



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**HÜCRE KÜLTÜRÜ VE ÇİP ÜZERİNDE ORGAN
ARAŞTIRMALARI İÇİN MİKRO AKIŞKAN KONTROL VE
GÖRÜNTÜLEME PLATFORMU TASARIMI**

FATİH SERDAR SAYIN

DOKTORA TEZİ

Elektrik - Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı
Elektrik - Elektronik Mühendisliği Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hasan ERDAL

EŞ-DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet Burak AKSU

İSTANBUL, 2024



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**HÜCRE KÜLTÜRÜ VE ÇİP ÜZERİNDE ORGAN
ARAŞTIRMALARI İÇİN MİKRO AKIŞKAN KONTROL VE
GÖRÜNTÜLEME PLATFORMU TASARIMI**

FATİH SERDAR SAYIN
723119013

DOKTORA TEZİ

Elektrik - Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı
Elektrik - Elektronik Mühendisliği Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hasan ERDAL

EŞ-DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet Burak AKSU

İSTANBUL, 2024

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Öğrencisi Fatih Serdar SAYIN'ın “**Hücre Kültürü ve Çip Üzerinde Organ Araştırmaları için Mikro Akışkan Kontrol ve Görüntüleme Platformu Tasarımı**” başlıklı tez çalışması, 18 Aralık 2024 tarihinde savunulmuş ve jüri üyeleri tarafından başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Hasan ERDAL (Danışman)
Marmara Üniversitesi

Prof. Dr. Tunç AKKOÇ (Üye)
Marmara Üniversitesi

Prof. Dr. Serhat ÖZEKES (Üye)
Marmara Üniversitesi

Prof. Dr. Ali Yılmaz ÇAMURCU (Üye)
Fatih Sultan Mehmet Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Emine Nursen TOPÇUOĞLU (Üye)
İstanbul Üniversitesi

ONAY

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun / /2024 tarih ve sayılı kararı ile Fatih Serdar SAYIN'ın Elektrik - Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı Elektrik - Elektronik Mühendisliği Programında Doktora derecesi alması onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Prof. Dr. Bülent MERTOĞLU(v.)

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının bir kısmı, Türkiye Yüksek Öğretim Kurumu(YÖK) tarafından Proje No: ADT-2023-10845 ile Araştırma Üniversiteleri Destek Programı (ADEP) kapsamında desteklenmiştir.

Hayatımın her evresinde desteklerini ve sevgilerini bir an bile olsun esirgemeyen ve yaşamın getirdiği tüm zorluklara rağmen beni bugünlere taşımak adına tüm yorgunluklara ve çilelere göğüs geren canım Anneme ve rahmetli Babama sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Lisans, Yüksek Lisans ve Doktora eğitimim boyunca, bilgisi ve ön görüşüyle yolumu aydınlatan, şefkatini ve hoş görüşünü hiçbir zaman esirgemeyen ve beni evladından eksik tutmayan kıymetli bilim insanı ve çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Hasan ERDAL'a canı gönülden teşekkür ederim. Akademik çalışmalarım süresince güzel sözlerini, yapıcı eleştirilerini ve yol göstericiliklerini eksik etmeyen değerli hocalarım Prof. Dr. A. Fevzi BABA ve Dr. Öğr. Üyesi Barış DOĞAN'a teşekkür ederim.

Beni mikrobiyolojinin etkileyici dünyası ile tanıştıran ve disiplinler arası çalışmalarına kapı aralayan Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesinin kıymetli hocaları Prof. Dr. Nurver Toprak ULVER'e ve değerli eş danışmanım Doç. Dr. Mehmet Burak AKSU'ya teşekkürlerimi sunuyorum. Klinik testlerin yürütülmesi esnasında desteğini ve arkadaşlığını esirgemeyen M. Ü. Eğitim ve Araştırma hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarının değerli araştırmacısı Mehmet Mücahit GÜNCÜ'ye teşekkür ederim.

Biyomedikal ve Endüstriyel Sistemler Laboratuvarımızın kıymetli araştırmacıları ve yerli üretime gönül vermiş değerli dostlarım ve kader ortaklarım Doç. Dr. Mustafa ŞENGÖR'e, Öğr. Gör. Dr. Muammer ZENGİN'e, Öğr. Gör. Talha KILIÇ'a ve Fatih ALTUN'a emekleri ve içten destekleri için teşekkürlerimi sunuyorum.

Azmi ve kararlılığıyla her zaman bana örnek olan ve akademik çalışmalarım sırasında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli dostum Doç. Dr. Sümeyye CESUR'a teşekkür ederim.

Tüm samimiyetleri her zaman yanımda kıymetli dostlarım, Öğr. Gör. Ferit Tiryaki'ye, Öğr. Gör. Hale Yenginer'e ve değerli kardeşim Gökberk OMUZ'a canı gönülden teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
YENİLİK BEYANI	xi
SEMBOLLER.....	xiv
KISALTMALAR.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ	xvii
TABLO LİSTESİ.....	xx
1. GİRİŞ.....	21
1.1. Literatür Araştırması.....	22
1.2. Canlı Organizmaların Üretilmesine ve İzlenmesine İlişkin Temel Kavramlar ...	24
1.2.1. Gerçek Zamanlı Hücre Görüntüleme Sistemleri	26
1.2.2. Mikroakışkan Sistemler ve Hücre Kültürü Uygulamaları	26
1.3. Anaerop Ortam Hazırlayıcılar	28
1.3.1. Anaerobların Kültürlenmesi	31
1.3.2. McIntosh&Fildes Metodu.....	33
1.4. Bulanıklık ve Işık Saçılımı Temelli Optik Ölçüm Yöntemleri	35
1.4.1. McFarland Standartı	35
1.4.2. Dinamik Işık Saçılımı	36
2. MATERYAL VE YÖNTEM	38
2.1. Anaerop Atmosfer Hazırlayıcı Sistem Tasarımı ve Üretimi	38
2.1.1. Donanım ve Yazılım Tasarımı.....	38
2.1.2. Temel Sistem Özelliklerinin Klinik Validasyonu.....	41
2.1.3. Anaerobik Kavanoz Atmosferinin Gaz Değişim Modeli	42
2.2. Pd/Al ₂ O ₃ Katalizörün Mikrokinetik Modellenmesi	43
2.2.1. Paladyum Katalizörün Karakterizasyonu	43
2.2.1.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri	44
2.2.1.2. X-ışını Kırınım (XRD) Analizi	45
2.2.1.3. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS) Analizi.....	45
2.2.2. Modelleme Yaklaşımı.....	46

2.2.2.1. Yüzey Reaksiyonu Mekanizması	47
2.2.2.1. Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) Hesaplamaları	47
2.2.2.2. Mikrokinetik Modelleme Detayları.....	49
2.2.2.3. Önerilen Tahminleme Algoritması.....	51
2.3. Görüntüleme Düzenegi Tasarımı	55
2.3.1. Gönye Mekanizması	55
2.3.2. Hareketli Dijital Mikroskop.....	56
2.3.3. Eksen Kontrol Mekanizması.....	57
2.4. Akışkan Kontrol Düzenekleri ile İlgili Tasarımlar.....	58
2.4.1. Manyetik Karıştırıcı Tasarımı.....	58
2.4.2. Mikroakışkan Kontrol Sistemi Donanımı.....	59
2.4.3. Mikroakışkan Sistem Modelleme ve Denetleyici Tasarımı.....	63
2.4.3.1. Sistem Bileşenlerine ait Modelleme Çalışmaları	64
2.4.3.2. Ekstremum Arayıcı Eniyileme ve Kontrol Yaklaşımı	66
2.4.4. Deneysel Çalışmalarda Kullanılacak olan Mikroakışkan Çipler.....	73
2.5. Optik Ölçüm Düzenegi Tasarımı.....	75
2.5.1. Donanım Tasarımı	76
2.5.2. Yazılım Tasarımı	80
2.5.3. Bulanıklık Ölçümlerine İlişkin Deneysel Çalışmalar	82
2.5.4. Hücre Boyutu Dağılımının Tespitine Yönelik Yapılan Çalışmalar.....	85
2.5.4.1. Teorik Altyapı	85
2.5.4.2. Lateks Nanoparçacıkların Karakterizasyonu	86
2.6. Mikroakışkan Çip Sıcaklık Kontrol Sistemi Tasarımı	88
2.6.1. Modelleme ve Denetleyici Tasarımı.....	89
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	95
3.1. Klinik Doğrulama Testlerinin Sonuçları	95
3.2. Karakterizasyon Sonuçları.....	97
3.2.1. SEM Bulguları	97
3.2.2. XRD Bulguları.....	99
3.3. Mikrokinetik Model Çıktıları	101
3.4. Ekstremum Arayıcı Algoritmanın Analizi	105
3.4. Mikroakışkan Sistem Bileşenlerine İlişkin Modelleme Sonuçları	108
3.4.1. Mikroakışkan Çip Basınç Farkı Ölçümleri.....	110

3.5. Optik Ölçümlere İlişkin Sonuçlar	111
3.5.1. Bulanık Ölçümlerine İlişkin Sonuçlar	111
3.5.1.1. Solüsyon Doğrulama	111
3.5.1.2. Eğri Uydurma	111
3.5.2. Partikül Boyutu Dağılımının Tespitine İlişkin Sonuçlar	112
3.6. Çip Isıtma Sistemine İlişkin Sonuçlar	117
3.7. Genel Sistem Görünümü	119
4. SONUÇLAR.....	120
KAYNAKLAR.....	122
ÖZGEÇMİŞ	136



ÖZET

HÜCRE KÜLTÜRÜ VE ÇİP ÜZERİNDE ORGAN ARAŞTIRMALARI İÇİN MİKRO AKIŞKAN KONTROL VE GÖRÜNTÜLEME PLATFORMU TASARIMI

Günümüzde hücre kültürü üretimi, özellikle de kök hücrelerin sentezi, çoğaltılması ve farklılaştırılması üzerine yapılan çalışmalar Biyomühendislik, Doku mühendisliği ve Rejeneratif Tıp disiplinlerinin ortak kesişim ve faaliyet noktası haline gelmiştir. Canlı hücrelerin gerçek zamanlı takibi yoluyla hücreler arası etkileşim mekanizmaları, hücre taşınımı ve organizma sağlığı hakkında analitik veriler elde edilebilmektedir. Biyolojik süreçlerin pek çoğunda organizma içerisinde yer alan sıvıların, mikro ve nano ölçekte kanallar boyunca ve oldukça küçük hacimlerle hareket ettiği gerçeği göz önüne alındığında, mikroakışkanlar biyolojik uygulamalar için uygun bir çalışma alanı olarak değerlendirilebilir. Hücre kültürü ve çip üzerinde organ araştırmalarında, hücrelerin ve mikroorganizmaların üretilmesi, canlılığının takip edilmesi ve farklı dış etmenlerin hücre ve mikroorganizma gelişimine etkisinin incelenmesi işlemleri klinik uygulamada farklı müstakil ekipmanlar kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Tez çalışmaları kapsamında klinik mikrobiyoloji, bağırsak mikrobiyotası, biyoterapötik uygulamalar ve anti mikrobiyal duyarlılık vb. araştırma alanlarında ciddi önem arz eden anaerobik mikroorganizmaların; kültürlenmesi, biyofilm oluşumunun takibi, üreme miktarının tayini ve gaz atmosferinin hazırlanmasına yönelik özelleşmiş bir görüntüleme ve mikroakışkan kontrol platformu tasarlanmış ve üretilmiştir. Platformu oluşturan alt sistemlere ait test ve doğrulamaları çalışmaları yürütülmüştür. Üreme için oksijenden arındırılmış atmosfer koşullarına gerek duyan anaerop organizmaların ihtiyaç duyduğu özel gaz atmosferinin temini için bir anaerop atmosfer hazırlayıcı sistem geliştirilmiştir. Bu amaçla elektropnömatik bir kontrol ünitesi ile beraber temel sistem bileşenleri tasarlanmış ve üretilmiştir. Üreme, biyofilm oluşturma ve antibiyotik tepkisi gibi göstergelerin izlenmesi amacıyla temelde bulanıklık ölçümü ve dinamik ışık kırınımı ilkelerine dayanan optik ölçüm düzeneğinin tasarımı ve doğrulaması gerçekleştirilmiştir. Sıvı besiyeri, ilaç vb. solüsyonların mikroakışkan çiplere taşınabilmesini ve debi miktarının kapalı çevrim olarak kontrol edilebilmesini sağlamak amacıyla basınç tahrikli akış kontrol esasına dayanan mikroakışkan debi kontrol düzeneği tasarlanmıştır. Akışkan

kontrol sistemi ana bileşenlerine ilişkin modelleme ve benzetim çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyoreaktör olarak vazife gören mikroakışkan çiplerin inkübasyon sıcaklığında tutulması için kapalı çevrim çalışan bir sıcaklık kontrol donanımı, sıvı besiyerinde üremeyi artırmak için hız kontrolü yapılabilen bir manyetik karıştırıcı, çip üzerinde gerçekleşen hücresel faaliyetlerin efektif bir biçimde monitörize edilebilmesi için üç eksenli hareket mekanizması ve hareketli dijital bir mikroskop barındıran konum kontrol düzeneği üretilmiştir.

Aralık 2024

Fatih Serdar SAYIN



ABSTRACT

MICROFLUIDIC CONTROL AND IMAGING PLATFORM DESIGN FOR CELL CULTURE AND ORGAN-ON-CHIP RESEARCHES

In the contemporary scientific context, the field of cell culture production—in particular, the synthesis, proliferation and differentiation of stem cells—has evolved to become an interdisciplinary research area that bridges the domains of bioengineering, tissue engineering and regenerative medicine. The real-time monitoring of living cells allows for the acquisition of analytical data on intercellular interaction mechanisms, cell transport and organismal health. Given that the fluids within the organism in most biological processes move along micro- and nano-scale channels with very small volumes, microfluidics can be considered an appropriate field of study for biological applications. In the fields of cell culture and organ-on-chip research, the processes of producing cells and microorganisms, monitoring their viability, and examining the effects of external factors on cell and microorganism development are conducted using a range of stand-alone equipment in clinical practice. In the context of the thesis studies, we have designed and manufactured a specialized imaging and microfluidic control platform for the cultivation, monitoring of biofilm formation, determination of the amount of growth and preparation of the gas atmosphere of anaerobic microorganisms which are of great importance in research areas such as clinical microbiology, intestinal microbiota, biotherapeutic applications and antimicrobial susceptibility. The subsystems that constitute the platform were subjected to a series of tests and verifications. An anaerobic atmosphere preparation system has been developed to provide the requisite anaerobic atmosphere for the reproduction of organisms that require an oxygen-free environment. For this purpose, an electropneumatic control unit and the fundamental system components were designed and manufactured. In order to monitor indicators such as growth, biofilm formation and antibiotic response, an optical measurement setup was designed and validated based on the principles of turbidity measurement and dynamic light diffraction. A microfluidic flow control device based on pressure-driven flow control was designed with the objective of transporting solutions, including liquid media and drugs, to microfluidic chips and controlling the flow rate. Modelling and simulation studies have been conducted on the main components of the fluid control system. A

closed-loop temperature control device has been developed to maintain the incubation temperature of microfluidic chips used as microbioreactors. In addition, the system equipped with a speed-controllable magnetic stirrer to enhance growth in the liquid medium, a three-axis motion mechanism for effective monitoring of cellular activities on the microfluidic chip, and a position control device with a adjustable digital microscope.

December 2024 Fatih Serdar SAYIN



YENİLİK BEYANI

HÜCRE KÜLTÜRÜ VE ÇİP ÜZERİNDE ORGAN ARAŞTIRMALARI İÇİN MİKROAKIŞKAN KONTROL VE GÖRÜNTÜLEME PLATFORMU TASARIMI

Hücre kültürü ve çip üzerinde organ araştırmalarında, hücrelerin ve mikroorganizmaların üretilmesi, canlılığının takip edilmesi ve farklı dış etmenlerin hücre ve mikroorganizma gelişimine etkisinin incelenmesi işlemleri klinik uygulamada farklı müstakil ekipmanlar kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bahsi geçen uygulamalarda, hücre kültürünün veya çip üzeri organının gelişimsel takip ve tanı maksadıyla farklı ölçüm donanımları arasında taşınması esnasında gaz atmosferinin ve ortam koşullarının (sıcaklık, basınç vb.) ani değişimi yürütülen araştırmanın sonuçlarını olumsuz etkileyebilmektedir. Mikroorganizma türüne bağlı olarak gaz atmosferindeki değişim, kültür için geri dönüşü olmayan olumsuz sonuçlar doğurabilmektedir. Hücre kültürü veya çip üzeri organ üzerinden periyodik olarak analitik ölçümlerin gerçekleştirildiği durumlarda, mikro klimanın kesintiye uğraması ulaşılan nihai sonuçların güvenilirliğini zayıflatmaktadır. Bilhassa mikroakışkan çipler üzerinde yapılan biyofilm ve in vitro organ modeli gibi sürekli besiyeri akışının sağlandığı dinamik uygulamalarda ise besin tedarikinin kesintiye uğraması biyokütle oluşumunu ciddi oranda baltalamaktadır. Ayrıca hücre kültürüne yönelik klinik uygulamalar çoğunlukla kontrollü laboratuvar koşullarında gerçekleştiriliyor olsa da, kültüre fasıllı olarak yapılan müdahaleler dışarıdan kontaminasyon riskini de arttırmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında, hücre kültürü ve çip üzerinde organ araştırmalarına yönelik biyomühendislik uygulamaları için akışkan kontrol, dinamik görüntüleme, gaz atmosferi düzenleme ve optik ölçüm düzeneklerinin yer aldığı bütünleşik bir takip ve kontrol platformu geliştirilmiştir. Yapılan literatür araştırmaları sırasında tez çalışmasının odak noktasında yer alan araştırma sahası ile ilgili disiplinlerarası pek çok farklı ve özelleşmiş uygulama ile karşılaşmıştır. Bununla beraber klinik mikrobiyoloji, bağırsak mikrobiyotası, biyoterapötik uygulamalar ve anti mikrobiyal duyarlılık vb. araştırma alanlarında ciddi önem arz eden anaerobik mikroorganizmaların; kültürlenmesi, biyofilm oluşumunun takibi, üreme miktarının tayini ve gaz atmosferinin hazırlanmasının yer

aldığı bu nitelikte bir sistem tasarımına rastlanmamıştır. Buradan hareketle geliştirmiş olduğumuz sistemin, üreme için oksijenden arındırılmış atmosfer koşullarına ihtiyaç duyan organizmaların incelenmesine yönelik özelleştirilmesi yoluna gidilmiştir.

Bu çalışmanın ilgili literatüre getirmiş olduğu yenilikler aşağıda özetlenmiştir.

- Anaerobik gaz atmosferi hazırlama donanımları mühendislik perspektifinden incelenmiş ve konvansiyonel sistemlerde olmayan yeni nitelikler kazandırılmıştır. Bu amaçla gaz atmosferindeki değişiklikleri tahmin etmek için gerçek zamanlı vakum ölçümlerini bir mikrokinetik reaksiyon modeli ile birleştiren yeni bir anaerobik atmosfer hazırlayıcı sistem geliştirilmiştir. Katalitik reaksiyonun hız parametrelerini belirlemek için ekstremum arayıcı tabanlı bir iteratif öğrenme algoritması oluşturulmuş ve bu sistemin kontrol ünitesi yazılımına gömülmüştür. Pd katkılı heterojen katalizör modeli, malzeme bilimi analizlerinden çıkarılan veriler ile istatistiksel mekanik ve hesaplamalı kimya yöntemlerine dayalı olarak oluşturulmuş ve tahmin algoritmasının başlangıç parametrelerini elde etmek için kullanılmıştır. Atmosfer hazırlayıcı sistem katalitik bir reaktör olarak ele alınmış ve gaz değişim döngülerine bağlı olarak değişen konsantrasyon değerlerinin matematiksel ifadesi literatürde ilk kez bu tez çalışmasında sunulmuştur.
- Üreme, biyofilm oluşturma ve antibiyotik tepkisi gibi indikatörlerin gözlemlenmesi amacıyla optik yoğunluk ölçüme dayalı bir McFarland bulanıklık ölçeri geliştirilmiştir. Geliştirilen bu düzeneğe entegre edilen ve dinamik ışık kırınımı ilkelerine dayalı olarak çıkarım yapabilen bir ölçüm algoritması yardımıyla koloni miktarının yanı sıra sıvı besiyeri içerisinde yer alan hücrelerin boyut dağılımının tespit edilebilmesi de sağlanmıştır. Bahsi geçen optik düzenek bu niteliği ile muadil ölçüm düzeneklerinden ayrılmaktadır.
- Sıvı besiyeri, ilaç vb. solüsyonların mikroakışkan çiplere taşınabilmesini ve debi miktarının kapalı çevrim olarak kontrol edilebilmesini sağlamak amacıyla, basınç tahrikli akış kontrolü esasına dayalı bir mikroakışkan kontrol sistemi tasarlanmış ve üretilmiştir. Bilhassa biyomühendislik sahasında kullanılan mikroakışkan kontrolcüler ve bu sistemin bileşenlerine yönelik modelleme, denetleyici tasarımı ve eniyilemesine yönelik detaylı bir çalışma sunulmuştur.

- Bunlara ek olarak, mikrobiyoreaktör olarak vazife gören mikroakışkan çiplerin inkübasyon sıcaklığında tutulması için kapalı çevrim çalışan bir sıcaklık kontrol donanımı, sıvı besiyerinde üremeyi artırmak için hız kontrolü yapılabilen bir manyetik karıştırıcı, çip üzerinde gerçekleşen hücresel faaliyetlerin efektif bir biçimde monitörize edilebilmesi için üç eksenli hareket mekanizması ve hareketli dijital bir mikroskop barındıran konum kontrol düzeneği üretilmiş ve bir bütün olarak entegre edilmiştir.

Elde edilen bulgular SCI indeks kapsamındaki bilimsel bir dergide yayınlanmıştır. Ayrıca 2. çalışma da SCI indeksli bir dergiye yüklenmek üzere yazım aşamasındadır.

