

DERLEME YAZILAR

HİDROKARBONLARIN MİKROBİYOLOJİSİ*

Prof. Dr. Sabahattin Payzın**

Giriş

Bültenimiz, orijinal yazıların yanısıra, fırsat buldukça, okurlarına aktüel konularda son yayınları derleyen, özet «Derleme Yazılar» sunacaktır. Bunların ilki olarak Prof. S. Payzın'ın özellikle son yıllarda büyük gelişmeler kaydeden «Petrol Türevlerinden Besin Maddeleri Yapımı» çalışmaları hakkında en son bilgileri toplayan derleme yazısını okurlarımızın istifadesine sunuyoruz.

Bakterilerin karbonhidratları tek karbon kaynağı olarak kullanıp kullanamamaları, muhtelif araştırmacılar tarafından incelenmiş ve bunu aramak için sentetik besiyerleri yapılmıştır. Hocam Prof. Braun, sentez okulunun kurucusu olarak, başta paratifo - B olmak üzere birçok bakterileri, yapısı bilinen sentetik besiyerlerinde üretmeyi başarmıştır. Karbon kaynağı olarak sitratı kullanma özelliğini incelemek için, Koser, klâsik besiyerinin ortaya koymuş ve bu, bir ayıraç olarak kullanılagelmiştir.

Genel olarak mikrobiyoloji çalışmalarında, ayıraç olarak 3 - 6 karbonlu hidrokarbonlar kullanılagelmekte idi. Bunlar da **alifatik** tipte idiler. Kapalı karbon halkası olan aromatik hidrokarbonların kullanılması ise, mutad olmamıştı. Son zamanlarda Sovyetler Birliğinde geomikrobiyolojinin ve petrol mikrobiyolojisinin geliştirilmesi ile **mayalangan - substrat** olarak parafin, madenî yağ, dizel motorini kullanılarak bunların bakteriler tarafından kullanılışı, parçalanma mekanizması, «**biomass**» adı verilen ara parçalar kitlesi veya son safhada uçucu ve uçmaz asitler oluşumu gibi konular incelenmiştir.

Bu çalışmaların amaçlarını şimdilik şöyle özetleyebiliriz :

1 — Petrollerin kayalardan oluşum mekanizmasını açıklamak,

* Ankara Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Kürsüsünün 29 Kasım 1966 tarihli seminerinde sunulmuştur.

** A. Ü. Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Enstitüsü Direktörü, Ankara.

- 2 — Petrolün parçalanması ile petrol gazlarının oluşumunu açıklamak,
- 3 — Tabiatта oluşan metan gazlarının oksidasyonu ile ters yönden hidrokarbon oluşumu,
- 4 — Petrol aranmasında mikrobiyoloji metodunu kurmak,
- 5 — Petrol türevlerinden basit hidrokarbon ve vitaminlerin oluşumu,
- 6 — Petrol türevlerinden protein yapımı.

Bunların hepsi çok önemli konular olmakla beraber, son ikisi sentetik besin istihsalı için başlangıç adımları olan ve hekimlerle biyokimyacıları çok yakından ilgilendiren konulardır.

Bu alanda uzun bir tarihçeye girmeden, esas konumuza geçebiliriz. Biz bu yazımızda, ancak son 5-6 yılın gelişmelerini sunacağız.

«Hidrokarbon Kullanımı» Ne Demektir?

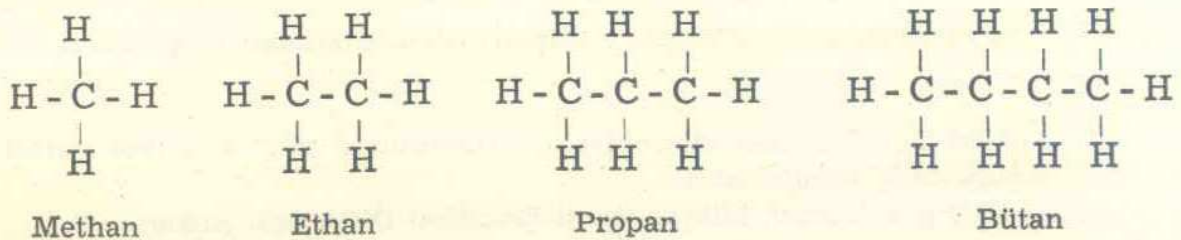
Karbon kaynağı olarak içine sadece bir hidrokarbon konulmuş olan sentetik besiyerinde üreyerek, bundan «biomass» adı verilen ve fermentasyon sonucu oluşmuş, kurutulabilip tartılabilen, yapısı karışık ve amino asitleri de kapsayabilen bir kitle oluşturan olaydır.

