

İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OPTİK CİMBİZ YARDIMI İLE KAN HÜCRELERİNİ YAKALAMAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Baha CANGÖREN

Biyomedikal Teknolojileri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı:

Dr. Öğr. Üyesi Aziz Kolkıran

OCAK 2021

İKÇÜ, Fen Bilimleri Enstitüsünün Y170205002 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Baha Cangören, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “OPTİK CİMBİZ YARDIMI İLE KAN HÜCRELERİNİ YAKALAMAK” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı :

Dr. Öğr. Üyesi Aziz Kolkıran
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi

.....

Jüri Üyeleri :

Dr. Öğr. Üyesi Nermin Topaloğlu Avşar
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi

.....

Dr. Öğr. Üyesi Raşit Çakır
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi

.....

Savunma Tarihi : 15 Şubat 2021

OPTİK CİMBİZ YARDIMI İLE KAN HÜCRELERİNİ YAKALAMAK

ÖZET

Son yıllarda, özellikle kök hücre üzerine yapılan çalışmaların artması ve küresel pandeminin getirdiği sağlık krizi, kan bileşenlerinin tedavi amaçlı kullanılmasını yaygınlaştırdı. Kan hücrelerinin ayrıştırılması, gruplanması, sayılması, manipüle edilmesi gibi uygulamaların önemi de bu duruma bağlı olarak artmıştır. Optik cımbız tekniği, kan hücreleri için etkili ve güvenli bir seçenek olarak ön plana çıkmaktadır.

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada, optik cımbız deney düzeneğinin kurulması için gereken optik elemanlar ile hücreler üzerine uygulayacağı kuvvetlerin hesapları yapılarak teorik altyapı hazırlanmış, gerçekleştirilen laboratuvar deneylerinde ise tam kan preparatı üzerinde farklı hücrelerin yakalanması uygulaması gösterilmiştir.

Laboratuvar uygulamaları esnasında, su ile seyreltilmiş tam kan preparatları içerisinde öncelikli olarak büyüklükleri $0.5\ \mu\text{m}$ olan trombosit hücreleri, f_3 merceği $d_5=280\text{mm}$ mesafesinde iken yakalanmıştır. Daha sonra büyüklükleri $10\ \mu\text{m}$ olan lökositler ve $8\ \mu\text{m}$ çapında olan eritrositler üzerinde, farklı d_5 mesafelerinde uygulamalar yapılmış ve deney sonuçları ile teorik hesaplar karşılaştırılmıştır. Yapılan deneyler, lazer optik cımbızın, şekilleri ideal küre olmayan kan hücrelerinin yakalanabilmesinde etkili olduğunu; bunun yanı sıra tek bir düzenekte, aynı örnek içerisindeki farklı kan hücrelerinin lazer odağı değiştirilerek cımbızlanabileceğini ortaya koymuştur.

TRAPPING BLOOD CELLS VIA OPTICAL TWEEZER

ABSTRACT

Recently, the use of blood components for therapeutic purposes significantly increased due to many studies on stem cells and the health crisis caused by the global pandemic. Applications such as sorting, grouping, counting, manipulating blood cells has gained value due to this situation. The optical tweezers stand out as an effective and safe option for blood cells.

In this study, the theoretical background was prepared by calculating the optical elements required for the establishment of the optical tweezer setup and the forces to be applied on the cells. Then the application of trapping different cells on the whole blood prepare was demonstrated in the laboratory experiments.

During the laboratory applications, primarily thrombocyte cells with a size of $0.5\ \mu\text{m}$ in whole blood prepare which was diluted with water were trapped while f_3 lens was at $d_5 = 280\ \text{mm}$. Later, applications at different d_5 distances were performed on leukocytes with a size of $10\ \mu\text{m}$ and erythrocytes with a diameter of $8\ \mu\text{m}$, and the experimental results were compared with theoretical calculations. Experiments show that laser optical tweezers are effective in trapping blood cells whose shapes are not ideal spheres; also, in a single setup, different blood cells in the same sample can be tweezed by changing the laser focus.

Aileme



ÖNSÖZ

Bu çalışmayı gerçekleştirebilmek için ihtiyacım olan vizyon ve imkanı sunan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Aziz Kolkıran'a;

Bilgi ve tecrübelerini paylaşarak katkı sağlayan, çalışmayı tamamlamamda emeği olan Şeyma Arslanyürek, Emre Cangören ve Ayşe Aygöl Yılmaz Ergürhan'a;

Her zaman yanımda olup beni motive eden eşim Beril Güzel Cangören ve oğlum Kayra Cangören'e;

Bugünlere gelmemde büyük katkısı olan annem Sevgi Cangören ve babam Mahmut Cangören'e minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Ocak 2021

Baha Cangören

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR	xi
SEMBOLLER	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOD.....	4
2.1 LAZER OPTİK CİMBİZİN TEORİSİ.....	4
2.1.1 Işık-Parçacık Etkileşimi	6
2.1.2 Saçılma Kuvveti	8
2.1.3 Eğim Kuvveti	9
2.1.4 Yakalama Parametreleri	11
2.2 KAN VE KANIN BİLEŞENLERİ.....	12
2.2.1 Plazma	12
2.2.2 Eritrositler.....	12
2.2.3 Trombositler	13
2.2.4 Lökositler	14
2.3 DENEY DÜZENİĞİ	15
2.3.1 Lazer Işık Kaynağı	15
2.3.2 Optik Elemanlar	16
2.3.3 Dikroik Ayna.....	22
2.3.4 Görüntüleme Sistemi.....	22
2.3.5 Örnekler.....	23
2.4 DENEYSEL ÇALIŞMA	23
2.4.1 Optik Elemanların Yerleşimi ve Lazer Işını Hızlama	23
2.4.2 Koşutlanmış Işın Demeti Çapının Ölçülmesi.....	26
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	28
3.1 Kan Örneği ile Deney Sonuçları	28
3.2 Bulgular Üzerine Tartışma	33
4. SONUÇ	37
KAYNAKLAR	38
EKLER.....	41
EK A: GAUSS IŞINI YAYILIMI ABCD MATRİS HESAPLARI İÇİN MATLAB KODLARI	41
EK B: OPTİK CİMBİZ EĞİM VE SAÇILIM KUVVETLERİNİ HESAPLAMAK İÇİN MATLAB KODLARI	47
ÖZGEÇMİŞ.....	51

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1 Optik elemanların arasındaki mesafeler.....	23
Tablo 3.1 Deney düzeneğinin kan hücrelerine uygulayacağı ışıma kuvvetleri.....	34



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1 Optik cımbız üzerine yıllık yayın adetleri	2
Şekil 2.1 Cımbızlama kuvveti bileşenleri	4
Şekil 2.2 Parçacık ile fotonun etkileşime girmesi sonucu oluşan ışıma kuvvetleri	7
Şekil 2.3 Lazer ışını içerisindeki mikro parçacık.....	8
Şekil 2.4 Eğim kuvveti büyüklüğünün z eksenindeki değişimi	10
Şekil 2.5 Kan bileşenlerinin segmentasyonu	12
Şekil 2.6 Eritrositlerin mikroskoptaki görüntüsü.....	13
Şekil 2.7 Trombosit hücrelerinin görüntüsü	14
Şekil 2.8 Farklı türlerdeki lökosit hücrelerinin SEM görüntüleri	14
Şekil 2.9 Optik Cımbız Deney Düzeneği.....	15
Şekil 2.10 d_5 mesafesine göre ışın demeti belinin değişimini gösteren grafik	16
Şekil 2.11 Gauss ışın demeti profili.....	17
Şekil 2.12 Gauss ışını çapı	18
Şekil 2.13 Tam açısal genişlik	19
Şekil 2.14 Optik elemanın r ve θ koordinatları.....	20
Şekil 2.15 Dikroik aynanın yansıtma oranı grafiği.....	22
Şekil 2.16 Teleskoptan sonraki ışın beli yarıçapı ve eğrilik yarıçapı	24
Şekil 2.17 f_3 'ten sonraki ışın beli yarıçapı ve eğrilik yarıçapı	25
Şekil 2.18 Objektiften sonraki ışın beli yarıçapı ve eğrilik yarıçapı.....	26
Şekil 2.19 Koşutlanmış ışın demeti güç ölçümleri grafiği.....	27
Şekil 3.1 Trombosit hücrelerine etki edecek ışıma kuvvetleri.....	28
Şekil 3.2 Trombosit hücrelerinin optik cımbız ile yakalanması.....	29
Şekil 3.3 Kümelenmiş trombosit hücrelerinin optik cımbız ile yakalanması ve hareket ettirilmesi	30
Şekil 3.4 Lökosit hücrelerinin optik cımbız tarafından yakalanması	31
Şekil 3.5 Eritrosit hücrelerine etki edecek ışıma kuvvetleri	32
Şekil 3.6 Optik cımbız tarafından yakalanan ve akış etkisiyle bükülen eritrosit hücresi	32
Şekil 3.7 Lökosit yüzeyinde bulunan reseptörler.....	35
Şekil 3.8 Lökosit hücreleri üstünde bulunan reseptörlere uygulanan ışıma kuvvetleri.....	36

KISALTMALAR

HIV: İnsan bağışıklığı yetmezliği virüsü (Human Immunodeficiency Virus)

FWHM: Tepe noktasının yarısının tam genişliği (Full Width Half Maximum)



SEMBOLLER

w_0	: Gauss ışını belinin yarıçapı
$w(z)$	: z konumunda Gauss ışını genişliği
$U(r)$	: Dalganın karmaşık genliği
ρ	: Silindirik koordinatlarda açısal mesafe
k	: Dalga sayısı
z	: Kartezyan veya silindirik koordinat için konum
$R(z)$	: z konumundaki Gauss ışını için bükülme yarıçapı
$\zeta(z)$	: z konumundaki Gauss ışınının ilave açısal fazı
λ	: Dalgaboyu
I	: Optik yoğunluk
ω	: Açısal frekans
μ	: Manyetik geçirgenlik
E_0	: Başlangıç elektrik alan
H_0	: Başlangıç manyetik alan
E	: Elektrik alan
H	: Manyetik alan
p	: Çiftkutup momenti
n_1	: Parçacık refraktif indeksi
n_2	: Ortam refraktif indeksi
a	: Parçacığın yarıçapı
ϵ_0	: Boşluğun elektrik geçirgenliği
ϵ_1	: Parçacığın elektrik geçirgenliği
ϵ_2	: Ortamın elektrik geçirgenliği
C_{scat}	: Saçılım kesidi
q	: Parçacığın yükü
v	: Hız
c	: Işık hızı
R	: Işıma kuvveti oranı

α : Kutuplaşabilirlik

M : Büyütme oranı

B : Manyetik alan

D : Çap

q_1, q_2 : Gauss ışınının optik elemandan önce ve sonraki parametreleri



1. GİRİŞ

Kan, hayat kurtaran bir sıvı organdır [1]. Son yıllarda, özellikle kök hücre üzerine yapılan çalışmaların artması ve küresel pandeminin getirdiği sağlık krizi, kan bileşenlerinin tedavi amaçlı kullanılmasını yaygınlaştırdı. Bilim insanları, tam kandan elde edilen tedavi ürünleri ve hatta ilaçlar üzerine çalışmalarını arttırmış; kan merkezleri, hastaneler, biyoteknoloji ve ilaç firmaları ise dikkatlerini bu yöne çevirmiştir.

Tam kan; hücresel elemanlar, kolloitler ve kristaloidlerden oluşan bir karışımdır. Muhtelif kan bileşenlerinin her biri farklı bağıl yoğunluğa, katı madde oranına ve büyüklüğe sahiptir [2]. Bu özelliği itibariyle kan bileşenleri birbirinden ayrılarak çeşitli kan ürünleri elde edilebilir. Söz konusu uygulamalarda, kan hücrelerinin ayrıştırılması, gruplanması, sayılması gibi önemli adımlar bulunmaktadır. Genel hatlarıyla kan ayrıştırılması uygulamaları uzun yıllardır uygulanmakta olan teknikler ve teknolojiler ile gerçekleştirilmektedir. Santrifügasyon kuvveti ile ayırma, akışlı hücreölçer (flow cytometry) yöntemiyle kan hücrelerini sayma bunların başında gelir.

Yaygın kullanılan bu tekniklerin de bazı kısıtları bulunmaktadır. Özellikle kan hücresi sayımı, uygulama zorlukları ve dikkate değer oranda kullanıcı hataları olması nedeniyle, günümüzde halen araştırmaya açık bir alan olarak değerini korumaktadır. Kan içerisinde sayıları çok az ve insan hayatına etkileri itibariyle değeri çok büyük olan kök hücre ve belirli antijenlerin gruplanması, sayılması ve manipülasyonu konusunda yeni teknoloji arayışları devam etmektedir.

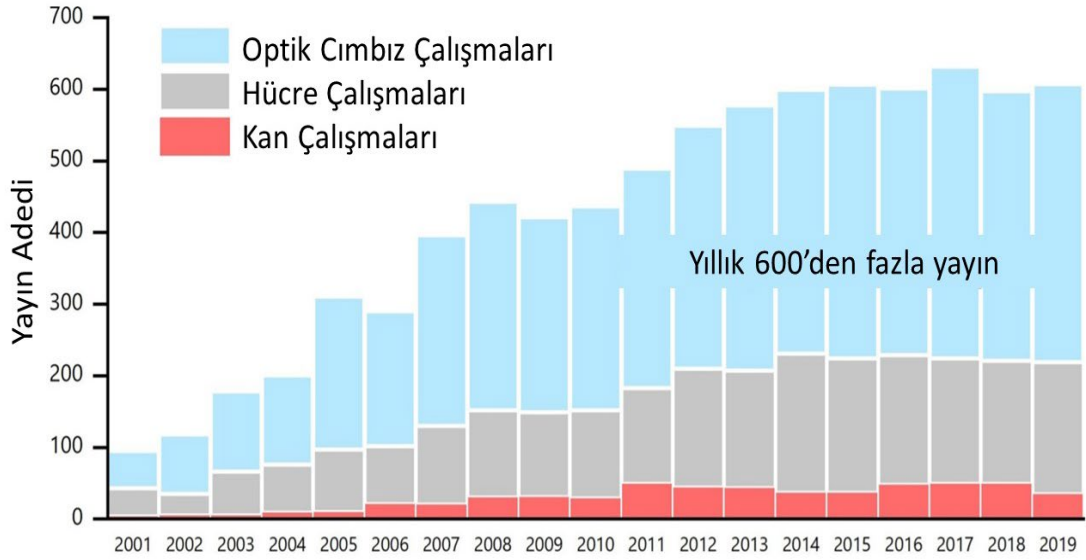
HIV tanısı ve tedavisinde CD4+ T-lenfosit hücrelerinin sayımı kritik bir öneme sahiptir [3]. Doğru ve hızlı sonuç verebilecek, kullanıcı hatalarını ortadan kaldıracak laboratuvar veya hasta başı ölçüm çözümleri tedaviye destek olarak hastalığın seyrinde rol oynamaktadır.

Söz konusu ihtiyaçların yanı sıra, biyolojik örnekler ile çalışmanın getirdiği bir başka koşul ise, canlı hücrelere zarar vermeyecek teknolojilerin tercih edilmesi gerekliliğidir. Bütün hususlar dikkate alındığında, mikro ya da nano ölçekteki biyolojik örnekleri yakalamak, hareket ettirmek, gruplamak veya saymak için ışık önemli bir kaynaktır. Işığın bu amaçla kullanılması fikri 19. yy.'da Maxwell ve Bartoli'nin yaptığı çalışmalar ile ortaya atılmıştır. Bartoli, gerçekleştirdiği termodinamik deneylerde ışıyım basıncını tanımlayabilmiştir [4]. Daha sonrasında Maxwell ise elektromanyetik teori üzerine yaptığı çalışmalarda ışıyım basıncı tespit edebilmiştir [5]. Bu iki ayrı çalışma parçacıkların manipülasyonu için ışığın kaynak olabileceğine teorik dayanak sunmuştur. Işıyım basıncının varlığı ise Lebedev [6] ile Nolchols ve Hull'un [7] gerçekleştirdiği deneylerde ispatlanmıştır. 1960 yılında Maiman ilk lazeri ürettiğinde, parçacık manipülasyonu için gereken yüksek yoğunluklu ışık kaynağı da elde edilmiş oldu.

Bell Laboratories'den Ashkin 1970 yılında parçacıkların çift lazer ışık kaynağı ile cımbızlanabildiğini ilk defa göstermiştir [8]. Bundan sonra 1986 yılında ise tek lazer ışık kaynağını odaklayarak ışıyım basıncının eğim kuvveti etkisinden faydalanıp

küçük parçacıkları yakalamayı başarmıştır [9]. Böylece optik cımbız konusunda önemli bir başarıya ulaşılmış ve biyolojik uygulamalarda kullanılmaya başlanmıştır. 1987’de Ashkin ve Dziedzic yeşil lazer kaynağı ile bakteri ve virüsleri yakalayarak sonrasında gelecek hücre manipülasyonu denemelerinin önünü açmışlardır [10]. Canlı hücre ve DNA manipülasyonu gibi biyolojik uygulamaların dışında optik cımbızlar, yalıtkan malzeme ve metallerde de kullanılmaktadır.

Optik cımbız biyolojik uygulamalarda müdahalesiz çalışma imkanı sunar ve canlı objeler için güvenlidir [11]. Bu özelliğine bağlı olarak optik cımbız hakkında dünya çapındaki yayınların sayısı son 6 yılda, yıllık 600’e kadar yükselmiştir. Şekil 1.1’de 2001-2019 yılları arasında optik cımbız hakkındaki yayınların sayısı ile hücre ve kan üzerine olanların oranı grafik olarak sunulmuştur [12].



Şekil 1.1 Optik cımbız üzerine yıllık yayın adetleri [12]

2018 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada, insan pluripotent kök hücreleri optik cımbız yardımı ile başarılı bir şekilde yakalanarak gruplanmış, istenilen bir düzende toplanması sağlanmıştır [13]. Kök hücre uygulamalarının dışında, başta eritrosit (kırmızı kan hücreleri) manipülasyonu olmak üzere, tüm kan hücreleri ile optik cımbız çalışmaları gerçekleştirilmekte ve gelecek vadede sonuçlara ulaşılmaktadır.

Gerçekleştirdiğimiz tez çalışmasında, optik cımbız deney düzeneğinin kurulması için gereken optik elemanlar ile hücreler üzerine uygulayacağı kuvvetlerin hesapları yapılarak teorik altyapı hazırlanmış, gerçekleştirilen laboratuvar deneylerinde ise tam kan preparatı üzerinde farklı hücrelerin yakalanması uygulaması gösterilmiştir.