Aralık 2024

Prof. Dr. Hasan ERDAL

Fatih Serdar SAYIN

SEMBOLLER

dk	: Dakika
s	: Saniye
g	: Gram
mg	: Miligram
°C	: Santigrat derece
°K	: Kelvin derece
mm	: Milimetre
mL	: Mililitre
RPM	: Dakikadaki devir sayısı
mPa	: Mega paskal
kPa	: Kilo paskal
µm	: Mikrometre
nm	: Nanometre
cm	: Santimetre
V	: Volt
µl/dk	: Mikrolitre/dakika
LPM	: Dakikadaki litre sayısı
A	: Amper
CFU/mL	: Mililitre başına düşen sayılabilir koloni miktarı
McF	: McFarland bulanıklık değeri
k_B	: Boltzmann katsayısı
h	: Planck sabiti
T	: Sıcaklık

KISALTMALAR

EDS	: Enerji Dağıtıcı X-Işını Spektrometresi
FT-IR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
UV-VIS	: Ultraviyole ve Görünür Işık spektroskopisi
XRD	: X-Işını Kırınımı
ICDD	: Uluslararası kırınım verileri merkezi
FHWM	: Maksimum yarısı tam genişlik
GC/MS	: Gaz kromatografisi ve Kütle spektroskopisi
CNC	: Bilgisayar destekli nümerik kontrol
ATCC	: Amerikan tipi bakteri kültürü koleksiyonu
DFT	: Yoğunluk fonksiyon teorisi
RDS	: Hız belirleyici reaksiyon adımı
TST	: Geçiş durumu teorisi
TOF	: Dönüşüm frekansı
ESC	: Ekstremum arayıcı denetleyici
PID	: Oransal-İntegral-Türev denetleyici
CFD	: Hesaplamalı akışkanlar mekaniği
RMSE	: Kök ortalama karesel hata
ISE	: Karesel hatanın integrali
MCU	: Mikrodenetleyici
UART	: Evrensel asenkron alıcı ve verici
I2C	: Entegreler arası haberleşme protokolü
IDE	: Entegre geliştirme ortamı

ARM : İleri sadeleştirilmiş uygulama setine sahip bilgisayar makinası

ACF : Otokorelasyon fonksiyonu

TEMEL KAVRAMLAR

İnkübatör (Kuluçka Makinası): Biyolojik numunelerin (mikroorganizmalar ve hücreler) uygun sıcaklıklarda üretilmesini sağlayan cihazlardır.

Anaerobik Ortam: Yüzde 0.2'nin altında oksijen (O_2) derişimi olan anoksik gaz atmosferleridir.

Hücre Kültürü: Laboratuvar koşullarında geliştirilen mikroorganizmalardır.

Çip Üzeri Organ: Çoğunlukla silikon bir yonga üzerine açılmış mikro kanallar üzerinde büyütülen ve belirli fizyolojik sistemlerin benzetimi amacıyla kullanılan aygıtlardır.

In Vitro: Vücut dışında, laboratuvar ortamında veya yapay koşullarda yürütülen uygulamalardır.

In Vivo: Canlı organizması içerisinde gerçekleşen süreçleri ve canlı organizmalar kullanılarak yapılan uygulamaları temsil etmektedir.

ŞEKİL LİSTESİ

	SAYFA
Şekil 1.1. Hücre Kültürü Uygulamaları	25
Şekil 1.2. Canlı Hücre Görüntüleme Sistemi	26
Şekil 1.3. Mikroakışkan Çip Üretim Safhaları[25]	27
Şekil 1.4. Mikroakışkan Çip Üretim Safhaları	28
Şekil 1.5. Anaerobik kültürleme ve atmosfer hazırlama yöntemleri: (a) Anaerop Kabin, (b) Anaerobik Gaz Poşeti, (c) Anaerobik Kavanoz, (d) Vakumla – Yer değiştir Sistemi.....	31
Şekil 1.6. Otomatik kavanoz gazlama sistemi	34
Şekil 1.7. Dinamik Işık Saçılımı Yöntemi	37
Şekil 2.1. ABAKÜS sisteminin şematik gösterimi: (a) Basınçlı gaz kaynağı, (b) Bağlantı manifoldu, (c) Kontrol ünitesi ve Kullanıcı arayüzü, (d) Anaerobik kavanoz ve Kapak sıkma aparatı, (e) Kavanoz soketi, (f) Katalizör kesesi, (g) Blok şema, (h) Test edilen cihaz.	40
Şekil 2.2. Paladyum katalizörü üzerinde H ₂ O oluşum adımlarının enerji diyagramı [75].	48
Şekil 2.5. Gönye Mekanizmasına ait Görünümler	56
Şekil 2.6. Mikroskop Tahrik Mekanizması	57
Şekil 2.7. X-Y Eksen Kontrol Mekanizması.....	58
Şekil 2.8. Manyetik Karıştırıcı	59
Şekil 2.9. Mikroakışkan Kontrol Düzenegi Genel Görünümü	61
Şekil 2.10. Sıvı Akış Sensörü.....	62
Şekil 2.10. Akışkan Devresi Elemanları	63
Şekil 2.11. Piezoelektrik Basınç Kontrol Valfi.....	64
Şekil 2.12. Modelleme Verilerinin Toplandığı Deney Düzenegi	65
Şekil 2.13. Ekstreum Arayıcı Blok Şemaları	67
Şekil 2.14. Ekstreum Arayıcının Çalışma Metodu	68
Şekil 2.15. Ekstreum Arayıcı Temelli Kendinden Ayarlamalı PI-D Kontrolör Blokları	69
Şekil 2.16. Ekstreum Arayıcı Temelli Kendinden Ayarlamalı PI-D Kontrolör Benzetim Modeli	70
Şekil 2.17. Ayrık Zamanlı PI-D Kontrolör Şeması.....	70
Şekil 2.18. Maliyet Fonksiyonu.....	72
Şekil 2.19. Ekstreum Arayıcı PI-D Katsayı Optimizasyonu	72
Şekil 2.20. Farklı Tipte Mikroakışkan Çipler	73

Şekil 2.21. Mikroakışkan Çipler Üzerinde Yapılan Fark Basıncı Ölçümleri	74
Şekil 2.22. Beer-Lambert Yardımıyla Absorbans Ölçümü.....	76
Şekil 2.23. Optik Ölçüm Düzenegi İlk Sürüm.....	77
Şekil 2.24. Mekanik Revizyonlar için Tasarlanan Gövde Bileşenleri.....	78
Şekil 2.25. Elektronik Revizyon Aşamaları.....	79
Şekil 2.26. Klinik Araştırma Prototipi.....	79
Şekil 2.27. Densitometre Yazılımına ait Akış Diyagramı.....	81
Şekil 2.28. Solüsyon Hazırlama Aşamaları	82
Şekil 2.29. SHIMADZU 1280 UV-VIS Spektrofotometre ve Ekran görüntüsü	83
Şekil 2.30. Karşılaştırma Testi Unsurları.....	83
Şekil 2.31. Referans Solüsyonlar	84
Şekil 2.32. Örnek McF Ölçümü	84
Şekil 2.33. Dinamik Işık Saçılımı Perspektifinden Ölçüm Düzeneginin Gösterimi	86
Şekil 2.34. Mikroakışkan Çip Isıtma Sistemi.....	89
Şekil 2.35. Isıtıcı Sistemin Açık Çevrim Cevabı.....	90
Şekil 2.36. PI Denetleyici MATLAB Modeli	92
Şekil 2.37. PI Bloğu.....	92
Şekil 2.38. Sensöre ait R-T Grafiği.....	93
Şekil 2.39. Sıcaklık Kontrol Algoritması Akış Diyagramı	95
Şekil 3.1. İki farklı sistem aracılığıyla ekilen bakteri kolonilerinin şematik gösterimi. Gram-negatif (1 ila 2) ve Gram-pozitif (3 ila 6) bakteriler ayrı bir bölümde gösterilmiştir. Bakteri türlerinin detayları Tablo 3.1'de verilmiştir.	97
Şekil 3.2. Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri (EHT = 5kV). Kesit görünümü: SEI detektör görüntüleri (a-c), BSD detektör görüntüleri (d,e). Üstten görünüm: SEI- tabanlı görüntüler (f-j), Büyütmeler: Sırasıyla 45x, 100x, 250x, 500x ve 2000x. Yumurta kabuğu yapısının gösterimi (k). Kabuk ve destek malzemesinin EDX ölçümleri (l,m).	98
Şekil 3.3. Paladyum katalizör peletlerinin XRD spektrogramı.....	100
Şekil 3.4. Konsantrasyon değişimleri.....	102
Şekil 3.5. Mikrokinetik model çıktıları: (a) Reaksiyon mertebeleri; (b) Yüzey örtümü grafikleri; (c) Gaz oluşumu grafiği; (d) Görünür aktivasyon enerjisi; (e) DRC katsayıları; (f) Temel reaksiyon adımlarının hızları.	103
Şekil 3.6. Ekstremum arayıcı yakınsama sonuçları: (a-b) Arrhenius parametrelerinin varyasyonları; (c) Maliyet fonksiyonu varyasyonu; (d) Reaksiyon hızının yakınsama grafiği.....	107
Şekil 3.7. Veri Toplama Kartı Yardımıyla Toplanan Örnek Veri Seti	108
Şekil 3.8. Deneysel Olarak Elde Edilen Açık Çevrim Cevabı(Sürekli ve Ayırık)..	109
Şekil 3.9. Eğri Uydurma Sonuçları	110

Şekil 3.10. Uydurulan Ölçüm Eğrisi	112
Şekil 3.11. SEM Analizleri ve Nano Parçacık Boyut Dağılımları	113
Şekil 3.12. Spektrofotometrik Ölçüm Sonuçları.....	114
Şekil 3.13. Işık Şiddeti Ölçümlerine İlişkin Bulgular	115
Şekil 3.14. Ayrık PI Denetleyicinin Gerçek Zamanlı Kontrol Davranışı	117
Şekil 3.15. Ayrık PI Denetleyici Modelinin Kapalı Kontrol Davranışı	118
Şekil 3.16. Sistem Bileşenlerinin Genel Görünümü.....	119



TABLO LİSTESİ

SAYFA

Tablo 1.1. Anaerobik kültürleme yöntemlerinin karşılaştırılması	32
Tablo 2.1. Katalizör Bilgileri	44
Tablo 2.2. GC/MS Sonuçları.....	46
Tablo 2.3. McFarland standardı	82
Table 3.1. Karşılaştırmalı bakteri kültürleme sonuçları.	96
Tablo 3.2. Hesaplanan kristalit boyutları.....	100
Tablo 3.3. TST hız parametreleri.....	101
Tablo 3.4. Hertz-Knudsen hız parametreleri.....	101
Tablo 3.5. ABAKÜS kontrol ünitesi tarafından toplanan reaksiyon hızlarının gerçek zamanlı ölçümleri	105
Tablo 3.6. Hazırlanan McFarland solüsyonlarının UV-VIS absorbans ölçümleri	111

1. GİRİŞ

Günümüzde, pek çok farklı bilimsel disipline ait teori ve uygulama ilkelerinin aynı potada eritilerek yepyeni ve merak uyandıran çalışmaların ortaya konduğu bilimsel ve teknik bir atmosferin doğuşuna tanıklık etmekteyiz. Elektronik ve bilgisayar teknolojilerinde yaşanan gelişmeler yaşam bilimleri alanında yapılan çalışmalara ciddi bir ivme kazandırmış ve alışlagelmiş bilimsel yaklaşımlarda radikal değişikliklerin yapılması ihtiyacını doğurmuştur. Rejeneratif Tıp, Doku Mühendisliği, Genetik ve Biyomühendislik alanlarında ortaya konan araştırmaların sunduğu sürdürülebilir dünya ve sağlıklı yaşam vizyonu bugünün ve yarının bilimsel perspektifini oluşturmaktadır. Bilim insanlarının bahsi geçen araştırma konularında faaliyet gösterirken inşa ettikleri iş birlikli çalışma modeli ve bu uygulamanın olumlu çıktıları disiplinler arası çalışmaların sahip olduğu muazzam potansiyeli gözler önüne sermektedir. Kooperatif çalışmanın bizlere kazandırmış olduğu araştırma konularının başında, hücre kültürü ve çip üzeri organ çalışmaları gelmektedir. Canlı organizması dışında gerçek bir organizmanın fiziksel ve kimyasal özelliklerini taklit edebilme fikrini temel alan bu çalışmalar farklı mühendislik ve tıp dallarının ortak araştırma havuzunu oluşturmaktadır. Bu araştırmalar sayesinde kişiye özel ilaç, kişiye özel doku, hayvan deneyleri için alternatif in vitro modeller, laboratuvar ortamında üretilen ve canlı vücuduna implante edilebilecek organlar ve benzeri pek çok kazanım elde etmemiz mümkün olabilecektir.

Buradan hareketle, çip üzeri organ, mikrobiyoreaktörler ve hücre kültürü çalışmalarında rol alan araştırmacıların, işini kolaylaştıracak ve uygun maliyetli bütünleşik bir mikro akışkan kontrol ve hücre görüntüleme platformunun tasarlanması ve üretilmesinin araştırmacıların ve bilimsel kurumların faaliyetlerini daha verimli ve işlevsel kılacağı ön görülmektedir. Burada önerilen tez çalışması temelde, farklı kontrol ve analiz donanımlarının müstakil olarak temin edildiği ve kullanıldığı çip üzeri organ ve hücre kültürü çalışmaları için mikro akışkan kontrol sistemi, hücre görüntüleme ve analiz sistemi ve inkübasyon sistemlerini tek bir aygıtta toplayan bir platform tasarımını içermektedir. Bu platform yardımıyla tüm biyosüreçlerin aynı noktadan kontrol ve takip edilebildiği deneyler gerçekleştirmek mümkün olabilecektir. Araştırma sahasının genişliği düşünüldüğünde tez çalışmaları sonunda farklı disiplinlere hitap edebilecek

nihai ürün ve süreçlerin ortaya çıkma potansiyeli oldukça yüksektir.

1.1. Literatür Araştırması

Tez çalışmalarına temel teşkil eden araştırma sahaları, uygulamalar ve sistemler hakkında detaylı bilgiler bu kısımda sunulmuştur.

Günümüzde hücre kültürü üretimi, özellikle de kök hücrelerin sentezi, çoğaltılması ve farklılaştırılması üzerine yapılan çalışmalar Biyomühendislik, Doku mühendisliği ve Rejeneratif Tıp disiplinlerinin ortak kesişim ve faaliyet noktası haline gelmiştir. Bu alanlarda yapılan çalışmaların ana odak noktası ise çeşitli ortam değişkenlerinin (pH, Sıcaklık, Çözünmüş O₂ vb.) kontrol altında tutulduğu, besin takviyesinin ve atık kontrolünün gerçekleştirildiği yapay biyoüretim süreçleri sonrasında elde edilen hücre kültürleri ile canlı organizmaları içerisinde gerçekleşen doğal faaliyetlerin sonucu olarak oluşan ve farklılaşan hücrelerin kimyasal ve fiziksel özellikleri arasındaki benzerliği en üst seviyeye çıkarma gayretidir[1][2].

Canlı organizmasını efektif biçimde taklit etme hedefi üç boyutlu hücre kültürlerinin bir diğer adıyla organoidlerin ortaya çıkmasına öncülük etmiştir. Yaklaşık bir asra yakın süredir üretilen ve çeşitli araştırmalarda kullanılan iki boyutlu hücre kültürlerine kıyasla organoidlerin canlı hücrelerinin kimyasal ve fiziksel tepkisini taklit etme noktasında ciddi bir potansiyeli olduğu görülmüştür. Buradan hareketle üç boyutlu hücre kültürleri üzerine çoğu disiplinler arası (Genetik Araştırmalar, Kanser Araştırmaları, İlaç Geliştirme, Doku ve Organ Üretimi vb.) olan pek çok çalışma yapılmıştır[3].

İki boyutlu ve üç boyutlu hücre kültürlerinin mikro veya makro ölçekli üretimlerinde kullanılan aygıtların başında Biyoreaktörler gelmektedir. Klinisyenler veya araştırmacılar tarafından çeşitli laboratuvar gereçleri kullanılarak el ile kurulan kültürleme sistemleri ile besinlerin, atıkların ve ortam şartlarının gerçek zamanlı olarak ölçülmesine ve kontrol edilmesine olanak tanıyan donanımları içeren bütünsel kültürleme sistemleri biyoreaktör olarak tanımlanmaktadır[4].

Biyoreaktörlerin çeşitleri üretilmesi planlanan hedef biyokütle (Maya, Bakteri, Kök

Hücre, Kıkırdak Doku vb.) ve gözlemlenmek istenen biyosürece bağlı olarak farklılık göstermektedir. Günümüz laboratuvar pratiğinde en sık karşılaşılan biyoreaktör türlerine örnek olarak; Karışım Tank Biyoreaktör, Kabarcık Kolon Biyoreaktör, Hava Kaldıraçlı Biyoreaktör, Sabit Yataklı Biyoreaktör, Membran Biyoreaktör, Döner Tamburlu Biyoreaktör ve Dalga Tipi Biyoreaktörler gösterilebilir[5].

Organizmaların farklı fiziksel ve kimyasal şartlar altında sergilediği davranışları modelleme ve simüle etme ihtiyacının ortaya çıkardığı en merak uyandırıcı ürünü olan ve son yıllarda bilimsel sahalarda oldukça fazla yer alan mikroakışkan biyoreaktör ve çip üzeri organ uygulamaları Biyomühendislik uygulamalarının gelecek vizyonunu temsil etmekte ve bir kilometre taşı olma niteliği taşımaktadır. Hücrelerin doğası gereği dinamik uyarılara maruz kaldığı üreme ortamlarına olan ihtiyacı statik hücre kültürü uygulamalarına kıyasla çok daha efektif biçimde sunabilen çip üzeri organ ve mikro akışkan biyoreaktörler sayesinde doku ve organ sistemlerinin daha kullanışlı ve güvenilir in vitro modellerini elde edilebilmektedir[6].

Çip üzeri organlar yardımıyla müstakil organ sistemleri modellenebildiği gibi farklı organ sistemlerinin benzeşimini yapan çipler bir arada kullanılarak çip üzeri insan modelleri oluşturulup fizyolojik sistemlerin koordineli çalıştığı bir organizma modeli de inşa edilebilmektedir. Bu sayede kemoterapi esnasında kullanılan ilaçların sistemler üzerine etkisi incelenebilmekte, farklı kanser türlerinin doku ve organ sistemleri üzerinde yaptığı metastazlar gözlemlenebilmekte ve organizmanın dış dünya uyarılarına verdiği tepkiler analiz edilebilmektedir. Bu uygulamalar çip üzeri organ sistemlerinin sahip olduğu potansiyelin çok küçük bir kısmını temsil etmektedir. Bilhassa kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarında vazgeçilmez bir unsur haline geleceği ön görülen bu sistemler üzerinde çokça araştırma yapılmakta ve yapılması planlanmaktadır[7].

Çip üzeri organ konsepti ilk olarak Harvard Üniversitesi bünyesinde yer alan Wyss Enstitüsü araştırmacıları tarafından akademik camiaya tanıtılmıştır. Tanıtılan bu ilk örnek çip üzeri akciğer modeli olarak sunulmuştur. Mikro akışkan çip üzerine ekilen akciğer hücreleri çip üzerinde yer alan mikro kanallar üzerinden hem perfüze hem de besin takviyesi yapılmıştır. Ayrıca diyafram görevi gören ayrı bir kanala uygulanan negatif

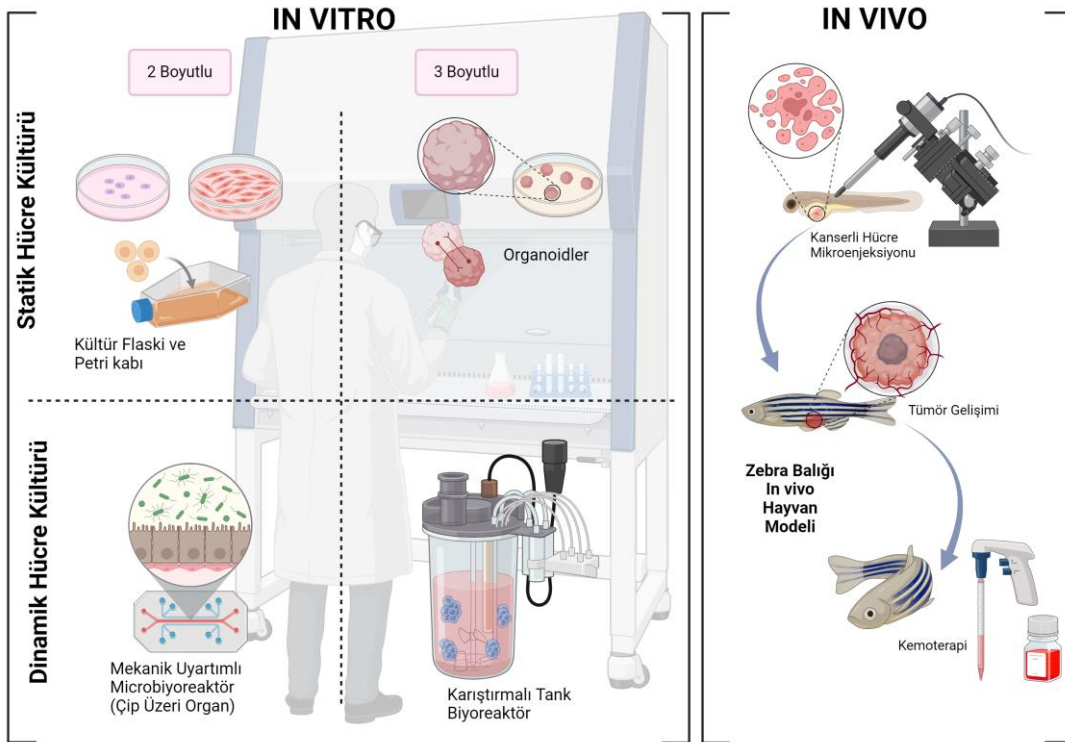
basınç yardımıyla hücrelerin içinde bulunduğu kanallar fiziksel deformasyona uğratılmış ve canlı vücudunda yaşayan akciğer hücrelerinin maruz kaldığı fiziksel şartlar taklit edilmeye çalışılmıştır[8]. Konseptin ortaya çıkışı takip eden yıllarda çip üzeri beyin, çip üzeri böbrek, çip üzeri kalp, çip üzeri damar vb. pek çok uygulama hayata geçirilmiştir.

Tüm çip üzeri organ, hücre kültürü ve biyoreaktör uygulamalarında ihtiyaç duyulan sistemlerin başında mikro akışkan kontrolör cihazları gelmektedir. Ayrıca Çip üzerinde veya kültür kabı içerisinde yaşanan değişikliklerin görüntülenmesi ve değerlendirilmesi gerekliliğinden dolayı gerçek zamanlı hücre görüntüleme sistemleri bahsi geçen sahalarda faaliyet gösteren tüm araştırmacıların ihtiyaç duyduğu kıymetli donanımlardır. Laboratuvar donanımları sektöründe müstakil şekilde tasarlanmış mikro akışkan kontrol (*Elveflow*, *Fluigent* vb.) ve hücre görüntüleme sistemleri (*xCELLigence*, *Incucyte*, *CellASIC* vb.) mevcuttur. Bunların çoğunluğu harici bir inkübatöre ihtiyaç duymaktadır. Bununla beraber oldukça yüksek maliyetli donanımlar olmaları sebebiyle temininde güçlükler yaşanmaktadır. Çip üzeri organ ve hücre kültürü çalışmalarının sağlıklı ve hızlı bir biçimde yürütülebilmesi için küçük ve orta ölçekli araştırma laboratuvarları veya müstakil araştırmacılar tarafından temin edebilecek nitelikte, bütünsel kontrol ve görüntüleme platformlarına duyulan ihtiyaç tez için yapılan ön araştırmalarda görülmüştür.

