

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

LABORATUVAR HİZMETLERİ

MİKROSKOBİK SAYIM

Ankara, 2015

- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
- Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.
- PARA İLE SATILMAZ.

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR	iii
GİRİŞ	1
ÖĞRENME FAALİYETİ-1	3
1. BAKTERİ SAYIMI	3
1.1. Mikroskop Faktörünün Bulunması.....	3
1.1.1. Görüş Alanının Çapının Ölçülmesi	3
1.1.2. Görüş Alanının Hesaplanması.....	4
1.1.3. Mikroskop Faktörünün Hesaplanması	5
1.2. Breed Yöntemi ile Bakteri Sayımı	5
1.2.1. Amaç ve Prensipt.....	5
1.2.2. Yapılışı	5
1.2.3. Hesaplamalar ve Dikkat Edilecek Noktalar	6
1.2.4. Avantaj ve Dezavantajları	7
UYGULAMA FAALİYETİ.....	9
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	13
ÖĞRENME FAALİYETİ-2	14
2. MAYA SAYIMI	14
2.1. Thoma Lamı Yöntemi ile Maya Sayımı.....	15
2.1.1. Amaç ve Prensipt.....	16
2.1.2. Yapılışı	16
2.2. Hesaplamalar ve Dikkat Edilecek Noktalar	17
UYGULAMA FAALİYETİ.....	19
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	20
ÖĞRENME FAALİYETİ-3	21
3. KÜFLÜ SAHA SAYIMI	21
3.1. Howard Lamı Yöntemi ile Küflü Saha Sayımı	23
3.1.1. Amaç ve Prensipt.....	23
3.1.2. Yapılışı	23
3.2. Hesaplamalar ve Dikkat Edilecek Noktalar	24
UYGULAMA FAALİYETİ.....	27
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	28
MODÜL DEĞERLENDİRME	29
CEVAP ANAHTARLARI.....	30
KAYNAKÇA	31

AÇIKLAMALAR

ALAN	Laboratuvar Hizmetleri
DAL	Gıda, Tarım ve Hayvan Sağlığı Laboratuvarı
MODÜLÜN ADI	Mikroskobik Sayım
MODÜLÜN SÜRESİ	40/24
MODÜLÜN AMACI	Bireye / öğrenciye tekniğine uygun olarak mikroskobik sayım yöntemleri ile mikroorganizma sayımı yapma işlemlerine yönelik bilgi ve becerileri kazandırmaktır.
MODÜLÜN ÖĞRENME KAZANIMLARI	<ol style="list-style-type: none">1- Tekniğine uygun olarak mikroskopta breed yöntemi ile bakteri sayımı yapabileceksiniz.2- Tekniğine uygun olarak mikroskopta thoma lamı ile maya sayımı yapabileceksiniz.3- Tekniğine uygun olarak mikroskopta howard lamı ile küflü saha sayımı yapabileceksiniz.
EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	Ortam: Laboratuvar ortamı Donanım: Blender/stomacher/mikser, hassas terazi, tartım kapları, spatül, pipet, mikro pipet, bek, erlen, cam yazar kalem, mikroskop, lam, lamel, bazık boya solüsyonu, dilüsyon sıvısı, refraktometre, howard lamı
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	Modül içinde yer alan her öğrenme faaliyetinden sonra verilen ölçme araçları ile kendinizi değerlendireceksiniz.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Mikroskobik sayım yöntemleri numunede bulunan mikroorganizmaların, mikroskop altında incelenmesi prensibine dayanır. Bu amaçla Thoma lamı, Howard lamı gibi özel lamalar geliştirilmiştir. Bu yöntemleri kullanabilmek için iyi bir mikroskop kullanıcısı olmak gereklidir.

Direkt mikroskobik sayım yöntemleri canlı ve ölü tüm mikroorganizmaların sayılması gibi önemli bir dezavantaja sahip olmakla beraber pek çok üstün yönleri de vardır. Ucuz, yapılışının kolay olması ve kısa bir sürede sonuç alınabilmesi bu yöntemlerin avantajlarından birkaçıdır.

Bu modülü tamamladığınızda tekniğine uygun olarak mikroskobik sayım işlemlerini yapabilecek, bu analizler için gerekli olan çeşitli araç gereçleri kullanabileceksiniz.



ÖĞRENME FAALİYETİ-1

ÖĞRENME KAZANIMI

Bu öğrenme faaliyetinde verilen bilgi ve becerilerle tekniğine uygun olarak mikroskopta breed yöntemiyle bakteri sayımı yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Çevrenizde bulunan mikrobiyoloji laboratuvarlarına giderek mikroskobik sayım işlemlerini gözlemleyiniz.
- Konu ile ilgili çalışmalarınızı rapor hâline getirerek sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

1. BAKTERİ SAYIMI

Mikroskobik sayım yöntemleri numunede bulunan mikroorganizmaların, mikroskop altında incelenmesi prensibine dayanır. Bu amaçla çok sayıda sayım tekniği ve bu tekniklere uygun ekipmanlar geliştirilmiştir. En yaygın olarak kullanılan direkt mikroskobik sayım yöntemleri arasında, bu amaçla üretilmiş özel lamalar (Thoma lamı, Howard lamı vb.) veya belli bir hazırlık yapılan normal lamalar (Breed yöntemi) ya da membran filtreler kullanılmaktadır. Direkt mikroskobik sayım yöntemleri canlı ve ölü tüm mikroorganizmaların sayılması gibi önemli bir dezavantaja sahip olmakla beraber pek çok üstün yönleri de vardır.

1.1. Mikroskop Faktörünün Bulunması

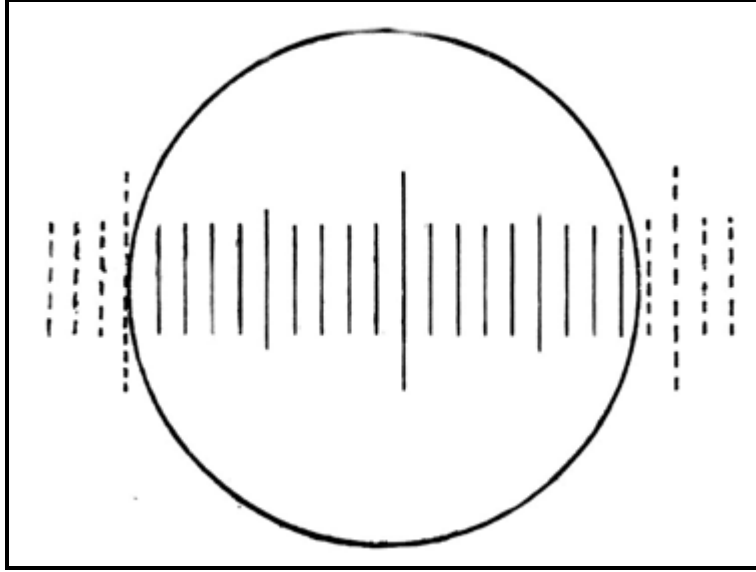
Mikroskop faktörü 1 cm²'lik alandaki görüş sahası sayısıdır (1cm²/ görüş sahası alanı). Bir mikroskopta 10x oküler, 100x objektif ve 160mm tüp boyu bulunduğunda mikroskop faktörü 2500- 5500 arasında değişir. Bu değerlerden çok farklı sonuç elde edildiğinde hesaplamalar kontrol edilmelidir. Mikroskop görüş sahasının alanı belirlendikten sonra mikroskop faktörü hesaplanır.

1.1.1. Görüş Alanının Çapının Ölçülmesi

Mikroskop alanının belirlenmesi için mikrometrik ölçeği bulunan lamdan (objektif mikrometre) yararlanılır. Bu lamın üzerinde her bir aralığı 10µm olan, 100 bölmeli, toplam 1mm'yi gösteren çizgiler bulunur.

1.1.2. Görüş Alanının Hesaplanması

Objektif mikrometre adı verilen ve 10 µm aralıklarla çizilmiş çizgileri bulunan özel bir lam yardımı ile yapılır. Bunun için objektif mikrometre mikroskop tablasına yerleştirilir ve görüntü bulunur. Eğer 100'lük objektif kullanılacaksa sedir (immersion) yağı damlatıldıktan sonra görüntü bulunmalıdır. Çizgilerin ortasından geçirilen hayali bir eksen görüş sahasının çapına denkleştirilir ve çap objektif mikrometre aralıkları cinsinden ölçülür. Ölçümün kolay olmasını sağlamak için 10 çizgide bir olan uzun çizgi, görüş sahasına teğet getirilir. Örneğin şekilde verilen mikroskop görüş sahası çapında 18 adet tam aralık bulunmaktadır. Son çizginin sağında kalan aralığın ise 0,7 aralık olduğu tahmin edilmektedir. Dolayısı ile bu mikroskop görüş sahasının çapı, 18,7 aralık x 10 µm = 187 µm'dir.