Laboratuvar uygulamaları esnasında, su ile seyreltilmiş tam kan preparatları içerisinde öncelikli olarak büyüklükleri $0.5-1\ \mu\text{m}$ aralığında olan trombosit hücreleri, f_3 merceği $d_5=280\text{mm}$ mesafesinde iken yakalanmıştır. Çalışma esnasında trombositler pıhtı oluşturmak üzere kümelenmeye başladığı durumda dahi optik cımbızla bu hücreler küme halinde yakalanarak hareket ettirilebilmiştir. Daha sonra büyüklükleri $10-12\ \mu\text{m}$ aralığında olan lökositler ve $7-8\ \mu\text{m}$ çapında olan eritrositler, d_5 mesafesi kısaltılarak ışıyım kuvvetleri gözlemlenmiş, uygulama sonuçları teorik hesaplar ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Yapılan deneyler, lazer optik cımbızın, şekilleri ideal küre olmayan kan hücrelerinin yakalanabilmesinde etkili olduğunu; bunun yanı sıra tek bir düzenekte, aynı örnek içerisindeki farklı kan hücrelerinin lazer odağı değiştirilerek cımbızlanabileceğini ortaya koymuştur. Bu sayede optik cımbız tekniğinin kan hücreleri uygulamalarında yaygın şekilde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

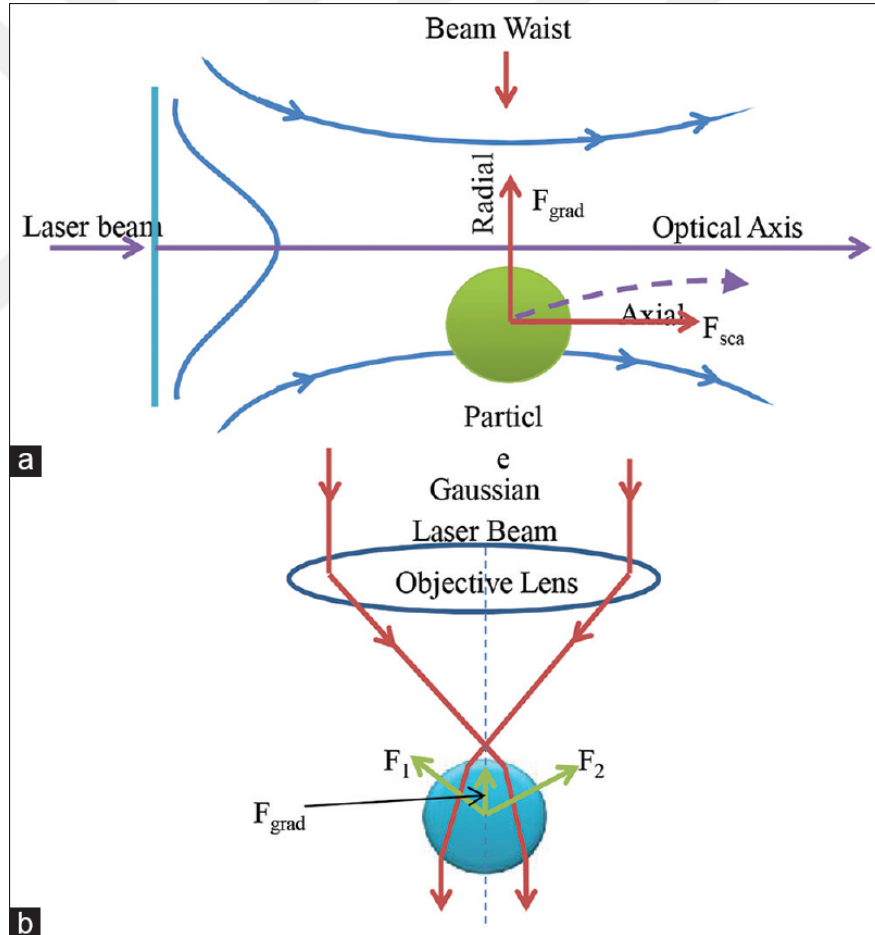


2.MATERYAL VE METOD

Bu bölümde, lazer optik cımbızın teorik altyapısı, deneyde kullanılan kan hücrelerinin biyolojik temelleri ile çalışmada kullanılan deney düzeneğinin bileşenleri ve hazırlanması anlatılmaktadır.

2.1 LAZER OPTİK CİMBIZIN TEORİSİ

Işık, foton adı verilen paketlerden oluşur. Hem dalga hem de parçacık özelliği gösteren fotonlar; enerji, doğrusal momentum ve açısal momentum taşırlar. Bunun sonucu olarak foton etkileşimde bulunduğu başka bir parçacığa devinim kuvvetini aktarabilir. Optik cımbızlar, ışığın bu özelliğinin sonucu olarak meydana gelen ışınım basıncını kullanır. Işınım basıncı, yani cımbızlama kuvveti iki bileşenden oluşur; momentum transferi ile oluşan saçılım kuvveti ve yoğunluk dağılımı sonucu ortaya çıkan eğim kuvveti. Şekil 2.1 de, bu kuvvetler gösterilmektedir [14].



Şekil 2.1 Cımbızlama kuvveti bileşenleri (a) Ray Optik rejiminde lazer ışınına yerleştirilmiş bir parçacığın üzerindeki saçılım ve eğim kuvvetlerinin şematik gösterimi (b) Parçacığın üstündeki bir objektif lense lazer ışını yansıtılması sonucu oluşan optik eğim kuvvetinin şematik gösterimi [14]

Işık uzayda elektromanyetik dalga karakteristiği gösterir. Deney esnasında kullanılan He-Ne (Helium-Neon) lazer, Gauss ışını profiline çok yakın özelliktedir [15]. Dolayısıyla bu çalışmada tanımlamalar için Gauss birim sistemi tercih edilmiştir. Doğrusal kutuplaştırılmış Gauss ışını z doğrultusunda yayılır ve bunun karmaşık genliği aşağıdaki şekilde hesaplanır [16];

$$U(r) = A_0 \frac{w_0}{w(z)} \exp\left[\frac{\rho^2}{w^2(z)}\right] \exp\left[-jkz - jk \frac{\rho^2}{2R(z)} + j\zeta(z)\right] \quad (2.1)$$

Burada r , ışın bel merkezinden olan mesafe $r = (x,y,z)$; aksenal konum z ; dairesel konum $\rho = \sqrt{x^2 + y^2}$; dalga sayısı $k = 2\pi/\lambda$; ve dalga boyu λ şeklinde ifade edilmiştir.

Işık yoğunluğu $I(r) = |U(r)|^2$ olarak ifade edildiğinde;

$$I(\rho, z) = I_0 \left[\frac{w_0}{w(z)} \right]^2 \exp\left[-\frac{2\rho^2}{w^2(z)}\right] \quad (2.2)$$

Işığın z ekseni üzerindeki herhangi bir düzlemin toplam gücü, enine düzlemdeki yoğunluğu ilave edilerek hesaplanır;

$$P = \int_0^\infty I(\rho, z) 2\pi\rho d\rho \quad (2.3)$$

ve

$$P = \frac{1}{2} I_0 (\pi w_0^2) \quad (2.4)$$

Denklem 2.4'teki güç ifadesi ve 2.2'deki yoğunluk ifadesi kullanılarak aşağıdaki gibi tekrar yazılabilir;

$$I(\rho, z) = I_0 \left[\frac{w_0}{w(z)} \right]^2 \exp\left[-\frac{2\rho^2}{w^2(z)}\right] \quad (2.5)$$

Denklem 2.1'deki karmaşık genliğe sahip paraksiyal Gauss ışını için elektrik alan ifadesi [17];

$$E(r) = E_0 \left(-\hat{x} + \frac{x}{z+jz_0} \hat{z} \right) U(r) \quad (2.6)$$

Aşağıdaki ışın parametreleri ile;

$$w(z) = w_0 \sqrt{1 + \left(\frac{z}{z_0} \right)^2} \quad (2.7)$$

$$R(z) = z \left[1 + \left(\frac{z_0}{z} \right)^2 \right] \quad (2.8)$$

$$\zeta(z) = \arctan\left(\frac{z}{z_0}\right) \quad (2.9)$$

$$w_0 = \sqrt{\frac{\lambda z_0}{\pi}} \quad (2.10)$$

2.6 ifadesi 2.7, 2.8, 2.9, 2.10 denklemleri kullanılarak genişletildiğinde;

$$E(\mathbf{r}) = E_0 \left(-\hat{x} + \frac{x}{z + jz_0} \hat{z} \right) \frac{jkw_0^2}{jkw_0^2 + 2z} \exp[-jkz] \cdot \exp \left[-j \frac{2kz^1 x^2 + y^2}{(kw_0^2)^2 + (2z)^2} \right] \exp \left[\frac{(kw_0)^2 (x^2 + y^2)}{(kw_0^2)^2 + (2z)^2} \right] \quad (2.11)$$

Buradaki ilk üstel ifade düzlem dalgasının fazını, ikincisi faz önü eğrilik derecesini, üçüncüsü ise enine düzlemin alan yoğunluğunu belirler.

Manyetik alan ifadesi, denklem 2.6'daki elektrik alan ifadesinden Maxwell dönüşümleri ($\nabla \times E = -j\omega\mu H$) kullanılarak belirtilmiş ve aşağıdaki gibi gösterilmiştir;

$$H(\mathbf{r}) = -\frac{H_0}{j\omega\mu} \left(\frac{1}{z + jz_0} \hat{y} \right) U(\mathbf{r}) \quad (2.12)$$

Boşluktaki Gauss ışını için, elektrik alan, manyetik alan ve yoğunluk ifadeleri belirlenmiştir. Anlık akışta, elektromanyetik güç Poynting vektörü $S = E \times H$ tarafından belirlenir. Poynting vektörünün zaman ortalaması bize yoğunluk ifadesini verir;

$$I(\mathbf{r}) \equiv \langle S(\mathbf{r}, t) \rangle_T = \frac{1}{2} \text{Re}[E(\mathbf{r}) \times H^*(\mathbf{r})] \quad (2.13)$$

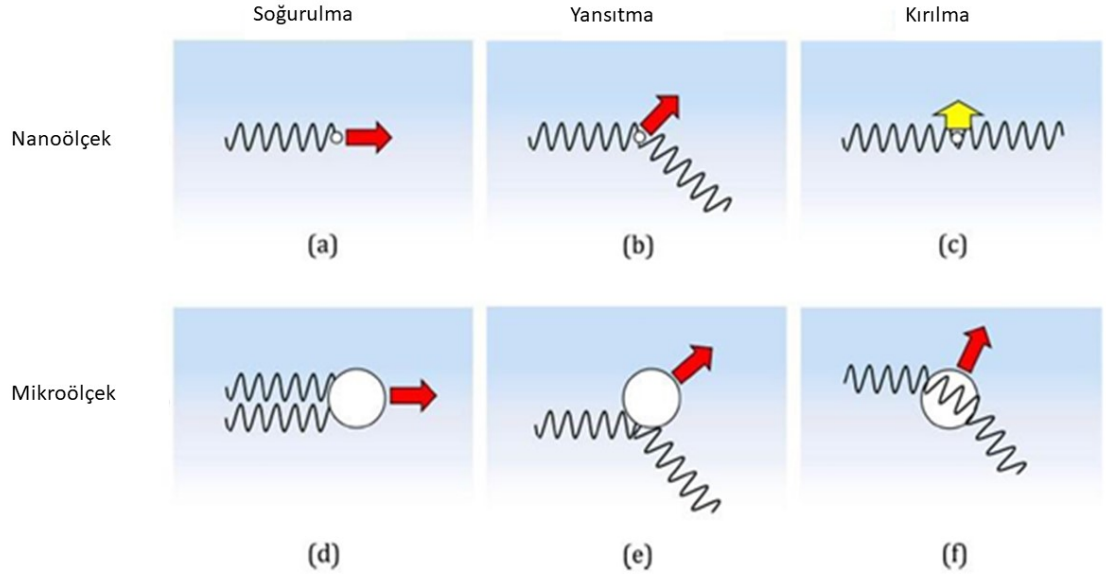
Yoğunluk ifadesi, paraksiyal Gauss ışınında sıfırıncı mertebeden yaklaşık olarak hesaplandığında [18];

$$I(\mathbf{r}) = \frac{n_2 \epsilon_0 c}{2} |E(\mathbf{r})|^2 = I(\mathbf{r}) \hat{z} \quad (2.14)$$

Elektromanyetik dalgaların parçacıklarla etkileşime girdiği noktalardaki parametreler, parçacığa uygulanan kuvvetin ve momentumun hesaplanmasında kullanılır.

2.1.1 Işık-Parçacık Etkileşimi

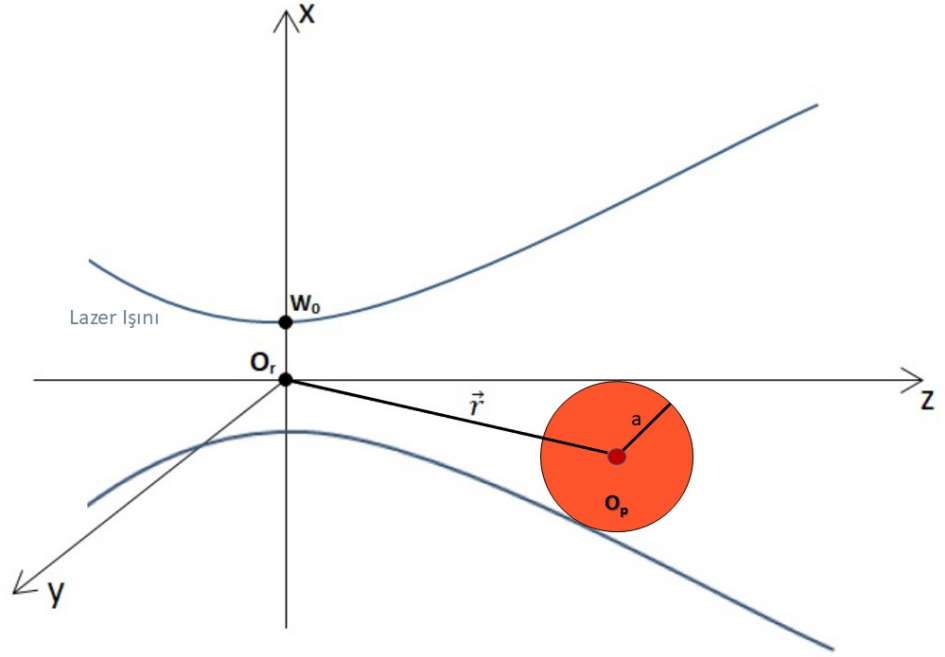
Işık parçacık ile etkileşime geçtiği zaman fotonlar farklı bir davranış sergiler. Fotonlar parçacık tarafında soğurulabilir, yansıtılabilir veya kırılabilir. Bu etkileşim esnasında fotonlar enerji ve momentum transfer ederler. Şekil 2.2'de bu farklı davranışlar sonucu oluşan ışına kuvvetlerinin farklı bileşenleri gösterilmektedir [19].



Şekil 2.2 Işıma kuvvetleri fotonun etkileşime girdiği parçacığın büyüklüğüne bağlı olarak değişir. Kırmızı ok doğrudan, sarı ok dolaylı kuvvetleri göstermektedir. Yoğunluk dağılımı mavi ile belirtilmiştir. [19]

Işığın etkileşime gireceği parçacığın yarıçapı elektromanyetik dalganın dalgaboyundan yeteri kadar küçük olduğu durumlarda çiftkutup (dipol) hipotezi kullanılabilir. Bu durumda küresel ve yalıtkan parçacık, elektromanyetik dalga altındaki eyletik nokta çiftkutpu olarak düşünülebilir ve parçacığa uygulanan kuvvetin iki farklı etkisi olabilir. Bu kuvvetlerden ilki, parçacığın yüzeyi tarafından saçılan veya soğurulan ışın dalgasının oluşturduğu saçılma kuvvetidir. Bu kuvvet, şekil 2.2.'de a, b,d ve e'de gösterilmiştir. Diğeri ise eyletik çiftkutup üzerindeki Lorenz kuvveti etkisi ile çiftkutuptan saçılmış elektromanyetik dalga tarafından aktarılan momentum değişiminin oluşturduğu eğim kuvvetidir [20]. Eğim kuvveti şekil 2.2, c ve f'de gösterilmiştir.

Yarıçapı a , kırılma indisi n_1 , dielektrik sabiti ϵ_1 , manyetik geçirgenliği μ_1 olan ve Gauss ışınının içerisinde herhangi bir konumda bulunan mikron seviyesindeki küresel bir parçacığı ele alalım. Şekil 2.3'te gösterildiği üzere, ışın bel merkez noktasını (O_r) koordinat sisteminin orijini, parçacığın merkezi O_p ve orijine olan uzaklığını r ; ışının yayılma istikameti z eksenini, ortam kırılma indisi n_2 , dielektrik sabiti ϵ_2 , manyetik geçirgenliği μ_2 olarak kabul edelim.



Şekil 2.3 Lazer ışını içerisindeki mikro parçacık

Çiftkutup için elektrostatik formülleri uyguladığımızda, parçacığın yüzeyindeki elektrik alan $E(r, t)$ ve parçacık ile ortamın bağıl kırılma indisi oranı m ile gösterildiğinde çift kutup momenti aşağıdaki gibi olacaktır; [21]

$$p(r, t) = 4\pi\epsilon_2 a^3 \frac{\epsilon_1 - \epsilon_2}{\epsilon_1 + 2\epsilon_2} E(r, t) \quad (2.15)$$

$$p(r, t) = 4\pi n_2^2 \epsilon_0 a^3 \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} E(r, t) \quad (2.16)$$

Işının içerisinde konumlanmış olan parçacık denklem 2.15'te ifade edilen momentumu kazanır. Çiftkutup momentinin elektrik alan ile orantılı olarak değişeceğini kabul edersek, $(p = \alpha E)$ olacaktır ve α bize küresel parçacığın kutuplaşabilirliğini ifade edecektir.

$$\alpha = 4\pi n_2^2 \epsilon_0 a^3 \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \quad (2.17)$$

2.1.2 Saçılma Kuvveti

Saçılma kuvveti, etkileşim anında elektromanyetik ışımadan parçacığa aktarılan momentum ile doğru orantılıdır. Işığın parçacık tarafından soğurulması veya saçılması durumu elektromanyetik enerji akışının büyüklüğünü ve yönünü etkiler. Bu esnada parçacık, momentumun etkisiyle birlikte yayılma istikametinde hareket etme eğilimindedir. Bu etki bize, parçacık üzerindeki saçılma kesit yüzeyi c_{scat} 'e bağlı olan saçılma kuvvetini verir [22]

$$F_{scat}(r) = \frac{c_{scat}(S(r, t))T}{c/n_2} \quad (2.18)$$

Denklem 2.13'teki Poynting vektör ifadesini 2.15'deki yerine yazdığımız zaman;

$$\mathbf{F}_{scat}(\mathbf{r}) = \left(\frac{n_2}{c}\right) \mathbf{C}_{scat} \mathbf{I}(\mathbf{r}) \quad (2.19)$$

Buna göre saçılma kuvveti ışık yoğunluğu ile doğru orantılı olup, yönü yayılma istikametindedir. Bu ifadede $\mathbf{C}_{scat}$ parçacığın geometrisine bağlıdır. Küre gometrisi için bu ifade [23]

$$\mathbf{C}_{scat} = \frac{8}{3} \pi (ka)^4 a^2 \left(\frac{m^2-1}{m^2+2}\right)^2 \quad (2.20)$$

Bu ifade ile denklem 2.16 yeniden yazıldığında, yoğunluğa bağlı saçılma kuvveti ifadesi elde edilmiş olur.

$$\mathbf{F}_{scat}(\mathbf{r}) = \frac{8}{3} \frac{n_2}{c} \pi k^4 a^6 \left(\frac{m^2-1}{m^2+2}\right)^2 \mathbf{I}(\mathbf{r}) \quad (2.21)$$

Görüyoruz ki saçılma kuvveti a^6 ile doğru orantılıdır ve doğrudan uygulanan ışığın yoğunluğuna bağlıdır.

Kan hücreleri karmaşık geometriye sahiptir. Hücrelerin tüm yüzey noktaları üzerindeki her bir saçılım etkisinin ayrı ayrı gözlemlenmesi gerekir ve bu kuvvetleri hesaplamak kaotik bir problem olabilir.