Bu cins bakterilerin araştırılması için, elde bir taksonomi testi bulunması gereklidir. Bu maksatla, çeşitli dayanaklar kullanılmıştır. Bunlar için tam birleşme henüz yoktur.

Taksonomi Testleri :

Yayınlardan edilen kanaata, göre bunları şöyle ayırmak mümkündür :

- A — Metan, etan, propan, bütan gibi zincir yapan karbon-hidrojen bileşiği alifatik hidrokarbonları kullanma yeteneğini ölçmek için karbon kaynağı olarak yalnız bu gazları ortamda bulundurarak, bunlardan faydalanma durumu incelenir.



- B — Şcolokova ve arkadaşlarınınca¹ taksonomik esas olarak alınmış olduğu gibi, muhtelif kaynama noktaları olan parafinler (Grosneski, Lukretski, Drogabitçeski parafinleri de dahil), arıtılmış dizel yağı (motorin), C₆ - 18 arası yapıda olan çok karbonlu karbohidratlar, sentetik yağ asitleri ve sentetik alkollerdir. Bunlar da ortama tek karbon kaynağı olarak konulup, mikroorganizmlerin bunlara teker teker etkileri incelenir.
- C — Optimal ısı derecesi : Bu da önemli bir ayırım aracıdır. Minicanlıların bazıları hidrokarbonları en iyi olarak 38°C de kullanıyorlar. Meselâ *Candida tropicalis* için 38°C en iyidir. Birçokları ise, 40 - 45°C altında az üredikleri halde, en çoğu 45 - 50°C da en iyi ürerler.²

Hangi Bakteriler Hidrokarbonları Kullanır?

Bunların başlıca iki ekolojik ortamı vardır; toprak ve petrol yatakları. Maamafih, barsak ta bir ortamdır. Toprakta bulunan, hidrokarbon parçalayan veya besiyerlerinde oksitlenme, sentez veya polimerizasyon yapanlar, en çok *pseudomonas*'lardır. İkinci bir grup, bilhassa petroler ile ilgili sularda bulunan *Mycobacterium*'lardır. üçüncü bir grup minicanlılar da, *Torula*, *Rhodotorula* ve *Candida*'lardır. *Brevibacterium*, *Arthrobacterium*, *Chromobacterium*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Sarcina*, hattâ *Corynebacterium*'lardan bazıları da hidrokarbon kullananlar arasında bulunmaktadır.

Son beş yıllık yayınlarda, Japonya ve S.S.C. Birliğinin petrol sahalarında yapılan mikrobiyolojik flora incelemelerine ait yayınların özetini, Tablo 1 de veriyoruz.

Bunlara diğer ulusların petrol alanlarında bulunanları da katmamız mümkün ise de, elimizde mevcut tıbbî dergi ve referat dergilerinde fazla bir yayına rastlayamadığımızdan, buraya alamadık.

En Basit Hidrokarbon Olan Metanı Kullanan veya Oluşturan Bakteriler Var mıdır? Davies (Deyvis) ve arkadaşları³ atmosfer azotunun metan gazını karbon kaynağı olarak kullanarak bağlayan bir *psödomonas* suşu soyutmuşlardır. Bu bakteri, petrolü topraktan sarı - ak ve saydam koloniler halinde üretilmiş olup, **ps. methanomonas**'tan farklıdır ve **ps. methanitricans** adı verilmiştir. Azotu, hücre lipidi fraksiyonu yardımı ile ve **poly - beta - hidroxybutarate** üstünlüğü ile fikse eder. Smirnova,⁴ metan ve propanı oksitleyerek azotu fikse eden bakterilerin cinslerini vermiş ise de, metan mevcut olmadığından inceleyemedik. **Ps. methanica**, metan, C¹⁴H₄ ü methanol ile