Şekil 1.1: Mikroskop görüş sahasının çapı

Objektif mikrometre ile görüş sahası çapı ölçüldükten sonra görüş sahası alanı hesaplanır.

Örneğimizde çap (R) = 187 µm,

$$r=187/2=93,5 \mu\text{m}$$

alan (A) = $\pi \cdot r^2 = 3,14 \times (93,5)^2 = 27450 \mu\text{m}^2$ dir. Görüş sahası alanı bir kez hesaplanıp kaydedildikten sonra;

- Objektif değiştirilmezse,
- Oküler değiştirilmezse,
- Mikroskopun tüp boyu değiştirilmezse tekrar ölçülmesine gerek kalmaz. Aynı alan her sayım için kullanılır.

Bunun yanında aynı büyütmeye dahi her mikroskopta farklı bir görüş sahası elde edilebileceği unutulmamalıdır.

1.1.3. Mikroskop Faktörünün Hesaplanması

Mikroskop sahasının alanı hesaplandıktan sonra, 1 cm²lik alan içinde kaç adet görüş sahası bulunduğu, yani mikroskop faktörü hesaplanır. Yukarıdaki örnekte görüş sahasının alanı 27450 µm² olarak bulunmuş idi. Mikroskop faktörü 1 cm² alan içindeki görüş sahası adedidir. Buna göre verilen örnek için $1 \text{ cm}^2 / 27450 \text{ µm}^2 = 3643$ adet mikroskop görüş sahası vardır ($1 \text{ cm}^2 = 10^8 \text{ µm}^2$)

Mikroskop faktörü (1 cm² alan içinde kaç adet görüş sahası olduğu) standart 10 büyütme oküler, 100 büyütme objektif ve 160 mm tüp boyu kullanıldığında genellikle 2500-5500 arasında olmalıdır. Bu sınırların çok dışında bir değer elde edildi ise hesaplamalar gözden geçirilmelidir.

Sayımı yapılacak süt içindeki muhtemel bakteri sayısına göre değişmek üzere, farklı mikroskop görüş alanlarında (sahalarda) yapılan sayım ortalamasının 1,2 bakteri/saha olduğunu varsayalım. Buna göre 1 cm² alan içinde yukarıda verilen örnekte 3641 adet mikroskop görüş sahası olduğuna göre 1 ml'deki bakteri sayısı: $1,2 \times 3643 \times 100 = 4,4 \times 10^5$ adet/ml'dir.

1.2. Breed Yöntemi ile Bakteri Sayımı

Genellikle bakteri sayımında kullanılan bu yöntem belli bir hacimdeki örneğin belirli bir alan üzerine yayılması ve sayımın bu alanda yapılması esasına dayanır. Standart kullanımda hacim 0,01 ml ve alan 1 cm²dir.

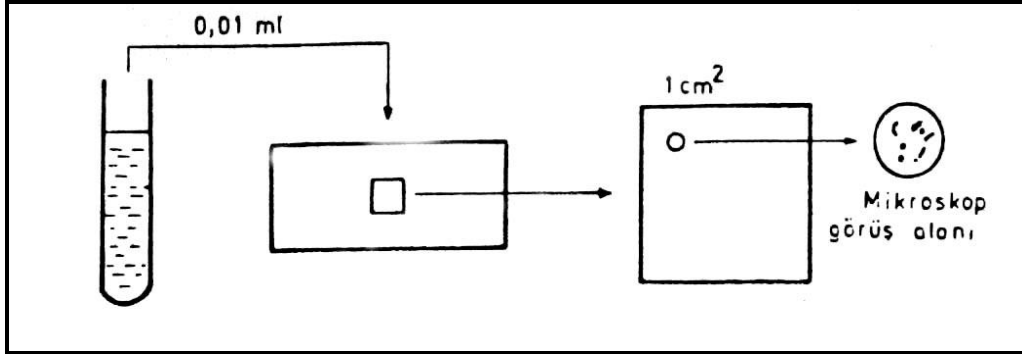
1.2.1. Amaç ve Prensip

Breed yöntemiyle sıvı örneklerdeki bakteri ve mayaların mikroskopik sayımları gerçekleştirilebilmektedir. Daha çok çiğ süt ve bazı süt ürünlerindeki toplam bakteri sayısını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Yöntem gereğince canlı ve ölü bakteriler beraberce sayılır.

Genellikle bakteri sayımında kullanılan bu yöntemin esası, belli bir hacmin (genellikle 0,01 ml) 1 cm² alan üzerine yayılması ve sayımın bu alanda yapılmasıdır.

1.2.2. Yapılışı

- Lam üzerinde 1 cm²lik alan belirlenir. Bunun için cam yazar kalemle 1x1 cm'lik kare çizilerek ters çevrilip çalışılabilir veya 1 cm²lik bir kâğıt yapıştırılmış bir başka lamdan da yararlanılabilir.
- 10 µl'ye ayarlanabilir mikropipetle 0,01 ml (10 µl) numune temiz bir lam üzerine aktarılır. Mikropipet yoksa bu amaçla 0,1 ml'lik pipet kullanılabilir.



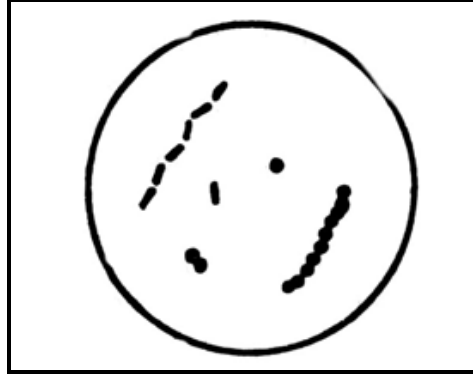
Şekil 1.2: Pipetleme işlemi

- İğne öze kullanılarak 0,01 ml numune 1 cm² alana tam olarak yayılır ve kuruması beklenir.
- Bu şekilde hazırlanan preparat fiske edilir. Fiksasyon ısıl işlem uygulaması ile veya kimyasal yöntemle yapılabilir. Numunenin organik madde içeriği yüksek veya ısıdan zarar göreceksa kimyasal yöntem tercih edilmelidir. Isıl işlemle yapılacaksa bek alevinden 3-5 defa geçirilerek yapılır. Kimyasal yöntem kullanılacaksa içinde ksilol bulunan bir behere daldırılıp 60 saniye beklenir. Ksilol numunedeki yağı eritir, ayrıca bakterilerin suyunu çekerek lama yapışmalarını sağlar. Lam, bu kez içinde %76'lık alkol bulunan bir başka behere 60 saniye süre ile daldırılır. Alkol, ksilol'un temizlenmesi ve lamdan uzaklaştırılması için kullanılır. Lam, su ile yıkanarak alkol uzaklaştırılır. Yıkama sırasında suyun yüksek basınç ile numune üzerine gelmesinden kaçınılmalıdır. Aksi halde, ince bir film tabakası şeklinde olan numune, yüksek su basıncı ile tabaka halinde lam üzerinden kalkabilir.
- Metilen mavisi ile 30 saniye boyanır.
- Su ile yavaşça yıkanıp, kurutulur.
- En az on farklı görüş alanında sayım yapılarak hesaplanır.

1.2.3. Hesaplamalar ve Dikkat Edilecek Noktalar

Sayım sırasında en çok yapılan hatalar, zincir şeklinde görülen bakterilerde zinciri oluşturan her bakterinin ayrı ayrı sayılması ve hiç bakteri olmayan sahaların dikkate alınmamasıdır.

Sayımda zincir oluşturan bakteri (streptokok, streptobasil) zincirlerinde her zincir bir olarak sayılır. Zincirdeki bakteri sayısı önemli değildir. İster kısa ister uzun zincir olsun her zincir bir adet olarak sayılmalıdır. Şekilde verilen görüş sahasındaki bakteri sayısı beş olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 1.3: Bakteri sayısı

Zincirlerin bir adet olarak sayılmasının nedeni, kültürel sayım ile özdeşleştirmedir (Zinciri oluşturan bakteriler canlı olup kültürel sayıma alınsa idi, bu zincir bir tek koloni oluşturacaktı).

Breed sayım yönteminde sadece bir saha sayılıp sonuç hesaplanmaz, bakteri sayısına göre değişmek üzere pek çok sahada sayım yapılır ve ortalaması alınır.