2.1.3 Eğim Kuvveti

Lorentz kuvveti, yüklü bir parçacık üzerinde elektrik ve manyetik alana bağlı olarak etki eden kuvettir. Eğim kuvveti ise çiftkutup üzerindeki elektromanyetik dalga tarafından endüklenmiş Lorentz kuvvetinden oluşur. Saçılma kuvvetinin aksine, eğim kuvveti küresel parçanın üzerindeki ışığın kırılma bileşenlerinin ürünüdür. Lorentz kuvveti aşağıdaki gibi verilmiştir [24];

$$\mathbf{F}(\mathbf{r}, t) = q\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) + q\mathbf{v}(t) \times \mathbf{B}(\mathbf{r}, t) \quad (2.22)$$

Nokta çiftkutup için, iki yük arasındaki mesafe $d = x_1 - x_2$ ve d sonsuz küçük olarak alındığında, net kuvvet $F = F_1 - F_2$ olarak hesaplanır ve denklem 2.19 aşağıdaki gibi yeniden yazılır

$$\mathbf{F}(\mathbf{r}, t) = q \left(\mathbf{E}_1(\mathbf{r}, t) - \mathbf{E}_2(\mathbf{r}, t) + \frac{d(x_1-x_2)}{dt} \times \mathbf{B}(\mathbf{r}, t) \right) \quad (2.23)$$

$\mathbf{E}_2(\mathbf{r}, t)$ ifadesi taylor serilerine göre dönüştürüldüğünde

$$\mathbf{F}(\mathbf{r}, t) = q \left(\mathbf{E}_1(\mathbf{r}, t) + ((x_1 - x_2) \cdot \nabla) \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) - \mathbf{E}_1(\mathbf{r}_1 t) + \frac{d(x_1-x_2)}{dt} \times \mathbf{B}(\mathbf{r}, t) \right) \quad (2.24)$$

Ve çiftkutup momenti $p = q d$ iken, kuvvet aşağıdaki şekilde olur

$$\mathbf{F}(\mathbf{r}, t) = (p(\mathbf{r}, t) \nabla) \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) + \frac{dp(\mathbf{r}, t)}{dt} \times \mathbf{B}(\mathbf{r}, t) \quad (2.25)$$

Burada çiftkutup momentindeki değişimin elektrik alan ile orantılı olduğunu varsayıyoruz ve böylece,

$$\mathbf{F}(\mathbf{r}, t) = \alpha \left((\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) \cdot \nabla) \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) + \frac{d\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{dt} \times \mathbf{B}(\mathbf{r}, t) \right) \quad (2.26)$$

Lazerin elektrik alanı zamanla değişmeyeceği için elektrik alanın zaman türevi sıfırdır. Sonuç olarak Lorentz denklemini en basit haliyle kullanarak eğim kuvvetini elde edebiliriz

$$\mathbf{F}(\mathbf{r}, t) = \frac{\alpha}{2} \nabla E^2(\mathbf{r}, t) \quad (2.27)$$

Parçacık kararlı haldeyken, 2.24'daki denklemin zaman ortalamsı ile elde edilen eğim kuvveti ise,

$$\mathbf{F}_{grad}(\mathbf{r}) = \langle \mathbf{F}(\mathbf{r}, t) \rangle_T \quad (2.28)$$

Denklem 2.24, küresel parçacık üzerindeki çiftkutup momenti ile birlikte kullanıldığında eğim kuvveti,

$$\mathbf{F}_{grad}(\mathbf{r}) = 4\pi n_2^2 \epsilon_0 a^3 \left(\frac{m^2-1}{m^2+2} \right) \frac{1}{2} \nabla \langle E^2(\mathbf{r}, t) \rangle_T \quad (2.29)$$

$\langle E(\mathbf{r}, t)^2 \rangle_T = \frac{1}{2} |E(\mathbf{r})|^2$ dönüşümü kullanıldığında,

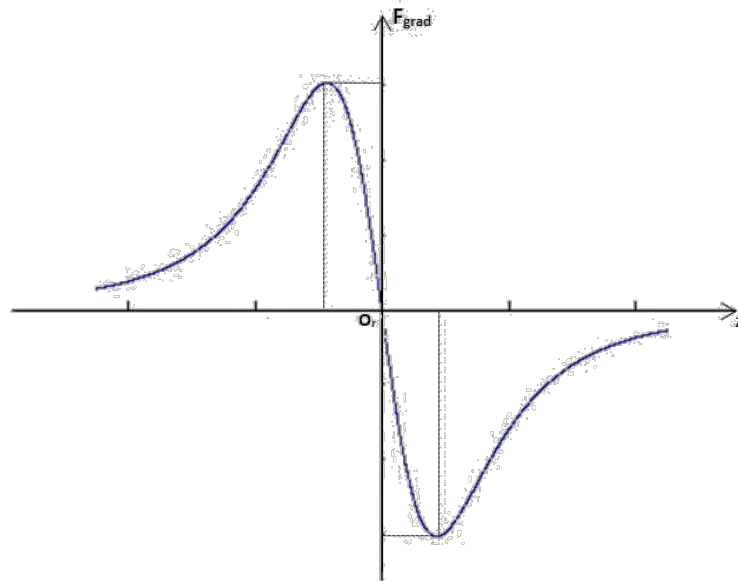
$$\mathbf{F}_{grad}(\mathbf{r}) = \pi n_2^2 \epsilon_0 a^3 \left(\frac{m^2-1}{m^2+2} \right) \nabla |E(\mathbf{r})|^2 \quad (2.30)$$

Ve son olarak eğim kuvvetinin en basit ifadesi için 2.14'teki denklem kullanıldığında aşağıdaki gibi olacaktır.

$$\mathbf{F}_{grad}(\mathbf{r}) = \frac{2\pi n_2 a^3}{c} \left(\frac{m^2-1}{m^2+2} \right) \nabla I(\mathbf{r}) \quad (2.31)$$

Burada görüyoruz ki eğim kuvveti a^3 ile orantılıdır.

Eğim kuvvetinin istikameti, yoğunluğun eğimi ile aynı doğrultudadır. Bu sayde parçacık, eğim kuvveti tarafından yüksek yoğunluk bölgesine doğru çekilir. Eğim kuvvetinin yönü, parçacığın ışın içerisindeki yerine göre değişir. Eğim kuvveti, ışığın yayılma istikametinin z ekseninde hesaplandığında, kuvvetin yönü ve büyüklüğündeki değişim yaklaşık olarak şekil 2.4'te gösterilmiştir [25]. Burada O_r ışın belinin merkezini temsil etmektedir.



Şekil 2.4 Eğim kuvveti büyüklüğünün z eksenindeki değişimi [25]

Denklem 2.30'da eğim kuvveti küresel parçacık için hesaplanmıştır. Denklem 2.15'te verilen çiftkutup momenti parçacık şekline bağlı olduğundan, karmaşık geometriye sahip kan hücrelerinin elektromanyetik dalga etkileşimi için başka bir formülasyona ihtiyaç vardır.

2.1.4 Yakalama Parametreleri

Saçılma kuvveti parçacığı yayılma istikametinde itmeye çalışırken, eğim kuvveti ise yüksek yoğunluk noktasına doğru çekmeye çalışır. Bu iki kuvvetin birbirini elimine ettiği noktada ise parçacık sabit kalır. Bu konuma yakalama noktası denir. Parçacık üzerindeki toplam kuvvet;

$$\mathbf{F}(\mathbf{r}) = \mathbf{F}_{scat}(\mathbf{r}) + \mathbf{F}_{grad}(\mathbf{r}) \quad (2.32)$$

şeklinde ifade edilir ve parçacığın konumuna bağlı olarak değişkenlik gösterir. Tek ışın ile yakalamak için durağanlık kriteri ise [26]

$$R = \frac{F_{grad}}{F_{scat}} \geq 1. \quad (2.33)$$

Parçacığı yakalayabilmek için F_{grad} , F_{scat} kuvvetinden büyük olmalı ki, $R \geq 1$ olsun. F_{grad} kuvvetinin x , y , z eksenlerinde bileşenleri vardır ancak F_{scat} kuvvetinin tek bileşeni yayılma istikametindedir. Eğim kuvvetinin x ve y bileşenleri parçacığı optik eksene doğru çekerken, z bileşeni ise saçılım kuvvetine zıt etki etmektedir.

Optik cımbız ile yakalayacağımız parçacığın boyutu önemlidir. Parçacık yarıçapı a iken; saçılım kuvveti a^6 ile, eğim kuvveti ise a^3 ile doğru orantılıdır. Dolayısıyla parçacık büyüdükçe saçılım kuvveti, eğim kuvvetine kıyasla daha hızlı artacaktır.

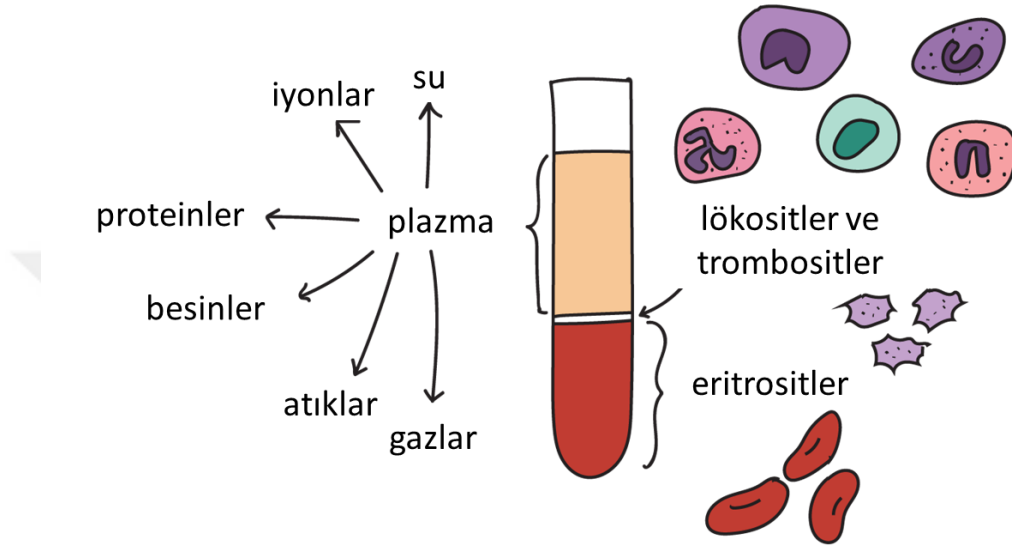
Yukarıda verilen tüm tanımlamalar durgun sıvı içerisinde bulunan parçacıklar için verilmiştir. Yerçekimi kuvveti, termal etkiler, sıvıların kaldırma kuvveti, sürüklenme kuvveti ve sıvı içerisindeki akış ihmal edilmiştir. Parçacığı sabit durumda tutabilmek için bu dış kuvvetler de vektör hesaplarının içine dahil edilmelidir. Sürüklenme kuvveti, sıvı içerisindeki parçacığın akış yönüne zıt sürtünme kuvvetidir ve aşağıdaki gibi ifade edilir; [27],

$$\mathbf{F}_d = \frac{1}{2} \rho v^2 C_D \mathbf{A} \quad (2.34)$$

Burada C_D parçacığın şekline bağlı olan sürüklenme kuvvetini, A kesit alanını, ρ sıvının yoğunluğunu ve v hızı tanımlamaktadır. Düşük viskozitede sürüklenme kuvveti çok küçük olsa da parçacığı hareket ettirecek asgari ışınma kuvveti değerini etkiler.

2.2 KAN VE KANIN BİLEŞENLERİ

İnsan kanında, sıvı kısmı oluşturan plazma ile lökosit, eritrosit ve trombositler olarak adlandırılan kan hücreleri bulunur. Plazma insan kanının %55'ini oluştururken, kan hücreleri de yaklaşık %45'ini oluşturur [28]. Kan bileşenlerinin özgül ağırlıkları ve boyutları farklıdır. Bu sayede kanı bir tüpe koyup santrifüjde yüksek hızda döndürdüğümüz zaman, Şekil 2.5'te gösterildiği gibi kan bileşenleri farklı katmanlar halinde ayrılır.



Şekil 2.5 Kan bileşenlerinin segmentasyonu [28]

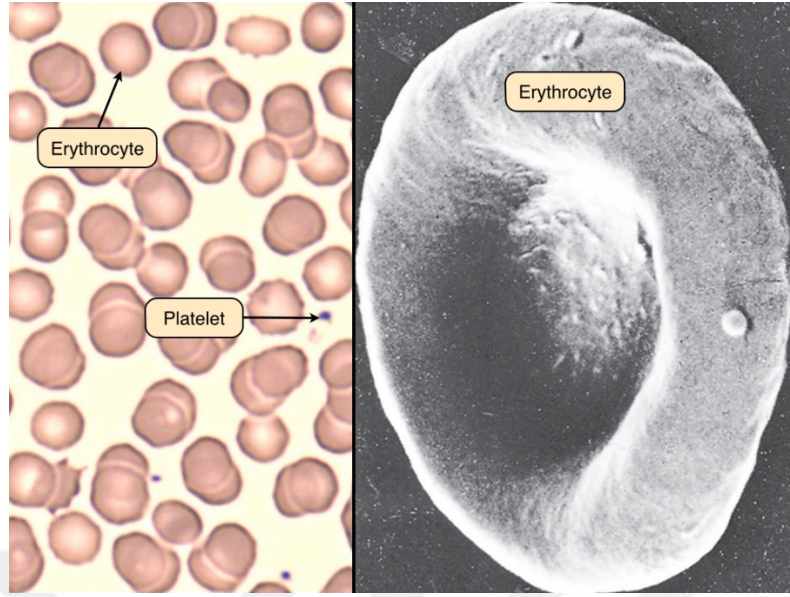
2.2.1 Plazma

Plazmanın yaklaşık %90'ı sudur. Geriye kalan %10'luk kısmı iyonlar, proteinler, besinler, atıklar ve çözünmüş gazlardan oluşur. Plazma kanın pH'ını ve ozmotik dengesini korumak için önemlidir. Plazmanın viskozitesi, kişinin yaşı ve cinsiyetinden bağımsız olarak, 37⁰C'de 1.10-1.30 mPa aralığındadır [29]. Plazmanın kırılma indisi ise 1.345'tir. [30]

2.2.2 Eritrositler

Kırmızı kan hücreleri ya da eritrositler dokulara oksijen taşıyan hücrelerdir. İnsan kanındaki eritrositler disk şeklindedir ve görevlerine uygun olarak bikonkavdır. Bu hücreler 7-8 µm boyutundadır ve kırılma indisi 1.4'tür [31].

Eritrositler ortalama 120 günlük ömre sahiptir. Eski ve zarar görmüş alyuvarlar karaciğerde ve dalakta parçalanır ve kemik iliğinde yenileri üretilir. Eritrosit üretimi, düşük seviyede oksijene yanıt olarak böbrek tarafından salınan eritropoietin hormonu tarafından kontrol edilir. Bu negatif geri bildirim döngüsü, vücuttaki alyuvar sayısının zaman içinde nispeten sabit kalmasını sağlar [32]. Şekil 2.6'da eritrositlerin mikroskop görüntüsü ve trombosit hücresi ile boyutlarının karşılaştırılması görülmektedir [33].



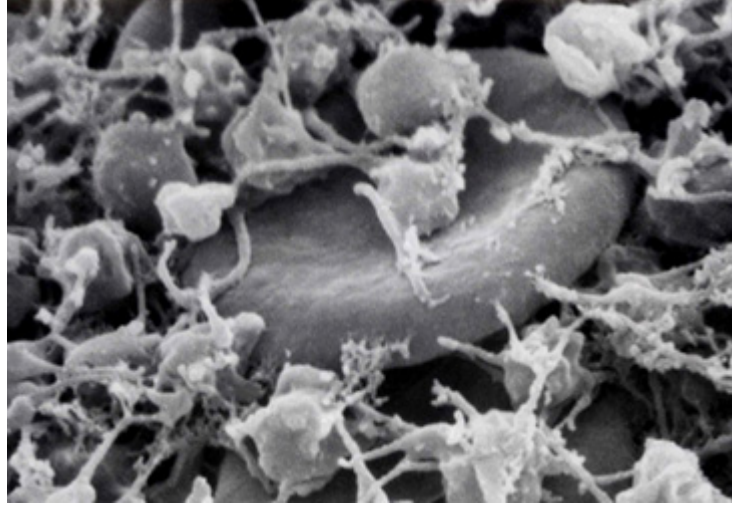
Şekil 2.6 Eritrositlerin (erythrocyte) mikroskoptaki görüntüsü ve boyutunun trombosit (platelet) ile karşılaştırılması [33]

2.2.3 Trombositler

Plateletler olarak da adlandırılan trombositler, kan pıhtılaşmasında görev alan hücre parçalarıdır. Trombositler, megakaryosit denen büyük hücrelerin parçalara ayrılmasıyla üretilir ve her biri ayrı ayrı 2000 - 3000 trombosit yapar. Trombositler, karmaşık geometriye sahiptir. Bu hücreler, eritrosit ve lökositlerden çok daha küçüktür. Trombositlerin büyüklüğü 0.5 – 1 μm aralığındadır ve kırılma indisi 1.39'dur [34].

Bir kan damarının tabakası hasar gördüğünde trombositler yapışkan bir tıkaç oluşturdukları yara bölgesine çekilirler ve kümelenerek pıhtılaşmayı sağlarlar [35]. Şekil 2.7'de eritrosit etrafında kümelenen trombosit hücreleri görülmektedir [36].

İnsan kanında ortalama olarak mikrolitre başına 150.000-350.000 civarı trombosit bulunsa da, bu hücreler çok küçük oldukları için kan hacminin çok az bir miktarını oluştururlar.



Şekil 2.7 Trombosit hücrelerinin görüntüsü [36]

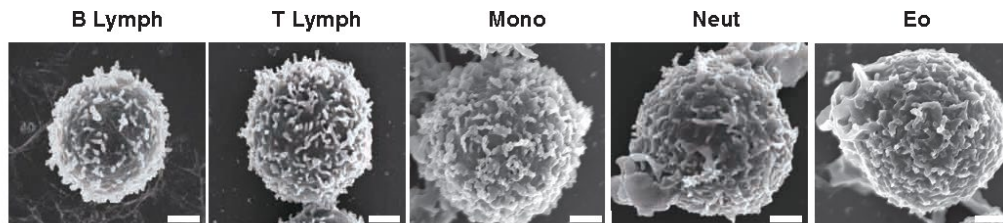
2.2.4 Lökositler

Lökositler veya akyuvarlar (beyaz kan hücreleri), kandaki hücrelerin %1 'inden daha azını oluşturur. Bu hücreler esas olarak bağışıklık tepkisinde rol alırlar. Ayrıca bakteriler ve virüsler gibi istilacıları tanır ve nötralize ederler.

Lökositler eritrositlerden daha büyüktür ve onların aksine normal bir çekirdek ve mitokondriye sahiptir. Bu hücreler türüne göre değişken büyüklüklerde olup, ortalama 7-15 μm çapındadır. Kırılma indisleri ise 1.35 olarak belirlenmiştir [37]. Lökositler beş temel türde karşımıza çıkar. Bu beş temel tür mikroskop altındaki görünüşlerine göre iki farklı gruba ayrılır.

Her akyuvar türü savunmada belirli bir rol oynar. Örneğin, bazı akyuvarlar patojenleri yutmak ve parçalamakla uğraşırken, bazıları ise kimi mikroorganizmaları tanır ve bunlara karşı bağışıklık tepkilerini başlatır.

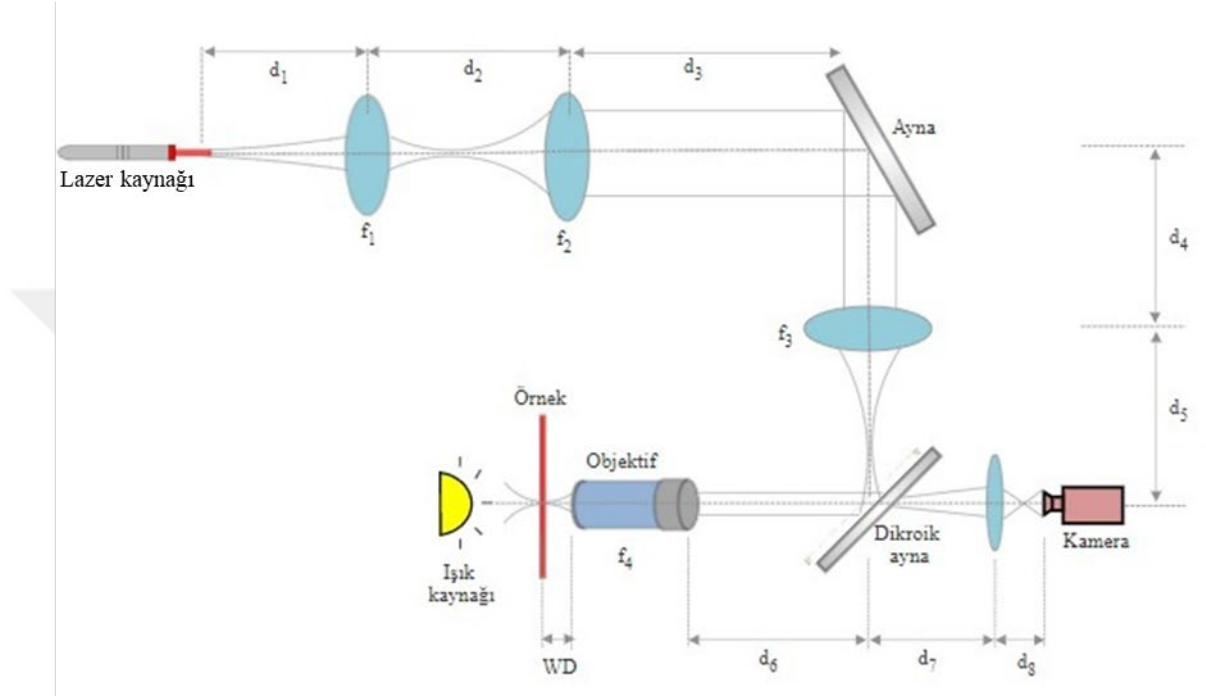
Farklı türlerdeki lökositlerin görüntüleri şekil 2.8'de gösterilmektedir [38]. Lökositler küresel şekle sahip olmalarına rağmen, yüzeyleri karmaşıktır.