TABLO I. PETROL ALANLARI VE TOPRAKTA BULUNAN
HİDROKARBON KULLANAN BAKTERİLER

PSEUDOMONASLAR	DİĞER BAKTERİLER	MANTARLAR
Ps. nitroreductans	Alcaligenes fecalis	Proactinomyces
Ps. maltophilia (Hugh.)	Arthrobacterium ureafaciens	Nocardia
Ps. desmalytica (Grey)	Arthrobacterium tumescens	Candida albicans
Ps. methan oxidans		
Ps. iners	Achromobacter delicaltus	Candida Tropicalis
Ps. stutzeri	Erevibacterium lypolyticum	Candida lypolytica
Ps. putrefaciens	Brevibacterium pusillum	Rhodotorula
Ps. azotoformans	» hevolum	Torulopsis
Ps. schykilliensis	» sulfureum	Aspergillus
Ps. aeruginosa	Corynebacterium hydro- carboclastus	Absida
Ps. solanecearum	Flavobacterium ferrugineum	Cuminganella
MYCOBACTERİUM'lar	Micrococcus variens	Fusarium moniliformis
Mycobacterium flavum	» conglomertatus	Mortierella
» mucosum	» luteus	Mucor
» lacticolum	» carridus	Oidium
» luteum	Sarcina lutea	Paecilomyces
» pseudomet- hanica	» » subflava	Periconia
» propanicum	Vibrio 0/1	Sporobolomycse
» rubrum		Penicillium
		Trichosporum

Kaynaklar : İzzuka ve ark. J. Gen. appl. Microbiology 1964, **10**: 207 - 221 ve 223 - 331, aynen 1965, **11**: 1 - 4, 1966 Moskova Uluslararası IX. Mikrobiyoloji Kongresine sunulan CI bölümündeki tebliğler; Freebairn ve ark., Nature 1964, **202**: 313, Telegina ve ark.

C¹⁴ methanolu karbon kaynağı olarak kullanabilmektedir.⁵ **Methanobacillus omelianskii** ise, ATP bulunuşunda gerek canlı halde ve gerekse ekstreleri ile çabucak N⁵ **methyltetrahydrofolate**'dan CH₄ oluşturur.

Kafkasya, Ukrayna, Ural ve Kuzey Volga petrol alanlarındaki yeraltı su ve kayalarında metan oksitleyen bakterileri Mogilevski ve ark.⁶ incelemişler; ve **Psödomonas**, **Cromobacter** ve **proactinomyces**'leri en fazla aktif ve gösterge (indicator) minicanlı olarak bulmuşlardır. Bunların, beher bakteriye düşen miktar olarak, 2 x 10⁻¹² ml. lik gazı assimile ettikleri gösterilmiştir.

Hidrokarbonları «Asimile» veya «Dissimile» Eden Minicanlıların Metabolizmalarında Rol Oynayan Enzimler ve Etki Mekanizmaları Nelerdir?

Son zamanlarda, bu mekanizmayı aydınlatıcı yayınlar çoğalmıştır. Parafini tek karbon kaynağı olarak kullanan maya mantarlarının redoks sistemini inceleyen Pomoçnikova ve Borsuaeva,⁷ bu sistemde bile vitamin B sentezine hanel gelmediğini ve dehidrogenazın çok azalıp fosfor bileşiklerinin değişmediğini belirtmişlerdir. Psödomonastların **naphtalene**'i, çekirdeği parçalayarak **D-trans 1,2, dihidro - 1,2 dihydroxynaphthalen** ve ondan **1,2 dihidroksinaftalen** haline getirdiği görülmüştür.⁸ Muhtelif pH deneylerinde, **trans** ürünü enzimatik olarak elde olunan **cis** şeklinin izomerizasyonu ve şimik sentez ile elde edilmekte idi. Bu olay, salisilaldehid ve pirüvat üzerinden bakterinin aldolazı ve bilhassa NAD - dehidrogenazın (hücresiz ekstrelerde de) salisil - aldehidi oksitlemesi ile olmaktadır. ^{8,9}