Bu farklı sahaların sayımı sırasında bakteri görülmeyen sahalarda, sıfır adet olarak değerlendirilmelidir. Tablo 1.1'de bakteri yüküne ve mikroskop faktörüne göre sayılması gereken saha sayısı verilmiştir.

Bakteri Sayısı/ml	Mikroskop Faktörü			
	3000	4000	5000	6000
30.000 - 300.000	30	40	50	60
300.000 - 3.000.000	20	20	20	30
>3.000.000	10	10	10	20

Tabo1.1: Breed yönteminde sayılması gereken saha adedi

Breed yönteminde 1 ml'deki bakteri sayısı =A xMF x 100 formülü ile bulunur.

A; farklı sahalarda yapılan sayımların ortalaması,

MF; mikroskop faktörü,

100 ise 0,01 ml'deki sayının 1 ml'ye çevrilmesi için kullanılan hacim düzeltme faktörüdür.

1.2.4. Avantaj ve Dezavantajları

- Mikroskopik sayım yöntemlerinin kültürel sayım yöntemlerine göre bazı avantajları vardır. Bunlar;
 - On dakika gibi çok kısa bir sürede sonuç alınır.
 - Yapılışı kolaydır.
 - Maliyet düşüktür.




- Preparat halinde uzun süre saklanabilir.
 - Sayım yapılırken mikroorganizmaların hücre morfolojileri de belirlenebilir (kok, çubuk bakteri, maya vs.).
 - Floresan yönünden incelemeler yapılmasına olanak sağlar.
 - Süt gibi bazı materyallerin laboratuvara getirilmesi sırasında, içlerindeki bakteriler çoğalabilir. Bunu önlemek için kültürel sayımı yapılacak materyalin soğutulması gerekir. Buna karşın direkt mikroskopik sayım yöntemi kullanılacak ise materyal içine uygun bir antibakteriyel madde ilavesiyle bu sorun ortadan kaldırılır.
- Direkt mikroskopik sayım yöntemlerinin bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar ise;
- Çalışanın gözünü zorlar ve yorar.
 - Canlı ve ölü hücreler ayırt edilemez. Yani hem canlı hem de ölü hücreler beraber sayılmış olur.
 - İncelenen örneklerdeki partiküller hücrelerle karıştırılabilir.
 - Mikroorganizmalar, preparat üzerinde her zaman yeknesak (uniform) dağılmayabilir, hücre kümeleşmeleri görülebilir.
 - Boyama yapıldığında bazı hücreler tam olarak boyanmayabilir, dolayısıyla da sayılamaz.
 - Bu yöntemlerden elde edilen sayım sonuçları diğer sayım sonuçlarından her zaman yüksektir. Fakat bu yöntemlerin çabuk sonuç vermesi nedeniyle pek çok durumda tercih edilebilir.

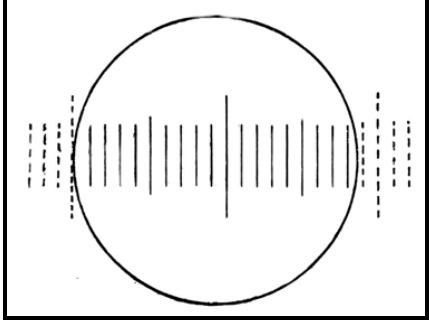
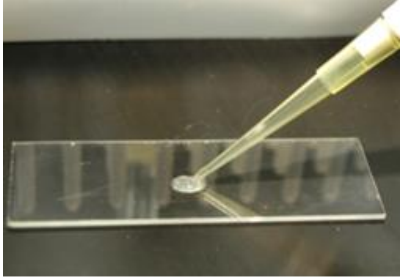
UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını ve önerileri dikkate alarak breed yöntemi ile sayım işlemlerini yapınız.

Uygulamada kullanılan araç gereçler: Mikroskop, objektif mikrometre, dilüsyon sıvısı, analiz numunesi, mikropipet, öze, metilen mavisi, boyama düzeneği, sedir yağı

İşlem Basamakları	Öneriler
Mikroskop faktörünü hesaplamak	
<p>➤ Objektif mikrometreyi mikroskop tablasına yerleştirerek maşalarla sabitleyiniz.</p> 	<p>➤ Mikroskobu bir elinizle altından, diğer elinizle kolundan sıkıca tutarak daima iki elle taşıyınız.</p> <p>➤ Mikroskobu sağlam, sallantısız masa üzerine yerleştiriniz.</p> <p>➤ Mikroskobu masanın kenarına fazla yakın koymayınız ve masanın üzerindeki gereksiz malzemeleri kaldırınız.</p>
<p>➤ Ölçüm yapılacak objektifi çalışma bölümüne gelinceye kadar çeviriniz.</p> 	<p>➤ En küçük objektifi ışık yolu üzerine getiriniz.</p>
<p>➤ Mikroskobun ışığını açarak ışık ayarını yapınız.</p>	<p>➤ Işığı kısınız.</p>
<p>➤ Mikroskobun diyafram ayarını yapınız.</p> 	<p>➤ Boyasız ve saydam olduğu için diyaframı tam açık konumda bulundurmuyunuz.</p>

<p>➤ Şaryo ayar vidasını çevirerek objektif mikrometre cetvelini ışık üzerine getiriniz.</p> 	<p>➤ Şaryo ayar vidasının iki kısımdan (preparatı ileri geri ve sağa sola doğru hareket ettiren) oluştuğunu unutmayınız.</p>
<p>➤ Makro ayar vidasını görüntüyü buluncaya kadar çeviriniz.</p> 	<p>➤ Okülerden bakarak makro ayar vidasını görüntüyü buluncaya kadar yavaş yavaş çeviriniz.</p>
<p>➤ Mikro ayar vidası ile görüntüyü netleştiriniz.</p> 	<p>➤ Okülerden bakarak mikro ayar vidasını, görüntüyü netleşinceye kadar yavaş yavaş ileri geri çeviriniz.</p>
<p>➤ Objektif mikrometre çizgilerinden biri görüş alanının kenarı ile çakışmaya kadar şaryo ayar vidasını çeviriniz.</p>	<p>Görüntü netliğini kontrol ediniz.</p>

	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Görüş alanının çapını ölçünüz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Başlangıç çizgisini saymayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskop faktörünü hesaplayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ İlgili formülü kullanınız.
<p>Breed yöntemiyle sayım yapmak</p>	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikrobiyolojik analizler için numuneyi analize hazırlayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Numune hazırlama kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Dilüsyon sıvısını hazırlayınız. ➤ Analiz numunesinden dilüsyonları hazırlayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Dilüsyon hazırlama kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lam üzerine 0,01 ml numune veya dilüsyonlardan aktarınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikropipet kullanınız. ➤ 0,01 ml=10 µl olduğunu unutmayınız.

<p>➤ Aktarılan numune veya dilüsyonu iğne öze ile lamın üzerinde 1 cm² alana yayınız.</p>	<p>➤ Alan dışına taşırmamaya dikkat ediniz.</p>
<p>➤ Oda sıcaklığında kuruyuncaya kadar bekletiniz.</p>	<p>➤ Düz bir zeminde bekletiniz.</p>
<p>➤ Fikse ediniz.</p>	<p>➤ Numunenin özelliğine göre ısı veya kimyasal yöntemlerden uygun olanı seçiniz.</p>
<p>➤ Bazik bir boya ile boyayınız.</p>	<p>➤ Metilen mavisi ile 30 sn boyayınız.</p>
<p>➤ Mikroskopta en az 10 farklı görüş alanında sayım yapınız.</p>	<p>➤ Görüş alanlarını değiştirirken şaryoyu kullanınız.</p>
<p>➤ Numunenin bakteri sayısını hesaplayınız.</p>	<p>➤ İlgili formülü kullanınız.</p>

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Sıvı örneklerdeki, özellikle çiğ süt ve bazı süt ürünlerinde toplam bakteri (canlı+cansız) sayısını belirlemede hangi yöntem kullanılır?
A) En muhtemel sayı yöntemi
B) Membran filtre yöntemi
C) Breed yöntemi
D) Hepsi
2. Direkt mikroskopik sayımın kültürel sayıma göre avantajları nelerdir?
A) Çok çabuk sonuç alınır.
B) Uygulanması basittir.
C) Sayım sırasında hücrelerin morfolojisi de belirlenebilir.
D) Hepsi
3. Breed yöntemi ile sayım çalışmasında numune ile çalışılmış ve ortalama bir görüş alanında 20 adet mikroorganizma saymışsanız ve mikroskop faktörü 4000 ise numunenin 1 ml kaç adet mikroorganizma var demektir?
A) 8000
B) 80000
C) 8000000
D) 80000000
4. Breed yöntemiyle sayımda aşağıdaki mikroorganizmalardan hangisi sayılabilir?
A) Bakteriler
B) Virüsler
C) Protozoonlar
D) Küfler

Aşağıdaki cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise D, yanlış ise Y yazınız.