1.2. Canlı Organizmaların Üretilmesine ve İzlenmesine İlişkin Temel Kavramlar

Hücre kültürü temelde, canlı mikroorganizmaların doğal konaklarının dışında, genellikle de laboratuvar şartlarında kontrollü olarak üretilmesidir[9]. Hücre kültürü çalışmalarına ilişkin ilk örnekler 20. yüzyılın başlarına tarihlenmektedir[10]. Bu öncü çalışmalar çoğunlukla statik hücre kültürü niteliğinde sayabilecek çalışmaları kapsamaktadır. Günümüzde klinik araştırmalarda hayati önem taşıyan statik hücre kültürleri, hücrelerin insan veya hayvan konaklarda maruz kaldığı koşullara maruz kalmadığı ve farklı fizyolojik sistemler ile etkileşim halinde olmadığı için doğal bir konakta üreyen mikroorganizmaların fizyolojik ve kimyasal tepkilerini temsil etmede yetersiz kalmaktadır[11]. Bahsi geçen sınırlılıklar sebebiyle, hücre kültürlerinin in vitro benzetim kabiliyetini arttıracak dinamik hücre kültürü uygulamaları geliştirilmiştir[12]. Dinamik uyarıların devreye alınması yoluyla da hücre türüne göre farklılaşan düzenekler

kurgulanmaya başlanmıştır[13][14]. Takip eden süreçlerde ise bilhassa Biyomühendislik ve Doku mühendisliği sahalarında oldukça kıymetli olan hücre tutunumu, üremesi, farklılaşması ve hücreler arası etkileşim gibi faktörlerin izlenmesinde üç boyutlu hücre kültürü çalışmaları ön plana çıkmaya başlamıştır. Organoid ismi de verilen bu kültürler in vitro çalışmaların biyobenzetim başarısını arttırmıştır[15]. Ayrıca bu kültür formunun mekanik uyarılara verdiği olumlu tepkilerin iki boyutlu hücre kültürlerine kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmektedir[16]. Kullanım ve uygulama sahası devasa boyutlara ulaşan in vitro hücre kültürü uygulamalarına ek olarak; özellikle de kanser araştırmaları için in vivo hayvan modelleri ile yapılan kültür çalışmaları, hem ilaç geliştirme hem de kişiselleştirilmiş tıp araştırmaları için değerli bilgiler sunan ve gelecek vaat eden güncel uygulamalar arasında sayılabilir[17][18][19].



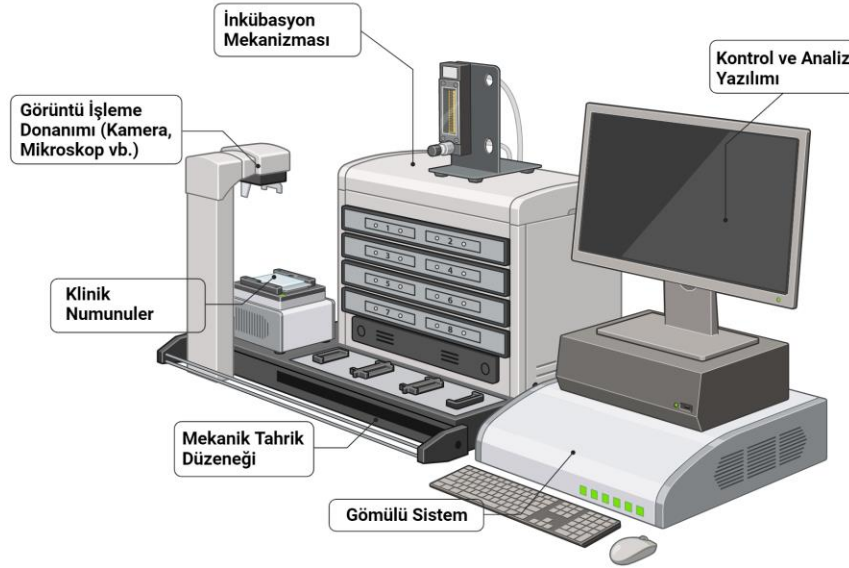
Şekil 1.1. Hücre Kültürü Uygulamaları

Statik hücre kültürleri genellikle mikroorganizmaların besin ihtiyacını sağlayacak katı veya sıvı medyaların yer aldığı petri kabı veya flasklerin içerisinde üretilirler. Bu süreçler sırasında bulundukları atmosferin gaz ihtiyacı sağlanırken ortam sıcaklığının da üreme için uygun değerlerde sabit tutulması sağlanır. Dinamik hücre kültürlerinde ise hücreler sıklıkla mekanik veya elektriksel uyarıların yer aldığı ve kimyasal koşulların

değiştirilebildiği ekipmanlar ile yardımıyla büyütülmektedir. Bu donanımlar genel olarak biyoreaktör olarak anılmaktadır. Biyoreaktörler kullanım alanlarına göre değişkenlik gösteren donanımlardır. Farklı hücre kültürü uygulamalarına ilişkin grafiksel bir özet Şekil 1.1’de verilmiştir.

1.2.1. Gerçek Zamanlı Hücre Görüntüleme Sistemleri

Gerçek zamanlı canlı hücre görüntüleme sistemleri çeşitli mikroorganizmaların hücresel faaliyetlerini sürdürdükleri ortamda yaşanan fiziksel ve kimyasal değişimlere verdikleri tepkilerin eş zamanlı izlemine olanak tanıyan aygıtlardır. Canlı hücrelerin gerçek zamanlı takibi yoluyla hücreler arası etkileşim mekanizmaları, hücre taşınımı ve organizma sağlığı hakkında analitik veriler elde edilebilmektedir[20]. Bunlara ek olarak, patojenlerin izlemi yoluyla hastalık mekanizmalarının analizi, biyofilm morfolojilerinin değerlendirilmesi ile antimikrobiyal duyarlılık tespiti gibi oldukça önemli klinik değerlendirmeler gerçekleştirilebilmektedir[21]. Canlı hücre görüntülenmesinde kullanılan donanımlarına ilişkin ana bileşenlerin yer aldığı bir görsel Şekil 1.2’de paylaşılmıştır.

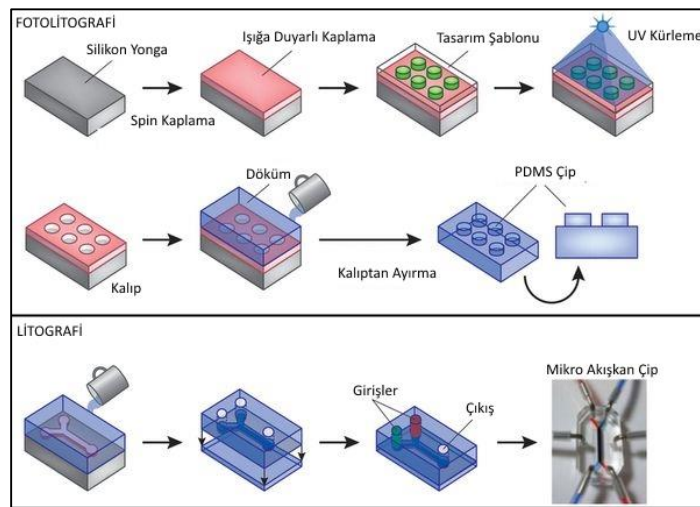


Şekil 1.2. Canlı Hücre Görüntüleme Sistemi

1.2.2. Mikroakışkan Sistemler ve Hücre Kültürü Uygulamaları

Tarihsel gelişim süreçleri incelendiğinde; gaz kromatografisi amacıyla tasarlanan ve boyutların küçültülmesi yoluyla ayırma performansını artırmayı hedefleyen moleküler bir analiz aygıtı, mikroakışkan teknolojisinin ilk örneklerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır[22]. Bununla beraber mikroakışkan sistemlerin tasarımına ve üretimine ilişkin yöntemler temelde yarıiletken sektöründe silikon yonga imalatı için kullanılan metotlara(fotolitografi, elektrokimyasal kazıma, yüzey etkinleştirme vb.) dayanmaktadır[23]. Mikroakışkan sistemler günümüzde geniş bir disiplin yelpazesini etkileyen kapsamlı bir uygulama alanına sahip olmuştur. Kimya, biyoloji, genetik, farmasötik vb. birçok sahada mikroakışkan tekniklerin kendine özgü avantajlar sağlamaktadır.

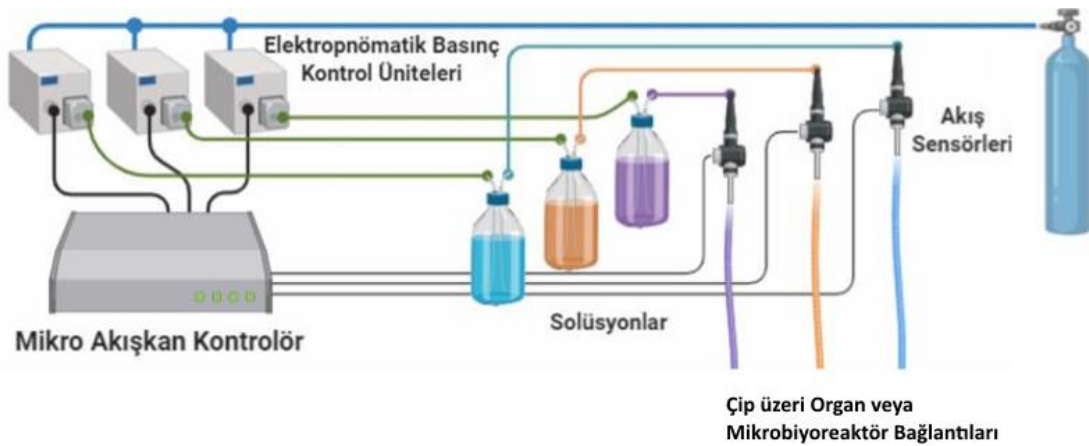
Mikroakışkan bir cihazın tasarım ve üretim başarısı, malzeme seçimiyle doğrudan ilişkilidir. Malzeme niteliklerinin hem kullanışlılık hem de üretilebilirlik üzerinde belirleyici bir etkisi vardır. Mikroakışkan bir çip veya mikrobiyoreaktörün kimyasal direnç, optik şeffaflık, mekanik sağlamlık ve biyouyumluluk gibi işlevsel kriterleri dengeleme kabiliyeti malzeme seçimine bağlıdır. Hangi imalat yöntemlerinin avantajlı, dezavantajlı veya tamamen uygulanamaz olduğu, malzemenin üretim açısından davranışına göre belirlenmektedir[24]. Mikroakışkan sistemlerin üretiminde sıklıkla kullanılan bir silikon türevi olan Polidimetilsiloksan(PDMS) ile mikroakışkan çip üretilmesine ilişkin temel adımlar Şekil 1.3'te özetlenmiştir.



Şekil 1.3. Mikroakışkan Çip Üretim Safhaları[25]

Biyolojik süreçlerin pek çoğunda organizma içerisinde yer alan sıvıların, mikro ve nano ölçekte kanallar boyunca ve oldukça küçük hacimlerle hareket ettiği gerçeği göz önüne alındığında, mikroakışkanlar biyolojik uygulamalar için uygun bir çalışma alanı olarak değerlendirilebilir. Bahsi geçen süreçlere ilişkin olarak mikro ölçekli arter ağları boyunca kan akışı, akciğerler boyunca oksijenin difüzyonu ve hücresel membranlar boyunca molekül transferi verilebilir. Ayrıca mikroakışkanlar, farklı mikroorganizma türleri için daha gerçekçi in vitro koşullar sağlayabilmektedir.

Mikroakışkan çipler kullanılarak gerçekleştirilen hücre kültürü ve çip üzeri organ uygulamalarında en çok ihtiyaç duyulan donanımların başında $\mu\text{L}/\text{dk}$, $\mu\text{L}/\text{sa}$, mL/dk vb. oldukça düşük debi değerlerinde sürekli sıvı akışı sağlayan bile kapalı çevrim akış kontrol sistemleri gelmektedir. Mikroakışkan akış kontrol sistemlerini konvansiyonel akış kontrol (peristaltik pompa, şırınga pompası vs.) donanımlarından farklı kılan özelliklerin başında akış profilinin geri besleme yoluyla sabit tutulması, baloncuk oluşumunun diğer sistemlere nazaran daha az oluşu ve programlanabilir akış profilleri yaratılabiliyor olması gelmektedir. Şekil 1.4'te mikroakışkan kontrol sistemlerinin temel bileşenlerinin yer aldığı bir görsel paylaşılmıştır.



Şekil 1.4. Mikroakışkan Çip Üretim Safhaları

1.3. Anaerop Ortam Hazırlayıcılar

Anaerop atmosfer oluşturma sistemleri, klinik mikrobiyoloji ve tıp mühendisliğini

birbirine bağlayan anaerobik yetiştirme süreçlerinin temel bileşenleridir. Uygulamaları patoloji, gıda mühendisliği ve protein araştırmaları gibi çeşitli alanları kapsamaktadır. Ayrıca, bu sistemler klinik olarak değerlendirilen izole bakteri örnekleri için anoksik bir ortam oluşturmak için güvenilir bir araç sağlamaktadırlar [26][27].

Antony van Leeuwenhoek'un ünlü biber tüpü deneyi, bilimsel literatürde anaerobik yaşamın belgelenmiş en eski kanıtını temsil etmektedir [28]. Leeuwenhoek'un keşfinin ardından, mikroorganizmaların oksijen toleransına dayalı ilk taksonomik araştırma 1863 yılında Louis Pasteur tarafından gerçekleştirilmiş ve Pasteur aynı zamanda aerob ve anaerob terimlerini de ilk kez ortaya atmıştır [29]. Bu öncü çalışmalardan günümüze kadar anaerobların yeni üyelerinin araştırılması ve tanımlanması devam etmektedir.

Bakteri türleri de dahil olmak üzere tüm mikroorganizmalar, yaşamsal işlevlerini sürdürebilmek için bir tür yakıt üretmeye ihtiyaç duyar. Metabolik gereksinimlere uygun olarak, bakteri hücreleri bu amaçlar için aerobik solunum, anaerobik solunum ve fermentasyon dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar kullanır. Besinlerin işlenmesi aşamasında aeroblar enerji yaratmak için bir dizi oksidasyon - redüksiyon reaksiyonu kullanır. Metabolik oksijenin indirgenmesi sırasında, süperoksit ve hidrojen peroksit gibi bazı reaktif oksijen türleri üretilebilir ve bu son ürünler bakteriler üzerinde oksidatif stres yaratarak hücresel düzeyde çeşitli dengesizliklere yol açar. Aeroblar oksidatif strese karşı doğal olarak dirençlidir ve yüksek seviyeli toksik ara ürünleri idare edebilirler. Buna karşın anaerobların oksidatif stres kaynaklarına karşı herhangi bir savunma mekanizması yoktur ki bu da anaerobik mikroorganizmaların oksijen intoleransının altında yatan en önemli faktördür. Bu nedenlerden dolayı anaeroblar fermentatif bir metabolizma geliştirmişlerdir. Ayrıca, fermentasyon reaksiyonlarının hidrojen, karbondioksit, asitler ve alkoller gibi metabolik son ürünleri tüm canlı türleri için temel bileşenlerdir. Bu açıdan bakıldığında anaeroblar, doğadaki birçok geri dönüşüm sürecinde önemli bir rol oynayan mikro ölçekli üretim tesisleri olarak kabul edilebilir [30].

Anaerobik bakteriler hayatta kalmak için oksijensiz bir atmosfere ihtiyaç duyarlar; ancak anaerobların mikrobiyal topluluğu, oksijene değişen derecelerde duyarlı olan çok sayıda tür içerir. Tolerans seviyelerine göre bu mikroorganizmalar genel olarak zorunlu, aerotolerant ve fakültatif olarak sınıflandırılır [31][32][33]. Bakteriyel mikrofloranın

yerli üyeleri olan anaeroblar, insan vücudunun ağız boşluğu, burun hava yolları, trakea, pulmoner hava yolları ve genital bölgelerin dış kısımlarını içeren yerleşim bölgelerinde bulunurlar [34]. Bağırsak ve genitoüriner dokular gibi düşük oksijenli doku bölgeleri, beklendiği gibi önemli miktarda anaerobik bakteri içerir. Anaerobların burun, ağız veya larinks gibi vücut açıklıklarındaki varlığı, temelde aerobların ve fakültatif bakterilerin oksijen tüketen metabolik faaliyetleriyle ilgilidir. Bu mikroflora alanları karşılıklı yararlılık üzerine kurulmuş ortamlar olarak görülebilir [35].

Genel olarak, anaerobik bakteriler bakteri florasının yararlı üyeleridir. Buna karşın, istisnai durumlarda (örneğin, cerrahi müdahaleler, mukozal bariyerlerin bozulması, normalde steril olan doku bölümlerinin çeşitli yaralanmalarla delinmesi), anaerobik bakteriler insan konakçılar için önemli bir risk oluşturabilir. Alışılmadık mikro habitatlara erişim sağladıklarında, anaerobik bakteriler bu alanları hızla kolonize edebilir ve ciddi enfeksiyonlara neden olabilir [36]. Eşlikçi özellikleri nedeniyle, anaerobik bakteriler genellikle polimikrobiyal enfeksiyonlara katılırlar. Bu durum anaerobik bakteriyolojideki en zorlu konulardan birini oluşturmakta ve izolasyon süreçlerini doğrudan etkilemektedir. Anaerobların patolojik incelemeleri sırasında klinisyenlerin yüksek düzeyde uygulama bilgisi ve büyük bir dikkatle donanmış olmaları gerekir. Karışık bir enfeksiyonda anaerobları ayırt etmenin temel ilkesi, teşhisin başlangıcından tedavinin sonuna kadar yüksek derecede şüpheyi sürdürmektir [37].

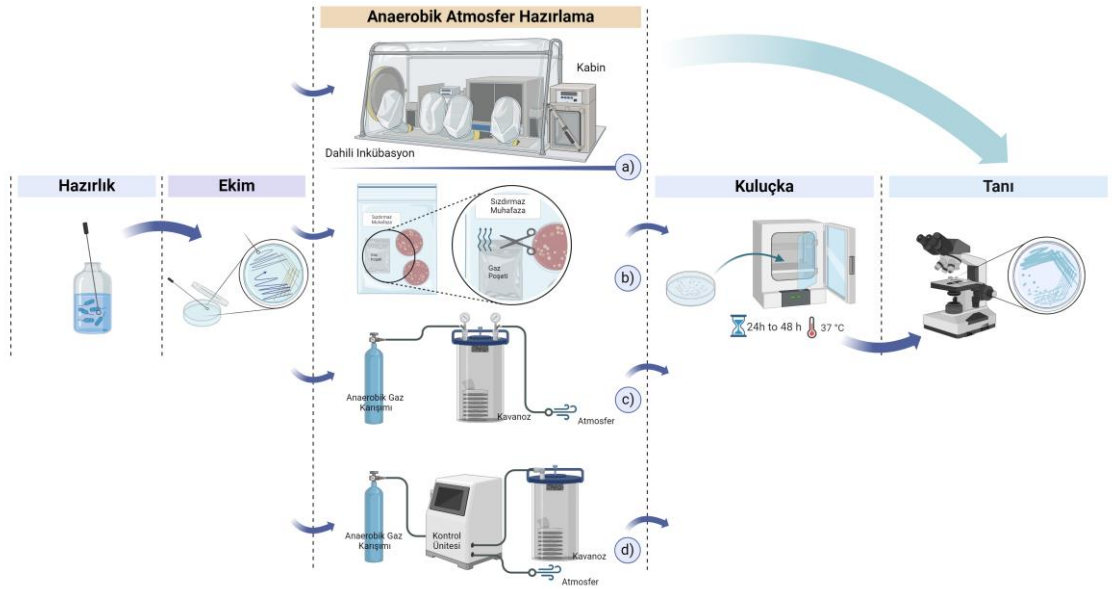
Anaerobların izolasyonu, ekimi ve teşhisinde tek zorlayıcı faktör kişisel çaba gerekliliği değildir. Bugün bile, bu ileri teknoloji çağında, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının sadece küçük bir kısmı anaerobları tanımlamak ve periyodik kontrol prosedürlerini gerçekleştirmek için yeterli donanıma sahiptir [38]. Az önce bahsedilen koşullar, açıkça görülebileceği gibi, klinik alanlarda anaeroblara karşı bilinçli bir göz ardı edilişi dikte etmektedir. Bu tür ayrıştırıcı yaklaşımlar, patojen anaerobların antibiyotik direncini zaman içinde artırırken tedavilerin etkinliğini de azaltmaktadır [39]. Bununla birlikte, kaynakların sınırlı olması ve buna bağlı maliyetler, klinik kurumlarda anaerobların yeterince incelenmemesinin başlıca nedenleri olarak düşünülebilir. Ayrıca, anaerobik bakteriyoloji ekipmanlarıyla ilgili araştırmaların çoğu tıp camiası içinde yürütülmektedir. Bu ekipmanın performansını değerlendirmeye ve iyileştirmeye odaklanan disiplinler arası

çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır [40][41].

1.3.1. Anaerobların Kültürlenmesi

Klinik uygulamada, hangi sınıfa ait olduğuna bakılmaksızın hastalık veya enfeksiyon oluşturma potansiyeli olan tüm bakteri türleri, uygun fiziksel (ışık şiddeti, dalga boyu, sıcaklık, nem vb.) ve kimyasal (gaz atmosferi, besiyeri vb.) koşulların sağlandığı laboratuvar alanlarında inceleme ve değerlendirmeye tabi tutulmaktadır. Bakteriyel bir enfeksiyonla mücadele eden bireylerden alınan patoloji örnekleri, komplikasyona neden olan türlerin izolasyonu için belirli bir uygulama prosedürü çerçevesinde işleme alınmaktadır. Böylece bireyin mevcut klinik durumunun olumlu yönde ilerlemesini kolaylaştıracak en uygun tedavi yöntemleri, ilaç türleri ve dozları belirlenir. Bu yaklaşım, tedavinin etkinliğini optimize ederken yan etki riskini de en aza indirir [27].

Kültürleme, klinik mikrobiyolojide en yaygın kullanılan yöntemdir. Bu süreç, klinik değerlendirme için toplanan numunelerin hazırlanmasını, farklı bakteri türlerine uygun besiyerlerine aşılanmasını, vücut sıcaklığında inkübasyonunu ve büyüyen kolonilerin hem nitelik hem de nicelik açısından incelenmesini içerir [42]. Kültürleme adımları ve yöntemlerinin açıklayıcı bir gösterimi Şekil 1.5'de verilmiştir.



Şekil 1.5. Anaerobik kültürleme ve atmosfer hazırlama yöntemleri: (a) Anaerob Kabin, (b) Anaerobik Gaz Poşeti, (c) Anaerobik Kavanoz, (d) Vakumla – Yer değiştir Sistemi

Bakteri kültürlerinin besiyerine ekimini takiben büyümelerini etkileyen en önemli fiziksel koşullar ortam sıcaklığı ve gaz atmosferidir. Tüm canlı organizmalarda olduğu gibi bakterilerin de yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmeleri için gerekli olan enerji üretimi, protein sentezi, pH seviyelerinin korunması gibi süreçler mikroorganizma içinde gerçekleşen kimyasal reaksiyonlara bağlıdır. Bu reaksiyonların doğru çıktıları üretmesi ve enzimlerin en iyi şekilde çalışması için inkübasyon ortamının tam olarak vücut sıcaklığında tutulması esastır [43].

