-15 cc (derişik)	1 gr	4-6 dakika
Steriller	gre	genellikle sterildirler	
	şist	40 cc (20° B)	2-4 gr 1-6 dakika
	kömürlü kayaç	»	4 gr 10-15 dakika

Neşre venldiği tarih 3 Aralık, 1964

B İ B L İ Y O G R A F Y A

- ALPERN, B. (1957) : Etude palynologique des microspores de quelques charbons français. *These d'Etat*, Paris.
- (1963) : Methode d'extraction des spores des roches du Houiller. *Pollen et spores*, vol. V. no. 1, pp. 169-177.
- BROVYN, G.A. (1960) : Palynological techniques. *Louisiana State University*, Baton Rouge, La.
- LOBOZIAK, S. (1962) : Etude palynologique des environs du niveau marin de Rimbart et du faisceau de Six-Sillons dans le groupe d'Auchel-Bruay. Correlations stratigraphiques. *These de 3 eme cycle*, Lille.
- NAKOMAN, E. (1964) : Etude palynologique de quelques echantillons de lignite provenant du Bassin de Thrace (Turquie). *Note presentee à la Societe Geologique du Nord*, seance de Decembre.
- POKROVSKAIA, I.M. (1950) : Analyse pollinique. Dans *Ann. Serv. d'inf. Geol. du B. R. G. G. M.*, no. 24, janv. 1958 (traduction par E. Boltenhagen).
- SCHULZE, F. (1855) : Über das Vorkommen wohlhaltener Zellulose und Steinkohle. *Mon. Berliner Akad.*, pp. 676-678.
- ZETZSCHE, F. & KÂLİN, O. (1932) : Eine Methode zur Isolierung des Polymerbitumens (Sporenmembranen, Kutikulen usw.) aus Kohlen. *Braunkohle*, no. 31, pp. 363-366.