5. Direkt mikroskopik sayım yöntemlerinde canlı ve ölü mikroorganizmalar birlikte sayılır.
6. Breed yönteminin esası, belli bir hacmin 1cm² alan üzerine yayılması, kurutulması ve boyandıktan sonra mikroskopla incelenerek sayımın bu alanda yapılmasıdır.
7. Mikroskop faktörü standart 10 büyütme oküler, 100 büyütme objektif ve 160 mm tüp boyu kullanıldığında genellikle 250-550 arasında olmalıdır.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

ÖĞRENME KAZANIMI

Bu öğrenme faaliyetinde verilen bilgi ve becerilerle tekniğine uygun olarak mikroskopta thoma lamı ile maya sayımı yapabileceksiniz.

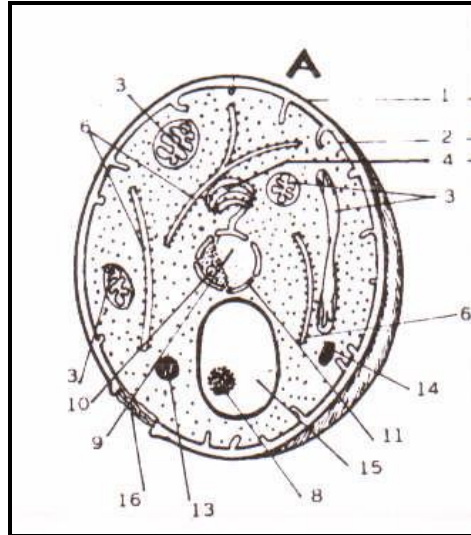
ARAŞTIRMA

- Çevrenizde bulunan mikrobiyoloji laboratuvarlarına giderek Thoma lamı ile sayım işlemlerini gözlemleyiniz.
- Konu ile ilgili çalışmalarınızı rapor hâline getirerek sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

2. MAYA SAYIMI

Maya hücresi ökaryotik mikroorganizmalardandır. Gerçek bir çekirdeğe sahiptir. Maya hücresi dıştan içe doğru; hücre zarı, stoplazma zarı, stoplazma ve çekirdekten oluşan bir oluşuma sahiptir.

Hücre zarı, renksiz, ince esnek bir yapıya sahiptir. Kimyasal olarak polisakkaritlerden oluşur ve geçirgen özelliktedir. **Stoplazma zarı**, hücre duvarının hemen altında yer alır. Stoplazma zarı üç katmandan oluşmuştur, iki protein tabakası arasında fosfolipit tabakası yer alır. Bu yapı seçici geçirgen özelliktedir.



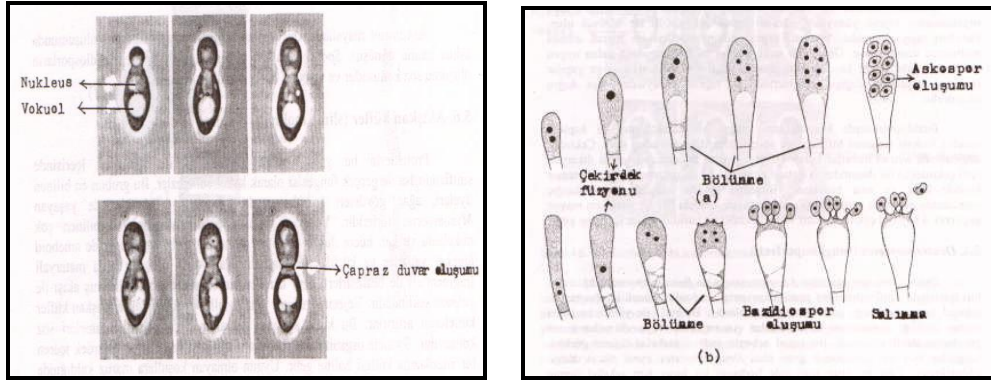
Şekil 2.1: Maya hücre yapısı (1. Hücre duvarı, 2. Stoplazma zarı, 3. Mitokondri, 4. Golgi cisimciği, 5. Ribozom, 6. Endoplazmik retikulum, 7. Glikojen, 8. Polimetafosfat, 9. Çekirdek, 10. Çekirdekçik, 11. Çekirdek zarı, 12. Septum, 13. Lipit tanecığı, 14. PHP., 15. Vakuol ve 16. Tomurcuk yarısı)

Stoplazma, düzenli dağılmış, saydam ve su gibi mavimsi görünümüne sahiptir. Stoplazma içeriğinde mitokondri, ribozom, endoplazmik retikulum ve golgi cisimciği bulunur. **Çekirdek**, küresel bir yapıdır. En belirgin görevi çoğalmayı sağlamasıdır. Çok miktarda DNA (deoksiribonükleik asit) ve protein içerir.

Mayaların hücre büyüklükleri, cins, tür, yaş ve gelişme ortamına göre farklılıklar gösterir. Bununla birlikte ortalama büyüklükleri $8 \times 10 \mu\text{m}$ 'dur.

➤ Mayaların mikroskoptaki görünüşlerine (morfolojilerine) göre sınıflandırılmaları

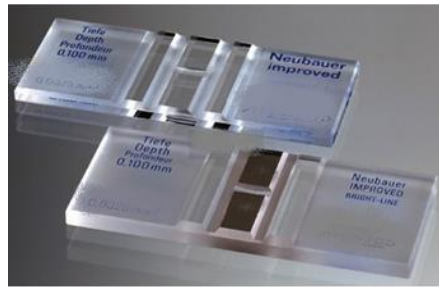
Maya morfolojisi denince, maya hücresinin dış görünüşleri anlaşılır. Mayalarda hücreler, küresel, oval, eliptik, limon, silindirik ve ipliksi görünümdedir. Mayaları morfolojik olarak birbirinden ayırmak çoğu zaman olanaksızdır. Bununla birlikte *S. cerevisiae* türü için küresel ve eliptik, *S. elipsoideus* eliptik ve *S. pastorianus* türü uzun salam şeklindedir. *S. cerevisiae* türü içinde, tomurcuklanma ile çoğalmayı takiben, ana, yavru ve torun hücreler birbirinden ayrılmadan kalması dallanma olarak tanımlanan hücre toplulukları meydana gelir.



Şekil 2.2: Şekillerine göre bazı mayalar ve mayalarda çoğalma

2.1. Thoma Lamı Yöntemi ile Maya Sayımı

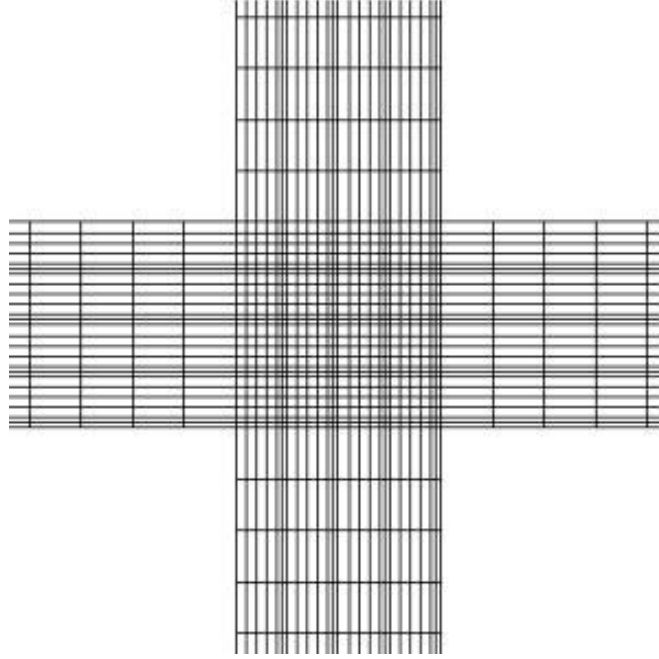
Özellikle mikrobiyolojide maya ve tıpta kan ve sperm sayımlarında kullanılan ve Thoma lamı (hemositometre) adı verilen özel bir lamla yapılan sayımdır. Thoma lamında bakteri sayılması oldukça güçtür ve önerilen bir yöntem değildir.