Şekil 2.8 Farklı türlerdeki lökosit hücrelerinin SEM görüntüleri [38]

2.3 DENEY DÜZENEGİ

Kan hücrelerini yakalayıp manipüle edebilmek için, lazer ışınının yeteri kadar odaklanması gerekmektedir. Standart bir optik cımbız düzeneği ile lazer ışığı odaklanarak istenen ışın demeti elde edilebilir. Şekil 2.9’da deney için hazırlanmış optik cımbız düzeneğinin bileşenleri gösterilmektedir. Kullanılan malzemeler ve kurulum düzeni, ışığın odağını değiştirerek farklı kan hücrelerini yakalamaya izin verecek şekilde seçilmiş ve yerleştirilmiştir.



Şekil 2.9 Optik Cımbız Deney Düzeneği

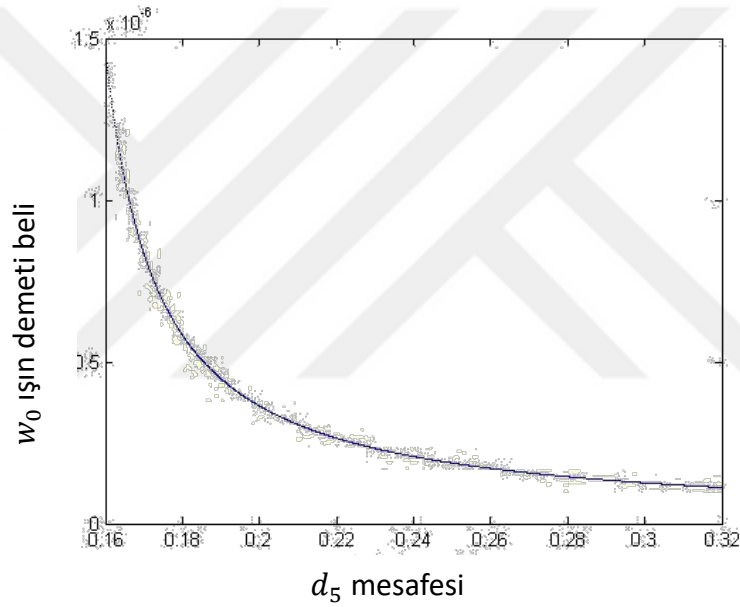
2.3.1 Lazer Işık Kaynağı

Lazerlerin 4 temel özelliği; çıkış ışın şekli, ışın astigmatizmi, güç ve dalga boyudur. Çıkış ışın şekli ve ışın astigmatizmi doğrudan odaklamayı etkileyen faktörlerdir. Optik cımbızda lazerin tek noktaya iyi odaklanabilmesi için, tek enine mod çıkışlı (TEM₀₀ - single transverse mode output) ve ışın kalitesi yüksek kaynak tercih edilmelidir. Lazer dalgaboyu ise uygulamanın türüne göre tercih edilir. Biyolojik numunelerin yakalanmasında, görünür lazerlerin Emilimi örneğe zarar verebilir. Kızılötesi lazerlerin Emilimi, görece daha az olacağı için dalgaboyu 750-1000 nm arası olan ışık kaynakları uygun seçenekler olacaktır.

Deneyde kullanılan optik cımbız düzeneğinde 632.8 nm dalgaboyuna sahip HeNe lazer tercih edilmiştir. HeNe lazerler az yoğun gürültüye sahip yüksek kaliteli ışın kaynağı oldukları için saçılma kuvveti uygulamalarında genel olarak tercih edilmektedir. Uygulamada kullanılan lazerin ışın çapı 0.7 mm olup en düşük çıkış gücü ise kesintisiz 21 mW tır. Hücreleri hareket ettirebilmek için güç önemli bir unsurdur.

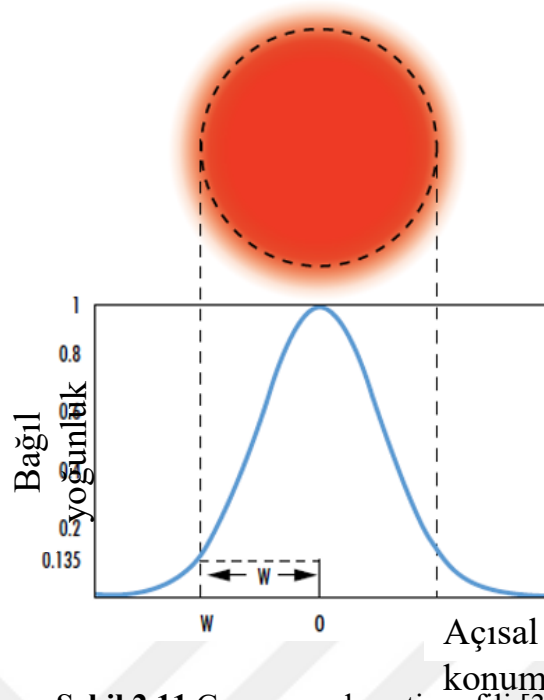
2.3.2 Optik Elemanlar

Optik cımbızın kuvveti odaklanmış ışının yoğunluğuna bağlıdır. Farklı boyutlardaki kan hücrelerini, ayrı ayrı yakalayabilmek için farklı yoğunlukta odaklanmış ışın demetine ihtiyaç vardır. Bu doğrultuda Şekil 2.9’da gösterildiği gibi bir mercecek düzeneği hazırlanmıştır. Düzlem dalgası oluşturabilmek için, lazer kaynağının çıkışına f_1 ve f_2 mercekleri yerleştirilmiştir. Bu sayede düzlem dalgası oluştuktan sonra, cımbız kuvvetini ayarlamak amacıyla f_3 merceğinin pozisyonu değiştirilse de merceğe düşen dalga yoğunluğu sabit kalacaktır. Optik cımbız düzeneğini masa uzunluğuna uygun yerleştirebilmek için, düzlem dalgası 45 derecelik ayna üzerinden f_3 merceğine yansıtılmıştır. Bunun yanında ayna, lamel üzerinde oluşan cımbızın pozisyonunu ayarlamak için de kullanılmıştır. Objektife düşecek ışın demeti belini ayarlayabilmek için d_5 mesafesini değiştirmek gerekmektedir. Bunun için f_3 merceği ray üzerinde hareket edebilecek şekilde monte edilmiştir. Şekil 2.10’da d_5 mesafesinin ışın demeti belini nasıl değiştirdiğini gösteren grafik bulunmaktadır.



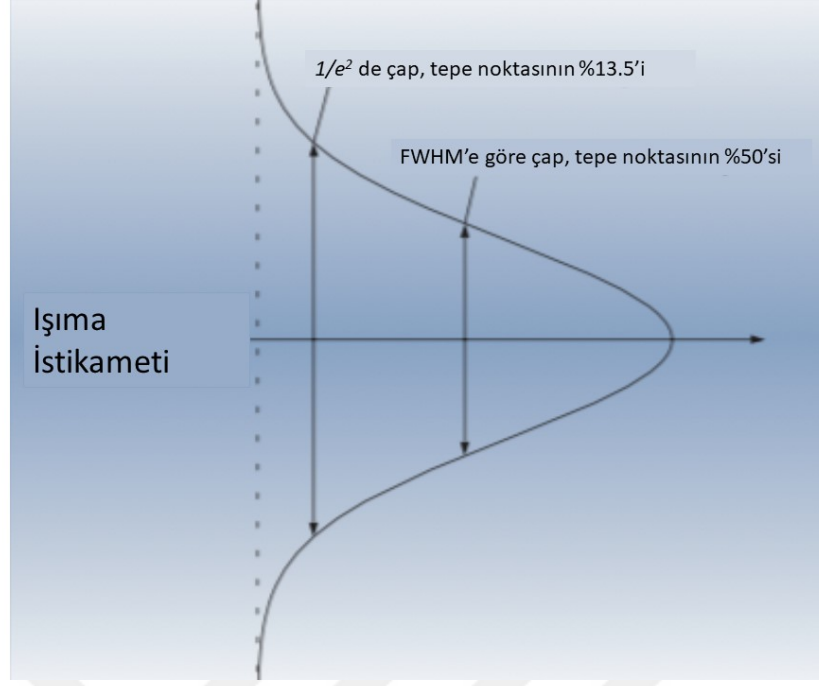
Şekil 2.10 d_5 mesafesine göre ışın demeti belinin değişimini gösteren grafik

Gerçekte tam olarak uymasa da, lazer ışınlarının Gauss ışınına yakın bir şekilde yayıldığı kabul edilir. Teorik olarak TEM_{00} moduna karşılık gelen Gauss ışını yoğunluk profilinde, lazer ışını kusursuz düzlem dalgası ile başlar ve enine yoğunluk dağılımı gösterir. HeNe lazeri de Gauss ışını profiline çok yakın olduğundan [39] optik elemanların mesafeleri Gauss Işını Optiği kullanılarak hesaplanmıştır. Şekil 2.11’de [40] Gauss ışın demeti profili verilmektedir.



Şekil 2.11 Gauss ışın demeti profili [35]

Lazer ışınının yayılma özelliklerini belirleyebilmek adına Gauss ışını lazerin iç çapı veya sınırlayıcı optik açıklık kadar kırılır. Bu konuda iki farklı tanımlama mevcuttur. İlk yaklaşıma göre çap, ışık parlaklığının tepe noktasının $1/e^2$ kadarına düştüğü noktadan hesaplanır. FWHM (full width at half maximum) olarak adlandırılan ikinci yaklaşımda ise yoğunluğun tepe noktasının yarısı kadarına düştüğü noktadan hesaplanır. Şekil 2.12’de bu yaklaşımlar grafik üzerinde gösterilmektedir. [41] Deneysel çalışma esnasında ışın çapını hesaplamak ve ölçmek için ilk yaklaşım yaklaşım kullanılmıştır.



Şekil 2.12 Gauss ışını çapı [41]

TEM₀₀ modunda çalışan lazerler için parlaklık Gauss fonksiyonu ile verilir;

$$I(r) = I_0 e^{-2r^2/w^2} = \frac{2P}{\pi w^2} e^{-2r^2/w^2} \quad (2.35)$$

Burada w parlaklığın tepe noktasının $1/e^2$ 'sine düştüğü noktanın ışının merkez eksenine uzaklığını ifade ederken (Şekil 2.12), P ışının toplam gücünü ve r merkez ekseninden enine uzaklığı tanımlar. w ışının z eksenine ne kadar yayıldığına bağlıdır ve w_0 ise $1/e^2$ parlaklığın yarıçapıdır. [41]

Işının boyutu başta yavaşça sonra hızlıca z ekseninde orantısal olarak artacaktır. Dalga yüzünün eğriliği $z=0$ 'da sonsuz iken, eksen boyunca sonlu olup ve azalacaktır. En düşük seviyeye ulaştıktan hemen sonra da yine z ile orantılı bir şekilde artacaktır. [41,42]

$$w(z) = w_0 \left[1 + \left(\frac{\lambda z}{\pi w_0^2} \right)^2 \right]^{1/2} \quad (2.36)$$

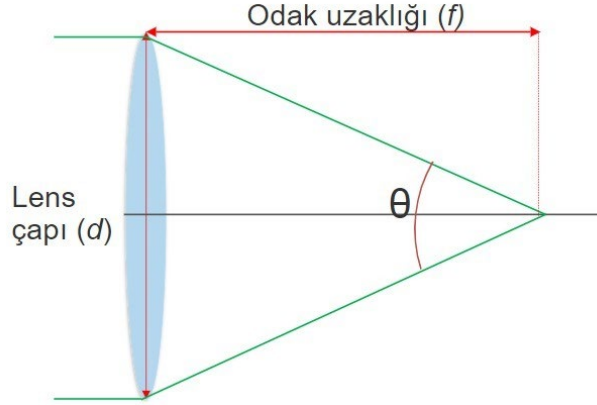
Dalga z ekseninde yayıldıktan sonra $1/e^2$ parlaklığın yarıçapı $w(z)$ iken, dalgayüzü eğriliğinin yarıçapı da $R(z)$ olur. Işının davranışı bu iki parametre ile belirlenir. Denklemlerde iki parametre de aynı düzende olduğu için, tek bir parametreye indirgenerek Rayleigh aralığı (z_R) elde edilir:

$$z_R = \frac{\pi w_0^2}{\lambda} \quad (2.37)$$

$z = z_R$ iken, R 'nin değeri en küçüktür. Rayleigh aralığı, ışın belinden ışın yarıçapının $\sqrt{2}w_0$ 'a yükseldiği noktaya olan uzaklıktır. [42] $z \gg z_R$ iken ışın küresel dalga olarak uzaklaşmaya başlar ve tam açısal genişliği;

$$\theta = \frac{4\lambda}{2\pi w_0} \quad (2.38)$$

olur. Işın bel orijini, noktasal kaynağa yaklaştığında ve $\tan \theta \approx \theta$ iken, θ geometrik optik kullanılarak, mercek çapının (d) odak uzaklığına (f) bölünmesi ile hesaplanabilir (Şekil 2.13).



Şekil 2.13 Tam açısal genişlik

$$\theta \approx \frac{d}{f} = \left(\frac{f}{d} \right)^{-1} \quad (2.39)$$

f/d oranı fotoğrafçılıkta diyafram açıklığı (f-number) olarak tanımlanır. Işın bel çapı ise aşağıdaki gibi ifade edilir;

$$2w_0 = \left(\frac{4\lambda}{\pi} \right) \left(\frac{f}{d} \right) \quad (2.40)$$

ve şekil 2.13'te gösterilen odak derinliği (DOF) aşağıdaki gibi tanımlanır [43].

$$DOF = \left(\frac{8\lambda}{\pi} \right) \left(\frac{f}{d} \right)^2 \quad (2.41)$$

Eğriliğin karmaşık yarıçapı $q(z)$, hem benek çapının hem de eğrilik yarıçapının gerçek ve sanal kısımlarını içerir, ve de aşağıdaki denkleme göre değişkenlik gösterir [44]:

$$q(z) = z + iz_R \quad (2.42)$$

$q(z)$ 'nin tersi, Gauss ışını hakkında çokça bilgi içerir ve aşağıdaki gibi ifade edilir:

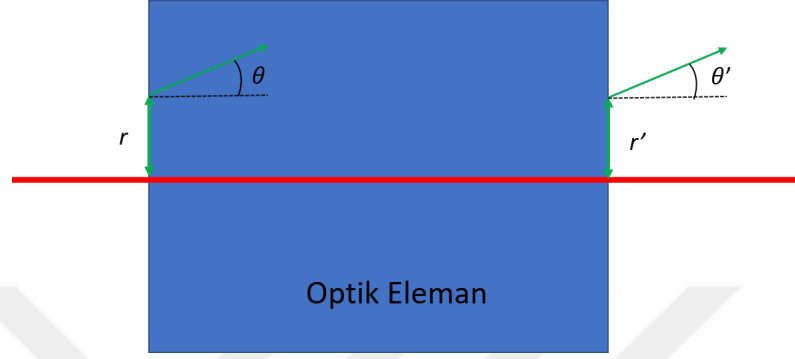
$$\frac{1}{q(z)} = \frac{1}{z + iz_R} = \frac{z}{z^2 + z_R^2} - i \frac{z}{z^2 + z_R^2} \quad (2.43)$$

Denklem 2.43'ü w_0 , $w(z)$ ve $R(z)$ kullanarak tekrar yazdığımızda;

$$\frac{1}{q(z)} = \frac{1}{R(z)} - \frac{i\lambda_0}{\pi n w^2(z)} \quad (2.44)$$

Eğer başlangıçtaki $q(0)$ değeri denklem 2.43 ve 2.44 kullanılarak ifade edilirse, ışının yayıldığı farklı z değerleri için $w(z)$ ve $R(z)$ hesaplanabilir. Böylece $q(z)$ hesabı sadeleştirilmiş olur ve paraksial dalga denkleminin hesaplanmasıyla Gauss ışını davranışı anlaşılmış olur [44]. $q(z)$ değeri, her bir optik elemanın karakteristiğini ifade eden ABCD matrisleri kullanılarak hesaplanabilir.

Şekil 2.14'da gösterildiği üzere, optik elemanların önce ve sonrasındaki r ve θ koordinatlarının doğrusal bir ilişkisi vardır.



Şekil 2.14 Optik elemanın r ve θ koordinatları

$$\begin{bmatrix} r^1 \\ \theta^1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A & B \\ C & D \end{bmatrix} \begin{bmatrix} r \\ \theta \end{bmatrix} \quad (2.45)$$

$$r' = Ar + B\theta \quad (2.46)$$

$$\theta' = Cr + D\theta \quad (2.47)$$

r ve r' değerleri optik elemana giriş ve çıkış konumlarını, θ ve θ' ise optik açılarını ifade eder [45].

Gauss ışınının giriş ve çıkış parametrelerini q_1 ve q_2 olarak tanımlarsak, buna bağlı olarak optik eleman aşağıdaki ABCD matrisi ile ifade edilebilir [44].

$$q_2 = \frac{Aq_1 + B}{Cq_1 + D} \quad (2.48)$$

Dalga ışınlar boyunca yayıldığından, boşluktaki bir d mesafesinde, ışının koordinatları $r' = r + \theta d$ ve $\theta' = \theta$ denklemlerine bağlı olarak değişir [45]. Böylece iletim matrisi M aşağıdaki gibi olacaktır:

$$M = \begin{bmatrix} 1 & d \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (2.49)$$

Kırılma indisleri n_1 ve n_2 olan iki farklı ortam tarafından oluşmuş düzlemsel sınırların kırılımından dolayı, ışının açıları Snell yasasına göre değişir [45]

$$n_1 \sin(\theta) = n_2 \sin(\theta') \quad (2.50)$$

Paraksial yaklaşımla $n_1(\theta) \approx n_2(\theta')$ olup, ışının konumu $r' = r$ sabit kalır. Böylece iletim matrisi aşağıdaki gibi tekrar yazılır;

$$M = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & n_1/n_2 \end{bmatrix} \quad (2.51)$$

Odak uzaklığı f olan ince bir mercekten geçerek yayılan Gauss ışını için, eksenden uzaklık değişmez ve açısal denklemi aşağıdaki gibi ifade edilir:

$$\theta' = \theta - \frac{r}{f} \quad (2.52)$$

Dışbükey mercekler için $f > 0$ iken içbükey merceklerde durum tersidir. İnce mercekler için iletim matrisi [45];

$$M = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ -1/f & 1 \end{bmatrix} \quad (2.53)$$

Düzlem aynadan yansıtılan ışın için açılar ve konumlar değişmeyecektir. Böylece iletim matrisi de birimsel olacaktır.

$$M = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (2.54)$$

Yarıçapı R olan küresel ayna için çıkış değerleri giriş değerleri farklıdır; [45]

$$\theta' + \theta = \frac{2r}{-R} \quad (2.55)$$

Ve iletim matrisi de bu şekilde ifade edilebilir;

$$M = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 2/R & 1 \end{bmatrix} \quad (2.56)$$

R değeri dışbükey aynada 0 'dan küçük iken, içbükey aynada büyüktür [44].