Oksijen, hidrojen, nitrojen ve karbondioksit gazları, daha önce de belirtildiği gibi, kimyasal reaksiyonlar tarafından işlenen temel metabolik girdiler arasındadır. Bu nedenle, kültürü yapılacak bakteri örneğinin çoğalması için ihtiyaç duyduğu gaz atmosferinin sağlanması, ekimin önemli aşamalarından biridir. Anaerobik, mikroaerofilik ve kapnofilik bakteri türlerinin inkübasyonu sırasında, inkübasyon alanının gaz atmosferini bakterilerin gereksinimlerine uygun olarak düzenlemek için özel ekipmanların kullanılması gerekmektedir [44]. Anaerobik bakteriyolojide kullanılan geleneksel kültürleme yöntemleri Tablo 1.1'de özetlenmiştir.

Tablo 1.1. Anaerobik kültürleme yöntemlerinin karşılaştırılması

Metot ^(a)	Sarf Tüketimi	Klinik Etkinlik	Uygulama Alanı	Hazırlık Süresi	Katalizör İhtiyacı
Anaerop Kabin	Çok kullanımlık sistem	%100 Kültürleme başarısı ^(c)	Geniş ölçekli araştırma veya hastane laboratuvarları	30 dk. dan az (İlk çalıştırma sonrası kullanıma hazır)	Gerekli
Anaerobik Gaz Poşeti	Tek kullanımlık	%80 Kültürleme başarısı ^(b)	Geniş kullanım sahası	5 dk. dan az (Periyodik kullanım)	Gerekli değil
Anaerobik Kavanoz (Manuel gaz değişimi)	Çok kullanımlık sistem	%90 Kültürleme başarısı ^(b)	Geniş veya orta ölçekli araştırma veya hastane laboratuvarları	25 dk. dan az (Periyodik kullanım)	Gerekli
Kavanoz Gazlama Sistemi	Çok kullanımlık sistem	%100 Kültürleme başarısı ^(b)	Geniş veya orta ölçekli araştırma	15 dk. dan az (Periyodik kullanım)	Gerekli

(Otomatik
gaz
değişimi)

veya hastane
laboratuvarları

^(a)[45]; ^(b) [46]Zorlu anaerop bakteri kültürleri referans olarak alınmıştır; ^(c) Anaerob kabinler sürekli oksijensiz ortam sağlayabilen müstakil sistemlerdir.

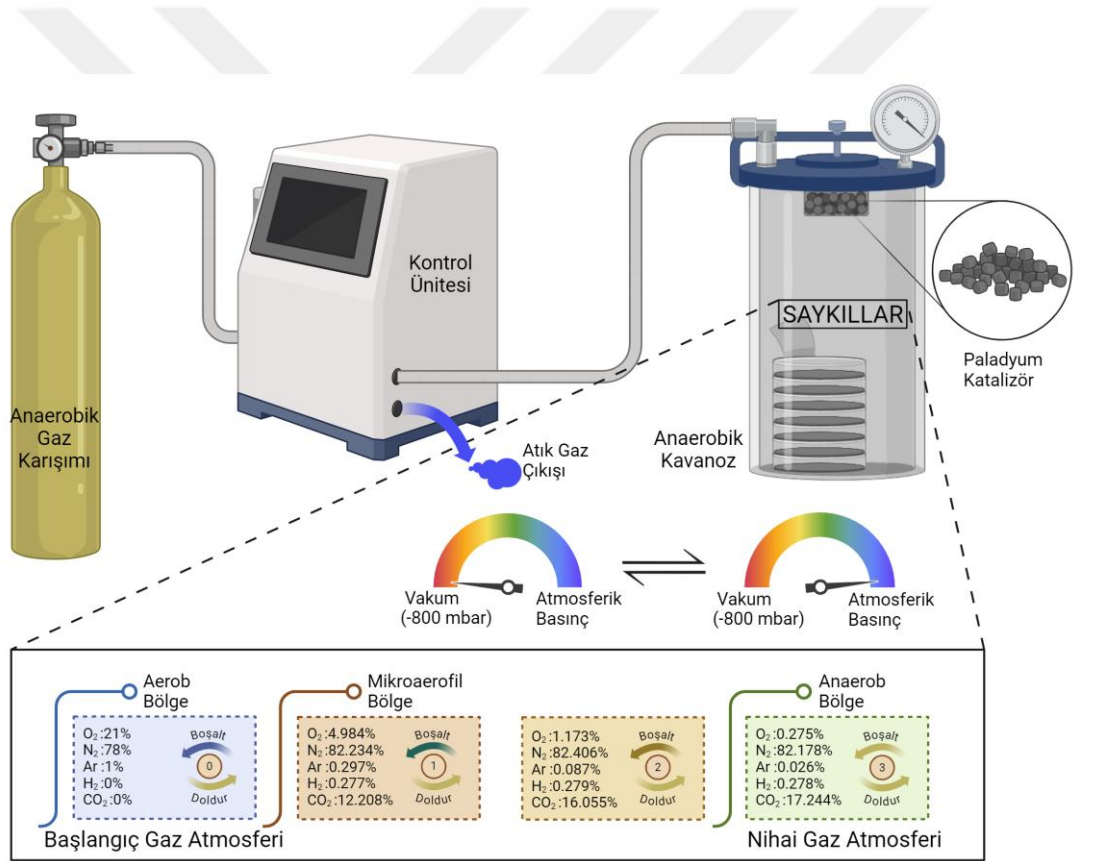
1.3.2. McIntosh&Fildes Metodu

Genellikle McIntosh ve Fildes anaerobik kavanoz yöntemi olarak adlandırılan vakumla ve yer değiştir yöntemi, anaerobik bakteriyolojide dönüm noktası niteliğinde bir çalışma olarak kabul edilmektedir [47]. Paul Fildes ve James McIntosh 'un araştırmasının 1916'da ilk kez yayınlanmasından bu yana, vakumla ve yer değiştir yöntemi anaerobik atmosferler oluşturmak için yaygın olarak kullanılan bir metot haline gelmiştir [48][49]. McIntosh ve Fildes tarafından önerilen yöntem daha güvenilir ekim yapılmasını sağlamış ve ayrıca ileri ve sistematik araştırmalara uygun gelişmiş bir aygıt sunmuştur. Mum kavanozu yöntemi gibi kendi dönemindeki tekniklerle karşılaştırıldığında, bu buluş anaerobların yetiştirilmesinde önemli bir ilerlemeyi temsil etmektedir.

Temel olarak, vakumla ve yer değiştir yöntemi manuel gaz değişim prosedürlerine dayanmaktadır. Bu prosedürlerin uygulanması sırasında, ilk olarak, hava geçirmez bir kavanoz içindeki oksijen bakımından zengin atmosferik gaz karışımı, manuel olarak çalıştırılan bir vakum pompası ile belirli bir vakum derecesine kadar dışarı atılır. Ardından, kavanoz bir gaz tankı kullanılarak atmosfer basıncına ulaşana kadar anaerobik gaz karışımı (%85 N₂, %10 CO₂, %5 H₂) ile doldurulur. Bu diziler belirli sayıda tekrarlanır. Gaz değişim döngülerinin tamamlanmasının ardından, kavanoz içindeki oksijen gazı konsantrasyonu %0.2'nin altına düşürülür. Bu artık oksijen, anaerobik gaz karışımından gelen hidrojene bağlanır ve kavanozun içine yerleştirilen bir paladyum katalizörü yardımıyla suya dönüştürülür. Sonuç olarak, kavanoz atmosferi anaerobik koşullara ulaşırken, bakterilerin nem ihtiyacı karşılanır. Tüm vakumlama ve yer değiştirme döngüleri sırasında vakum basıncı seviyesi hiçbir zaman mutlak vakum değerine düşmez, çünkü bakterilerin hücre zarına uygulanan vakum gerilimi çok yıkıcı olabilir ve döngüsel gaz değişiminin arkasındaki ana fikir de budur.

McIntosh ve Fildes yönteminin orijinal tasarımında, bir laboratuvar teknisyeni veya klinisyen, gaz değişim süreçlerini yönetmek için manuel olarak çalıştırılan birkaç valf ve

görsel geri bildirim için bir basınç manometresi kullanır. Bu kontrol bileşenleri anaerobik kavanoz kapaklarına monte edilir. Anaerobik yetiştirme için kullanılan kavanozlar sıklıkla görsel denetime izin veren polikarbonattan üretilir. Günümüzde, McIntosh ve Fildes yöntemini temel alan ve otomatik gaz değişimi sağlamak üzere tasarlanmış bir dizi geleneksel kavanoz gazlama sistemi geliştirilmiştir. Bu tür sistemler tipik olarak kullanıcı arayüzüne sahip bir kontrol ünitesi içerir ve tüm vakumla ve yer değiştir işlemleri elektro-pnömatik bileşenler tarafından koordine edilir. Ayrıca, otomatik kavanoz gazlama sistemlerinin kullanımı eğitilmiş klinik personel ihtiyacını azaltır ve insan kaynaklı hataların etkisini en aza indirir. Bir kavanoz gazlama sisteminin ana bileşenleri ve döngüsel gaz değişiminin ayrıntılı bir açıklaması Şekil 1.6'da gösterilmiştir.



Şekil 1.6. Otomatik kavanoz gazlama sistemi

Bu sistemlerin genel elektromekanik yapısının ötesinde, paladyum katalizörü vurgulanması gereken kilit bir unsurdur. Paladyum katalizörü tarafından hızlandırılan katalitik reaksiyon esasen bir oksijen ve hidrojen rekombinasyon reaksiyonudur [50][51]. Bu tür katalizörler kimya literatüründe tipik olarak heterojen katalizörler olarak

tanımlanmaktadır. Kavanoz atmosferinde bulunan gaz türleri (örneğin, O₂ ve H₂) arasında meydana gelen yüzey reaksiyonları, katalizörlerin gözenekli yapısı üzerinde oluşturulur ve böylece büyük ölçekli bir katı-gaz arayüzü sağlanır. Paladyum ve platin geçiş metalleri heterojen katalizörlerin üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır. Oksijensiz atmosferlerin oluşturulması için kullanılan heterojen katalizörler yaklaşık yüzde 0.5 oranında paladyum içerir. Ayrıca alüminyum oksit, destek malzemesi olarak katalizör gövdesinin büyük bir bölümünü oluşturur. Pelet şeklindeki bu katalizör parçacıkları genellikle çelik bir kese içinde paketlenir ve aksesuar olarak kullanılır. Belirli sayıda kullanımdan sonra paladyum katalizörler doyumluğa ulaşır ve bu da katalitik aktivitelerini azaltır. Katalizör yüzeylerini boşaltmak için keseler yaklaşık 180 °C sıcaklıkta fırınlanır.

1.4. Bulanıklık ve Işık Saçılımı Temelli Optik Ölçüm Yöntemleri

1.4.1. McFarland Standartı

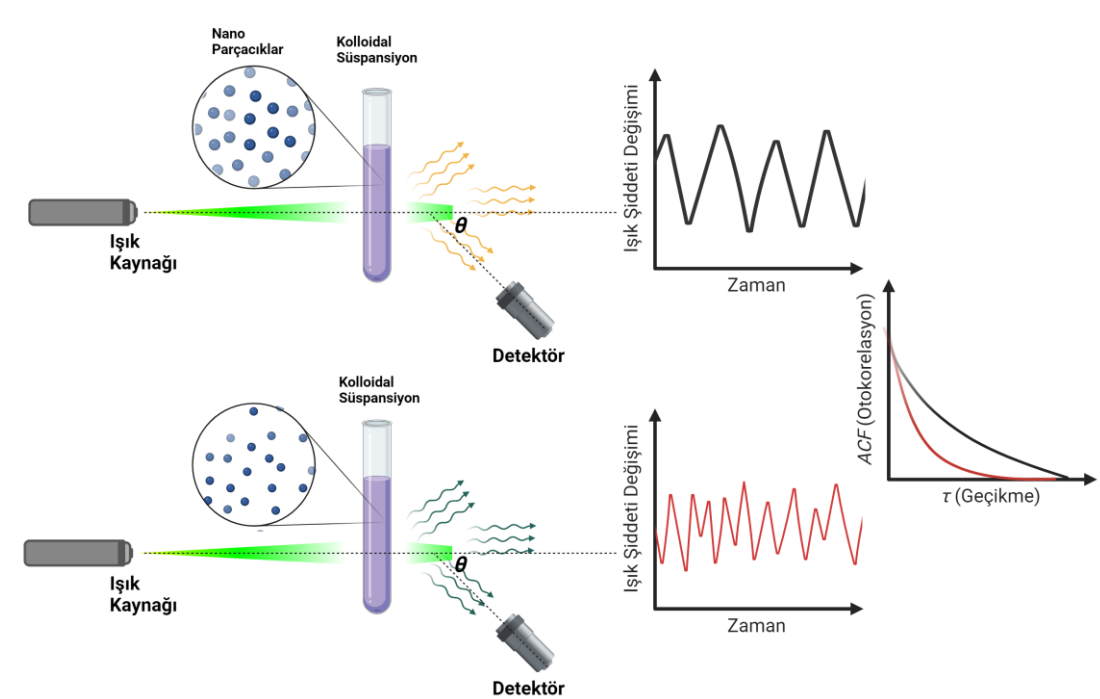
Antimikrobiyal duyarlılık testleri belirli bir bakteri veya virüsün çeşitli antibiyotiklere karşı olan tepkisinin gözlemlenmesinde kullanılmaktadır[37]. Farklı çeşitte ve konsantrasyonda antimikrobiyal ajanların in vitro şekilde mikrobiyal unsurlara uygulanması esası ile duyarlılık testleri gerçekleştirilmektedir[52]. Duyarlılık derecesine göre enfekte olan hastaya uygun klinik tedavi belirlenir[53]. Antimikrobiyal duyarlılık testlerinde en sık kullanılan standarda dayalı sayım tekniklerinden biride McFarland bulanıklık ölçümüdür. McFarland bulanıklık standardı bir süspansiyon içerisindeki bakteri miktarının yaklaşık değerinin görsel inceleme ile tayin edilebilmesine olanak tanıyan yöntem ve araçlara ilişkin tarifleri barındırmaktadır. Bulanıklığa bağlı olarak yapılan bakteri miktarı tayini ilk olarak 1907 yılında Joseph McFarland tarafından önerilmiştir. Takip eden yıllar içerisinde bu teknik klinik mikrobiyolojide antimikrobiyal duyarlılık çalışmalarında kullanılan standart prosedürlerden biri haline gelmiştir.[54] Bulanıklık değerlendirmesi için kullanılan aygıtlar ise teknolojik değişikliklere paralel olarak yeni niteliklere kavuşmakla beraber temelde aynı ölçüm tekniğini kullanmaktadır[55]. Güncel klinik pratikte bu aygıtlar Nefelometre, Densitometre ve Turbidimetre isimleri ile anılmaktadır[56].

1.4.2. Dinamik Işık Saçılımı

Sıvı besiyeri, hücre sıvısı vb. medyumların içerisinde asılı halde bulunan organizmalardan oluşan süspansiyonlar temelde kolloid olarak nitelendirilen heterojen solüsyonlardır[57]. İster hücrelerden ister çeşitli nano parçacıklardan meydana gelsin tüm kolloidal yapılar oldukça kapsamlı ve çok disiplinli bir akademik araştırma sahasının içerisinde yer almaktadırlar. Kimya, fizik, biyoloji ve malzeme biliminde sayısız uygulamada karşımıza çıkan kolloidlerin, ihtiva ettikleri parçacıkların boyutları, bu solüsyonları karakteri hakkında önemli bilgiler sunmaktadır[58]. Bahsi geçen süspansiyonlar içerisindeki parçacık boyutu dağılımının belirlenmesinde ışık saçılımı teorilerine bağlı olarak işleyen optik düzeneklerden faydalanılmaktadır. Laboratuvar uygulamalarında kolloid karakterizasyonu amacıyla kullanılan bu düzenekler çoğunlukla fizikte Brown hareketi ve Tydall etkisi olarak bilinen doğal mekanizmaların işleyişine dayalı olarak çıktı üretmektedir[59]. Brown hareketi sıvı veya gaz halindeki bir ortam içinde asılı olan parçacıkların rastgele gerçekleşen hareketini ifade etmek için kullanılmaktadır. Bahsi geçen süspansiyonlar içerisinde yer alan parçacıkları hareket etmeye zorlayan temel değişken medyumun içinde yer alan atom ve moleküllerin kinetik enerjilerine bağlı olarak gerçekleştirdikleri çarpışma, yer değiştirme, dönme ve titreşim hareketleridir. Bu atom altı hareketler rastgele gerçekleşmekle beraber, doğada Stokastik pek çok sürecin arka planında da karşımıza çıkan markov süreçlerine ve serbest yürüyüşlere dayalı olarak Brown hareketini ortaya koymaktadırlar[60][61].

Başka bir önemli husus ise Brown hareketinin gözlemlendiği kolloidal solüsyonlarda hareketlerin hızları parçacıkların boyutuna ve dolayısıyla ataletine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bu özellik aynı zamanda parçacıkların süspansiyon içerisindeki difüzyon hızını da doğrudan değiştirmektedir. Brown hareketi yapmakta olan kolloidlerin difüzyon hızı ile ilişkisini tanımlayan matematiksel ifadeler literatürde Einstein-Stokes denklemi olarak karşımıza çıkmaktadır ve parçacıkların boyutsal dağılımının analizinde en sık kullanılan ifadedir[62]. Optik düzenekler yardımıyla Brown hareketini gözlemleyen ve değerlendirilen aygıtların büyük çoğunluğu ışığın kırınım yasalarından faydalanarak boyut tayininde bulunurlar[63]. Tydall etkisi de Mie ve Rayleigh saçılmalarına benzer şekilde, kolloid bir atmosferde seyahat etmekte olan ışınların kolloidi meydana getiren parçacıklar tarafından saptırılması neticesinde oluşan

değişimleri inceler[64]. Ortaya çıkan saçılımlar süspansiyondan çıkış yapan ışık demetinde Doppler etkisine benzer şekilde frekans ve dolayısıyla da dalga boyu kaymalarına sebebiyet vermektedir[65]. Bu etkileşim esnasında görülen bir diğer değişiklik ise solüsyondan çıkış yapan ışığın şiddetinde yaşanan dalgalanmalardır. Bu dalgalanmaların genliği ve frekansı parçacıkların boyutu ile doğrudan ilişkilidir. Dinamik ışık saçılımı temelli optik ölçüm düzeneklerine kaynak teşkil eden de bu özelliktir. Saçılan ışık demetlerini belirli bir açıyla ölçecek şekilde yerleştirilmiş optik bir detektör ile bu salınım veri toplandıktan sonra, ışık şiddeti veri setinin otokorelasyon grafiği incelenir ve süspansiyon içerisinde asılı olan parçacıkların difüzyon hızları bulunmaya çalışılır. Büyük boyutlu parçacıkların yer değiştirme hızları daha küçük olanlara nazaran daha yavaş olduğu için artımsal zaman aralıkları ile hesaplanan otokorelasyon grafiğinde eksponansiyel düşüş hızı daha yavaş olarak izlenmektedir. Otokorelasyon grafiğinden elde edilen denklemin üssel kısmı ve saçılım vektörünün genliği kullanılarak kolloidin difüzyon katsayısı ve bunu parametre yardımıyla da parçacık boyutlarının dağılım grafiği elde edilmektedir[66]. Bahsi geçen hesaplamalara ilişkin detaylar materyal ve metot kısmında sunulmuştur. Dinamik ışık saçılımının işleyişine yönelik bir figür Şekil 1.7’de verilmiştir.



Şekil 1.7. Dinamik Işık Saçılımı Yöntemi

2. MATERİYAL VE YÖNTEM

Bu bölümde tez çalışmaları kapsamında geliştirilen görüntüleme ve mikroakışkan kontrol düzeneğinin alt sistemlerinin tasarımında kullanılan malzemeler ve izlenen yöntemlere ilişkin detaylar paylaşılmıştır.

2.1. Anaerop Atmosfer Hazırlayıcı Sistem Tasarımı ve Üretimi

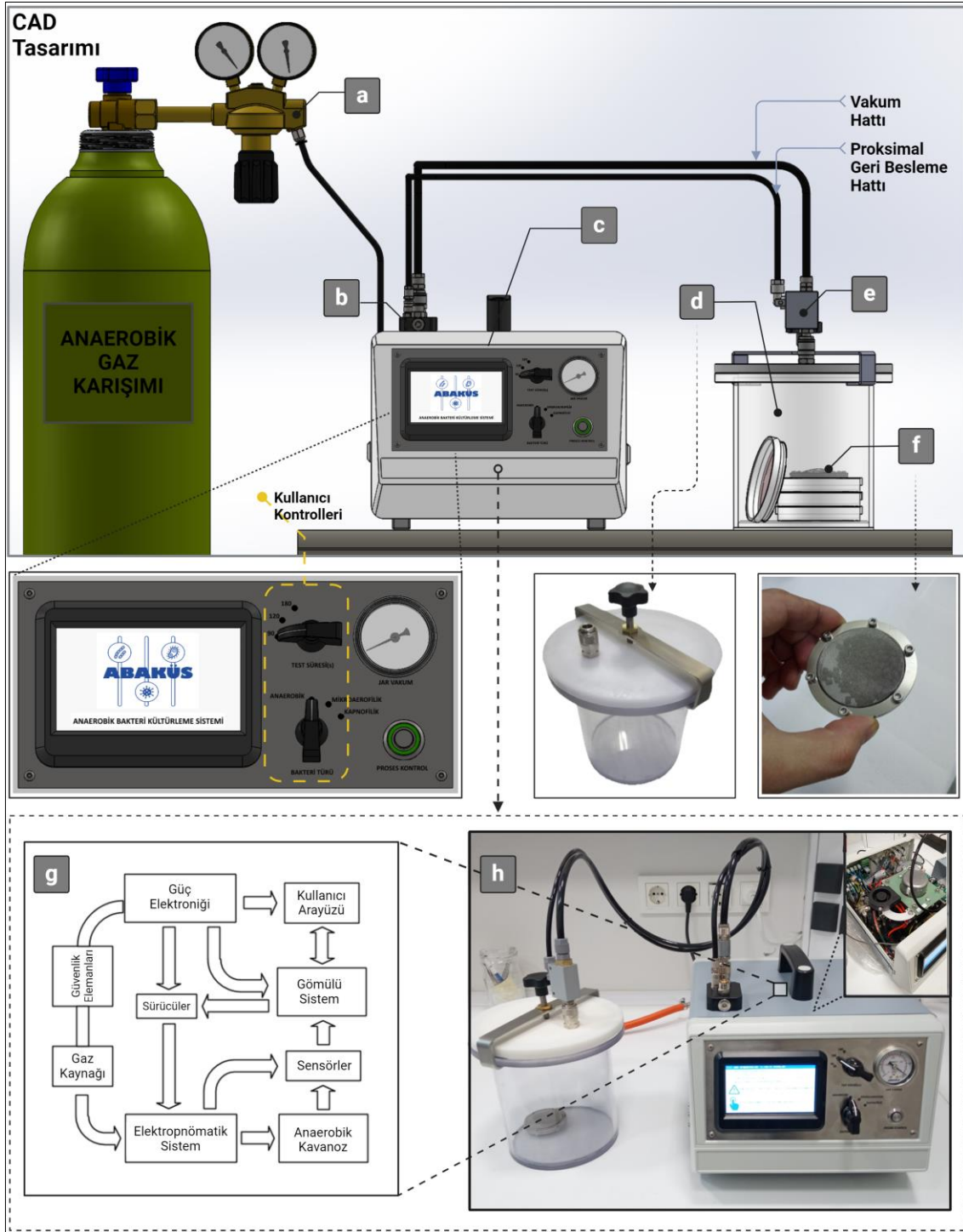
Bu bölümde anaerop ortam hazırlayıcı sistemimizin ve tahmin yazılımımızın tüm tasarım, üretim ve doğrulama aşamaları üzerinde durulmaktadır. Bu çalışmaların detayları üç ana başlıkta sunulmuştur.