Resim 2.1: Thoma lamı

2.1.1. Amaç ve Prensip

Thoma lamı yönteminin esası, mikroskop altında $0,1 \text{ mm}^3$ hacimde sayım yapılarak hesaplama yardımıyla numunenin bir ml'inde bulunan maya sayısını belirlemektir.



Şekil 2.3: Thoma lamının sayım yapılan kareleri (toplam görüş sahası)

Bu işlem için Thoma lamı üzerinde bulunan sayım bölgelerinden faydalanılır. Sayım bölgesinin toplam alanı 1 mm^2 'dir. Lamel yapıştırıldığında sayım bölgesinin yüksekliği de $0,1 \text{ mm}$ 'dir. Sayım işlemi kolaylaştırmak amacıyla her bir sayım bölgesi de kendi içerisinde karelere bölünmüştür.

2.1.2. Yapılışı

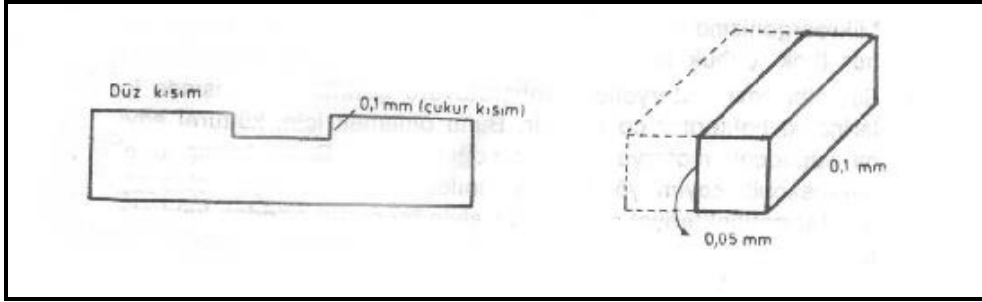
- Sayım için 18 – 24 saatlik bir maya kültürü hazırlanır.
- %10'luk asetik asit veya 1/9'lük sülfirik asit çözeltisi kullanılarak kültürün uygun dilüsyonları hazırlanır (örneğin, 0.5ml kültür + 4.5 ml dilüsyon çözeltisi şeklinde). Bu işlem aynı zamanda hücre kümeleşmelerini de birbirinden ayırır, böylece sayım işlemi kolaylaşır.
- Birkaç öze dolusu örnek, Thoma lamının iki sayım bölgesine ayrı ayrı aktarılır. Burada sıvının lamel üzerine taşmayacak miktarda olmasına dikkat edilmelidir.
- Bunun üzerine lamel kapatılır. Lamelin üzerine yavaşça bastırılarak incelenecek örneğin lamdaki sayım hacmine homojen dağılımı sağlanır.
- Preparat mikroskop tablasına yerleştirilerek sayıma geçilir. Önce 10 x veya 20 x objektif ile toplam görüş sahası bulunur. Daha sonra 40 x objektif ile küçük karelerdeki hücreler sayılır.

- Genel olarak çapraz 8 büyük karede sayımlar gerçekleştirilir ve ortalaması alınır. Bulunan değer 2 ile çarpılarak bütün büyük karelerdeki maya sayısı bulunur. Daha sonra formül ile toplam maya sayısı/ml değeri hesaplanır.

Maya hücrelerini daha kolay sayabilmek ve canlı ile ölü maya hücrelerini birbirinden ayırabilmek amacıyla dilüsyon öncesinde, kültüre birkaç damla %1'lik metilen mavisi damlatılabilir. Bu durumda ölü hücreler metilen mavisi ile boyanır, canlı hücreler boyanmaz. Yalnızca boyanmamış hücreler sayılarak canlı maya sayımı gerçekleştirilebilir. Ancak bu yöntemin, deneyimli kişilerce uygulanması ve mikroskop ışık ayarının çok iyi olması gibi bazı zorunlulukları da vardır.

2.2. Hesaplamalar ve Dikkat Edilecek Noktalar

Thoma lamının çukur bir kısmı vardır. Kültür, bu kısım üzerine aktarılıp lamel kapatıldığında bu çukurda 0.1 mm yüksekliğinde bir sıvı kalır. Sayım yapılacak alan cam yüzeyindeki çizgilerle belirlenmiştir. Lamel konduktan sonra üzerine bastırılarak lamın çukuru dışında kalan düz kısmı ile lamel arasında bir sıvı katmanının kalması önlenir. Böylece çukur alan içinde tam olarak 0.1 mm yüksekliğinde sıvı bulunması sağlanmış olur.



Şekil 2.4: Thoma lamının yandan görünümü

Thoma lamında 16 büyük kare, her büyük karede 25 küçük kare vardır. Sayım bu karelerde yapılır. Yani bir sayım sahasında $16 \times 25 = 400$ küçük kare bulunmaktadır.

Sayımda, genellikle büyük karelerin tümü dikkate alınmaz ve yalnızca çapraz 8 büyük karede sayım yapılır. Sayımlar en az beş kere tekrarlanmalıdır. Sayımların ortalaması alınır ve sonuç 2 ile çarpılarak $0,1 \text{ mm}^3$ teki değer bulunur (16 kare olduğu için). Sayım yapılırken şu noktalara dikkat edilmelidir:

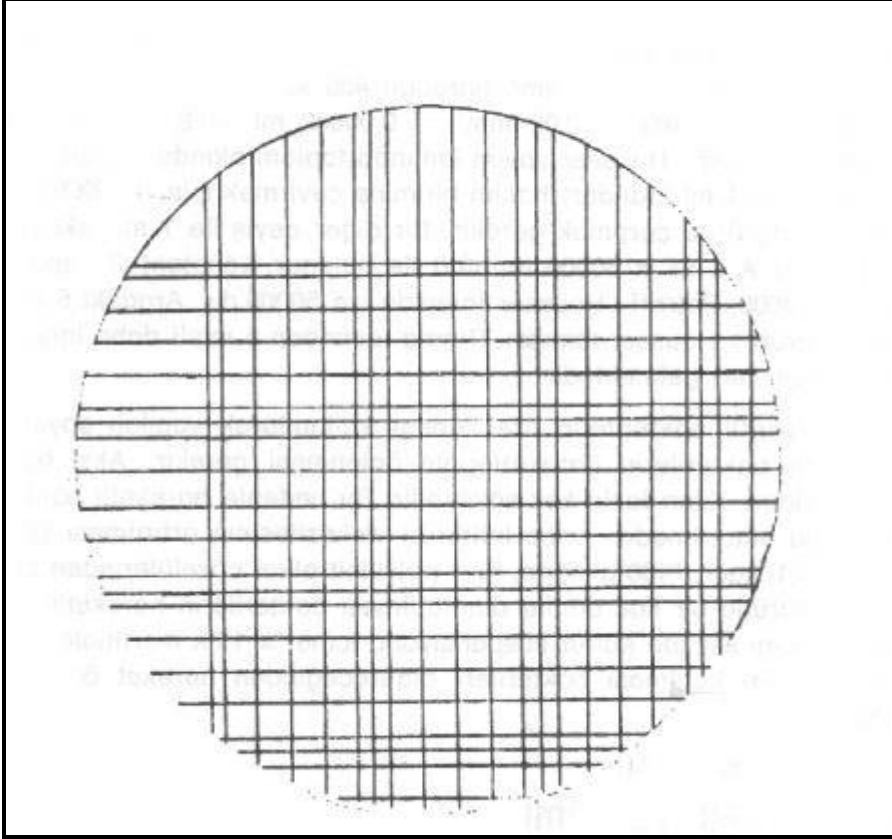
- Sayıma alınan küçük karelerin üst ve sağ taraflarındaki kare çizgilerine teğet veya çizgileri kesen hücreler sayıma alınır.
- Küçük karelerin alt ve sol taraflarındaki kare çizgilerine teğet veya çizgileri kesen hücreler sayıma alınmaz.

Toplam hücre sayısı (canlı ve ölü) şu formüle göre hesaplanır:

Toplam hücre sayısı = 16 büyük karedeki hücre sayısı x 10,000 x dilüsyon faktörü

Maya sayımında seyreltme (dilüsyon) %10'luk asetik asit ile yapılır. Bu konsantrasyondaki asetik asit maya hücrelerini birbirlerinden ayırarak kümeleşmeyi önlediği için kolay bir sayım yapılmasına yardımcı olur.

Thoma lamında 1 görüş sahası içinde en az 1 büyük kareyi sığdırmak amacıyla 10 ya da 20 büyütme güçlü objektif kullanılır. Thoma lamındaki büyük karelerin sınırları ara çizgi ile belirtilmiştir. Çoğu zaman karıştırıldığı gibi, ara çizgi büyük karelerin sınırı değil büyük karenin sınırlarını belirleyen yardımcı çizgidir.