Optik elemanların iletim matrisleri lazerin çıkışından itibaren z uzaklığına kadar sırasıyla $M_1, M_2, M_3, \dots, M_z$ iken, tüm optik sistemin iletim matrisi de aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$M = M_z \cdots M_3 \cdot M_2 \cdot M_1 \quad (2.57)$$

ABCD matrislerini kullanarak ışın belini bulabilmek için, ışın belinin başlangıç konumu $z=0$ 'da ve yarıçapı Gauss dağılımında (w_0) olmalıdır [46].

$$BD + ACq^2 = 0 \quad (2.58)$$

$$w_1^2 = \frac{w_0^2}{(AD-BC)} \left(A^2 + \frac{B^2}{q^2} \right) \quad (2.59)$$

Işın belinin yeni pozisyonu ve yarıçapı, kırılma indisinin l 'e eşit olduğu koşulda, denklem 2.58 ve 2.59 kullanılarak hesaplanabilir.

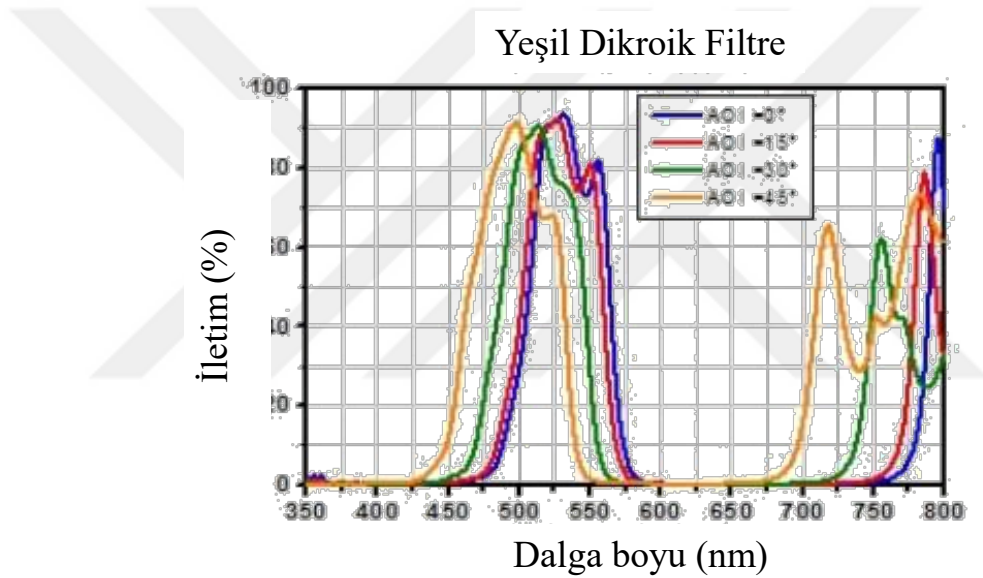
$$q = \frac{\pi w_0^2}{\lambda} \quad (2.60)$$

Bu uygulama için seçilen merceklerin odak uzaklıkları $f_1 = 25.4$ mm, $f_2 = 175$ mm, $f_3 = 175$, $f_4 = 1.8$ mm olarak seçilmiş ve aralarındaki mesafeler; $d_1 = 605$ mm, $d_2 = 200.4$ mm, $d_3 = 400$ mm, $d_4 = 40$ mm, $d_5 = 280$ mm, $d_6 = 30$ mm, $d_7 = 90$ mm olacak şekilde ayarlanmıştır.

Uygulamada ışığı en üst seviyede odaklayabilmek için 100 kat büyütme yapabilen, 1.8 mm odak uzaklığına ve 0.15 mm çalışma mesafesine sahip bir mikroskop objektifi tercih edilmiştir. Objektif ile lamel arasında immersiyon yağı kullanılarak daha yüksek sayısal açıklık ve daha net görüntü elde etmek amaçlanmıştır.

2.3.3 Dikroik Ayna

Deneyde, objektif üzerine lazer ışığını düşürürken aynı zamanda görüntü elde etmemizi sağlayan dikroik ayna kullanılmıştır. Şekil 2.15'te bu uygulamada kullanılan dikroik aynanın iletim oranları grafiği gösterilmektedir. 45 derecelik açı ile yerleştirilen ayna, 632.8 nm'lik lazer ışınının tamamen yansıtılarak objektif üzerine yönelmesini ve örnekteki parçacıklara odaklanmasını sağlamaktadır. Diğer taraftan, örneği aydınlatmak için kullandığımız görünür ışık, dikroik aynadan tamamen geçerek görüntünün kameranın merceğine ulaşmasına imkan verir.



Şekil 2.15 Dikroik aynanın yansıtma oranı grafiği

2.3.4 Görüntüleme Sistemi

Uygulamada tercih edilen, 100 kat büyütme özelliğine sahip objektif lens hem lazer ışığının odaklanması hem de kan hücrelerinin görüntülenmesi amacıyla kullanılmıştır. Görüntü netliğini yakalamak, örnek üzerinde oluşabilecek parlama ve yansılardan kaçınmak için deneyler karanlık ortamda gerçekleştirilmiş olup; Şekil 2.9'da gösterildiği üzere harici aydınlatma kullanılmıştır. Objektif lens tarafından büyütülmüş ve görünür ışık sayesinde dikroik aynadan geçmiş görüntü, son olarak f_5 merceği vasıtasıyla kameraya ulaşır.

Deneyde, görüntüleme elemanı olarak monokromatik dijital kamera (DCU223M CCD Camera, 1024 x 768 Resolution, B&W) kullanılmış ve USB vasıtasıyla bilgisayara aktarılmıştır.

2.3.5 Örnekler

Tam kan içerisinde yaklaşık %50 plazma olmasına rağmen hücre yoğunluğu çok yüksek olduğu için optik cımbız uygulamasında istenilen hücreleri seçip hareket ettirme imkanı kısıtlı kalmaktaydı. Buna çözüm olarak deneyde kullanılan preparat için, 1 ölçek tam kan, 10 ölçek su ile seyreltilerek ile hazırlanmıştır.

2.4 DENEYSEL ÇALIŞMA

Bu bölümde, yukarıda bileşenleri sunulmuş deney düzeneğinin hizalanması, hazır hale getirilmesi, test edilmesi ve optik cımbız ile kan hücrelerinin ayrı ayrı yakalanması anlatılarak, deney sonuçları görseller eşliğinde ortaya konmuştur. Söz konusu görseller deney düzeneğinde bahsi geçen monokromatik kamera yardımıyla elde edilmiş, kaydedilen video görüntülerinden anlık ekran görüntüleri üretilmiştir.

2.4.1 Optik Elemanların Yerleşimi ve Lazer Işını Hızalama

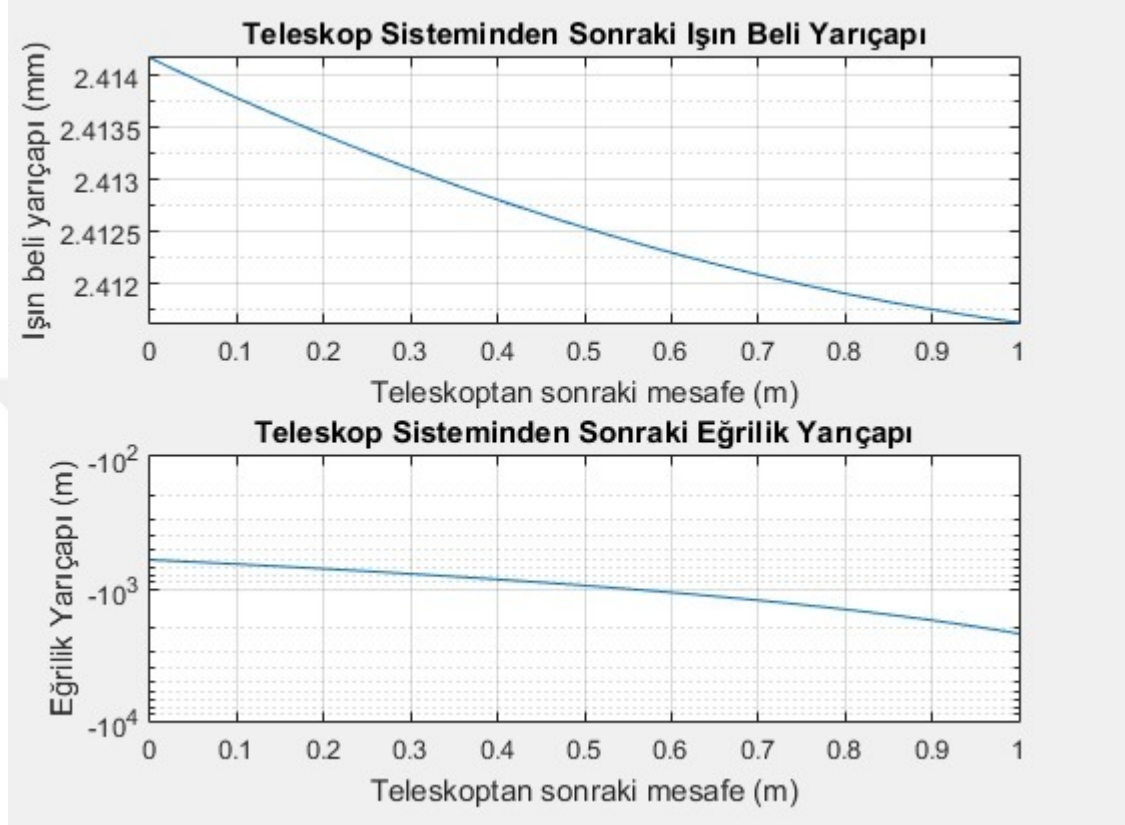
Lazer ışık kaynağı ile hücreleri yakalayabilmek ve hareket ettirebilmek için, kaynağın ürettiği gücü yüksek verimle odaklayabilmek, gücü örneğe kadar azami seviyede taşıyabilmek büyük önem taşır. Bunun için optik cımbız düzeneğinin hassas bir şekilde hizalanması gerekmektedir. Daha önce ifade edildiği şekliyle Gauss ışını optiği kullanılarak optik elemanların mesafeleri en iyi cımbızlama performansı için hesaplanmış, deneysel olarak da kontrol edilmiştir. Mercekler ve düzlem ayna, Tablo 2.1’de gösterilen mesafelere uygun şekilde sabit ray üzerine yerleştirilmiştir. Işını hizalayabilmek için de merceklerin bağlı olduğu raya sabitlenebilen ve üzerinde hareket ettirilebilen bir diyafram kullanılmıştır. Diyafram iç çapı, hizalamanın her adımında ışın çapına göre ayarlanarak, ışının doğrultusu kontrol edilmiştir. İlk olarak lazer ışın kaynağı çıkışından f_1 merceği öncesine diyafram yerleştirilmiş, ışının kaynaktan çıkarken masaya paralel olması ve herhangi bir eksende açısal sapması bulunmaması, lazer kaynağının bağlı bulunduğu ayaklar ayarlanarak sağlanmıştır. Bir sonraki adımda sırasıyla f_1 - f_2 mercekleri arası, f_2 merceği ile açılı ayna arası, f_3 merceği öncesi ve sonrasında da diyafram ile kontroller yapılarak, merceklerin merkez konumları ayarlanmış ve dikroik aynaya kadar ışının asgari güç kaybı ile doğrusal bir şekilde ulaşması sağlanmıştır.

Bununla beraber en yüksek cımbız kuvvetini yakalayabilmek için ışın çapının objektif çapı ile aynı olması gerekmektedir. f_1 - f_2 bikonveks mercekleri teleskop görevi görerek uygun çapta koşutlanmış ışın demeti elde etmemizi sağlamıştır.

Tablo 2.1 Optik elemanların arasındaki mesafeler

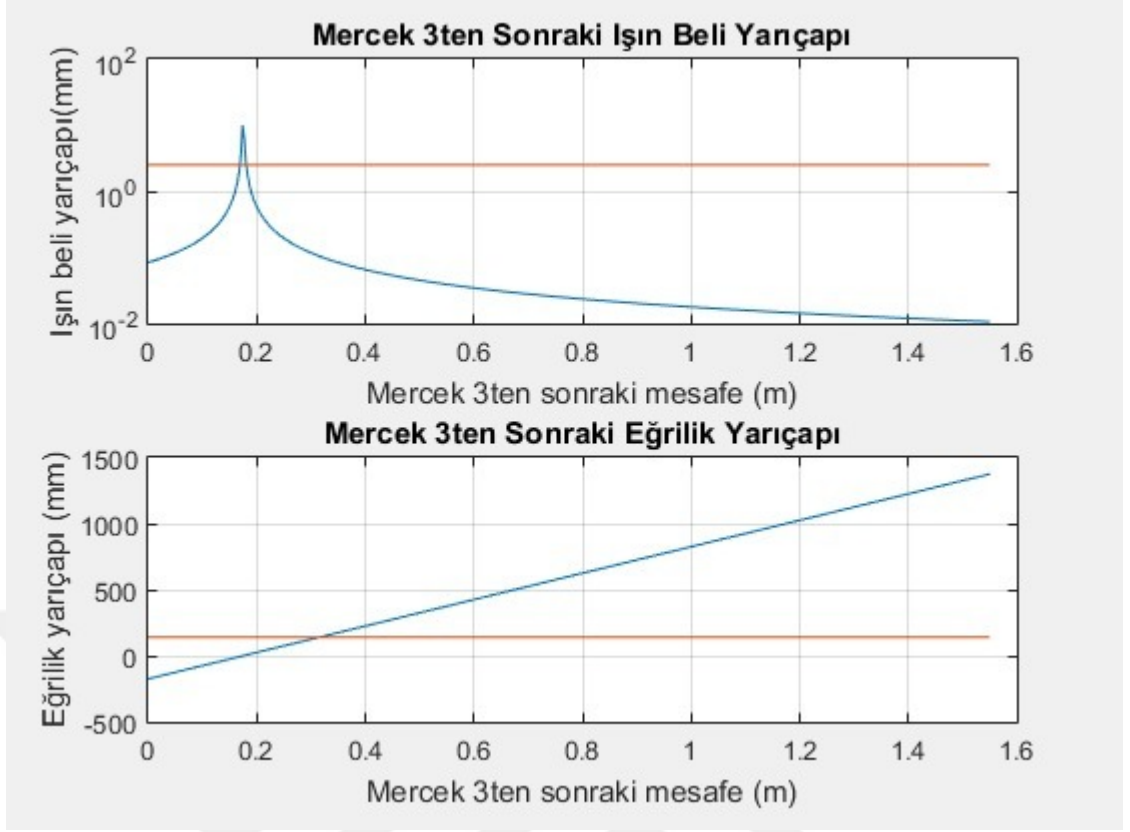
d1	605 mm
d2	200.4 mm
d3	400 mm
d4	40 mm
d5	280 mm
d6	30 mm

Hem teleskoptan hem de f_3 merceğinden sonra ışın beli çapları ve eğrilik yarıçapları ABCD matris metodu kullanılarak MATLAB'ta hesaplanmış (Ek A) [47] ve grafiğe dökülmüştür. Teleskoptan sonra ışın beli çapının Şekil 2.16'da gösterildiği üzere 4.82 mm olacağı hesaplanmıştır. Bölüm 3.1'de deney düzeneği üzerinden yapılan ölçüm sonucu ile karşılaştırılacaktır.



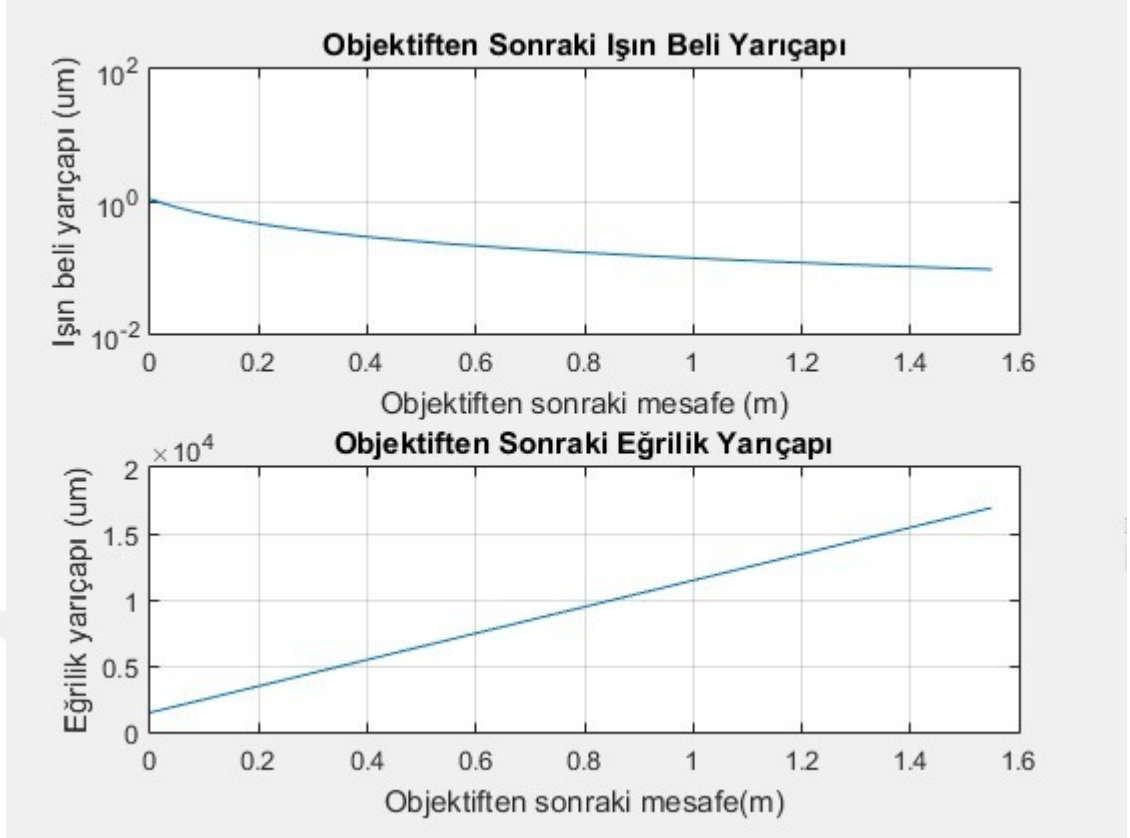
Şekil 2.16 Teleskoptan sonraki ışın beli yarıçapı ve eğrilik yarıçapı

Şekil 2.17'de f_3 'ten sonra ışın beli yarıçapının mesafeye göre değişimi verilmektedir. Bu hesaba göre ışın beli yarıçapının f_3 çıkışında 0.08 mm olacağı görülmektedir. Yapılan deneylerde objektif, f_3 merceğinden 310 mm uzağa konumlandırılmıştır. Bu konumda ise ışın beli 0.095 mm olarak hesaplanmıştır.