2.1.1. Donanım ve Yazılım Tasarımı

İlk tasarım çalışması ile kültürleme sisteminin nihai halinin üretimi arasında geçen süre yaklaşık dört yıllık bir zaman dilimini kapsamaktadır. Bu süre zarfında kontrol ünitesi, anaerobik kavanozlar ve diğer aksesuarlar klinik deneylerin sonuçlarına ve uygulayıcılardan gelen geri bildirimlere göre revize edilmiştir. Ön gördüğümüz yenilik unsurlarını sisteme entegre etmeden önce, geleneksel sistemlerin yeteneklerine ulaşılmaya çalışılmıştır. Anaerobik bakteriyolojide sıklıkla kullanılan mevcut yetiştirme sistemleri iki farklı atmosfer oluşturma seçeneği sunmaktadır. İlk seçenek, %0.2 veya daha az O₂ konsantrasyonuna sahip oksijensiz bir atmosfer sağlayan anaerobik bir ortamdır. İkinci seçenek ise mikroaerofilik koşullar için %5 O₂ konsantrasyonu sağlar. Araştırma ve geliştirme aşamalarını takiben, sistemimiz belirtilen bakteri türlerini yetiştirmek için de optimize edilmiştir.

Sistemimizi ABAKÜS (Anaerobik/Mikroaerofilik Bakteri Kültürleme Sistemi) olarak adlandırdık. Sistem bileşenlerinin ayrıntılı genel görünümü Şekil 2.1'de verilmiştir. Kontrol ünitesi ABAKÜS sisteminin çekirdeğini oluşturmaktadır. Kontrol ünitesi, kullanıcının gaz değişimini başlatması, atmosferik seçenekleri ve test sürelerini (90, 120 veya 180 saniye) seçmesi için bir arayüz sağlar ve ayrıca dijital ve analog süreç göstergelerini de içerir. Bu arayüzden toplanan kullanıcı girdileri mikrodenetleyici tabanlı (STM32F446RE ARM-Cortex MCU, ST Microelectronics, Cenevre, İsviçre) gömülü kontrol kartı tarafından işlenir. Devam eden atmosfer oluşturma süreciyle ilgili tüm

ölçümler, hesaplamalar ve operasyonel adımlar TFT ekranda (4.3" 480 × 272, SATOZ) görüntülenmektedir. Kaynak basıncını ve kavanoz vakumunu izlemek için kontrol ünitesine bir dizi basınç sensörü ((9000405, Metal Work Pneumatic, Arlington, TX, ABD), (HSC serisi ± 100 mbar Board Mount, Honeywell, Charlotte, NC, ABD), (BCT22 1/8 NPT, ATEK Sensör, Kocaeli, Türkiye)) entegre edilmiştir. Bu sensörlerin ölçüm doğruluğu bir kalibrasyon düzeneği (RT304 Calibration Trainer, G.U.N.T. Gerätebau GmbH, Barsbüttel, Almanya) yardımıyla doğrulanmıştır. Sistem bileşenlerinin güç ve kontrol gereksinimleri nedeniyle, özel bir güç yönetim kartı ve sürücü kartı tasarlanmış ve üretilmiştir. Otomotiv sınıfı yağsız bir vakum pompası (döner kanatlı, 12V DC, 150 W) ABAKÜS kontrol ünitesinin özel vakum gereksinimlerini karşılayacak şekilde revize edilmiş ve kavanozun gaz içeriğini boşaltmak için kullanılmıştır. Gaz değişim döngülerini yönetmek için birkaç adet 3/2 selenoid valf kullanılmıştır. Ayrıca, sistematik bir arıza senaryosu sırasında aşırı basınç koşullarını önlemek için pnömatik sisteme bir basınç tahliye valfi eklenmiştir. Elektronik ve pnömatik sistem bileşenleri Şekil 2.1g'de verilen basit bir blok şeması ile özetlenmiştir. Anaerobik kavanoz (Kapak ve Kavanoz gövdesi), manifoldlar ve TFT ön paneli dahil tüm mekanik parçalar (Şekil 2.1b-d) CAD yazılımı (SolidWorks®, Dassault Systemes, 2015) kullanılarak tasarlanmış ve mühendislik plastikleri (örneğin, polikarbonat, Delrin) kullanılarak CNC freze ve torna yardımı ile üretilmiştir. Çekvalf içeren pnömatik hızlı konektörler kavanoz kapağına ve bağlantı manifolduna yerleştirilmiştir. Bu tip konektörler, ABAKÜS ile bağlantının kesilmesi sırasında kavanoz atmosferini oksijen bakımından zengin havadan izole etmek için bilinçli olarak seçilmiştir. Ayrıca, hava sızdırmazlığını garanti etmek için kavanoz kapağına bir O-ring conta takılmıştır. Kavanoz atmosferini sabitlemek için kullanılan kapak sıkma aparatı lazer kesim sacdan imal edilmiş ve bükülmüştür. Katalizör kesesi (Şekil 2.1f) lazerle kesilmiş metal halkalar ve paslanmaz çelik örgü ağlar kullanılarak imal edilmiştir. Kontrol ve analiz algoritmaları C ve C++ programlama dilleri kullanılarak kodlanmış ve gömülü sisteme entegre edilmiştir. Yazılımla ilgili daha fazla ayrıntı önerilen yöntem bölümünde bulunabilir. Şekil 2.1h'de gerçek sisteme ait bir görsel paylaşılmıştır.



Şekil 2.1. ABAKÜS sisteminin şematik gösterimi: (a) Basınçlı gaz kaynağı, (b) Bağlantı manifoldu, (c) Kontrol ünitesi ve Kullanıcı arayüzü, (d) Anaerobik kavanoz ve Kapak sıkma aparatı, (e) Kavanoz soketi, (f) Katalizör kesesi, (g) Blok şema, (h) Test edilen cihaz.

2.1.2. Temel Sistem Özelliklerinin Klinik Validasyonu

Sunulan sistem mikrobiyal yetiştirme için iki temel atmosferik seçenek sunmaktadır: anaerobik ve mikroaerofilik. Tasarlanan yetiştirme sisteminin atmosferik özelliklerini doğrulamak için bir dizi kültürleme deneyi gerçekleştirilmiştir. Deneylerin planlama aşamalarında, aday bakteri suşları bilinçli olarak zorunlu anaeroblardan seçilmiştir. Bu yaklaşımın altında yatan temel gaye ABAKÜS sisteminin kültürleme kapasitesini test etmek için en kötü durum senaryosunun oluşturulmasıdır. Zorunlu anaeroblar büyümek için kesinlikle anaerobik koşullara ihtiyaç duyan türler olduğundan, kavanoz gazlama sisteminin bu koşullar altındaki yetiştirme performansı güvenilir bir verimlilik göstergesi olarak kabul edilmiştir. Karşılaştırmalı bir performans değerlendirmesi sağlamak amacıyla, bakteri ekilmiş besiyerleri ABAKÜS ve konvansiyonel bir anaerobik gaz kesesi aracılığıyla eşzamanlı olarak kültürlenmiştir.

Performans testleri için seçilen standart Amerikan tipi bakteri kültür (ATCC) suşları aşağıdaki gibidir: *Bacteroides fragilis* (ATCC® 25285), *Prevotella bivia* (ATCC® 29303), *Cutibacterium acnes* (ATCC® 29399), *Peptoniphilus asaccharolyticus* (ATCC® 29743), *Finnegoldia magna* (ATCC® 29328), *Parvimonas micra* (ATCC® 33270), *Campylobacter jejuni* (ATCC® 33560). Bu organizmalar, yüksek hastalık yapma potansiyeline sahip patojenler olarak sınıflandırılmaları ve klinik deneylerin yürütüldüğü anaerobik bakteriyoloji laboratuvarının soğuk zincirinde stok türler olarak bulunmaları nedeniyle tercih edilmiştir. Suşların broth ekimini takiben, bakteri süspansiyonları (yaklaşık 1×10^8 CFU mL⁻¹) agarlı petri kaplarında (Brucella Agar, CM0271, Oxoid, Vitamin K1(phytemenadione) ve Hemin (sığırdan, ≥ 90 , H9039, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD)) alt kültüre alınmıştır. İlk seri agarlı petri kapları ABAKÜS sistemi tarafından oluşturulan anaerobik koşullarda 37 °C'de inkübe edilmiştir. İlk seri agarlı petri kaplarının ekimi sırasında, 12 gr pelet içeren çelik katalizör keseleri (Deoxo D, %0.5 Pd, Anco Catalysts, Bromsgrove, UK) rezidüel oksijeni uzaklaştırmak için kavanozlara yerleştirilmiştir. Ekimi yapılmış agarlı petrilerin ikinci serisi için GENBox tek kullanımlık poşetler (bioMerieux®, Marcy Etoile, Fransa) kullanılarak anaerobik bir atmosfer oluşturulmuş ve petri kapları 48 saat boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon aşamalarında, kavanozların anaerobik atmosferinin korunduğunu doğrulamak için redoksa duyarlı bir boya ile kaplı bir anaerobik test şeridi (Anaerotest™

Strips, 1323710001, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Her kavanoza yeni açılmış şeritler yerleştirilmiştir.

Ek olarak, kültürlenmiş mikroorganizmaların canlılığını inhibisyon zonları aracılığıyla göstermek için bir disk difüzyon testi yapılmıştır. Bu amaçla, farklı antibiyotik diskleri (Siprofloksasin, Azitromisin, Klindamisin, Gentamisin, Metronidazol, Tetrasiklin, Oxoid) seçilmiş ve *Campylobacter jejuni* suşunu içeren agar plakalarının yüzeyine yerleştirilmiştir. Bu bakteriyi yetiştirmek için ABAKÜS cihazının mikroaerofilik atmosfer oluşturma seçeneği kullanılmıştır.

2.1.3. Anaerobik Kavanoz Atmosferinin Gaz Değişim Modeli

ABAKÜS sisteminin kontrol ünitesi, vakumlama ve yer değiştirme döngüleri sırasında kavanozun gaz atmosferinde meydana gelen konsantrasyon değişikliklerini hesaplamak için ideal gaz yasasına dayalı bir dizi matematiksel ifade kullanmaktadır. Kavanoz ortamı ile kontrol ünitesi arasındaki geri besleme kanalları vakum basıncı hattı ve proksimal hattan meydana gelmektedir. Bu nedenle, yazılımda işletilen tüm matematiksel tanımlamalar basınç ölçümlerine dayalı olarak formüle edilmiştir. Geleneksel sistemlerin aksine, ABAKÜS sistemi gaz akışı ve boru uzunluğundan kaynaklanan ölçüm hatalarını önlemek için yardımcı bir basınç hattı içermektedir.

Kavanozdaki gaz konsantrasyonları kütlece yüzde olarak tanımlanmış ve bir vektör ile temsil edilmiştir. $\gamma_{Kavanoz}$ gaz konsantrasyonlarını içeren bir vektördür, $\gamma_{Kavanoz} = [\gamma_{O_2} \gamma_{N_2} \gamma_{Ar} \gamma_{H_2} \gamma_{CO_2}]$ ve her gaz değişim döngüsünden sonra güncellenir. Ventilasyon sırasında kullanılan anaerobik gaz karışımı için farklı bir konsantrasyon vektörü tanımlanmıştır ve şu şekilde verilmiştir: $\gamma_{Silindir} = [\gamma_{O_2} \gamma_{N_2} \gamma_{Ar} \gamma_{H_2} \gamma_{CO_2}]$. Anaerobik gaz karışımı oksijen veya argon içermemesine rağmen, vektörün boyutu algoritmik nedenlerle eşit olarak tanımlanmıştır ve bu gazların yüzdeleri $\gamma_{Silindir}$ için sıfır olarak sayılmıştır. Gazların molar kütlesi de vektör formunda belirtilmiştir: $M_{Gazlar} = [M_{O_2} M_{N_2} M_{Ar} M_{H_2} M_{CO_2}]$. Anaerobik kavanozdaki konsantrasyon değişiklikleri aşağıdaki denklemler kullanılarak modellenmiştir:

$$m_{Kavanoz_i}(\theta + 1) = \left(\frac{(P_{Atm} - P_{Vak}) \cdot V_{Kavanoz}}{R \cdot T} \right) \cdot \gamma_{Kavanoz_i}(\theta) \cdot M_{Gazlar} \quad (1)$$

$$m_{Kavanoz}(\theta + 1) = \sum_{i=1}^k m_{Kavanoz_i}(\theta + 1) \quad (2)$$

$$\Delta P_{Kavanoz} = P_{Atm} - P_{Vak} \quad (3)$$

$$m_{Silindir_i} = \left(\frac{(P_{Atm} - \Delta P_{Kavanoz}) \cdot V_{Kavanoz}}{R \cdot T} \right) \cdot \gamma_{Silindir_i} \cdot M_{Gazlar_i} \quad (4)$$

$$m_{Silindir} = \sum_{i=1}^k m_{Silindir_i} \quad (5)$$

$$m_{Toplam}(\theta + 1) = m_{Kavanoz}(\theta + 1) + m_{Silindir} \quad (6)$$

$$\gamma_{Kavanoz_i}(\theta + 1) = \frac{m_{Kavanoz_i}(\theta + 1) + m_{Silindir_i}}{m_{Toplam}(\theta + 1)} \quad (7)$$

Burada θ ve $\theta + 1$ sırasıyla mevcut ve sonraki gaz değişim döngülerini, i konsantrasyon ve molar kütle vektörlerinin indeksini, m giren ve çıkan gazların kütlelerini, P_{Atm} atmosfer basıncını, P_{Vak} vakum basıncını, $\Delta P_{Kavanoz}$ kavanoz içindeki basınç değişimini, $V_{Kavanoz}$ kavanoz hacmini, R ve T sırasıyla molar gaz sabitini ve kavanoz ortamının sıcaklığını temsil etmektedir. Hesaplamalarda tüm basınç değerleri mutlak basınç olarak ifade edilmiştir. Kavanoz konsantrasyon vektörünün başlangıç değerleri, atmosferik gaz karışımının GC/MS ölçümlerine bağlı olarak belirlenmiştir. Borulardaki ölü hacimlerin hesaplama üzerindeki etkisi önemli görülmemiş ve bu nedenle dahil edilmemiştir.

2.2. Pd/Al₂O₃ Katalizörün Mikrokinetik Modellenmesi

Tasarım ve deneysel aşamalar boyunca, gözlemler sürekli olarak paladyum katalizörünün tahliye ve değiştirme süreci üzerindeki belirleyici etkisini göstermiştir. Bu nedenle, daha iyi bir model oluşturmak ve etkili tahmin sonuçları elde edebilmek adına paladyum katalizörün kapsamlı bir perspektiften incelenmesine karar verilmiştir. Bu amaçlar doğrultusunda, ABAKÜS sisteminde kullanılan katalizörler ilk olarak malzeme bilimi ve yüzey kimyası bağlamında incelenmiştir. Daha sonra, kavanozda meydana gelen yüzey reaksiyonu hesaplamalı kimya yaklaşımı kullanılarak modellenmiştir.

2.2.1. Paladyum Katalizörün Karakterizasyonu

Paladyum veya diğer asil metallerle katkılanmış heterojen katalizörler uzun yıllardır kimya endüstrisinde çok sayıda süreçte kullanılmaktadır [67]. Anaerobik bakteriyoloji kapsamında, sıklıkla deoksijenasyon katalizörleri olarak kullanılmaktadırlar. Heterojen

tanımı temelde reaksiyonun gerçekleştiği yüzey arayüzü ile ilgilidir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi, farklı gaz türleri, geçiş metalinin indirgeyici etkisiyle katalizör tarafından sağlanan katı bir yüzey üzerinde birbirlerine bağlanır. Reaktanlar ve katalizör yapısı arasındaki bu faz farklılıkları heterojenliği oluşturur. Yüzey reaksiyonlarının nano ölçekli dünyasında, gaz veya sıvı türleri boş alanlarda birbirleriyle etkileşime girmektedir. Boş bölgeler kristal yapılarıdaki safsızlıklar olarak görülebilir. Bu kusurlar aktif bölgeler olarak da adlandırılır ve katalizör gövdesinin çok küçük bir bölümünü oluştururlar. Bu tür yüzeyler oluşturmak için, destek malzemesi olarak kullanılan ikili kristal yapı bir soy metal ile işlenir. Destek malzemesi aynı zamanda gözenekli yapısı sayesinde üretim hızını arttırmak için geniş bir yüzey alanı sağlar [68].

Vakumla ve yer değiştir sistemlerinde en yaygın kullanılan heterojen katalizör kombinasyonu Pd/Al₂O₃'tür. Bu tür bir katalizör nispeten düşük (örn. oda veya vücut) sıcaklıklarda oksijen ve hidrojen rekombinasyon reaksiyonlarının oluşmasını sağlar. Bu reaksiyonlarla ilgili detaylı açıklama ilerleyen bölümlerde verilmiştir. Çalışmamızda oksijen gazı giderimi için %0.5 katkılı alümina peletler kullanılmıştır. Üretici firma (Anco Catalysts) tarafından sağlanan teknik verilerden elde edilen malzeme bilgileri Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Katalizör Bilgileri

Ürün Kodu	Pd Oranı [%]	Yüzey Alanı [m ² g ⁻¹]	Por Hacmi [mL g ⁻¹]	Uygulama Alanı
Deoxo D-4586	0.5	100 ^(a)	0.35 ^(a)	Anaerobik atmosferlerde H ₂ /N ₂ 'den O ₂ 'nin uzaklaştırılması

^(a) Yaklaşık

Bu verileri doğrulamak ve modelleme için ek kimyasal ve morfolojik veriler elde etmek amacıyla çeşitli malzeme analizleri yapılmış ve yorumlanmıştır. Tüm karakterizasyon adımları sırasında, taze fırınlanmış katalizör peletleri incelenmiştir

2.2.1.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri

Elektron mikroskobuna dayalı morfolojik inceleme, yüzey bilimi alanında sıklıkla kullanılan oldukça detaylı veriler sağlayan bir yöntemdir. SEM ayrıca nanometre

ölçeğinde bir çözünürlükle, incelenen numunelerin yüzey yapısı hakkında çok değerli bilgiler sağlar. Katalizör peletlerinin morfolojik incelemesi, enerji dağıtıcı X-ışını spektroskopisi (EDS) detektörüne sahip bir ZEISS EVO MA 10 taramalı elektron mikroskobu (Jena, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu detektör, gözlemlenen yüzeylerin elementer analizine olanak sağlamaktadır. Görüntüleme öncesinde, yüzeylerde elektron birikimini önlemek için katalizör peletleri Au/Pd karışımı ile kaplanmıştır. Kaplama için bir Quorum SC7620 püskürtmeli kaplayıcı kullanılmıştır. Kaplama malzemesinin paladyum içeriğiyle ilişkili EDS hatasını en aza indirmek için kaplama süresi ve akımı nispeten düşük değerlerden (30 sn ve 18 mA) seçilmiştir.

2.2.1.2. X-ışını Kırınım (XRD) Analizi

X-ışını kırınım analizi tahribatsız bir analiz yöntemidir ve malzemelerin kristal yapısının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Katalizörlerin bazı kristal yüzeyleri, reaksiyon ara ürünlerine diğer yüzeylerden daha düşük bir enerji bariyeri sağlar [69]. Katalizör biliminde, bu favori kristal yüzeylerinin belirlenmesi, katı-gaz etkileşimlerinin dinamik davranışının karakterizasyonu ve reaksiyon modeli parametrelerinin hesaplanması için büyük önem taşımaktadır [70].

Katalizörün kristal yapısını gösteren kırınım pikleri bir SHIMADZU XRD-6100 X-ışını difraktometresi (Nakagyo-ku, Kyoto, Japonya) kullanılarak elde edilmiştir. XRD-6100 bir $\text{CuK}\alpha$ radyasyon ($\lambda = 0.15406 \text{ nm}$) hedefi ile donatılmıştır. Kırınım sinyalleri, 0.02 örnekleme aralığı ile 5° ve 80° arasında toplanmıştır. Ölçümler 40 kV gerilim ve 30 mA akım koşulları altında gerçekleştirilmiştir.

2.2.1.3. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS) Analizi

Kültürleme ortamındaki atmosferik gazların konsantrasyonları ve gaz değişimi için kullanılan anaerobik gaz karışımının konsantrasyonu, tahmin hesaplamaları yapılırken dikkate alınması gereken önemli faktörlerdir. Simülasyon deneyleri için güvenilir girdi parametreleri elde etmek amacıyla bir dizi GC/MS analizi gerçekleştirilmiştir. Gaz numunelerini taşımak için bir akış kontrol valfi ile donatılmış minyatür bir basınç kabı imal edilmiştir. GC/MS analizi, sıvı veya gaz karışımlarının konsantrasyonunu belirlemek için kullanılan güvenilir bir analitik test yöntemidir. Ölçümler sırasında Agilent 6890N gaz kromatografisi (Santa Clara, CA, ABD) kullanılmıştır. Cihazın kurulum

parametreleri aşağıdaki gibidir: Taşıyıcı gaz (Ar) akış hızı: 20 mL/dk, Detektör sıcaklığı: 250 °C, Fırın sıcaklığı: 250 °C, Enjeksiyon gazı hacmi: 1 mL. Cihaz, analizden önce sabit gaz akışı (0.5 mL dk^{-1}) altında özel bir gaz karışımı (%1.02 H₂, %5.13 CO₂, %10.25 O₂, N₂ (Balans)) ile kalibre edilmiştir. Giriş koşullarını belirlemek için iki farklı gaz karışımı analiz edilmiştir. Kromatografi ölçümlerinin sonuçları Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2. GC/MS Sonuçları

Gaz Karışımları	Konsantrasyonlar (%)			
	N ₂	O ₂	CO ₂	H ₂
Atmosferik Gaz Karışımı ^(a)	81.051	18.949	0.000	0.000
Anaerobik Gaz Karışımı ^(b)	84.404	0.000	10.680	4.916

^(a) Laboratuvar atmosferi; ^(b) ABAKÜS sistemine bağlı olan gaz karışımı.