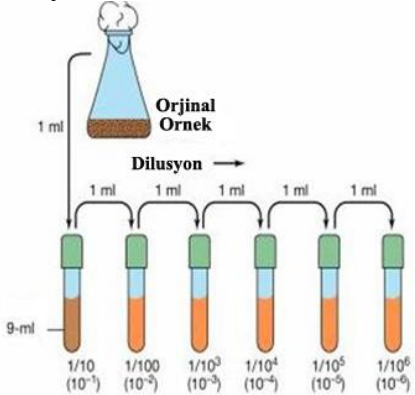


Şekil 2.5: Thoma lamında büyük karelerin sınırını belirleyen ara çizgiler

Thoma lamında büyük karelerin sınırı üzerinde olan hücrelerin nasıl sayılacağı çoğu kez tartışılan bir durumdur. Bu gibi durumlarda, hücrenin ne kadarının büyük kare içinde olduğuna dikkat edilir. Direkt mikroskopik sayım yöntemlerinde canlı ve ölü hücrelerin beraberce sayılmasında, bazı basit ancak etkin yöntemlerle canlı ve ölü hücreler ayrılabilir. Bu konuda en iyi örnek, metilen mavisi boyası ile maya hücrelerinin boyanması, daha sonra direkt sayım lamalarına alınmasıdır.

Bu amaçla maya hücrelerinin bulunduğu tüpe birkaç damla metilen mavisi boyası damlatılır. Ölü hücreler metilen mavisi ile boyanır ancak canlı olanlar boyanmaz. Bu şekilde sadece maviye boyanmamış hücreleri sayarak canlı maya sayısı elde edilir.

UYGULAMA FAALİYETİ

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikrobiyolojik analizler için numuneyi analize hazırlayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Numune hazırlama kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Dilüsyon sıvısını hazırlayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Dilüsyon hazırlama kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Analiz numunesinden dilüsyonları hazırlayınız. 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Thoma lamı üzerine numune veya dilüsyonlardan aktarınız. 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Aktarılan numune veya dilüsyonun üzerine lamel kapatınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Her iki sayım bölgesine de birer damla veya 5-6 öze dolusu numune aktarınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lamelin Thoma lamına yapışmasını sağlamak için lameli ileri geri hareket ettirerek bastırınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Arada hava boşluğu kalmayacak şekilde kapatınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskopta sayım yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lameli kenarlarından bastırarak ileri geri hareket ettiriniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Numunenin maya sayısını hesaplayınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskop kullanma kurallarına uyunuz.
	<ul style="list-style-type: none"> ➤ İlgili formülü kullanınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

- Thoma lamı ile aşağıdakilerden hangisinin sayılması güçtür?
A) Bakteriler
B) Mayalar
C) Kan
D) Sperm
- Thoma lamı ile hazırlanan preparat hangi objektif ile sayılmalıdır?
A) 30X
B) 40X
C) 50X
D) 60X
- Maya sayımında seyreltme hangisiyle yapılır?
A) %10'luk nitrik asit
B) %5'lik laktik asit
C) %10'luk asetik asit
D) %25'lik asetik asit
- Canlı maya hücrelerini ayırt edebilmek amacıyla aşağıdakilerden hangisi kullanılır?
A) %1'lik metilen mavisi
B) %2'lik kristal viyole
C) %3'lük safranin
D) %4'lük fenolftalein
- Laboratuvarında Thoma lamı ile maya sayımı çalışması yapılmıştır. Sayım yapılan dilüsyonun faktörü 10 ve 8 büyük karede toplam 80 adet hücre sayıldığına göre numunenin bir mililitresinde kaç adet maya hücresi vardır?
A) $1,6 \times 10^7$
B) 8×10^7
C) $1,6 \times 10^{10}$
D) 8×10^{10}

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-3

ÖĞRENME KAZANIMI

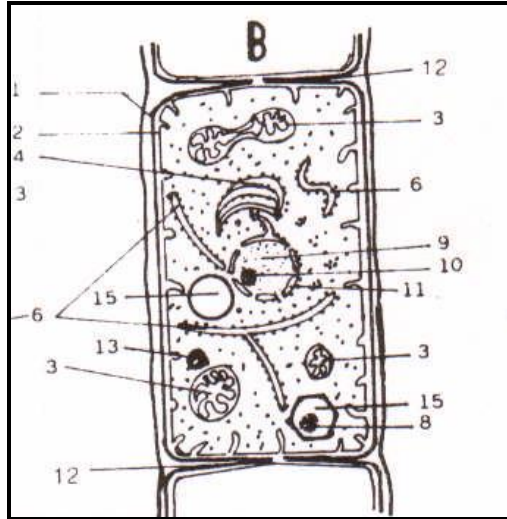
Bu faaliyette verilen bilgi ve becerilerle tekniğine uygun olarak mikroskopta küflü saha sayımı yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Mikrobiyoloji laboratuvarlarında küflü saha sayımı işlemlerini gözlemleyiniz.
- Konu ile ilgili çalışmalarınızı rapor hâline getirerek sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

3. KÜFLÜ SAHA SAYIMI

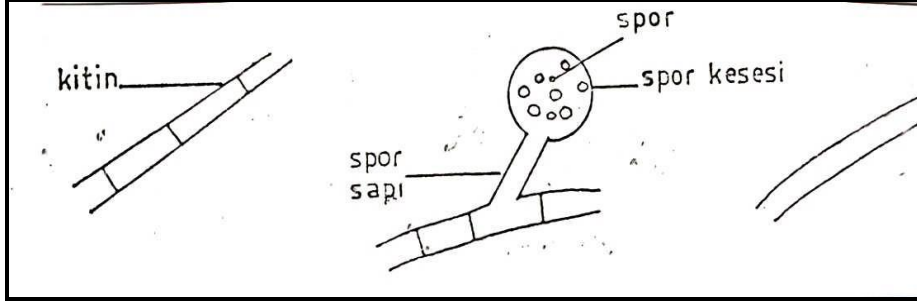
Küfler ökaryotik mikroorganizmalardandır. Hücre yapısı dıştan içe doğru hücre duvarı, stoplazma zarı, stoplazma ve çekirdekten oluşur.



Şekil 3.1: Küf hücre yapısı (1. Hücre duvarı, 2. Stoplazma zarı, 3. Mitokondri, 4. Golgi cisimciği, 5. Ribozom, 6. Endoplazmik Retikulum, 7. Glikojen, 8. Polimetafosfat, 9. Çekirdek, 10. Çekirdekçik, 11. Çekirdek zarı, 12. Septum, 13. Lipit taneciği, 14. Php., 15. Vakuol ve 16. Tomurcuk yarası)

Hücre bölümleri ve yapısı mayalara benzese de küflerin hücre duvarı kitinsi yapı gösterir. Hücreler çok çekirdeklidir. Diğer hücre içi organellerin yapı, sayı ve görevleri mayalara benzer. Hücre duvarının içinde yarı geçirgen stoplazma zarı, bunun içinde deprotoplazma bulunur. Protoplazmada etrafı zarla çevrili bir veya birkaç çekirdek, çeşitli granüller, endoplazmik retikulum, mitokondri ve golgi cisimcikleri bulunur.

Küfler doğada hava, toprak, su ve organik maddeler üzerinde yaygın olarak bulunur. Küf hücreleri art arda dizilerek hifleri, hifler ise çeşitli şekillerde dallanma yaparak hif topluluğunu oluşturur. Bu hif topluluğuna **miselyum** denir. Hifler bölmeli (septa) veya bölmersiz (septasız) olur. Bunlar klorofil içermez, sporlar kesede veya açıkta oluşur. Açıkta oluşan sporlara **konidi**, bunu taşıyan hife de **konidifor**, spor kesesine **sporangium** ve spor keselerini taşıyan hiflere de **sporangifor** denir.