Şekil 2.17 f_3 'ten sonraki ışın beli yarıçapı ve eğrilik yarıçapı

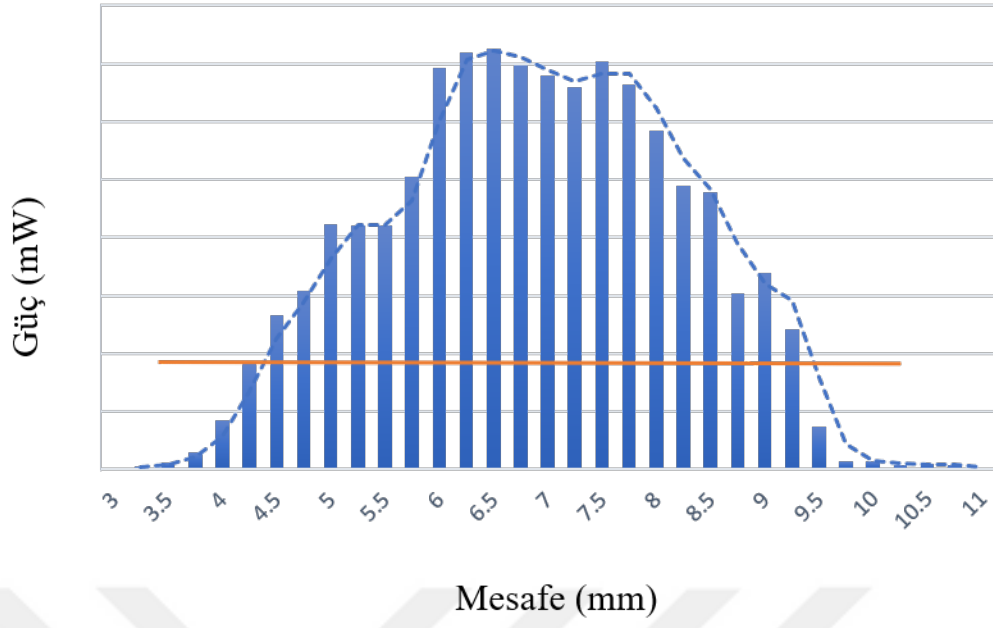
Objektiften sonraki ışın beli yarıçapı ise $1.082 \mu\text{m}$ olarak hesaplanmış ve şekil 2.18'deki grafikte gösterilmiştir.



Şekil 2.18 Objektiften sonraki ışın beli yarıçapı ve eğrilik yarıçapı

2.4.2 Koşutlanmış Işın Demeti Çapının Ölçülmesi

Hizalama işlemi tamamlandıktan sonra koşutlanmış ışın demetini ve çapını kontrol etmek için, f_2 merceğinden sonra 2 farklı noktadan güç ölçümleri yapılmış, yine Gauss ışını optiğinden faydalanarak ışın çapı hesaplanmıştır. Güç ölçümleri, Thorlabs PM100D güç ölçer ile gerçekleştirilmiştir. Masaya monte edilmiş, mikron hassasiyetinde ayarlanabilir tabla üzerine fotodiyot yerleştirilerek, sabit ekseninde hareket ettirilebilir hale getirilmiştir. Tabla yardımı ile 250 μm 'lik adımlarda, y ekseninde boyunda güç ölçümleri yapılarak kaydedilmiştir. Güç ölçümlerinin sonucu Şekil 2.19'daki grafik üzerinde sunulmuştur. Grafığe bakıldığında kullanılan lazerin Gauss ışınına çok yakın bir karakteristiği olduğu görülmektedir. Burada tepe noktasının $1/e^2$ kadarını ölçüm aldığımız iki noktanın arası, ayarlanabilir tabla üzerinden $9.4-4.3=5.1 \text{ mm}$ olarak okunmuştur. Bu değer, koşutlanmış ışın demetinin çapını belirtmektedir. Yapılan hesaplarda teleskop sonrasında ışın çapının 4.82 mm olacağı belirlenmişti. İkinci noktada alınan güç ölçümleri de benzer sonuçlar vermiş ve ışının doğrusal bir şekilde aynı çapta aynaya doğru devam ettiği tespit edilmiştir.



Şekil 2.19 Koşutlanmış ışın demeti güç ölçümleri grafiği. Yatay eksen de fotodiyot hareket ettirilerek alınan ölçümler sonucu Gauss ışını grafiğine çok yakın bir karakteristik ortaya çıkmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

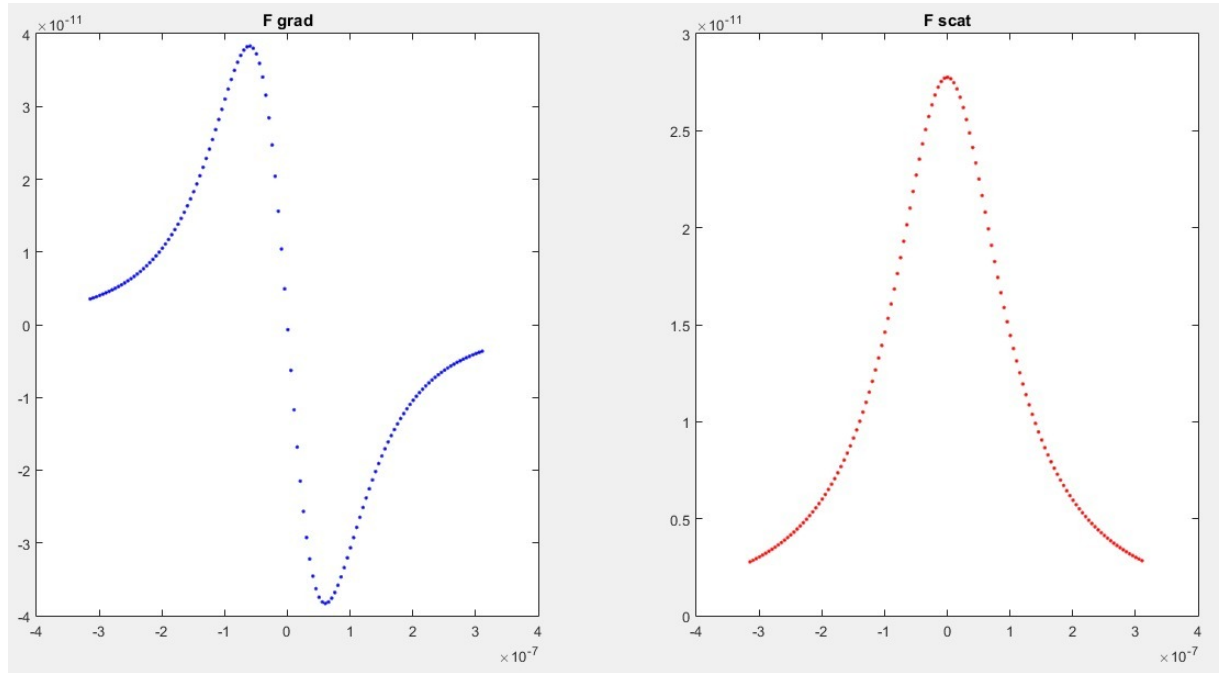
Bu bölümde, kan örnekleri üzerinde gerçekleştirilen deneysel çalışma esnasında ulaşılan sonuçlar sunulmakta ve elde edilen bulgular tartışılmaktadır.

3.1 Kan Örneği ile Deney Sonuçları

Deney esnasında, örnek içerisindeki kan hücreleri yoğunluğunu ayarlayabilmek ve daha iyi görüntü elde edebilmek amacıyla, çalışılacak kan örnekleri su ile seyreltilmiştir. Kan hücrelerinin net görüntüsünü elde edebilmek için karanlık ortamda çalışılmış, preparatın altına güçlü bir led ışık kaynağı konularak örneğin aydınlatılması sağlanmıştır.

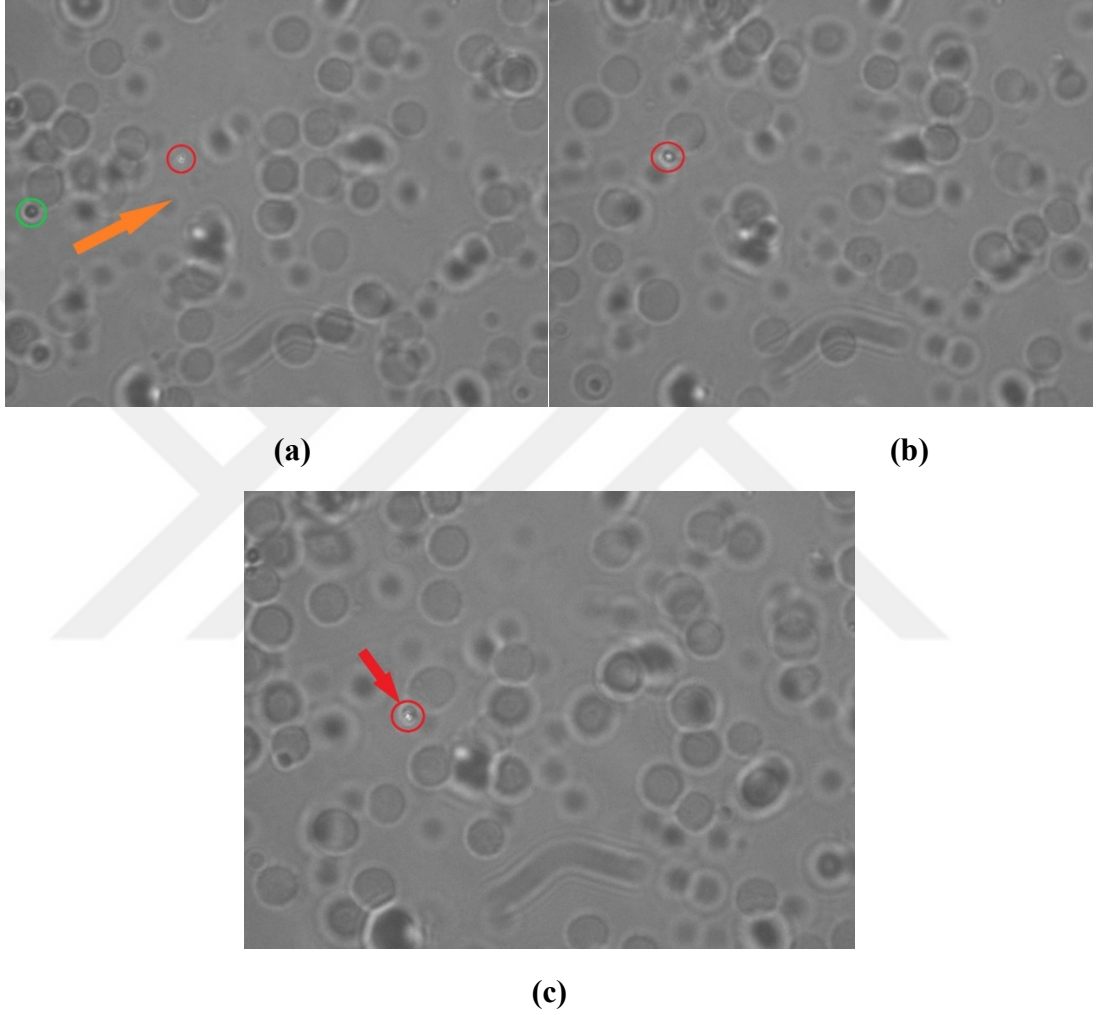
Trombosit hücreleri kan içerisinde sayı olarak çok azdır ve şekilleri ideal küre değildir. Kanın pıhtılaşmasını sağlama özelliğinin bir sonucu olarak trombositler, çabuk kümeleşme, şekil değiştirme ve yapışma eğilimindedir. Bu sebeple başlangıçta trombosit hücrelerinin cımbızlanması hedeflenmiştir.

Trombosit hücrelerinin üzerine etki edecek eğim ve saçılma kuvvetlerinin grafiği şekil 3.1’de verilmiştir. Yapılan hesaplama göre hazırlanan deney düzeneğinin trombosit hücreleri üzerine uygulayacağı azami $F_{grad} = 3.83 \times 10^{-8}$ iken $F_{scat} = 2.776 \times 10^{-11}$ ’dir. Bu değerler için durağanlık kriteri ise yaklaşık olarak $R = 1.38 \times 10^3$ olarak hesaplanmıştır ki bu da trombosit hücrelerinin $d_5 = 280 \text{ mm}$ mesafedeyken yakalanabileceğini ifade etmektedir.



Şekil 3.1 Trombosit hücrelerine etki edecek ışımaya kuvvetleri

Uygulama esnasında, önceden tespit edilen $d_5=280 \text{ mm}$ değeri, lazerin doğru şekilde odaklanmasını sağlamış ve trombosit hücrelerini yakalamayı başarmıştır. Şekil 3.2’de plazma içerisinde akış halinde olan trombosit hücresinin (a)’da serbest şekilde cımbıza doğru yaklaşması, (b)’de eğim kuvveti etkisine girerek yakalanması, (c)’de ise cımbız vasıtasıyla hareket ettirilmesi görülmektedir.

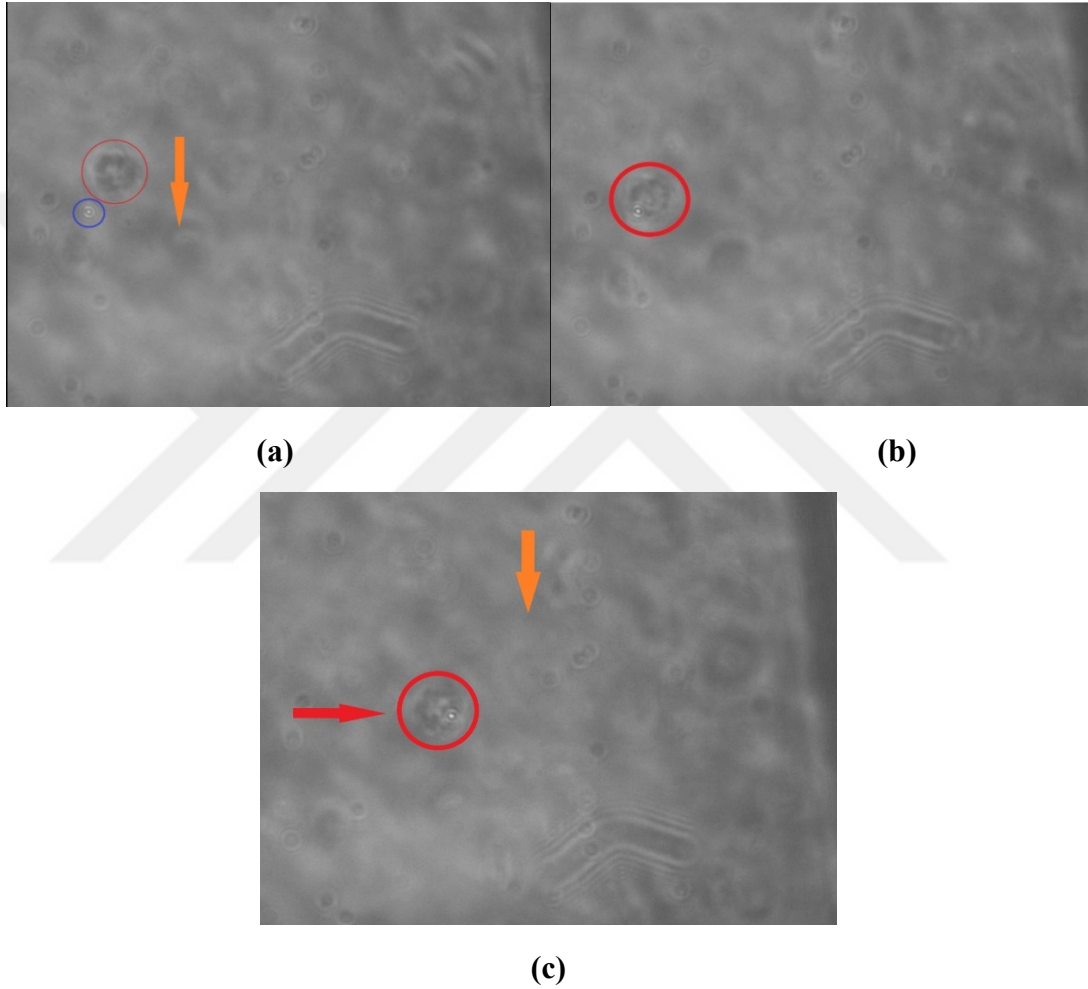


Şekil 3.2 Trombosit hücresinin optik cımbız ile yakalanması. (a) Trombosit hücresi turuncu ok ile gösterilen akış istikametinde optik cımbıza yaklaşmaktadır. (b) Işın demeti beline yaklaşan trombosit hücresi, eğim kuvvetinin etkisiyle merkezine çekilmiş ve yakalanmıştır. (c) Cımbızlanan hücre akış istikametinde dik yönde, kırmızı ok doğrultusunda hareket ettirilmiş ve bu esnada cımbız etkisi kaybedilmemiştir.

Trombositlerin yakalandığı durumda, kan hücreleri serbest akış halindeyken, eritrosit ve lökositlerin cımbız tarafından tutulmadan hareketlerine devam ettiği gözlemlenmiştir. Şekil 3.2’de yeşil daire içerisinde gösterilen trombosit hücresi ise, cımbıza yaklaştığı anda eğim kuvveti etkisine girerek yakalanmıştır. Bu esnada başka

hücrelerin veya akışın hareketinden etkilenmeksizin cımbızda kalabilmiştir. f_2 ve f_3 mercekleri arasında 45 derecelik açı ile konumlanmış olan aynanın, üzerindeki ayar kolları vasıtasıyla açısı değiştirilerek, cımbız ve yakalanmış trombosit hücresi kırmızı ok yönünde hareket ettirilmiştir.

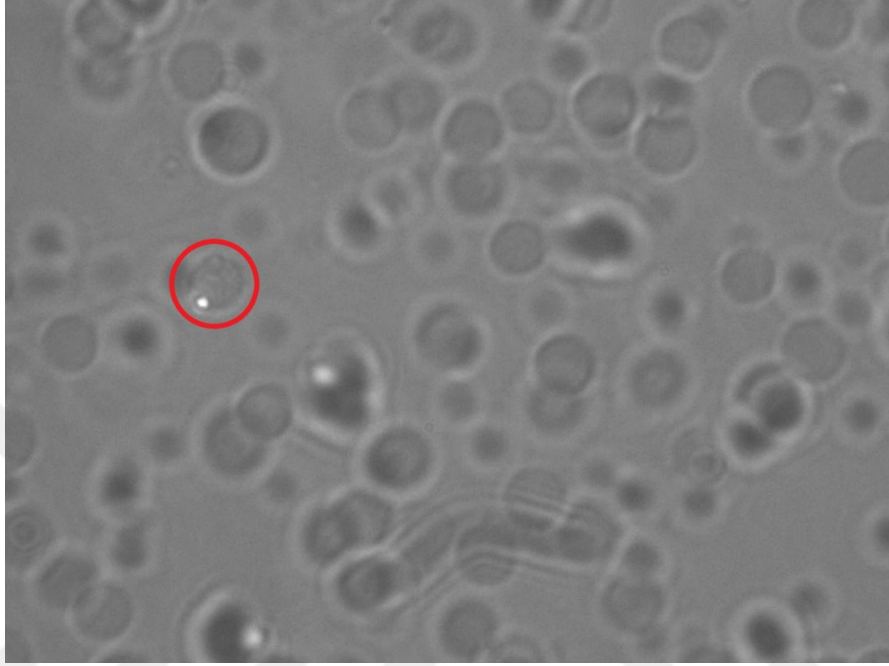
Zaman geçtikçe preparat içerisindeki trombosit hücrelerinin kümeleştiği gözlemlenmiştir. Kümeleşme halindeki trombosit hücreleri de şekil 3.3'te gösterildiği gibi optik cımbız ile tutulmuş, hücrelerin akış istikametine dik doğrultuda hareket ettirilmiştir.



Şekil 3.3 Kümelenmiş trombosit hücrelerinin optik cımbız ile yakalanması ve hareket ettirilmesi. (a) Turuncu ok ile gösterilmiş akış istikametine serbest hareket eden kümelenmiş trombosit hücreleri cımbıza yaklaşmaktadır. (b) Eğim kuvveti etkisine giren kümelenmiş trombosit hücreleri yakalanmıştır. (c) Turuncu ok istikametine gösterilen akış istikametine dik doğrultuda hücreler cımbız ile hareket ettirilmiş, bu esnada cımbız etkisi kaybolmamıştır.