Candida, Rhodotorula ve **Torulopsis** genuslarına ait mantarları inceleyen Gradova,¹⁰ hidrokarbon, normal alkol ve mono ve dikarboksilik asitleri tek karbon kaynağı olarak kullandıklarında, ortamda yağ asitleri bulmuşlardır. Genel olarak bu yağ asitlerinin (2C) n formülü ile anlatılan fraksiyonun karbon atom sayısı, mayalamgan - substrate'inkinden azdır. Bu da, oluşan yağ asitlerinin oksidasyon ile degradasyonunu gösterir. Karbon zincirlerinde 2 - 4 ve % 0,2 - 0,5 yoğunluğunda C₁₀, C₁₇ karbon zinciri bulunabilir.

Koşelava ve ark.,¹¹ **Mycobacterium lacticolum** ve **M. mucosum**'u, karbon kaynağı olarak sadece parafin kullanarak üretmişlerdir. Ortamda yeterli azot varsa, formik, valeryanik, asetik, bütirik ve propiyonik asid gibi uçucu asitler oluşuyormuş. Azot azalırsa veya başka yolla üreme gecikirse, formik asid hariç, diğerlerinin oluşumu azalmakta idi. Uçucu asitlerden başka, amber asitlerinden alfa - ketoglutarik asid, pürivik asid de oluşuyordu ve azot ilâvesi, biriken keto asitlerini azaltıyordu. **Yani, ortamda azot az olursa, ketoasitler aminoasitlere dönüşemiyordu.**

Petrol Türevlerinden Protein ve Aminoasid Oluşumu :

Candida guilleromondii'nin glükoz ve alifatik hidrokarbonlar üzerinde üretilmesini mukayeseli olarak inceleyen Fritse,¹² **n-hekzadekan** bulunan besiyerinde üretilen hücrelerdekine göre % 50 fazla protein bulunduğunu bildirmiştir. Her iki besiyerinde üreyen hücrelerde, farklı enzimler oluşmaktadır.

Son yıllarda, minicanlıların besin istihsalindeki önemli rolü üzerinde araştırmalar ilerlemiştir. Eroşin ve ark.,¹³ sebze artıkları ve

sıvı parafin bulunan besiyerinde daldırma - kültür (submerged-culture) yöntemi ile üretilen bazı cins mikobakterilerin oldukça fazla «biyomas» oluşturduklarını ve B₁₂ vitamini dahil, **cobalaminleri** ve aminoasidlerden lysine, **tryptophane** ve **methionine**'i sentez ettiklerini görmüştür. Mikhalyova ve ark.,¹⁴ dizel motorinini karbon kaynağı olarak kullanarak üretilen bazı mikobakteri, psödomonas ve kandida mantarlarının, vitamin ve proteince zengin biyomas oluşturduklarını göstermişlerdir. Riboflavin ise, **C. guilleromondii** tarafından (200 mgr./ml) sentez edilmiştir. Şolovkova ve ark.,¹ inceledikleri 300 kadar kandida, torula ve rodotorula kütükleri arasından, bazıları yüksek kaynama noktalı parafinlerde üreyebilen ve fazlaca «biyomas» yapan **Candida tropicalis** elde etmişlerdir, (K - 41 soyu). K - 41 soyu, C₁₆ - 25 hidrokarbonlarla 38°C da diğer cinslere ve mutad besiyerlerinde üretmeye göre % 50 fazla protein ürettiği gibi, B grubu vitaminlerin iyi bir sentezcisi olduğu anlaşılmıştır, (tiyamin 50 mgr/gr., riboflavin 90 mgr/gr., nikotinik asid 1000 mgr/gr., ve PABA 35 mg/gr.). Bunun biyomas'ı, endüstriyel olarak sığır besini olarak elde edilip, başarı ile kullanılmıştır. Ultraviyole ile K - 41 ve diğerlerinin mütantları elde edilmiş ve daha üstün sonuçlar vermişlerdir.