2.2.2. Modelleme Yaklaşımı

Yapısal açıdan bakıldığında, anaerobik kavanoz gazlama sistemleri, sürekli reaktan akışı olmayan bir tür sabit yataklı katalitik reaktör sistemi olarak görülebilir. Kontrollü koşullar altında (örneğin, sıcaklık, basınç ve reaktan konsantrasyonları), böyle bir reaktör sisteminde, üretim oranlarını etkileyen en önemli faktör heterojen katalizördür. Katalizör davranışını ve meydana gelen yüzey reaksiyonunu tahmin etmek için, genellikle hesaplama ve deneysel bulguları birleştiren çok ölçekli bir modelleme yaklaşımı kullanılır [71]. Bu metodoloji, nano ölçekten (elektronik yapı ve moleküler dinamikler) makro ölçeğe (CFD) kadar geniş bir yelpazedeki inceleme aşamalarını kapsamaktadır [72][73]. Aşağıdaki bölümler veri odaklı ve çok ölçekli modelleme yaklaşımımızın ayrıntılarını sunmaktadır.

2.2.2.1. Yüzey Reaksiyonu Mekanizması

Heterojen bir katalizör üzerinde gerçekleşen yüzey reaksiyonunda, reaksiyon ürünleri birkaç temel reaksiyon adımının tamamlanmasıyla oluşur. Reaksiyonların en başında, reaktördeki gaz türleri (bizim durumumuzda O_2 ve H_2) katalizörün kristal yapısı üzerindeki boş bölgelere adsorbe olur. Daha sonra, bu yüzey türleri temel reaksiyon adımının minimum enerji yoluna göre birbirleriyle etkileşime girer. Son olarak, üretilen molekül katalizör yüzeyinden derhal desorbe edilir. Bu yüzey reaksiyonu mekanizması, yüzey kimyasında en çok kullanılan reaksiyon mekanizmalarından biridir ve Langmuir-Hinshelwood mekanizması olarak adlandırılır [74]. Langmuir mekanizmasına uygun olarak paladyum yüzeyleri üzerinde H_2 ve O_2 'den H_2O oluşumunun temel reaksiyon adımları Denklem (9)-(14)'te özetlenmiştir.

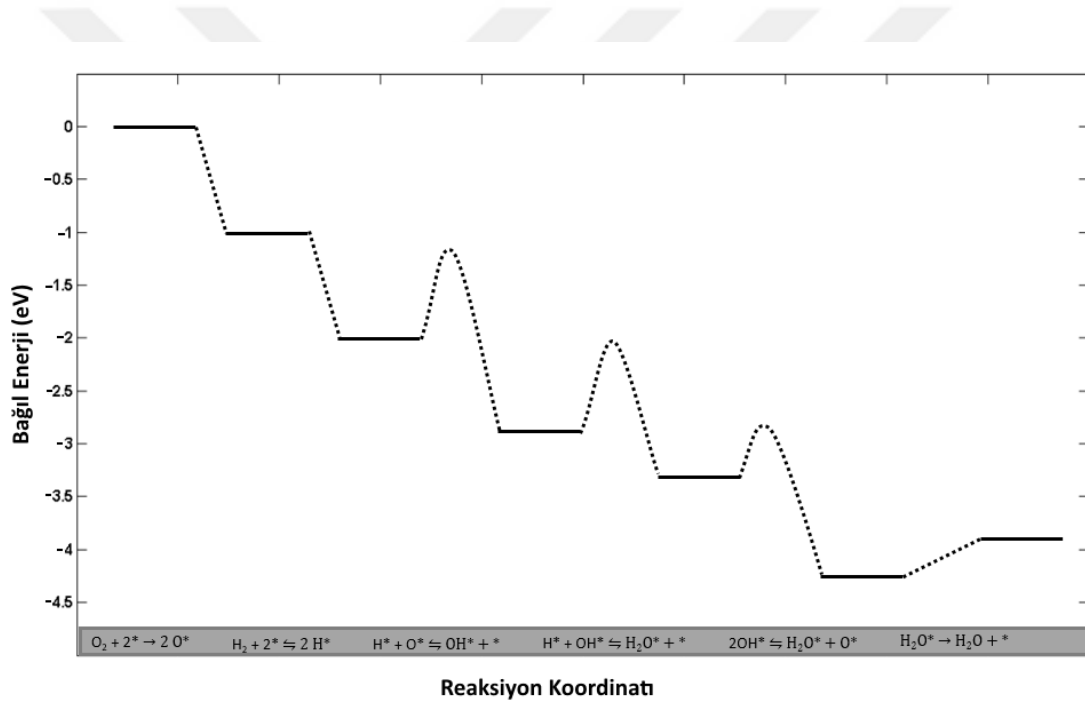


Yukarıda bahsedilen reaksiyon şeması, platin grubu metal yüzeylerde hidrojen oksidasyon reaksiyonuna odaklanan hesaplamalı kimya çalışmalarından seçilmiştir [75][76]. Birinci ve ikinci reaksiyon adımları gaz türlerinin ayrışmalı adsorpsiyonunu göstermektedir. Kalan reaksiyon adımları, zayıf bağlanmış yüzey atomlarının metal atomlarıyla etkileşimlerini göstermektedir. Asterisk sembolü katalizör yüzeyindeki boş alanları göstermektedir. Mikrokinetik model hesaplamaları bu reaksiyon adımları temel alınarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.1. Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) Hesaplamaları

Yoğunluk fonksiyonel teorisi hesaplamaları, katalizörlerin yapısına atomistik düzeyde kapsamlı bir bakış açısı sağlar. Heterojen kataliz çalışmalarında, DFT benzetimleri

genellikle daha gerçekçi modeller oluşturmak için deneysel sonuçlarla birleştirilir. Bu çalışmada, geçiş durumu teorisi ile tanımlanan temel reaksiyonların belirli mikrokinetik model parametreleri, kimyasal fizik literatüründe belgelenen DFT çalışmalarından elde edilmiştir. Bu çalışmalarda sunulan sayısal veriler termodinamik değerlendirme yoluyla doğrulanmış ve uyarlanmıştır. Dietze ve arkadaşlarının Pd(111) yüzeylerinde su oluşumuna odaklanan çalışması [75] bu bağlamda referans olarak alınmıştır. Önceki bölümde özetlenen temel reaksiyon adımlarının ön-eksponansiyel faktörünü türetmek için, yüzey reaksiyonlarının titreşimsel entropi değerleri, bu araştırma tarafından sağlanan reaksiyon ara maddelerinin titreşim frekansları kullanılarak hesaplanmıştır. Temel reaksiyonların enerji diyagramı (Denklem (9)-(14)) Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Paladyum katalizörü üzerinde H₂O oluşum adımlarının enerji diyagramı [75].

İleri reaksiyon hızlarının ön-eksponansiyel faktörü (β_f) Denklem (15) ile hesaplanmıştır. Bu ifadede, k_B ve T sırasıyla Boltzmann sabiti ve reaksiyon sıcaklığıdır ve h Planck sabitini göstermektedir. Moleküler dinamiklerle bağlantılı anahtar parametre, ilgili reaksiyon adımının titreşimsel entropisidir ($\Delta S_f^{o\ddagger}$).

$$\beta_f = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot \exp\left(\frac{\Delta S_f^{o\ddagger}}{k_B}\right) \quad (15)$$

Titreşim modları, adsorbe olmuş yüzey ara maddesi için entropi katkısının büyük kısmını oluşturur. Bu nedenle, entropi ifadesi $\Delta S_f^{o\ddagger} = S_{AB^\ddagger}^o - (S_{A^*}^o + S_{B^*}^o)$ geçiş halinin ($S_{AB^\ddagger}^o$) ve reaktanların ($S_{A^*}^o, S_{B^*}^o$) titreşimsel entropileri kullanılarak hesaplanmıştır. Burada, entropi tanımları şu şekilde verilen temel bir reaksiyona aittir: $A^* + B^* \rightleftharpoons AB^*$. Yüzey kimyasında, DFT veya deneyler tarafından sağlanan titreşim frekansları, yüzey türlerinin entropilerini belirlemek için sıklıkla harmonik normal mod yaklaşımı ile ele alınır. Çalışmada kullanılan yaklaşım ifadesi ile verilmiştir:

$$S_{vib} = k_B \cdot \sum_i^{N_{mode}} \left(\frac{x_i}{\exp(x_i) - 1} - \ln(1 - \exp(-x_i)) \right) \quad (16)$$

Burada x_i her bir titreşim modunun entropi katkısını temsil eder ve bu parametre şu şekilde ifade edilir:

$$x_i = \frac{h \cdot v_i}{k_B \cdot T} \quad (17)$$

Burada v_i yüzey ara maddelerinin titreşim frekanslarını, N_{mode} titreşim modlarının sayısını, i ise $3N_i - 5$ (Doğrusal moleküller) ve $3N_i - 6$ (Doğrusal olmayan moleküller) ifadeleri ile tanımlanan titreşim modlarının indeksini göstermektedir.

2.2.2.2. Mikrokinetik Modelleme Detayları

Mikrokinetik simülasyonlar Filot ve arkadaşları [77] tarafından geliştirilen MKMCCX yazılımı (sürüm 1.54) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir temel reaksiyon adımı için ayrı reaksiyon hız sabitleri hesaplanmış ve genel reaksiyon davranışı analiz edilmiştir. Adsorpsiyon ve desorpsiyon süreçlerini içeren temel reaksiyonlar (Denklem (9) ve (10)) çarpışma teorisine dayalı Hertz-Knudsen tipi denklemlerle modellenmiştir [78]. Diatomik gazların adsorpsiyonu için Rate sabitleri (k_{ads}) aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$k_{ads} = \frac{A_{site} \cdot S}{\sqrt{2 \cdot \pi \cdot m \cdot k_B \cdot T}} \cdot \exp\left(-\frac{E_{ads}}{k_B \cdot T}\right) \quad (18)$$

Burada S ve A_{site} sırasıyla yapışma katsayısı ve yüzey alanı, k_B Boltzmann sabiti, T reaksiyon sıcaklığı, m molekülün kütlesi, E_{ads} molekülün adsorpsiyon enerjisidir. İlgili literatürde, adsorpsiyon süreçleri genellikle aktif olmayan bir reaksiyon adımı olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, üstel terim genellikle dikkate alınmaz [79]. İki atomlu bir gaz molekülü için desorpsiyon hızı şu şekilde tanımlanmıştır:

$$k_{des} = \frac{k_B \cdot T^3}{h^3} \cdot \frac{A_{site} \cdot (2 \cdot \pi \cdot m \cdot k_B)}{\sigma \cdot \theta_{rot}} \cdot \exp\left(-\frac{E_{des}}{k_B \cdot T}\right) \quad (19)$$

Burada k_{des} reaksiyon (desorpsiyon) hızını, σ ve θ_{rot} sırasıyla rotasyonel simetri faktörü ve rotasyonel sıcaklık, h Planck sabiti, E_{des} ise molekülün desorpsiyon enerjisini ifade etmektedir [80]. Yüzey alanını hesaplamak için Denklem (20) kullanılmıştır [81]. A_{site} için alan başına 10^{-15} cm^2 'lik bir A_{site} değeri pratik hesaplamalarda kullanılabilir [82]. Burada L , XRD ölçümlerinden hesaplanan kristalit boyutunu, d ve m sırasıyla paladyumun atomik yarıçapı ve atomik kütlesini, ρ metal atomunun yoğunluğunu ve N_{Av} Avogadro sayısını gösterir.

$$A_{site} = 0.6 \cdot \left(\frac{d \cdot m}{\rho \cdot N_{Av} \cdot L}\right) \quad (20)$$

Hesaplamalarda kullanılan desorpsiyon enerjileri, paladyum katalizörleri üzerindeki yüzey reaksiyonlarına odaklanan çeşitli çalışmalardan toplanmıştır [83][84]. Yüzey reaksiyonlarının ileri ve geri hızlarını belirlemek için (Denklem (11) - (14)) geçiş durumu teorisi (TST) tabanlı bir ilişki kullanılmıştır. Reaksiyon hızının matematiksel ifadesi aşağıdaki gibidir:

$$k_{f,b} = \beta_{f,b} \cdot \exp\left(-\frac{E_{f,b}}{R \cdot T}\right) \quad (21)$$

Burada f ve b harfleri ileri ve geri reaksiyonları, β ön-eksponansiyel faktörü (veya frekans faktörünü), E temel reaksiyonun aktivasyon bariyeri yüksekliğini, R molar gaz sabitini ve

T reaksiyon sıcaklığını göstermektedir. İleri ve geri reaksiyon hızları için denge koşullarını garanti etmek amacıyla, mikrokinetik model hesaplaması termodinamik denge sabitine dayalı olarak gerçekleştirilmiştir. Burada denge sabiti K_{equ} olarak verilmiştir:

$$K_{equ} = \frac{k_f}{k_b} \quad (22)$$

Ayrıca denge sabiti, reaksiyonların *Gibbs* serbest enerjisi ile reaksiyon entropisi ve entalpisi arasındaki ilişkiyi tanımlar [85]. K_{equ} şu şekilde yeniden yazılabilir:

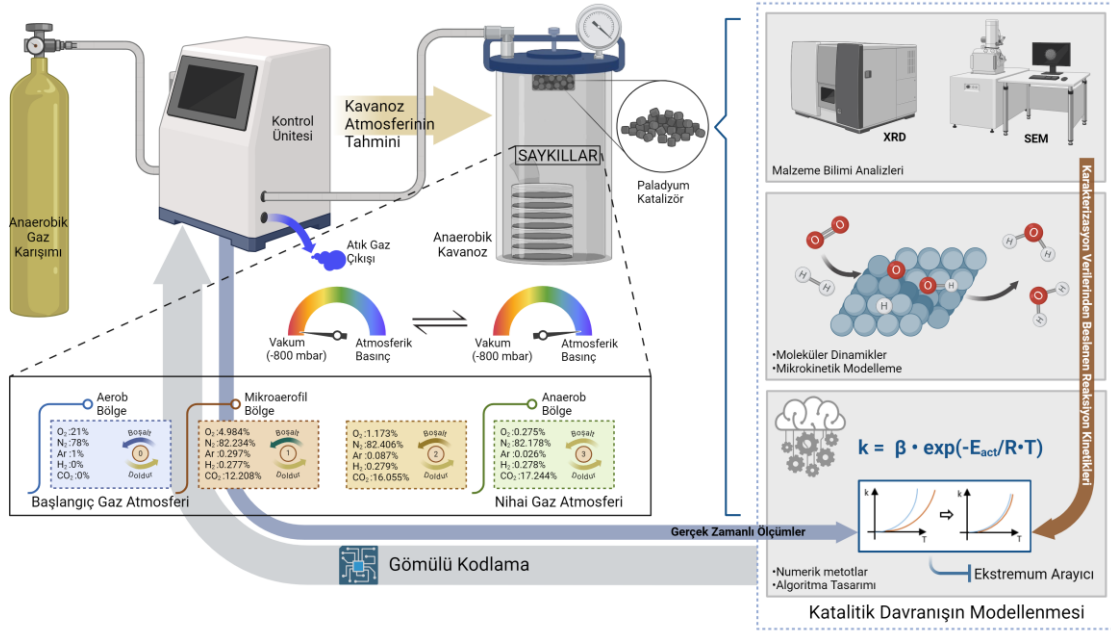
$$K_{equ} = \exp\left(\frac{-\Delta G^o}{k_B \cdot T}\right) = \exp\left(\frac{\Delta S^o}{k_B}\right) \cdot \exp\left(\frac{-\Delta H^o}{k_B \cdot T}\right) \quad (23)$$

Burada ΔG^o , ΔS^o , ΔH^o sırasıyla standart *Gibbs* serbest enerjisi, entropi ve entalpideki değişiklikleri temsil etmektedir. Gaz konsantrasyonları (kısmi basınçlar yoluyla) ve sıcaklık aralıkları (18°C - 37°C) dahil olmak üzere geri kalan benzetim parametreleri ABAKÜS tarafından yönetilen gaz değişim döngülerinin matematiksel modeli aracılığıyla belirlenmiştir.

2.2.2.3. Önerilen Tahminleme Algoritması

Anaerobik kavanozda kalan oksijen içeriğini tahmin etmek için hibrit bir yaklaşım tercih edilmiştir. Bu yaklaşımın ilk adımı, paladyum katalizör davranışının ilk prensipler hesaplamasına dayalı mikrokinetik modellemesidir; ikinci adım ise model ile gerçek sistem çıktıları arasındaki reaksiyon hızı farklarının minimize edilmesidir. Bu açığı kapatmak için, hız denkleminin parametreleri modelden bağımsız ve gerçek zamanlı bir eniyileme yaklaşımı kullanılarak ayarlanmıştır. Sayısal eniyileme, deterministik bir ekstremum arayıcı algoritmanın ayrık formu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, ayarlanan denklem tahmin için kullanılmıştır. Ekstremum arayıcı algoritması, gradyan inişi temelli bir eniyileme yöntemidir. Temel olarak, sistem değişkenlerini manipüle etmek ve aynı anda sistem yanıtını gözlemlemek için sinüzoidal bir pertürbasyon sinyali kullanır. Bu gözlemlerin yorumlanmasının ardından, algoritma parametrelerin optimum seviyelerini belirlemeye çalışır. Sıklıkla, parametrelerin ayarlama oranları bir maliyet

fonksiyonu aracılığıyla belirlenir [86]. Önerilen yaklaşımın görsel bir özeti Şekil 2.3'te verilmiştir.



Şekil 2.3. Önerilen metodun grafiksel gösterimi

Modelleme bölümünde daha önce özetlendiği gibi, Langmuir-Hinshelwood yüzey reaksiyon mekanizması birkaç temel reaksiyon adımından oluşur. Bu adımlardan biri hız belirleyici adım (RDS) olarak adlandırılır. RDS baskın bir reaksiyon adımıdır ve katalitik reaksiyonun genel davranışını temsil etmek için kullanılabilir. RDS'nin reaksiyon hızı Arrhenius tipi bir denklem ile tanımlanmıştır. Bu ifadenin iki ana katsayısı vektör formunda sunulmuştur, θ katsayı vektörüdür: $\theta = [E_{act}, \beta]^T$. Arrhenius denklem katsayılarının sayısal eniyilemesi için kullanılan ve [87][88] referans numaralı kaynaklardan adapte edilen matematiksel ifadeler şu şekilde verilmiştir:

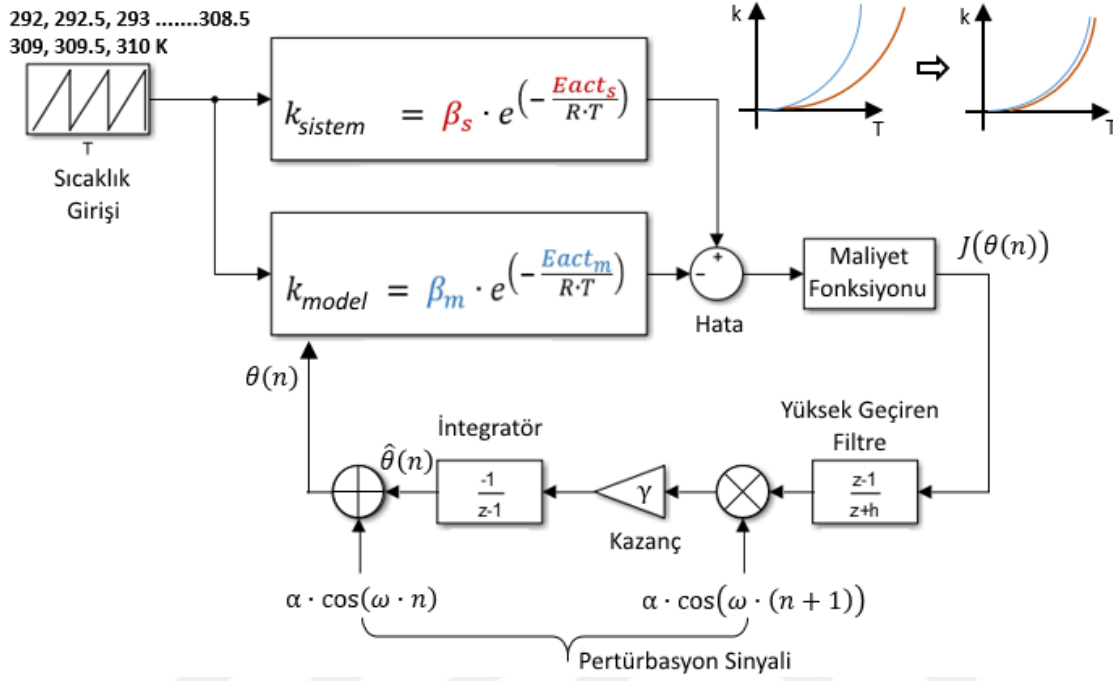
$$\xi(n) = -h \cdot \xi(n-1) + J(n-1) \quad (24)$$

$$\hat{\theta}_t(n+1) = \hat{\theta}_t(n) - \gamma_t \cdot \alpha_t \cdot \cos(\omega_t \cdot n) \cdot [J(n) - (1+h) \cdot \xi(n)] \quad (25)$$

$$\theta_t(n+1) = \hat{\theta}_t(n+1) + \alpha_t \cdot \cos(\omega_t \cdot (n+1)) \quad (26)$$

Burada t katsayı vektörünün indeksini, n iterasyon sayısını, ζ sapma seviyesini, $J(n)$ ifadesi n 'inci iterasyonun hata değerini göstermektedir. θ her bir parametre için optimize

edilmiş değeri, ω pertürbasyon frekansını (rad s^{-1}), γ ve α sırasıyla tahmin kazancını ve pertürbasyon adım boyutunu, h ise yüksek geçiren filtre paydasını ifade etmektedir. Ekstremum arayıcı tabanlı optimizasyon şeması Şekil 2.4 'de gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Ekstremum arayıcı eniyileme şeması

Sağlam bir eniyileme sağlamak için, modülasyon frekansı ve filtre katsayısının belirlenmesi sırasında bazı sınırlamaların dikkate alınması gerekmektedir. Modülasyon frekansı takip eden ifadeye göre belirlenmelidir: $\omega = a^t \cdot \pi$. Burada a , $0 < |a| < 1$ aralığında skaler bir sayıdır. Yüksek geçiren filtre $0 < h < 1$ aralığı içerisinde tanımlanmalıdır. Ekstremum arama algoritmasının mikrodenetleyici tabanlı dijital bir sistemde uygulanmasını kolaylaştırmak için algoritmanın ayrık bir formu kullanılmıştır. Arrhenius tipi ilişki, reaksiyon hızının sıcaklığa bağımlılığını ifade eder; bu nedenle, k-T grafiklerini çizmek için 0.5 Kelvin çözünürlükte iteratif bir sıcaklık girişi uygulanmıştır. Bu cevap eğrileri hata terimini hesaplamak için kullanılmıştır. Hata parametresi aynı zamanda algoritmanın yakınsama verimliliğini değerlendirmek için kullanılan maliyet fonksiyonu için de bir girdi olarak kullanılmıştır. Maliyet fonksiyonu olarak aşağıdaki gibi tanımlanan bir kök ortalama kare hata tanımı seçilmiştir:

$$J(n) = \sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{(k_{sistem} - k_{model})^2}{N}} \quad (27)$$

Burada N sıcaklık giriş dizisinin boyutunu ve $J(n)$ her bir iterasyon için hesaplanan maliyet değerini göstermektedir. Ekstremum arayıcı yöntemi iteratif bir optimizasyon tekniğidir. Optimizasyon sürecinin kök ortalama kare hatası önceden tanımlanmış sonlandırma kistasına (yaklaşık 10^{-4}) ulaştığında iterasyonlar sonlandırılmıştır.