Trombosit ile gerçekleştirilen başarılı uygulamadan sonra, yine kan içerisinde nicelik olarak az bulunan lökosit hücreleri üzerinde deneme yapılmıştır. Lazer optik düzeneğin lökosit hücreleri üzerine uygulayacağı eğim ve saçılım kuvvetleri

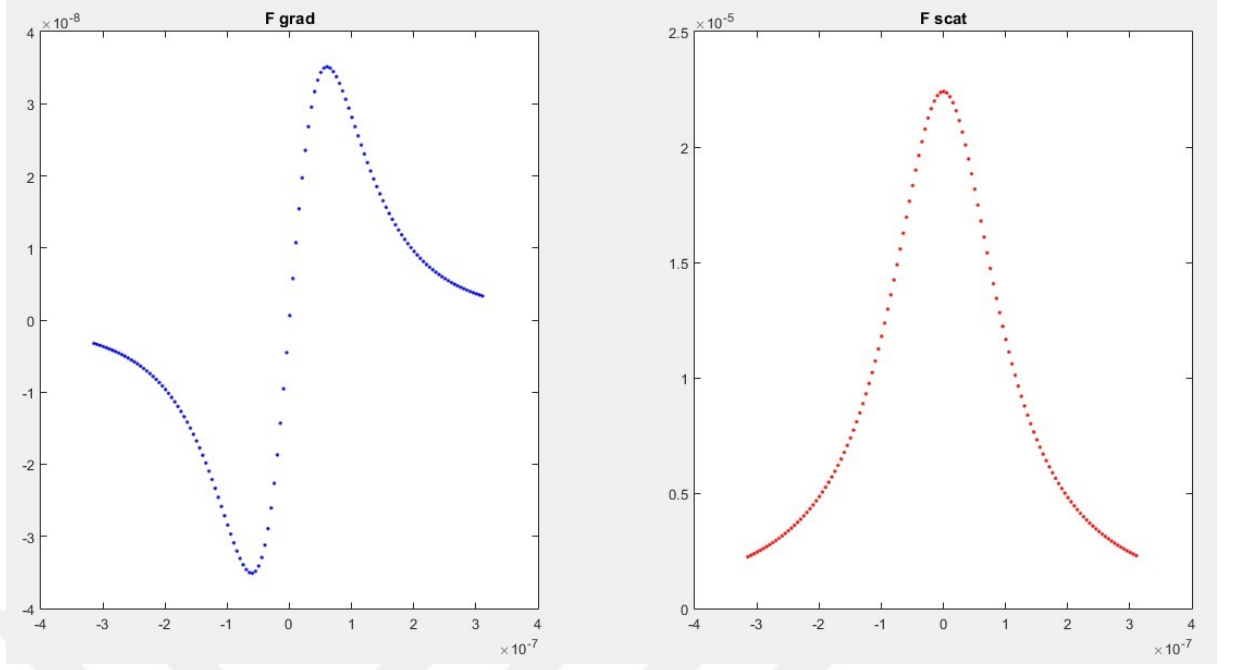
hesaplanmış ve grafik olarak Şekil 3.4'te gösterilmiştir. Burada tepe noktaları $F_{grad} = 3.83 \times 10^{-8}$ iken $F_{scat} = 2.776 \times 10^{-11}$ olarak tespit edilmiştir. Bu durumda durağanlık kriteri $R < 1$ olduğu için cımbızlama teorik olarak beklenmemektedir. Ancak uygulamaya geçildiğinde, $d_5 = 260$ mm mesafedeyken lökosit hücreleri şekil 3.4'deki gibi yakalanabilmiş ve bu hücreler plazma içerisinde hareket ettirilebilmiştir.



Şekil 3.4 Lökosit hücresi optik cımbız tarafından yakalanabilmiş, preparat içerisinde hareket ettirilebilmiştir.

Lökosit hücresi cımbız etkisinde iken, trombosit ve eritrosit hücreleri ışın demetine yakalanmadan akışa devam etmiştir. Sadece d_5 mesafesi azaltılarak, ışın demeti beli çapı ve cımbız kuvvetleri değiştirilmiş, farklı kan hücreleri birbirlerini etkilemeden, ayrıca yakalanabilmiştir. Bu uygulama, kan hücrelerinin laboratuvar ortamında optik cımbız vasıtasıyla filtrelenmesinin, gruplanmasının, sayılmasının ve manipüle edilmesinin mümkün olduğunu ortaya koymaktadır.

Son uygulamada ise eritrositlerin durumu gözlenmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucu şekil 3.5'te ışıma kuvvetleri grafiği elde edilmiş ve buna göre tepe noktaları $F_{grad} = 3.494 \times 10^{-8}$ iken $F_{scat} = 2.24 \times 10^{-5}$ olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlere göre boyutları büyük ve disk şeklindeki eritrosit hücrelerinin lazer ışını tarafından tutulamayacağı ön görülmüştür. Ancak uygulama esnasında $d_5 = 250-255$ mm civarındayken tam cımbızlama olmasa da eritrosit hücrelerinin lazer tarafından etkilendiği ve zayıfça yakalandığı gözlenmiştir. Şekil 3.6'da cımbıza yakalanan ve akış etkisiyle bükülen bir eritrosit hücresi görülmektedir. Bu sebeple eritrositler üzerinde nispeten daha zayıf bir cımbız etkisi gözlenmiş ve hücreler hareket ettirilememiştir.



Şekil 3.5 Eritrosit hücrelerine etki edecek ışımaya kuvvetleri



Şekil 3.6 Optik cımbız tarafından yakalanan ve akış etkisiyle bükülen eritrosit hücresi

Eritrosit yakalamada etkili olunan durumda, trombosit ve lökosit hücrelerinin cımbızlanmadan doğal akışlarına devam ettiği gözlenmiş ve böylece tam kan örneği içerisinde bulunan 3 farklı hücrenin birbirinden bağımsız olarak yakalanmasının mümkün olduğu ortaya koyulmuştur.

3.2 Bulgular Üzerine Tartışma

Kan bileşenleri ve kan ürünlerinin önemi ve kullanımı arttıkça, kan hücrelerinin filtrelenmesi, birbirinden ayrılması, gruplanması, sayılması ve manipüle edilmesi ihtiyacı artmış; mevcut tekniklere alternatif arayışı hızlanmıştır. Bu deneyde, laboratuvar ortamında önceden benzer amaçlar ile tasarlanmış bir optik cımbızın kan hücreleri ile çalışmaya uygun hale getirilerek, kan örneği içerisindeki farklı hücrelerin birbirinden bağımsız şekilde yakalanması ve hareket ettirilmesi amaçlanmıştır.

Yapılan deneyler esnasında, başarılı bir optik cımbız uygulaması gerçekleştirebilmek için, düzeneğin çok hassas bir şekilde hizalanmasının ve lazerin gücünün örneğe ulaşana kadar azami ölçüde taşınmasının oldukça önemli olduğu anlaşılmıştır. İlk denemelerde bu hususlar sağlanamadığı için etkili bir cımbızlama yapılamamış, sonradan doğru hizalama ile başarılı sonuçlara ulaşılabilmektedir.

Görüntüleme sisteminin, düzenek içerisinde en az optik elemanlar kadar önemli olduğu anlaşılmıştır. Örneklerin diyafram için uygun çalışma mesafesine ayarlanabilmesi ile odaklanmış ışının uygun cımbız görüntüsü taşıdığıının anlaşılabilmesi için mutlaka etkili bir görüntüleme sistemi tercih edilmelidir.

Kandaki plazmanın vizkositesi ve kırılma indisi, optik cımbız uygulaması için uygun olsa da, özellikle eritrosit hücrelerinin sayıca çok ve yoğun olması sebebiyle tam kan örneği su ile seyreltilmiş, bu sayede daha kuvvetli bir cımbız etkisi ile daha net görüntü elde edilebilmiştir. Santrifügasyon veya aferez yöntemleri ile elde edilmiş (diğer kan hücrelerinden ayrıştırılmış), spesifik kan hücresi yoğun farklı kan ürünleri (plazma içerisinde trombosit, kemik iliği, kök hücre gibi) ile optik cımbız uygulaması çalışılırken, hücreler plazma içerisinde daha seyreltik olacağı için, su ile dilüte etmeye gerek olmayacaktır.

Kan Hücresi	Boyut (μm)	F_{grad} (N)	F_{scat} (N)	R
Trombosit	0.5	3.83×10^{-8}	2.776×10^{-11}	1.38×10^3
Lökosit	10	2.726×10^{-7}	1.396×10^{-3}	1.95×10^{-4}
Lökositlerin üzerindeki reseptörler	0.02	2.181×10^{-18}	8.962×10^{-26}	0.24×10^8
Eritrosit	8	3.494×10^{-8}	2.24×10^{-5}	1.56×10^{-3}

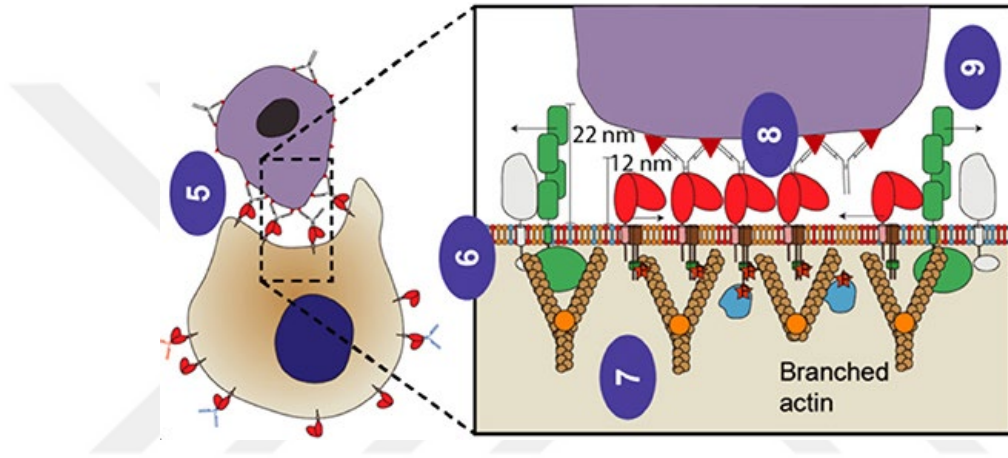
Tablo 3.1 Deney düzeneğinin kan hücrelerine uygulayacağı ışımaya kuvvetleri

Çalışma esnasında yapılan teorik ışımaya kuvveti hesapları Tablo 3.1’de listelenmiştir. Hücre boyutuna bağlı hesaplanan değerler, deneyde yalnızca trombositlerin cımbızlanabileceğini ön görmektedir. Hesaplara uygun şekilde, $d_5 = 280 \text{ mm}$ değerindeyken trombosit hücreleri hem tekil hem de küme halinde yakalanarak güçlü şekilde hareket ettirilebilmiştir.

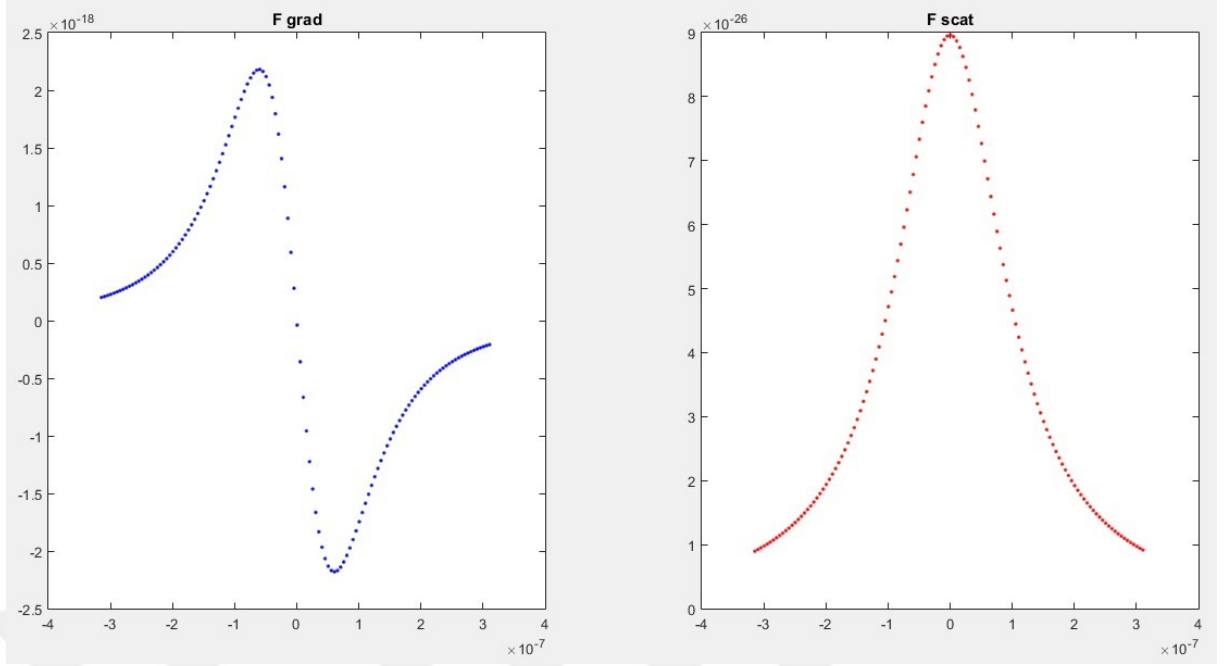
Kanın pıhtılaşmasını sağlayan trombosit hücrelerinin önemi büyüktür. Özellikle lösemi hastalarında düzenli olarak trombosit tedavisi ihtiyacı vardır. Yapılan çalışma sonuçlarına göre, trombositler üzerine gerçekleştirilecek çalışmalarda, tek hücre manipülasyonu uygulamalarında, tekil hücre gruplaması ve sayma işlemlerinde lazer optik cımbız tekniğinden faydalanmak mümkündür. Özellikle ışımadan kaynaklanan eğim ve saçılım kuvvetlerinin hücrelere uygulanabileceği çip üstü laboratuvar teknolojilerinin geliştirilmesi ile yeni sensörler tasarlanabilir. Bu sensörler tedavi amaçlı kan ürünü hazırlayan aferez cihazları veya ekstraktörlerin üzerinde çalışarak ürün toplanması ile eş zamanlı hücre sayımı yapabilir. Sistemin hücre toplama verimini görmek ve tedavi dozlarına uygun miktarda ürün toplayabilmek açısından faydalı bir uygulama olacaktır.

Lökosit hücreleri için hesaplanan R değerine bakıldığında, boyutlarının büyük olması sebebiyle cımbızlanması öngörülmemektedir. Ancak uygulama esnasında $d_5 = 260 \text{ mm}$ iken, aynı trombositlerde olduğu gibi lökositlerin de yakalanarak hareket

ettirilebildiği gözlemlendi. Daha önce belirtildiği üzere, karmaşık yüzey veya geometriye sahip hücrelerde, tüm yüzey alanlarına uygulanacak ışınım kuvvetlerinin ayrı ayrı hesaplanması gerekmektedir. Lökosit hücrelerinin yüzeyinde Şekil 3.7’de gösterilen geometri ve ölçülerde reseptörler bulunmaktadır. 10-20 nm civarındaki bu reseptörlere uygulanacak kuvvetler hesaplanmış ve Şekil 3.8’de grafiğe dökülmüştür. Tablo 3.1’deki azami kuvvetlerin reseptörleri kuvvetli bir şekilde yakaladığı ve hücreye uygulanan saçılım kuvvetlerinden yüksek olduğu için lökosit hücrelerinin tıpkı trombositler gibi cımbızlanabildiği kanısına varılmıştır.



Şekil 3.7 Lökosit yüzeyinde bulunan reseptörler yeşil ve kırmızı renklerle gösterilmiş ve boyutları verilmiştir [48]



Şekil 3.8 Lökosit hücreleri üstünde bulunan reseptörlere uygulanan ışınım kuvvetleri

Bağışıklık sistemimizi oluşturan lökosit hücrelerinin varlığı kadar, kan ürünleri içerisindeki miktarının belirlenmesi veya filtrasyonu da önemlidir. Her canlının lökosit hücreleri kendine özgüdür ve vücudumuz yabancı bir lökosit ile karşılaştığında bunu düşman olarak algılayarak tepki verir. Tedavi amaçlı kullanılan kan ürünlerinin, lökositlerden arındırılmış olması hastaya zarar vermemesi adına kritik bir koşuldur. Yaptığımız deney çalışması, lazer optik cımbız tekniği kullanılarak lökositlerin gruplanabileceğini veya filtre edilebileceğini göstermiştir.

Lökosit ve trombosit hücreleri için gerçekleştirilecek optik cımbız uygulamalarında dikkat edilmesi gereken bir nokta bulunmaktadır. Söz konusu hücreler mekanik etkilere karşı nispeten hassastırlar ve bu durum hücre aktivasyonunu tetikleyebilmektedir. Dolayısıyla optik cımbız tekniği hücrelerin pasif davranışları üzerine yapılacak çalışmalarda tercih edilmeyebilir [49].

Son olarak eritrosit üzerine yapılan hesaplar ile uygulama karşılaştırılmıştır. Tablo 3.1'deki sonuçlara uygun olarak, çalışmayı gerçekleştirdiğimiz deney düzeneği ile eritrosit hücreleri kuvvetli bir şekilde yakalanamamıştır. Eritrosit hücrelerine ancak zayıf bir çekim kuvveti ile Şekil 3.6'da gösterildiği gibi etki edilebilmiştir ve hücre sonrasında akışla uygun hareketine devam etmiştir.

4.SONUÇ

Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda lazer optik cımbız tekniğinin, laboratuvar veya hastane ortamında kan hücrelerini sayma, gruplama, ayırıştırma, filtreleme ve manipüle etme uygulamalarında, sağlıklı ve verimli bir çalışma imkanı sunabileceğini söylemek mümkündür. Bunların yanı sıra kan hücrelerinin fiziksel özelliklerine dair hesaplamalar yapmak, hücre veya dokulara doğrudan ilaç iletimi gibi tedavi yöntemleri geliştirmek ve *in vitro* çalışmalar gerçekleştirmek için de optik cımbız düzenekleri geliştirilebilir.

Lazer optik cımbızın, spektroskopik tekniklerle [50] veya mikroakışkan çip teknolojileri [51] ile birleştirilerek, çok çeşitli kan uygulamalarında tercih edilebileceği öngörülmektedir. Örneğin, kan bileşenlerini ayırıştırarak tedavi dozu şeklinde kan ürünü toplayan aferez cihazları için işlem esnasında eş zamanlı olarak toplanan ürünün sayımını yapabilecek bir düzeneğe ihtiyaç duyulmaktadır. Bu doğrultuda gerçekleştirilecek araştırma ve geliştirme çalışmalarında, lazer optik cımbız tekniği tercih edilebilir.

Çeşitli hastalıkların teşhis ve tedavisi için de optik cımbızın zaman içerisinde daha çok tercih edileceği öngörülmektedir. Optik cımbız tekniği, getirdiği önemli mekanik avantajlar itibarıyla eritrosit çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Eritrosit şekil bozukluklarının incelenmesi, optik gerdirme ile elastisite ölçümleri ve kan gruplama [49] gibi uygulama örneklerinin yanı sıra optik cımbız ile canlı hayvan vücudu içerisinde eritrosit yakalama dahi yapılabilmektedir [52].