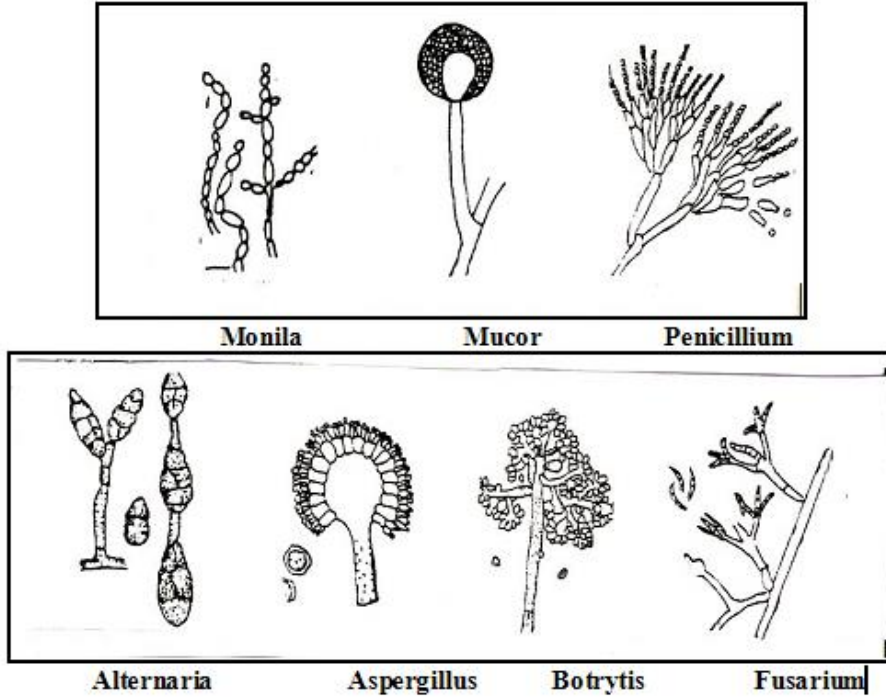


Bölmeli hif

Bölmersiz hif

Şekil 3.2: Küf hif şekilleri ve sporları

Hif olarak isimlendirilen ipliksi yapıdaki oluşumlar çıplak gözle de kolayca görülür. Küfler, miselyum oluşturan çok hücreli funguslar olarak tanımlanır.



Monila

Mucor

Penicillium

Alternaria

Aspergillus

Botrytis

Fusarium

Şekil 3.3: Morfolojilerine göre bazı küfler

- Küflerin mikroskopta görünüşlerine (morfoloji) göre sınıflandırılmaları

Mikroskopta incelemede hifler, septalı (bölmeli) veya septasız (bölmesiz), dallanmış veya dallanmamış olabilir. Bu durum cins, tür veya çevre etkisi ile değişim gösterir. Septalı olanlar Zygomycetes sınıfı içinde Mucorales takımı üyeleri küfler bu özelliğe sahiptir. Septasız olanlara örnek ise Ascomycetes'lerden Aspergillus ve Penicillium'dur.

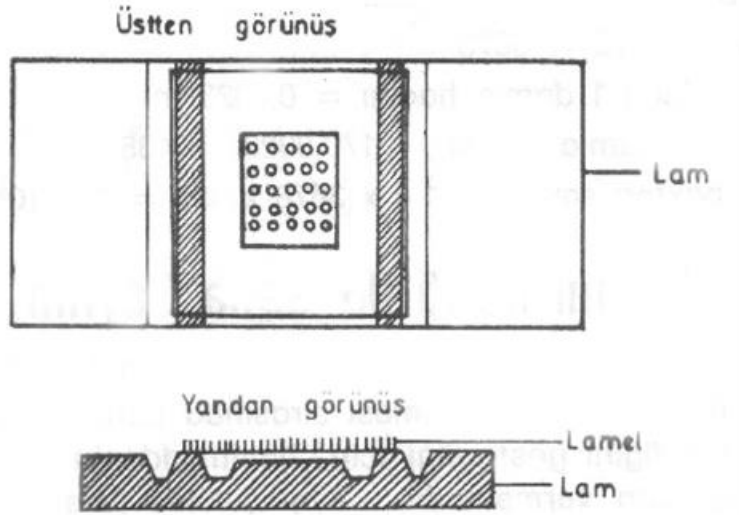
Hiflerin kalınlığı cins, tür ve çevre koşullarına göre 1-10 μ arasında değişir.

3.1. Howard Lamı Yöntemi ile Küflü Saha Sayımı

Howard lamı ile küflü saha sayımı domates suyu, salça, ketçap gibi domates ürünlerinin ve diğer meyve ürünlerinin üretiminde kullanılan ham maddenin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi ve işletmede sanitasyon uygulamalarının etkinliğinin saptanması amacıyla uygulanan mikroskopik bir sayım yöntemidir.

3.1.1. Amaç ve Prensip

İncelenen görüş sahasının küf miselleri açısından (+) veya (-) olarak değerlendirilmesi ve buna göre analiz edilen örnekte küflü saha oranının belirlenmesidir. Sonuçlar '% küflü saha' olarak verilir. Bu sayım işlemi için özel olarak geliştirilen Howard lamı ve lameli kullanılmaktadır. Howard lamelinde 25 daire (görüş sahası) vardır.



Şekil 3.4: Howard lamı ve lameli

3.1.2. Yapılışı

- Numunenin kuru maddesi %8-9 oluncaya kadar (refraktometre yardımıyla) seyreltilir. Seyreltme oranı, refraktometre değeri 20°C 'da 45.0 – 48.7 veya refraktif indeks 20°C 'da 1.3447 - 1.3460 değerleri arasında olmalıdır.

- Lam üzerine seyreltilen örnekten bir damla konulup üzerine Howard lameli kapatılır. Örneğin, lam sayım yüzeyinde uniform bir şekilde dağılmasına ve sayım alanını dolduracak kadar örnek alınmasına dikkat edilmelidir. Örnek yeknesak dağılım göstermiyorsa lam ile lamel arasında Newton halkası (iki cam eğer çok temizse ve birbirine yapışmışsa renkli halkaların oluşması hali) oluşmamışsa veya örnek çukurdan dışarı ve lamel üzerine taşmışsa bu preparat kullanılmaz, yenisi hazırlanır.
- Bu şekilde hazırlanan preparat, görüş alanı 1.5 mm² olacak şekilde ayarlı bir mikroskop ile incelenir. Ayarlı bir mikroskop ile yapılan her bir gözlemde, 0.15 mm³lük bir örnek hacmi incelenebilmektedir. Bu amaçla 90-125x bir büyütme kullanılır (10x oküler ve 10x objektif ile 100x büyütme elde edilir). Eğer küf filamentleri fark edilemiyor ise 200x büyütme kadar çıkılabilir.
- İncelenecek örneği temsil edecek şekilde hazırlanan iki veya daha fazla örnekte en az 25'er saha sayılıp pozitif saha sayısı tespit edilir. Eğer saha içinde üçten daha fazla filament varsa veya üçten daha az sayıdaki filamentlerin toplam uzunluğu görüş sahasının 1/6'sından daha fazla ise bu görüş sahası (+) olarak değerlendirilir.

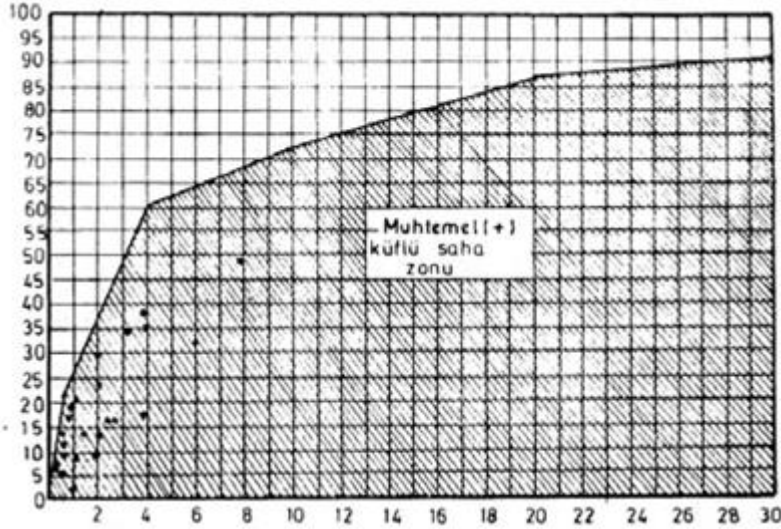
3.2. Hesaplamalar ve Dikkat Edilecek Noktalar

Sayım sonucu elde edilen pozitif saha sayısından yararlanılarak yüzde pozitif saha sayısı hesaplanabilir. Buna göre;

$$\text{Pozitif saha sayısı} = (\text{pozitif saha sayısı} \times 100) / \text{sayılan toplam saha sayısı}$$

Howard lamı ile bulunan değer, üründeki küf miktarını doğrudan göstermez. Örneğin, %20 pozitif saha, üründe %20 oranında küf olduğunu değil Howard lamı ile yapılan sayım sonucuna göre %20 oranında küflü saha olduğunu belirtir. Bununla beraber yüzde küflü saha oranı, üretim sırasında kullanılan ham maddenin hangi oranda küflü olduğu hakkında bir ön bilgi verebilir.