ABAKÜS kontrol ünitesi, kavanoz sızdırmazlığının ve Pd/Al₂O₃ katalizör kesesinin katalitik aktivitesinin kabul edilebilir düzeyde olduğunu garanti edebilmek adına bir dizi kalite güvence testi gerçekleştirir. Bu test adımları sırasıyla sızıntı ve katalizör testleri olarak adlandırılır. Test adımlarının süresi, gaz değişim işlemi başlamadan önce kullanıcı arayüzünden seçilir. Katalizör testi sırasında kavanoz belirli miktarda anaerobik gaz karışımı ile doldurularak rekombinasyon reaksiyonunun gerçekleşmesi sağlanır. Katalizör testi sırasında gözlemlenen basınç kaybı, kavanoz içinde oluşan H₂O miktarının dolaylı bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu ölçüme dayanarak, paladyum üzerinde üretilen H₂O'nun molar kesri (Δn) Denklem 28 aracılığıyla hesaplanmıştır. Katalitik reaksiyonun (k_{sistem}) hız ifadesi, ilgili basınç kaybı ($\Delta P_{kayıp}$), katalizör test süresi (Δt_{kat_test}) ve klinik ortam sıcaklığı (Denklem 29) ile dönüşüm frekansı (TOF, mol s⁻¹) hesaplanarak elde edilmiştir. TOF değeri heterojen kimyada kullanılan bir katalitik aktivite ölçüsüdür.

$$\Delta n = \frac{\Delta P_{kayıp} \cdot V_{kavanoz}}{R \cdot T} \quad (28)$$

$$TOF = \frac{\Delta n}{\Delta t_{kat_test}} \quad (29)$$

Sistemin gerçek katalitik davranışı ile Arrhenius ifadeleri arasındaki ilişkiyi dayalı olarak oluşturulan matematiksel ifadeler Denklem (30) ve (31)'de gösterilmiştir. Reaksiyon hızı sabiti gösterilirken Arrhenius denkleminin lineer formu kullanılmıştır.

$$\ln(TOF_{@T_{tof}}) = \left[\left(-\frac{E_{acts}}{R} \cdot \frac{1}{T_{tof}} \right) + \ln(\beta_s) \right] \quad (30)$$

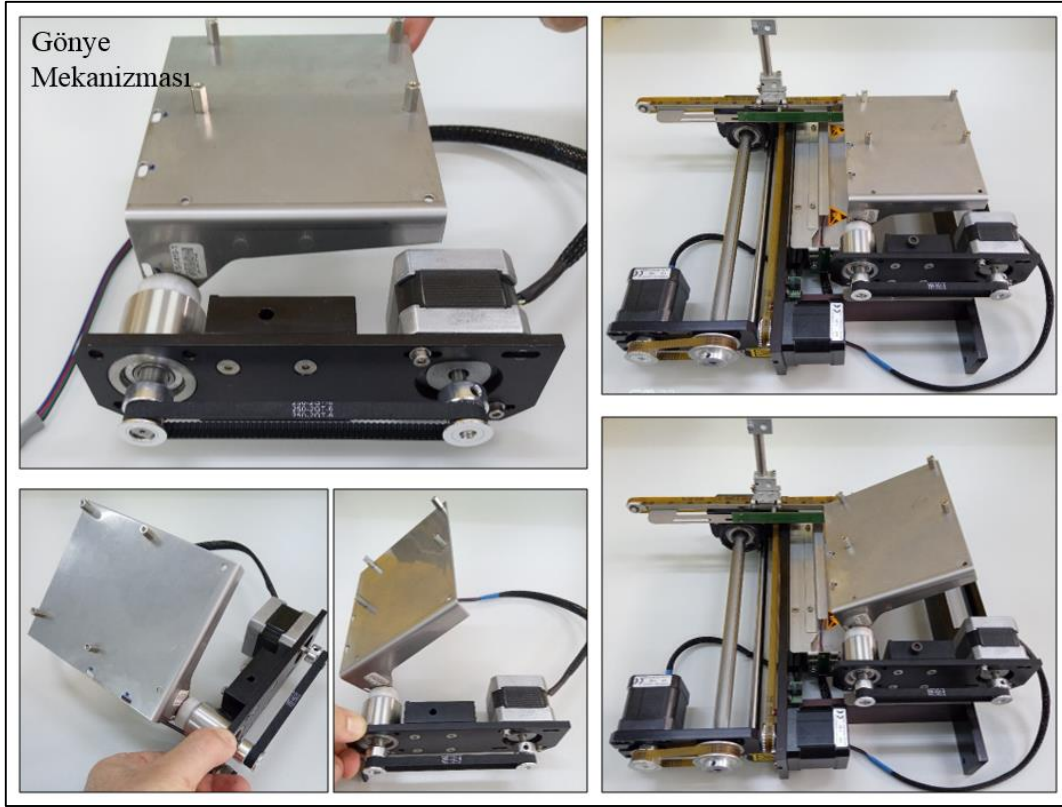
$$\ln(k_{sistem}) = \left[\left(\frac{\ln(k_{s@292K}) - \ln(TOF@T_{tof})}{\frac{1}{292} - \frac{1}{T_{tof}}} \cdot \frac{1}{T} \right) + \ln\left(\frac{k_B \cdot T_{tof}}{h}\right) \right] \quad (31)$$

Burada T_{tof} TOF ölçümlerinin alındığı sırada kaydedilen anlık sıcaklık değerini ve $k_{s@292K}$ ifadesi ile gösterilen değer ise, 292°K'de yapılan deneylerden elde edilen önceden tanımlanmış reaksiyon hız katsayısını temsil etmektedir. Önerilen yöntemin temel amacı, malzeme karakterizasyonu ve moleküler benzetimlerden oluşturulan bir reaksiyon modelini gerçek sistem çıktılarının rehberliğinde oluşturmak ve böylece kavanozun gaz atmosferini tahmin etmek için kullanılabilecek daha güvenilir bir davranış modeli geliştirmektir.

2.3. Görüntüleme Düzeneği Tasarımı

2.3.1. Gönye Mekanizması

Gönye mekanizması; üzerine takılan mikroakışkan çip, biyofilm akış haznesi veya mikro biyoreaktör bileşenlerini kullanıcı tarafından girilen eğim değerine getirmek amacıyla kullanılmaktadır. Gerçek zamanlı hücre görüntüleme ve antimikrobiyal duyarlılık çalışmalarında ihtiyaç duyulan bir mekanizmadır. Bilhassa bakteri hücrelerinin yer çekimi etkisi altında ve çeşitli eğim koşullarında oluşturmuş oldukları biyofilmlerin kalınlıkları ve morfolojileri değişkenlik göstermektedir. Bu yapısal değişikliklerin incelenmesi ve yorumlanması izlemeye tabi tutulan bakterilerin antimikrobiyal hassasiyetlerini tespit etmede önemli rol oynamaktadır. Bu mekanizmanın üretimine ilişkin temel motivasyonumuz klinik sahada manuel olarak ayarlanan tutunma açısını, serbestlik derecesi yüksek ve kontrollü bir tahrik mekanizması yardımıyla ayarlanabilecek şekilde tasarlamak üzerine olmuştur. Gönye mekanizmasını kontrol ve görüntüleme sistemimize entegre ederek daha efektif klinik çalışmalar için uygun hale getirmeyi hedefledik. Gönye mekanizması bir adet bipolar step motor ile tahrik edilmekte ve 0° - 75° arasında pozisyonlama yapabilmektedir. Sıfır konumu indüktif bir yaklaşım sensörü ile algılanmaktadır. Gönye mekanizmasının farklı açılardan görüntüleri ve eksen tahrik sistemi üzerine montajlanmış görünümü Şekil 2.5'te gösterilmiştir.

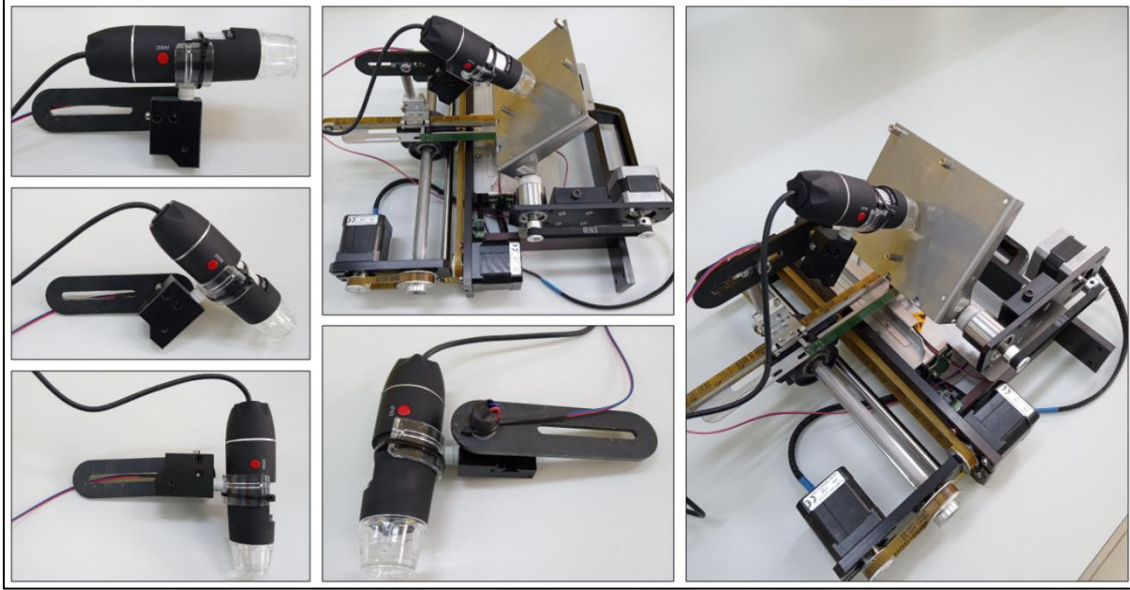


Şekil 2.5. Gönye Mekanizmasına ait Görünümler

2.3.2. Hareketli Dijital Mikroskop

Hücre ve bakteri görüntüleme sistemimizin önemli unsurlarından biri mikroskop bileşenidir. Gönye mekanizması üzerine yerleştirilen mikroakışkan çip üzerindeki herhangi bir lokasyon üzerinden canlı olarak inceleme yapma ve görüntü alma işlevlerini yerine getirebilmesi için kafa kısmı motorize edilerek hareketli hale getirilmiştir. Bunun yanı sıra iki farklı eklem noktasından hareket edebilen bir bağlantı aparatı ile eksen kontrol sistemi üzerine sabitlenebilmektedir. X-Y eksen kontrol mekanizması sayesinde bakteri kültürlenme, biyofilm oluşturma veya hücre gelişimi süreçleri çip üzerinde yer alan farklı kompartımanlara erişilerek izlem yapılabilmesinin ve veri toplanabilmesinin yolu açılmaya çalışılmıştır. Mikroskoba bağlı redüktörlü motor sayesinde dairesel hareket yapabilmektedir. Biyofilm akış haznesinin açısına bağlı olarak mikroskop kafa açısının ayarlanabilmesi optik odaklama için kritik önem taşımaktadır. Sistem üzerinde kullanılan dijital mikroskop USB portu üzerinden bilgisayara bağlanmakta ve grafik kullanıcı arayüzü üzerinden görüntüleme yapılabilir. Mikroskop 1600X büyütme oranına

sahiptir. Dijital mikroskop tahrik mekanizmasının farklı açılardan görüntüleri ve eksen tahrik sistemi üzerine montajlanmış görünümü Şekil 2.6’da gösterilmiştir.



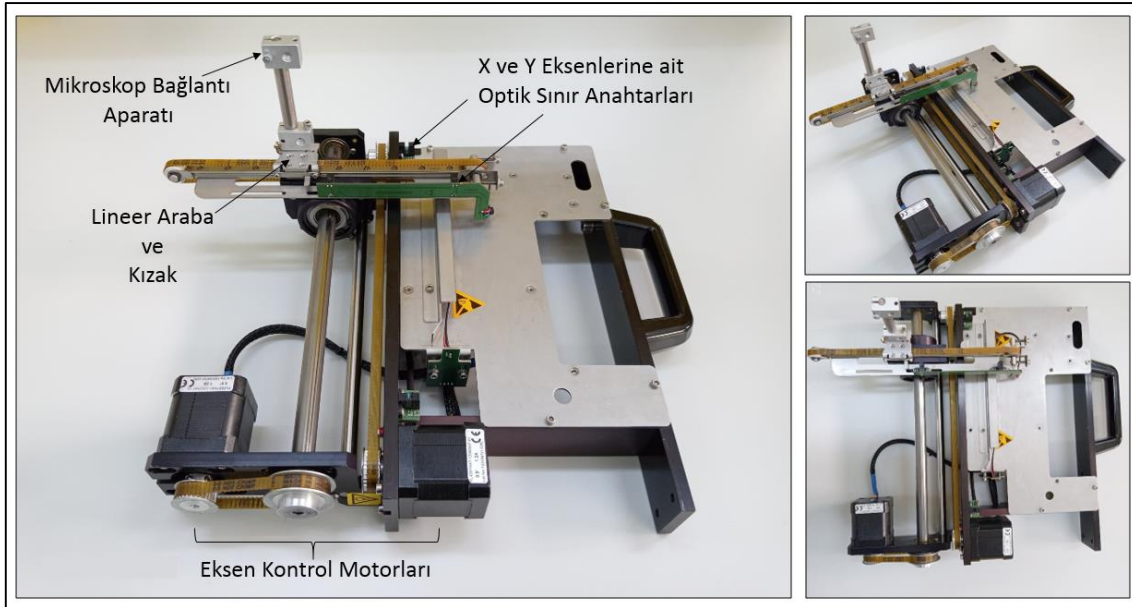
Şekil 2.6. Mikroskop Tahrik Mekanizması

2.3.3. Eksen Kontrol Mekanizması

Hücre kültürü ve çip üzerinde organ araştırmaları için tasarlamaya çalıştığımız mikro akışkan kontrol ve görüntüleme platformunun en önemli öğelerinden biri görüntüleme sistemi bileşenleri ve akışkan sistemi unsurlarının hareketinden sorumlu olan eksen kontrol sistemidir. Bu tahrik sistemi temelde X ve Y eksenlerinde mikron mertebesinde hassasiyetle hareketi mümkün kılan elektronik ve mekanik devre unsurlarından oluşmaktadır.

Hareket mekanizmasının tahriki iki adet bipolar step motor ile sağlanmaktadır. Motorların pozisyonlama çözünürlüğü mikro adım yaratma kabiliyetine sahip kırıyıcı tipte adım motoru sürücüler ile sağlanmaktadır. Eksen kontrol mekanizmasının sürücü donanımında TMC firmasına ait TMC2208 step motor sürücüsü kullanılmıştır. Bu sürücü adım hassasiyetinin piyasada var olan çoğu sürücüye nazaran yüksek oluşu ve yüksek frekanslı sürüşlerde sessiz çalışabilmesi sebebiyle tercih edilmiştir. Gönye mekanizmasında yer alan step motor da aynı şekilde bu sürücü ile tahrik edilmektedir.

Bağlantı aparatı üzerinde seyahat eden görüntüleme unsurlarının konumlaması ise tahrik sistemi üzerinde yer alan optik sınır anahtarları ile sağlanmaktadır. Görüntüleme prosesinin başında tüm eksenler bu anahtarlar yardımıyla sıfır pozisyonlarına getirildikten sonra yer değiştirme miktarı kayış-kasnak oranları ve sürücü katında seçilen adım hassasiyeti baz alınarak hesaplanmaktadır. Bu tahrik sistemi temelde minyatür bir CNC sistemi olarak görülebilir. Tüm tahrik sistemine modüler bir kabiliyet kazandırabilmek adına gönye, mikroskop ve manyetik karıştırıcı gibi unsurlar sistemde istenildiği zaman ayrılabilir şekilde tasarlanmıştır. Eksen tahrik mekanizmasının farklı açılardan görüntüleri Şekil 2.7’de verilmiştir.

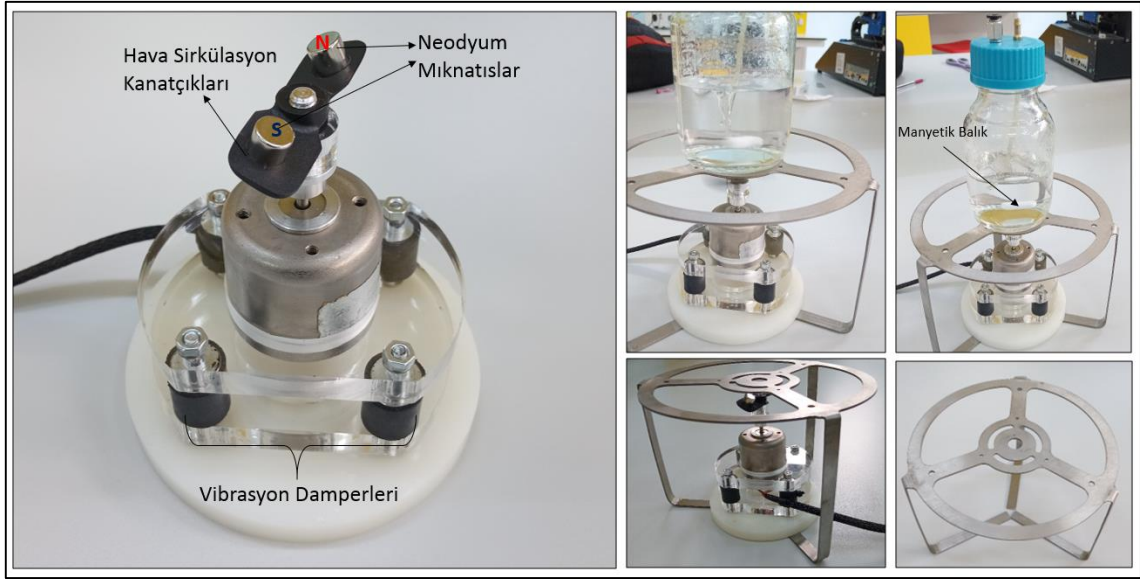


Şekil 2.7. X-Y Eksen Kontrol Mekanizması

2.4. Akışkan Kontrol Düzenekleri ile İlgili Tasarımlar

2.4.1. Manyetik Karıştırıcı Tasarımı

Görüntüleme ve akışkan kontrol sistemine yönelik olarak yapılan deneysel çalışmalarda biyofilm akış haznesine doğru akışkan kontrol düzeneği tarafından itilen sıvı besiyerinin statik olmasından ziyade besiyeri rezervuarının manyetik balık yardımıyla sürekli karışım vaziyetinde olmasının klinik anlamda daha etkili sonuçlar ürettiğine dair literatür bilgilerine ulaşılmıştır. Bu bilgilerin doğrulamasını yapabilmek adına bir manyetik karıştırıcı unsuru tasarlanmış ve üretilmiştir.



Şekil 2.8. Manyetik Karıştırıcı

Araştırma laboratuvarlarımızda yer alan konvansiyonel manyetik karıştırıcıları kullanmak yerine sıfırdan bir karıştırıcı üretimine yönelmemizin temel gayesi tüm sistem bileşenlerinin nihai aşamada bir kabin içerisinde çalıştırılacak olmasıdır. Hem hacim olarak kullanılan alanın kısıtlı olması hem de karıştırıcı devrinin gerçek zamanlı görüntüleme esnasında kullanıcı tarafından kontrol edilebilir veya farklı kültürlenme ve deney senaryolarına uyarlanabilmesine olanak tanımak adına böyle bir yaklaşım benimsenmiştir. Manyetik karıştırıcının maksimum devir sayısı ihtiyaçlar göz önüne alınarak 1200 RPM olarak belirlenmiştir. Ayrıca tasarlanan manyetik karıştırıcının üzerinde yer alan kanatçılar yardımıyla kabin içerisindeki ısıtılmış gaz karışımı besiyerinin yer aldığı kaba doğru yönlendirilmektedir. Bu sayede daha efektif bir ısı dağılımı sağlanması hedeflenmektedir. Şekil 2.8’de manyetik karıştırıcıya ilişkin görseller paylaşılmıştır. Karıştırıcının çalışma anında yaratmış olduğu vorteks yine görsellerden görülebilmektedir.