Sonuç olarak lazer optik cımbızın biyolojik uygulamalardaki yeri ve öneminin, geliştirilecek teknik ve teknolojilerle orantılı olarak artacağı, bu doğrultuda gerçekleştirilecek çalışmaların oldukça geniş bir alana yayılacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Basu D, Kulkarni R. Overview of blood components and their preparation. *Indian J Anaesth.* 2014;58(5):529-537.
2. Hardwick J, Blood processing: Introduction to blood transfusion technology. *ISBT Sci Ser.* 2008;3:148–76
3. WHO. World Health Organization, Antiretroviral Therapy for HIV Infection in Adults and Adolescents. Recommendations for a Public Health Approach. (2010 revision. edn)
4. Bartoli A, Il calorico raggiante e il secondo principio di termodinamica. *Il Nuovo Cimento* 1884 volume 15, sayfa193–202.
5. Maxwell J, A treatise on electricity and magnetism, Volume 2. Dover, 1954
6. Lebedev P, Experimental examination of light pressure. *Ann. der Physik,* 1901;433.
7. Nichols EF, Hull GF, A Preliminary Communication on the Pressure of Heat and Light Radiation. *Physical Review (Series I)*, 1901; vol. 13, Issue 5, pp. 307-320.
8. Ashkin A, Acceleration and Trapping of Particles by Radiation Pressure. *Physical Review Letters*, 1970; 24(4), 156–159.
9. Ashkin A, Dziedzic JM, Bjorkholm JE, Chu S, Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles. *Optics Letters*, 1986; 11(5), 288.
10. Ashkin A, Dziedzic JM, Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria. *Science*, 1987; 235(1984), 1517–1520.
11. Ashkin A, Dziedzic JM, Yamane T, Optical trapping and manipulation of single cells using infrared laser beams. *Nature* 330 (6150) (1987) 769.
12. Avsievich T, Zhu R, Popov A, Bykov A, Meglinski I, The advancement of blood cell research by optical tweezers. *Reviews in Physics*, Volume 5, 2020;100043.
13. Jing P, Liu Y, Keeler EG, Cruz NM, Freedman B.S, Lin L.Y, Optical tweezers system for live stem cell organization at the single-cell level. *Biomed. Opt. Express* 2018; 9, 771-779
14. Hussein AA, Saadon HL, Khalaf AA, Abdulah MM, Optical laser trapping for studying the deformability of sickle red blood cells in response to hydroxyurea. *Iraqi Journal of Hematology*, 2018; 7. 79.
15. Griot M, Gaussian beam optics, 2009.
16. Saleh BEA, Teich MC, Fundamentals of Photonics (2nd ed.). John Wiley and Sons, 2007.
17. Saleh BEA, Teich MC, Fundamentals of Photonics (2nd ed.). John Wiley and Sons, 2007.
18. Harada Y, Asakura T, Radiation forces on a dielectric sphere in the Rayleigh scattering regime. *Optics Communications*, Volume 124, Issues 5–6, 1996, Pages 529-541.
19. Bradshaw DS, Andrews DL, Manipulating particles with light: radiation and gradient forces. *European Journal of Physics* 2017;38, 034008.
20. Svoboda K, Block S, Biological applications of optical forces. *Annual review of biophysics and biomolecular structure* 1994;23, 247–285.
21. Svoboda K, Block S, Biological applications of optical forces. *Annual review of biophysics and biomolecular structure* 1994;23, 247–285.
22. Stratton JA, Electromagnetic Theory. John Wiley and Sons, 1941.
23. Kerker M, The Scattering of Light and Other Electromagnetic Radiation (1st ed.). Academic Press, 1969

24. Cambridge Üniversitesi Eğitim Departmanı Isaac Projesi. Erişim adresi : https://isaacphysics.org/concepts/cp_lorentz_force [Erişim tarihi: 18 Aralık 2020]
25. Arslanyürek Ş, Optical Nanoparticle Filtering by Using Radiation Forces. Yüksek lisans tezi. İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir, 2018.
26. Ashkin A, Dziedzic J, Bjorkholm L, Cho S, Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles. Opt. Lett 11, 1986;288–290.
27. Katz J, Introductory fluid mechanics. Cambridge University Press, 2010
28. Rice University Open Stax. Erişim adresi: <https://openstax.org/books/biology/pages/40-2-components-of-the-blood> [Erişim tarihi: 4 Ocak 2021]
29. Késmárky G, Kenyeres P, Rábai M, Tóth K. Plasma viscosity: a forgotten variable. Clin Hemorheol Microcirc. 2008;39(1-4):243-6.
30. Bosschaart N, Edelman GJ, Aalders MCG, Leeuwen T, Faber DJ, A literature review and novel theoretical approach on the optical properties of whole blood. Lasers Med Sci. 2013;29, 453–479.
31. Kinnunen M, Kauppila A, Myllyla R, Effect of the size and shape of a red blood cell on elastic light scattering properties at the single-cell level. Biomed. Opt. Express. 2, 2011;1803–1814.
32. Rice University Open Stax. Erişim adresi: <https://openstax.org/books/biology/pages/40-2-components-of-the-blood> [Erişim tarihi: 4 Ocak 2021]
33. Yale Üniversitesi Systems Cell Biology. Erişim adresi: http://medcell.med.yale.edu/systems_cell_biology/blood_lab.php [Erişim tarihi 6 Ocak 2021]
34. Kolesnikova IS, Potapov M, Yurkin V, Hoekstra AG, Maltsev VP, Semyanov K, Determination of volume, shape and refractive index of individual blood platelet. Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer 2006;102, 37–45.
35. Rice University Open Stax. Erişim adresi: <https://openstax.org/books/biology/pages/40-2-components-of-the-blood> [Erişim tarihi: 4 Ocak 2021]
36. Oklahoma Üniversitesi Sağlık Bilimleri Merkezi Biyoistatistik ve Epidemioloji Bölümü. Erişim adresi: <https://www.ouhsc.edu/platelets/platelets/platelets%20intro.html> [Erişim tarihi: 6 Ocak 2021]
37. Keohane KW, Metcalf WK, The cytoplasmic refractive index of lymphocytes, its significance and its changes during active immunization. Q J Exp Physiol Cogn Med Sci. 1959 Oct;44:343-50.
38. Kawauchi S, Takagi Y, Kono M, Wada A, Morikawa T, Comparison of the Leukocyte differentiation Scattergrams Between the XN-Series and the XE-Series of Hematology Analyzers, 2014.
39. Griot M, Gaussian beam optics, 2009.
40. Edmund Optics Inc. Erişim adresi: <https://www.edmundoptics.com.sg/knowledge-center/application-notes/lasers/gaussian-beam-propagation/> [Erişim tarihi 9 Ocak 2021]
41. Griot M, Gaussian beam optics, 2009.
42. Alda J, Laser and Gaussian beam propagation and transformation. Encyclopedia of Optical Engineering, 2003; 2013, 999–1013.
43. Newport Corporation, Gaussian Beam Optics. Erişim Adresi <https://www.newport.com/n/gaussian-beam-optics> [Erişim tarihi 9 Ocak 2021]

44. Lei CT, Gaussian Beam. Colorado. Erişim adresi https://www.colorado.edu/physics/phys4510/phys4510_fa05/Chapter5.pdf [Erişim tarihi) Ocak 2021]
45. Peatross J, Ware P, Physics of Light and Optics, 2015.
46. Stace C, Using ABCD Matrices to find the position of a Gaussian beam waist,. Bristol: LumOptica.
47. Dr. Alan Cheville'in Web Sites, Bucknell Üniversitesi . Erişim Adresi: <https://www.eg.bucknell.edu/~rac039/Projects/projects.htm> [Erişim tarihi 12 Aralık 2020]
48. Patel Kashyap R, Roberts Jacob T, Barb Adam W, Multiple Variables at the Leukocyte Cell Surface Impact Fc γ Receptor-Dependent Mechanisms. *Frontiers in Immunology*, 2019; 10:223
49. Avsievich T, Zhu R, Popov A, Bykov A, Meglinski I, The advancement of blood cell research by optical tweezers. *Reviews in Physics*, Volume 5, 2020; 100043.
50. Liu Y, Sonek GJ, Berns MW, Konig K, Tromberg BJ, Two-photon fluorescence excitation in continuous-wave infrared optical tweezers. *Opt. Lett.* 1995; 20, 2246-2248
51. Wang X, Chen S, Kong M, Wang Z, Costa K.D, Li R.A, Sun D, Enhanced cell sorting and manipulation with combined optical tweezer and microfluidic chip technologies. *Lab Chip*, 2011,11, 3656-3662
52. Zhong MC, Gong L, Zhou JH, Wang ZQ, and Li YM, Optical trapping of red blood cells in living animals with a water immersion objective, *Opt. Lett.* 38, 2013; 5134-5137

EKLER

EK A: GAUSS IŞINI YAYILIMI ABCD MATRİS HESAPLARI İÇİN MATLAB KODLARI

```
% Kristoffer Lemoins tarafından yazılmış ve Dr. Alan Cheville tarafından
% tadil edilmiştir
%=====
% Teleskop sisteminden sonraki ışın beli yarıçapı ve eğrilik yarıçapının
% hesaplanması
f1=input('f1 odak uzaklığını mm olarak giriniz:'); %f1 giriş odak uzaklığı
f2=input('f2 odak uzaklığını mm olarak giriniz:'); %f2 giriş odak uzaklığı
d1=f1+f2; %teleskopun uzunluğu merceklerin odak uzaklığının toplamıdır
wo=input('ışının başlangıç bel yarıçapını mm olarak giriniz:'); %giriş bel
yarıçapı
x=input('ışın çıkışını takip etmek istediğiniz uzaklığı m olarak giriniz:');
lamda=632.8e-9; % He-Ne lazer dalga boyu
%İlk olarak mercek 1, mercek 2, mercekler arası alan ve merceklerden
%sonraki alan için büyük harfler kullanarak matrisleri belirler
L1=[1 0;-1/f1 1];
L2=[1 0;-1/f2 1];
D1=[1 d1;0 1];
Ro=1e60;
%q'dan başlayarak hesaplar
qo=(1/Ro-j*lamda/(pi*wo^2))^(-1);
% Her noktada w(z) ve R(z) için grafik çizecek bir döngü başlatır
N=500;
d2=linspace(0,x,N); % kullanıcının tanımladığı mesafe için d2'yi tanımlar
```

```

for k=1:N
%verilen mesafe için D2'yi bulur
D2=[1 d2(k);0 1];
%Sistemin ABCD matrisi
M=D2*L2*D1*L1;
%1/q bulmak için formülü kullanarak R(d2) ve w(d2)'yi hesaplar
%önce A, B, C, D 'yi bulur

A=M(1,1);B=M(1,2);C=M(2,1);D=M(2,2);
%Şimdi 1/q
oneoverq=(C+D/qo)/(A+B/qo);
%Gerçek kısmından R(d2)
R(k)=(real(oneoverq))^(1);
%Sanal kısmından w(d2)
oneoverqi=-imag(oneoverq);
w(k)=sqrt(lamda/(pi*(oneoverqi)));
end

%Sonuçların grafiğini çizer
subplot(2,1,1);
semilogy(d2,w*1000)
xlabel('Teleskoptan sonraki mesafe (m)')
ylabel('Işın beli yarıçapı (mm)')
title('Teleskop Sisteminden Sonraki Işın Beli Yarıçapı')
grid on;

subplot(2,1,2);
semilogy(d2,R);
grid on;
xlabel('Teleskoptan sonraki mesafe (m)')
ylabel('Eğrilik Yarıçapı (m)')
title('Teleskop Sisteminden Sonraki Eğrilik Yarıçapı')

```

```

%=====
%Mercekten 3'ten sonraki hesaplamalar
f1=input('f1 odak uzaklığını mm olarak giriniz:')/1000; %f1 giriş odak uzaklığı
f2=input('f2 odak uzaklığını mm olarak giriniz:')/1000; %f2 giriş odak uzaklığı
d2=f1+f2; %teleskopun uzunluğu merceklerin odak uzaklığının toplamıdır
f3=input('f3 odak uzaklığını mm olarak giriniz:')/1000; %f3 giriş odak uzaklığı
d3= input('Mercek 2 ve mercek 3 arasındaki mesafeyi mm olarak giriniz:')/1000;
wo=input('ışının başlangıç bel yarıçapını mm olarak giriniz:')/1000; %giriş bel
yarıçapı
x=input('ışın çıkışını takip etmek istediğiniz uzaklığı m olarak giriniz:');
lamda=632.8e-9; % He-Ne lazer dalgaboyu
%İlk olarak mercek 1, mercek 2, mercekler arası alan ve merceklerden
%sonraki alan için büyük harfler kullanarak matrisleri belirler
L1=[1 0;-1/f1 1];
L2=[1 0;-1/f2 1];
L3=[1 0;-1/f3 1];
D2=[1 d2;0 1];
D3=[1 d3;0 1];
Ro=1e60;
%q'dan başlayarak hesaplar
qo=(1/Ro-j*lamda/(pi*wo^2))^( -1);

% Her noktada w(z) ve R(z) için grafik çizecek bir döngü başlatır
N=500;
d4=linspace(0,x,N); % kullanıcının tanımladığı mesafe için d4'ü tanımlar
for k=1:N
%verilen mesafe için D4'ü bulur
D4=[1 d4(k);0 1];
%Sistemin ABCD matrisi
M=D4*L3*D3*L2*D2*L1;
%1/q bulmak için formülü kullanarak R(d4) ve w(d4)'yi hesaplar

```

```

%önce A, B, C, D 'yi bulur
A=M(1,1);B=M(1,2);C=M(2,1);D=M(2,2);
%Şimdi 1/q
oneoverq=(C+D/qo)/(A+B/qo);
%Gerçek kısmından R(d4)
R(k)=(real(oneoverq))^( -1);
%Sanal kısmından w(d2)
oneoverqi=-imag(oneoverq);
w(k)=sqrt(lamda/pi*(oneoverqi));
end
subplot(2,1,1);
semilogy(d4,w*1000);
hold on;
wobj=2.5;
plot(d4,wobj*ones(size(d4)));
hold off
xlabel('Mercek 3ten sonraki mesafe (m)');
ylabel('Işın beli yarıçapı(mm)');
title('Mercek 3ten Sonraki Işın Beli Yarıçapı');
grid on
subplot(2,1,2);
plot(d4,R*1000);
hold on;
robj=140;
plot(d4,robj*ones(size(d4)));
hold off;
xlabel('Mercek 3ten sonraki mesafe (m)');
ylabel('Eğrilik yarıçapı (mm)');
title('Mercek 3ten Sonraki Eğrilik Yarıçapı');
grid on

```

```

y=min(w*1000);
%Işınbeli yarıçapının mm olarak en küçük değeri
%=====
%Objektif sonrası için hesaplamalar

f1=input('f1 odak uzaklığını mm olarak giriniz:'); %f1 giriş odak uzaklığı
f2=input('f2 odak uzaklığını mm olarak giriniz:'); %f2 giriş odak uzaklığı
d2=f1+f2; %teleskopun uzunluğu merceklerin odak uzaklığının toplamıdır
f3=input('f3 odak uzaklığını mm olarak giriniz:'); %f3 giriş odak uzaklığı
d3= input('Mercek 2 ve mercek 3 arasındaki mesafeyi mm olarak giriniz:');/1000;
d5= input('Mercek 3 ve objektif arasındaki mesafeyi mm olarak giriniz:');/1000;
wo=input('ışının başlangıç bel yarıçapını mm olarak giriniz:');/1000; %giriş bel yarıçapı
fo=1.8; %objektifin odak uzaklığı – Edmund optics
wd=fo; %objektifin çalışma mesafesi, grafik bu mesafeden sonra anlamlı değil
lamda=632.8e-9; % He-Ne lazer dalga boyu
%İlk olarak mercek 1, mercek 2, mercekler arası alan ve merceklerden
%sonraki alan için büyük harfler kullanarak matrisleri belirler
L1=[1 0;-1/f1 1];
L2=[1 0;-1/f2 1];
L3=[1 0;-1/f3 1];
LO=[1 0;-1/fo 1];
D2=[1 d2;0 1];
D3=[1 d3;0 1];
D5=[1 d5;0 1];
Ro=1e60;
%q'dan başlayarak hesaplar
qo=(1/Ro-j*lamda/(pi*wo^2))^(-1);
% Her noktada w(z) ve R(z) için grafik çizecek bir döngü başlatır
N=500;
dOb=linspace(0,x,N); % kullanıcının tanımladığı mesafe için dOb'yi tanımlar

```

```

for k=1:N
%verilen mesafe için DOB'yi bulur
DOb=[1 dOb(k);0 1];
%Sistemin ABCD matrisi
M=DOb*LO*D5*L3*D3*L2*D2*L1;
%1/q bulmak için formülü kullanarak R(dOb) ve w(dOb)'yi hesaplar
%önce A, B, C, D 'yi bulur
A=M(1,1);B=M(1,2);C=M(2,1);D=M(2,2);
%Şimdi 1/q
oneoverq=(C+D/qo)/(A+B/qo);
%Gerçek kısımdan R(dOb)
R(k)=(real(oneoverq))^( -1);
%Sanal kısımdan w(dOb)
oneoverqi=-imag(oneoverq);
w(k)=sqrt(lamda/pi*(oneoverqi));

end

subplot(2,1,1);
semilogy(d4,w*1000*1000/100);
xlabel('Objektiften sonraki mesafe (m)');
ylabel('Işın beli yarıçapı (um)');
title('Objektiften Sonraki Işın Beli Yarıçapı');
grid on

subplot(2,1,2);
plot(d4,R*1000*1000/100);
xlabel('Objektiften sonraki mesafe(m)');
ylabel('Eğrilik yarıçapı (um)');
title('Objektiften Sonraki Eğrilik Yarıçapı');
grid on

```

EK B: OPTİK CİMBİZ EĞİM VE SAÇILIM KUVVETLERİNİ HESAPLAMAK İÇİN MATLAB KODLARI

%% Işık kaynağının özellikleri

P=21e-3; %Lazer çıkış gücü

lamda=632.8e-9 ; %dalga boyu

w01=(0.70e-3)/2; %ışın çapı

c=3e8;

k=2*pi/lamda;

z01=w01^2*pi/lamda;

f1 = 25.4e-3; %mercek odak uzaklıkları

f2 = 175e-3;

f3 = 175e-3;

f4 = 1.8e-3; %objektif

d1 = 605e-3;

d2 = f1+f2;

d3 = 400e-3;

d4 = 40e-3;

d5 = 280e-3;

d6 = 30e-3;

d7 = 90e-3;

WD = 20.5e-3;

%% birinci merceğe

```

u1=d1;
Mr1=abs(f1/(u1-f1));
r1= z01/(u1-f1);

```

```

M1=Mr1/sqrt(1+r1^2);
w02=M1*w01;
v1=M1^2*(u1-f1)+f1;
z02=w02^2*pi/lamda;

```

```

%% ikinci merceğe

```

```

u2=d2-f1+0.0001;
Mr2=abs(f2/(u2-f2));
r2= z02/(u2-f2);

```

```

M2=Mr2/sqrt(1+r2^2);
w03=M2*w02;
v2=M2^2*(u2-f2)+f2;
z03=w03^2*pi/lamda;

```

```

%% üçüncü merceğe

```

```

u3=1e-6;
Mr3=abs(f3/(u3-f3));
r3= z03/(u3-f3);

```

```

M3=Mr3/sqrt(1+r3^2);
w04=M3*w03;
v3=M3^2*(u3-f3)+f3;
z04=w04^2*pi/lamda;

```

```

%% objektif
u4=d5+d6-v3;
Mr4=abs(f4/(u4-f4));
r4= z04/(u4-f4);
W1=sqrt(w04^2*(1+((lamda*u4)/(pi*w04^2))^2)) %%objektif girişine denk gelip
gelmediğinin kontrolü

```

```

M4=Mr4/sqrt(1+r4^2);
w05=M4*w04;
v4=M4^2*(u4-f4)+f4;
z05=w05^2*pi/lamda;

```

```

w0=w05;
z0=z05;

```

```

%% Optik cımbız parametreleri
N2 =1.35; %ortam kırılma indisi
N1 =1.39; %hücre kırılma indisi

```

```

m = N1/N2; %bağıl kırılma indisi

```

```

syms x y z% w0 z0 P

```

```

Psize(1) =0.5e-6 ; %hücre boyutu

```

```

%% kuvvet hesaplamaları

```

```

i=1;

PS= Psize(i);

rp = PS/2;

I=(P*2/(pi*w0^2))/(1+(2*(z/(2*z0)))^2)*exp(-
(2*((x/w0)^2+(y/w0)^2))/(1+(2*(z/(2*z0)))^2));

GI=gradient(I);

Fscat=[0 ,0 ,1]*(8/3)*(N2*pi*k^4*rp^6/c)*((m^2-1)/(m^2+2))^2*I ; %%from
Radiation force on a dielectric sphere in the rayleigh scattering regime

Fgrad= (2*pi*N2*rp^3/c)*((m^2-1)/(m^2+2))*GI;

yp=0;
xp=0;
%zp=0.86e-6;

for zp=-3*z0:5e-9:3*z0

    FS=subs(Fscat, {x, y, z}, {xp, yp, (zp)}); %% partükül bulunduğu konumdaki
intensity

    FG=subs(Fgrad, {x, y, z}, {xp, yp, (zp)});

    subplot(1,2,1);plot((zp),FG(3),'b. ');title('F grad'); hold on;

    subplot(1,2,2);plot((zp),FS(3),'r. ');title('F scat'); hold on;

end

```