Örneğin, Howard lamında %60 (+) saha görüldü ise ham maddede ağırlığa göre en az %4 küflü ham madde kullanıldığı anlaşılır. Bir diğer yaklaşımla, ağırlığa göre %4 küflü ham madde içeren üründe Howard yöntemi ile en çok %60 (+) saha elde edilebilir. Tablo 3.1'de x ekseninde ham madde bulunan kütlece % küf, y ekseninde ise % küflü saha sayısını göstermektedir.





Tablo 3.1: küflü saha zonu

Sayım yapılırken şu noktalara dikkat edilmelidir:

- İki veya daha fazla preparatta Howard lamı üzerindeki 25'er saha sayılıp küf flamenti açısından pozitif veya negatif olarak değerlendirilmelidir.
- Howard küflü saha sayımında en büyük zorluk, ham maddeden gelen dokular ile küf hiflerinin birbirinden ayrılmasıdır. Bu ayırımın doğru bir şekilde yapılabilmesi için de şu kurallara dikkat edilmelidir:
 - Küf filamentleri tüp şeklinde bir yapıya sahiptir ve mikroskop altında hifler düzgün, birbirine paralel duvarlar şeklinde gözlenir. Fakat domates dokularının çapları sabit değildir ve daralıp genişleyen değişken bir yapıya sahiptir.
 - Küf filamentlerinin birçoğu septalı olmasına karşın domates dokularında septa görünmez.
 - Küf filamentlerinin uç kısımları küt, domates dokularının uç kısımları ise sivridir.
 - Küf hiflerinde keskin açılarla dallanmış yapılar gözlenirken, domates filamentleri düzgün bir yapıya sahiptir.
 - Küf hifleri mikroskopta genellikle net görüntü verirken, domates dokularının aynı netlikte gözlemlenmesi mümkün değildir.
 - Küf hifleri mikroskopta granüllü bir görüntü verir. Domates dokuları ise saydamdır.
- Eğer saha içinde üçten fazla sayıda küf flamenti varsa o alan pozitif olarak kabul edilir.
- Bir sahada üçten fazla sayıda küf flamenti varsa veya üçten daha az sayıdaki filamentlerin toplam uzunluğu görüş sahası çapının 1/6'sından daha fazla ise bu görüş sahası da pozitif olarak kabul edilir. Değilse negatiftir.



UYGULAMA FAALİYETİ

İşlem Basamakları	Öneriler
<p>➤ Numunenin kuru maddesi %8 oluncaya kadar (refraktometre yardımıyla) seyreltiniz.</p> 	<p>➤ Numune olarak salça, ketçap, domates püresi, domates suyundan birini kullanabilirsiniz.</p> <p>➤ Refraktif indeksi 20⁰C’de 1,3447 – 1,3460 değerleri arasında olacak şekilde ayarlayınız.</p>
<p>➤ Seyreltilen numunedan Howard lamı üzerine bir damla koyup lamelini kapatınız.</p> 	<p>➤ Örneğin, lam yüzeyinde uniform bir şekilde dağılmasına özen gösteriniz.</p> <p>➤ Sayım alanını dolduracak kadar örnek almaya dikkat ediniz.</p> <p>➤ Lam ile lamel arasında Newton halkası oluşmasına dikkat ediniz.</p>
<p>➤ Mikroskopta pozitif alan sayımı yapınız.</p>	<p>➤ Hazırladığınız preparatı görüş alanı 1.5 mm² olacak şekilde ayarlı bir mikroskop ile inceleyiniz.</p> <p>➤ Küf filamentlerini görebilmek için 90 – 125X büyütme kullanınız.</p>
<p>➤ Numunenin küflü saha alanının %’sini hesaplayınız.</p>	<p>➤ Örnekte en az 25 saha sayımı yapıp pozitif saha sayısını bulunuz.</p> <p>➤ Sayım sonunda elde ettiğiniz pozitif saha sayısından yararlanarak % pozitif saha sayısını hesaplayınız.</p>

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Howard lamı ile küflü saha sayımında en az kaç sahada inceleme yapılmalıdır?
A) 10
B) 15
C) 20
D) 25
2. Küflü saha sayımında, domatesten gelen dokular ile küf hiflerinin birbirinden ayrılmasında nelere dikkat edilmelidir?
A) Küf filamentlerinin uç kısımları küt, domates dokularının ise sivridir.
B) Küf hifleri mikroskopta düzgün yapı verir, domates dokuları net değildir.
C) Küf hifleri mikroskopta granüllü görünür, domates dokuları saydamdır.
D) Hepsi
3. Domates suyu, salça, ketçap ve diğer meyve ürünlerinde küf sayımı aşağıdakilerden hangisiyle yapılır?
A) Thoma lamı
B) Howard lamı
C) Normal lam
D) Hepsi
4. Küf sayımı yapılırken seyreltme uygulandığında kuru maddesi % kaç olmalıdır?
A) %6 - 7
B) %7 - 8
C) %8 - 9
D) %9 - 10
5. Küflü saha sayımında 50 dairede değerlendirme yapılmış ve toplam 10 dairede pozitif sonuç elde edilmiştir. Bu durumda numunenin % küflü saha değeri aşağıdakilerden hangisidir?
A) % 20
B) % 50
C) % 10
D) % 25

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise “Modül Değerlendirme”ye geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise D, yanlış ise Y yazınız.

1. () Howard lamı ile küf analizi sonrasında bulunan küf filamentlerinin sayısı, bu ürünlerin elde edilmesinde küflü parçaların da üretime katıldığını gösterir.
2. () Howard lamı ile lamel arasında Newton halkası oluşmamışsa preparat doğru hazırlanmıştır.
3. () Hazırlanan preparat görüş alanı 1.5mm^2 olacak şekilde ayarlı bir mikroskop ile incelenir.
4. () Küf filamentleri tüp şeklinde bir yapıya sahiptir ve mikroskop altında hifler düzgün, birbirine paralel duvarlar şeklinde gözlenir.
5. () Küf filamentlerinin birçoğu septasız olmasına karşın, domates dokularında septa gözlenir.
6. () Saha içinde üçten fazla sayıda küf filamentleri varsa o alan pozitif kabul edilir.
7. () Thoma lamında 16 büyük kare vardır ve sayım bu karelerde yapılır.
8. () Mikroskop alanının belirlenmesi için oküler mikrometreden yararlanır.
9. () Mikroskop faktörü 1 cm^2 lik alandaki görüş sahası sayısıdır (1cm^2 / görüş sahası alanı).
10. () Howard lamı ile maya sayımında seyreltme (dilüsyon) %10'luk asetik asit ile yapılır.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki modüle geçmek için öğretmeninize başvurunuz.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ – 1'İN CEVAP ANAHTARI

1	C
2	D
3	C
4	A
5	Doğru
6	Doğru
7	Yanlış

ÖĞRENME FAALİYETİ – 2'NİN CEVAP ANAHTARI

1	A
2	B
3	C
4	A
5	A

ÖĞRENME FAALİYETİ – 3'ÜN CEVAP ANAHTARI

1	D
2	D
3	B
4	C
5	A

MODÜL DEĞERLENDİRME CEVAP ANAHTARI

1	Doğru
2	Yanlış
3	Doğru
4	Doğru
5	Yanlış
6	Doğru
7	Doğru
8	Yanlış
9	Doğru
10	Yanlış

KAYNAKÇA

- SEKİN Yılmaz, Nural KARAGÖZLÜ, **Gıda Mikrobiyolojisi –Gıda Endüstrisi İçin Temel Esaslar ve Uygulamalar**, Literatür Yayıncılık.
- TEMİZ Ayhan, **Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri**, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 2000.
- ÜNLÜTÜRK Adnan, Fulya TURANTAŞ, **Gıdaların Mikrobiyolojik Analizleri**, Meta Basım Matbaacılık, İzmir, 2002.
- GÜRGÜN Veliddin, A. Kadir HAKMAN, **Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri**, Ankara, 1988.
- ŞAHİN İsmet, **Genel Mikrobiyoloji**, Bursa, 1999.
- ŞAHİN İsmet, Fikri BAŞOĞLU, **Gıda Mikrobiyolojisi**, Bursa, 2002.
- PAMİR Hilmi, **Fermantasyon Mikrobiyolojisi Uygulama Kılavuzu**, Ankara, 1984.
- ÜNVER Bahtiyar, Suna BAYKAN, F.Handan SACIR, Kadir ÖZCAN, **Besin Mikrobiyolojisi**, İstanbul, 1982.