Bu adımlar ilerledikçe, insanların protein, vitamin gibi ihtiyaçlarını gidermek için, yeni ufuklar açılmaktadır.*

Petrol Oluşumu ve Minicanlılar :

Petrol oluşumu ile minicanlıların ilgisi, birçok lâboratuvarlarda araştırılmış ve önce S.S.C.B.'nden başlayan, petrol alanlarının bakteri florası incelenimi, birçok memleketlere yayılmıştır. **Son zamanlarda, lâboratuvarda da petrol elde edilmiştir.** Karaskiyevitz,¹⁵ bakteri kompleksi ile petrol kayaları (oil rocks) nı karıştırarak, lâboratuvarda petrol elde etmiş ve saha çalışmasında da aynı başarıyı göstermiştir.

Kuznetvoz,¹⁶ petrol oluşumu teorisini şöyle açıklıyor :

Petrol - yapan (oil - forming) plankton ve bitki artıkları, ana su depolarında harabolurlar; kum - çakıllı mil içinde kalarak petrol - kayasını yaparlar. Minicanlı faaliyeti de gittikçe azalır. Tektonik faaliyet sonucu yüzeyden gelen sular, yeni minicanlılar getirir ve bun-

* 27 Şubat 1967 tarihli Newsweek dergisinde, Soc. Française de Petroles araştırma Lâboratuvarında da SCP - single cell protein elde ettiklerini; ESSO ile bu firmanın ABD'de gizli bir bölgede protein imâli için pilot - fabrika inşa ettiklerini bildirmiştir. Nestle Çikolata şirketi de bu araştırmalara katılmaktadır.

lar petrolü kayalardan ayırır ve boşluklar dolar. Eğer sularda kalsiyum sülfat varsa, bu hidrojen sülfite indirgenir ve çevre kalsit ile hermetik olarak kapatılarak bakteri faaliyeti sona erer. Eğer, sülfatlar mevcut değilse, bakteri faaliyeti devam eder ve petrol sahası yok olur. Petrolün yok oluşu, petrole su verme ile, bazan pratikte de görülür. Anaerob şartlarda, bilhassa kerozen fraksiyonunda aromatik ve metan hidrokarbonlarının azalmasıyla belirgin olarak, bakterilerce petrol metana çevrilir, (Simakova ve ark.,¹⁷).

Bu bulgular, petrol aramada mikrobiyoloji metodunu kurmuştur. Uzun araştırmalar, gaz yapan minicanlıların (metan, propan, bütan) petrol alanlarının herbirinde bulunduğunu göstermiştir. Petrol kaya ve alan sularında gösterge - minicanlı olarak, **Myc. flavum**, **Myc. luteum**, **lacticolum**, **Ps. methanica**, hemen her petrol alanında (Kafkasya, Ukrayna, Ural ve Volga bölgeleri) bulunmuştur, (Mogilovski, 1966).⁶ Bu suretle, petrol kayalarının, kumların ve sondaj sularının florasının incelenmesi, araştırmacılara o bölgede petrol bulunup bulunmadığı hususunda fikir vermektedir.

Sonuç ve Özet

Bu açıklamalar, bize mikrobiyolojinin yeni bir çalışma alanını göstermektedir :

- a) Bakteri enzimleri ile, en fazla inert madde olarak kabul edilen katı ve sıvı parafinler parçalanabilmektedir;
- b) Bunlardan vitamin, yağ asidi, ketonlar ve proteinler elde edilebilmektedir;
- c) Metan, propan gibi endüstri gazları elde edilebilmektedir;
- ç) Şimdiden, iyi hayvan yemi elde edilmektedir;
- d) Kayalarla lâboratuvarda petrol istihali başarılmış bulunmakta ve bitümlü kayaların (asfalt), gelecekte petrol ham maddesi olarak endüstriye girmesi mümkün olacağı benzenmektedir.

Yurdumuzdaki genç mikrobiyologların da bu alanda çalışması faydalı olur, kanısındayım.

REFERANSLAR

1. Stcholokova, I. F. ve arkadaşları : Selection of fodder yeasts which have high activity of growth and accumulation biomass on hydrocarbons of petroleum, 9. Uluslararası Mikrobiyoloji Kongresi, Abstracts of Papers, Bölüm C, Tebliğ C 1/6, Moskova, 1966.