2.4.2. Mikroakışkan Kontrol Sistemi Donanımı

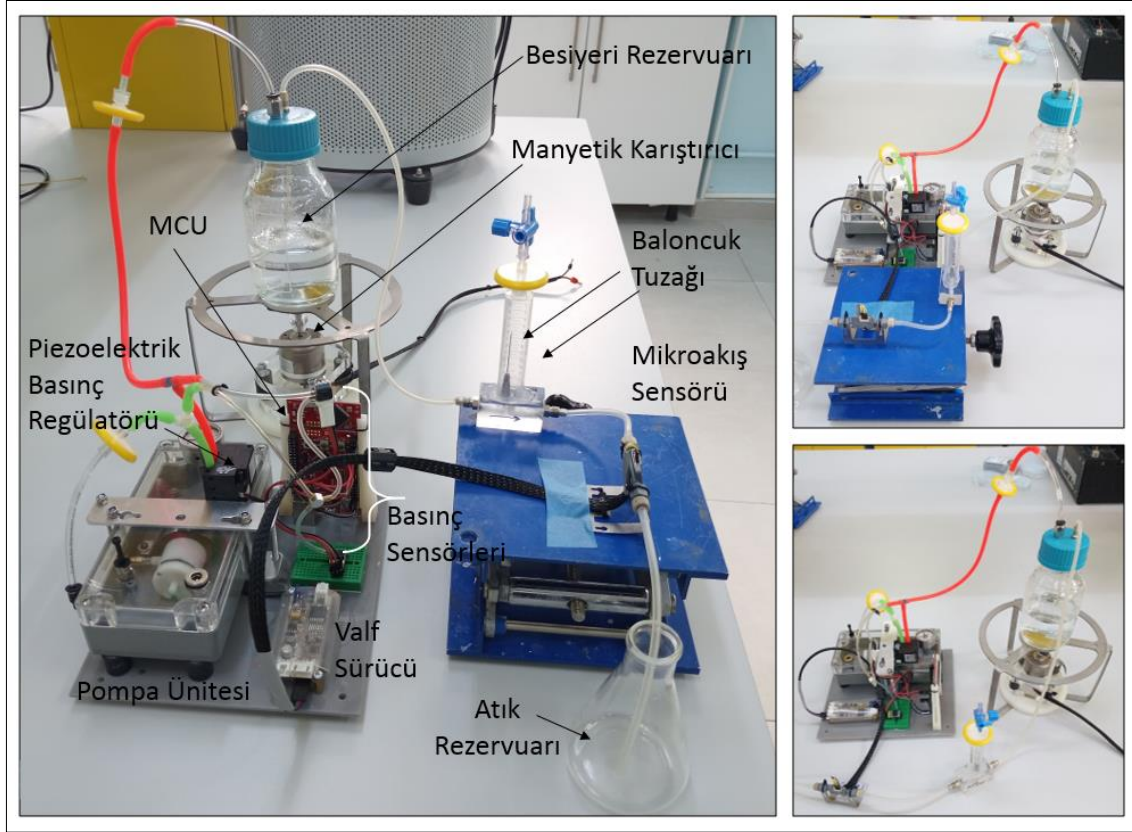
Mikroakışkan kontrol düzeneği tez çalışmaları kapsamında geliştirilmeye çalışılan gerçek zamanlı kontrol ve izlem düzeneğinin kritik bileşenlerinden biridir. Bu sistemin temel işlevi hücre kültürü çalışmalarında kullanılan akışkanların (sıvı besiyeri, hücre sıvısı, çeşitli ilaç veya kimyasallar vb.) $\mu\text{L}/\text{dk}$, mL/dk veya $\mu\text{L}/\text{saat}$ mertebesindeki akış değerleriyle hassas biçimde mikroakışkan çip veya biyofilm düzeneğine doğru tahrik

edilmesidir. Klinik pratikte sıkça kullanılan şırınga pompaları ve peristaltik pompalardan farklı olarak bu düzenekler üzerinde yer alan akış ve basınç sensörlerinden geri besleme olarak referans akış değerini kararlı olarak kumanda eden kapalı çevrim kontrol sistemleridir. Bu tür düzenekler yüksek doğruluk gerektiren klinik ve laboratuvar uygulamalarında tercih edilen sistemlerdir. Literatürde basınç tahrikli akış kontrol sistemleri ismiyle de anılmaktadırlar.

Basınç sürürlü bir akış kontrol düzeneği temelde şu bileşenleri arasında:

- Temiz medikal hava sağlayabilecek düşük basınçlı bir kompresör ünitesi veya klinik gaz kaynaklarından gazı zayıflatacak nitelikte bir hassas basınç regülatörü (Maksimum 500 mbar),
- Gaz hazırlayıcılardan gelen mbar mertebesindeki basınçlı gazı yine mbar hassasiyetle ve elektronik olarak kumanda edebilecek oransal bir valf veya basınç regülatörü,
- Regülatör çıkışındaki gaz basıncının ölçümünde kullanılacak medikal seri hassas basınç sensörleri,
- Tahrik havası ile klinik akışkanın etkileşime girdiği bir rezervuar,
- Basınç tahriki ile akmakta olan sıvı içerisine hapsolmuş olan hava kabarcıklarının drenajı için bir baloncuk tuzağı,
- Rezervuardan mikroakışkan sisteme akmakta olan sıvının debisinin ölçüldüğü bir sıvı akış sensörü,
- Deneyin niteliğine göre seçilen mikroakışkan çip,
- Çipten ayrılan akışkanın biriktirildiği bir atık rezervuarı,
- Çeşitli hava filtreleri
- Akış kontrol donanımı sayılabilir.

Tez çalışmaları kapsamında tasarımı ve üretimi gerçekleştirilen mikroakışkan kontrol düzeneğine ilişkin görseller Şekil 2.9'da verilmiştir.



Şekil 2.9. Mikroakışkan Kontrol Düzeneği Genel Görünümü

Tarafımızdan tasarlanan akış kontrol sisteminde gaz kaynağı olarak doğru akım ile çalışan mini pompa ve gazın depolandığı bir mini tanktan oluşan pompa ünitesi kullanılmıştır. İhtiyaç duyulan gaz hacmi ve basınç değeri yüksek olmadığı için minyatür bir sistem tercih edilmiştir. Pompa ünitesi içerisindeki basınç *Honeywell* firmasına ait HSC serisi hassas basınç sensörü ile ölçülmekte ve DC pompa motoru analog bir PI denetleyici yardımıyla kontrol edilerek basınç sabit tutulmaktadır. Pompa ünitesi içerisinde yaratılan basınç sıvı tahrikinde doğrudan kullanılmamaktadır. Mikroakışkan düzeneğe akan sıvı debisini kumanda etmek için Hoerbiger firmasına ait piezoelektrik basınç regülatörü kullanılmaktadır. Piezoelektrik regülatörü kumanda edebilmek için bir oransal valf sürücü kartı tasarlanmıştır. Bu düzenleyici uçlarına uygulanan gerilim nazarında çıkış portlarındaki basıncı değiştirmektedir. Çıkış basınç değeri besiyeri rezervuarı içerisinde yer alan sıvının debisi istenilen referans değere ulaşmaya kadar arttırılmakta ve sonrasında MCU içerisinde yer alan kontrol algoritması tarafından sabit tutulmaktadır. Kontrol algoritması sıvı debisini ve regülatör çıkış basıncını ölçen ve bu iki değere bağlı olarak kontrol sinyali üreten kaskat bir yapıya sahiptir. Regülatörün çıkış basıncı debi

değerine bağlı olarak değiştirilirken o an ki ihtiyaç duyulan basınç değerine göre regülatör çıkışı da kapalı çevrim olarak kumanda edilmektedir. Bu tarz bir kontrol yapısı yüksek hassasiyet elde edebilmek amacıyla tercih edilmiştir. Akışkan debisinin ölçümünde kullanılan sıvı akış sensörü Sensirion firmasına ait SLF3S-1300F modelidir. Anemometrik ölçüm metodunu kullanan bu sensöre ilişkin görsel Şekil 2.10'da verilmiştir. Akış sensörü mikrodenetleyici ile I2C protokolü ile haberleşmektedir. Medikal seri oluşu ve hedef uygulamalarımız için uygun çözünürlük değerlerine sahip olması sebebiyle tercih edilmiştir.



Şekil 2.10. Sıvı Akış Sensörü

Kontrol düzeneği üzerinde yer alan akışkan deresi unsurlar arasında uygulamaya özel olarak kullanılacak deney sıvısının tutulduğu bir rezervuar bulunmaktadır. Rezervuarın üzerinde tahrik gazının giriş yaptığı bir pnömatik bağlantı portu ve sıvı akışkanın çıkış yaptığı bir hortum çıkışı bulunmaktadır. Rezervuar laboratuvar pratiğinde kullanılan ağız contalı cam şişe üzerinde revizyon yapılarak imal edilmiştir. Akışkan devresi üzerindeki önemli bir diğer bileşen ise baloncuk tuzağı olarak adlandırılan parçadır. Bu bileşen sıvı hattına girmiş olan hava kabarcıklarının giderilmesinde kullanılmaktadır. Hava kabarcıkları hem sensör ölçümünü hem de mikroakışkan çip üzerindeki deney faaliyetini olumsuz etkilemektedir. Baloncuk tuzağı akrilik malzemeden talaşlı imalat ile üretilmiştir. Şekil 2.11'de baloncuk tuzağı ve rezervuara ilişkin görseller paylaşılmıştır.



Şekil 2.10. Akışkan Devresi Elemanları

2.4.3. Mikroakışkan Sistem Modelleme ve Denetleyici Tasarımı

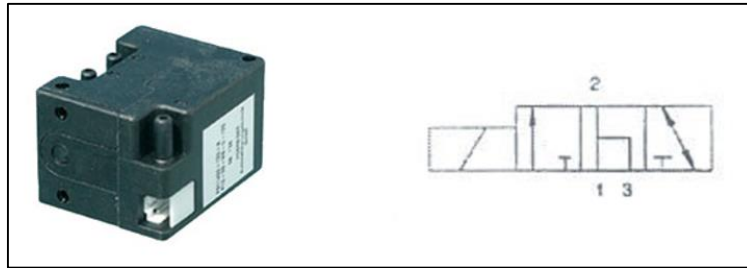
Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan akışkanların (sıvı besiyeri, hücre sıvısı, çeşitli ilaç veya kimyasallar vb.) $\mu\text{L/dk}$, mL/dk veya $\mu\text{L/saat}$ mertebesindeki akış değerleriyle hassas biçimde mikroakışkan çip veya biyofilm düzeneğine doğru tahrik edilmesi için tasarlanan mikroakışkan kontrol sisteminin kontrol algoritmasında uyarlamalı bir kontrolör tasarımı üzerinde ağırlıklı olarak durulmasına karar verilmiştir. En genel ifadesi ile basınç tahrikli akış kontrol düzenekleri olarak anılan bu sistemlerin konvansiyonel muadillerine ilişkin araştırma ve incelemeler yapılmıştır. Daha sonrasında ise çeşitli çevrimiçi kaynaklardan ve basılı kaynaklardan yapılan incelemeler neticesinde ekstremum arayıcı kontrol yaklaşımı ile katsayılarının eniyileştirildiği bir PI-D kontrolör tasarımı üzerinde mutabık kalınmıştır. Ekstremum arayıcı kontrol yaklaşımının tercih edilmesinde etkili olan etmenler şu şekilde sıralanabilir:

- Kontrol algoritmasının akışkan debisini kumanda ettiği sistem unsurları sürekli değişmektedir ve dolayısıyla model bağımlı olmayan uyarlamalı bir yaklaşıma ihtiyaç vardır.
- Akışkan kontrol düzeneğinin değişen sistem ve ortam şartlarına en hızlı biçimde adapte olabilmesi için hesaplama ve iyileştirme safhalarının muadil algoritmalara nazaran daha efektif olması gerekmektedir.

- Kontrol algoritması mikrodenetleyici temelli bir sistem üzerinde koşturulacağı için algoritmanın mikrodenetleyiciye getirdiği hesaplama y¼k¼ denetleyicinin sistem ¼đeleri tarafından etkili bir biçimde işlenebilmelidir.
 - Eniyileme amacıyla kullanılan algoritmanın Stokastik veya deterministik metotlar ile hibrit bir şekilde çalıştırılabilmesine mani yapısal bileşenleri bulunmamalıdır.
- Bu hususlar g¼ze alınarak yapılan incelemeler neticesinde yukarıda bahsi geçen kontrol yaklaşımının ilgili sisteme uygulanabilirliği konusunda kuvvetli bir kanaat tarafımızda oluşmuştur.

2.4.3.1. Sistem Bileşenlerine ait Modelleme Çalışmaları

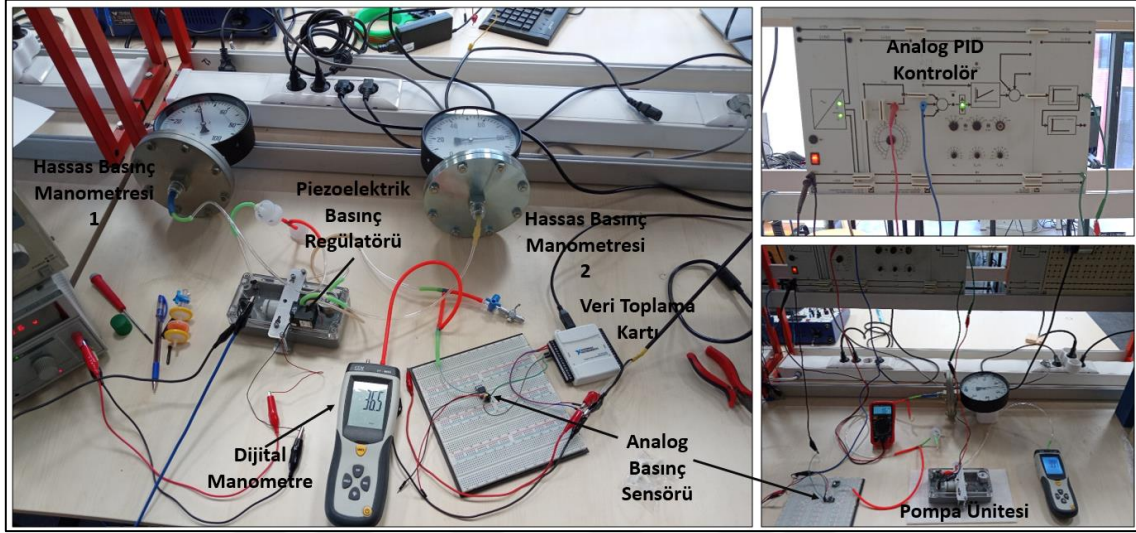
Mikroakışkan devresi üzerinde akışın tahrik edilmesi amacıyla end¼striyel pn¼matik sistemlerden oldukça d¼ř¼k basınç aralıklarında hassas basınç ayarı yapabilme ¼zelliđine sahip ve elektriksel olarak kumanda edilebilen bir basınç reg¼lat¼r¼ tercih edilmiştir. Sistem tasarımında HOERBIGER firması tarafından ¼retilen P10-P model piezzoelektrik basınç reg¼lasyon valfi kullanılmıştır. Bu valf 0 - 80 mbar aralığında hassas basınç ayarı yapabilmekte ve $\pm 24V$ doğru akımla kumanda edilebilmektedir. Kontrol algoritmasının bilgisayar modelinde kullanabilmek adına bu valfin matematiksel modeli oluşturulması ¼zerine çalışmalar gerçekteşirilmifitir. Valfin g¼rseli şekil 2.11’de verilmiştir.



şekil 2.11. Piezoelektrik Basınç Kontrol Valfi

Piezoelektrik basınç reg¼lat¼r¼n¼n modellenmesi için deneysel bir y¼ntem tercih edilmiştir. Bu yaklaşımın tercih edilmesindeki ana neden kullanılması planlanan valfin içyapısı ve materyal bileşenleri hakkında tatmin edici bir yayına rast gelinmemifitir. Valfin ticari bir ¼r¼n olması sebebiyle de yapısal ¼zelliklerine ait detaylı bilgiye ulaşılamamış olması kabul edilebilir bir durumdur. Bununla beraber valfin, kullanılacağı sistem içerisindeki basınçlı hava kaynakları ve s¼r¼c¼ler yardımıyla

sürüldüğü esnada üretmiş olduğu çıktılarına bakılarak davranış modelinin elde edilmesi, tasarlanacak olan kontrol sistemine ilişkin bilgisayar benzetiminin gerçek sistem davranışı ile benzerlik taşıması noktasında katkı sağlayacağı ön görülmüştür.



Şekil 2.12. Modelleme Verilerinin Toplandığı Deney Düzenegi

Valfin modellenmesinde kullanılan olan deney düzeneğinin genel görünümü Şekil 2.12’de verilmiştir. Deney düzeneği içerisinde yer alan bileşenlere ilişkin detayla şu şekildedir. Elektriksel olarak kumanda edilmekte olan regülasyon valfinin giriş basıncını üretebilmek adına IP-65 sızdırmazlık seviyesine sahip bir contalı plastik kutu içerisine DC akımla çalışan bir mikro pompa yerleştirilmiştir. Yaklaşık olarak 500 mbar basınç üretebilen bu pompa rezervuar amaçlı olarak kullanılan kutu içerisine yerleştirilerek belli oranda gürültü azaltımı sağlanmıştır. Akışkan yükündeki değişimlere bağlı olarak pompanın çıkış basıncında oluşabilecek dalgalanmaların önüne geçilebilmesi için pompa kapalı çevrim olarak kontrol edilmiştir. Yine Şekil 2.12’de verilen görsellerde analog PID olarak geçen kontrol düzeneği ve analog basınç sensörü yardımıyla pompa çıkışı istenen basınç değerinde sabit tutulmuştur. Analog denetleyicinin kontrol katsayıları ise sistem çıktılarına bakılarak manuel olarak optimize edilmiştir.

Deney esnasında sistemde oluşan basınç değerleri deney düzeneği içerisinde yer alan analog basınç sensörleri yardımıyla ölçülmüştür. Bu sensörler Honeywell firması tarafından üretilen HSC ve TSC serisi analog çıkışlı basınç sensörleridir. 0 – 100 mbar arası basınç değeri okuyabilen bu sensörlerin üretebildiği sinyal genliği besleme

voltajının %10 ile %90'nı arasındadır. Deney düzeneğinde kullanılan sensörler 3.3V gerilim ile beslenmiştir. Sensörlerin yapmış olduğu ölçümlerin doğrulaması hassas basınç manometreleri ve dijital basınç manometresi ile yapılmıştır. Deney düzeneği içerisinde GUNT firmasına ait hassas basınç manometresi ve CEM firmasına ait DT-8890 dijital manometre yer almaktadır.

Sensör çıkışlarında elde edilen verilerin örneklenerek dijital formatta bilgisayara aktarılabilmesi için bir USB veri toplama kartı ve bu veri toplama kartı ile uyumlu çalışan bir paket program tercih edilmiştir. Veri toplama kartı olarak National Instrument firmasına ait USB-6008 modeli kullanılmıştır. Paket program olarak ise gene NI firmasına ait LabView yazılım ortamında basit bir veri toplama arayüzü oluşturulmuştur.

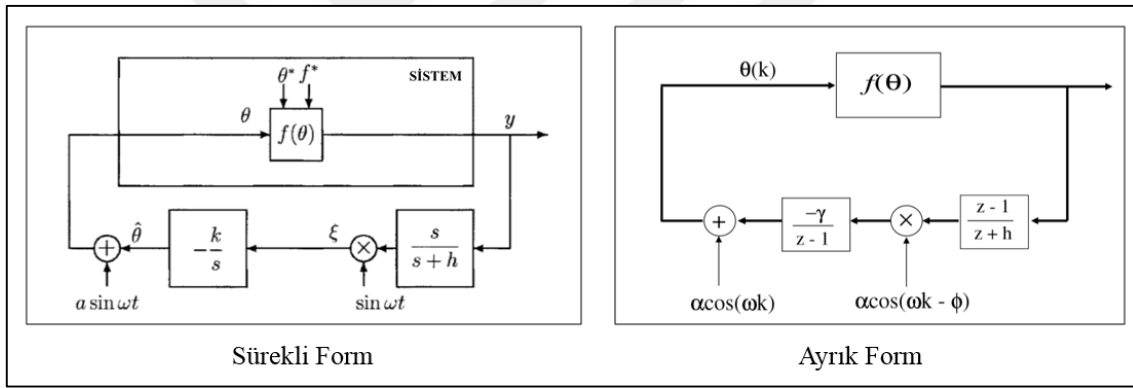
Piezoelektrik basınç regülatörüne giriş sinyali olarak belirli genlikte ve frekansta kare dalga uygulanmıştır. Kare dalga şeklinde verilen birim basamak girişe karşılık regülatörün açık çevrim cevabı veri toplama kartı yardımıyla kaydedilmiştir. Veri toplama kartının örnekleme periyodu 1 ms olarak belirlenmiştir. Farklı genlik değerleri ile tekrarlı testler yapılarak sistem davranışında değişkenlik olup olmadığı gözlemlenmiştir. Regülatörün giriş basıncı değiştirilerek aynı değerler ile testler tekrar edilmiştir.

2.4.3.2. Ekstreum Arayıcı Eniyileme ve Kontrol Yaklaşımı

Literatür açısından incelendiğinde ekstreum arayıcı yaklaşımı ilk olarak 1920'li yıllarda Leblanc tarafından elektrikli raylı sistemler üzerine yapılan çalışmalarda karşımıza çıkmaktadır. Sonrasında 1950'li ve 1960'lı yıllarda Sovyetler birliği ve batıda farklı bilimsel ve endüstriyel çalışmalarda bu yaklaşım karşımıza çıkmaktadır. 90'lı yıllara doğru ise bu yöntem gerçek zamanlı kontrol ve optimizasyon problemlerine yönelik çalışmalarda sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Ekstreum arayıcı yaklaşımın kontrol uygulamalarındaki tercih edilme oranını arttıran ana faktör ise model bağımsız olarak kontrolör tasarımı yapılabilmesine olanak vermesidir[86].

Ekstreum arayıcı yaklaşımı temelde uyar ve gözlemle prensibi ile işleyen, kontrol veya eniyileme işlevlerini yerine getirebilmek için matematiksel bir sistem modeline ihtiyaç

duymayan algoritmalarından biridir. Bu yönüyle uyarlamalı ve gerçek zamanlı kontrol uygulamaları için ihtiyaç duyulan ana öğelere sahip olduğu söylenilebilir. Matematiksel açıdan bakıldığında ekstremum arayıcı eniyileme ve kontrol yaklaşımı Gradyan azalımı optimizasyon algoritmalarının bir türevi olarak kabul edilebilir [89]. Bu metotta üzerinde çalışılacak olan sistemin optimize edilmesi planlanan unsurlarının değerleri kuadratik(ikinci derece, parabol) bir maliyet fonksiyonu yardımıyla iteratif olarak güncellenerek maliyet fonksiyonunun minimize edilmesine çalışılır. Sisteme giriş olarak temelde maliyet fonksiyonuna bağlı modüle edilebilen bir sinüs sinyali uygulanır ve maliyet fonksiyonun çıkışını minimize eden giriş değeri yakalanmaya çalışılır [90]. Metodun kullanılacağı uygulamaya bağlı olarak algoritmanın sürekli veya ayrık formda işleyen sürümleri kullanılabilir. Ekstremum arayıcı yaklaşımının ayrık ve sürekli formlarına ait blok şemalar Şekil 2.13'te verilmiştir.



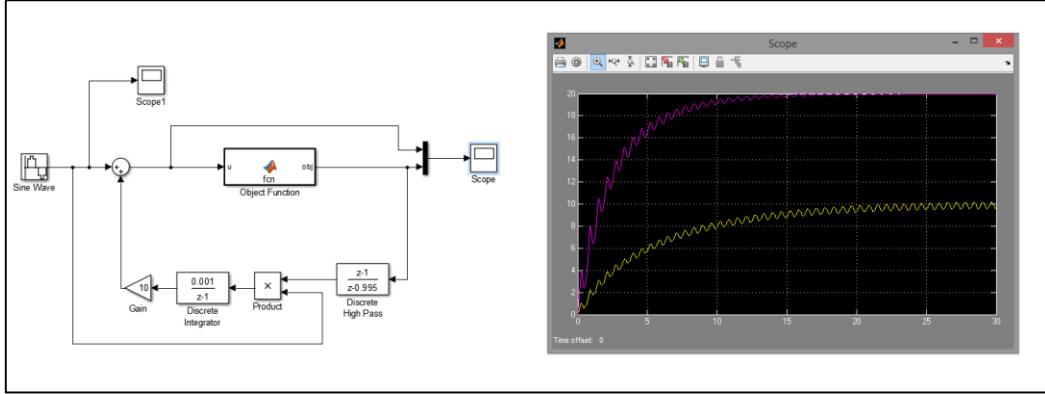
Şekil 2.13. Ekstremum Arayıcı Blok Şemaları

Ekstremum arayıcı kontrol yaklaşımında eniyileme işlemi ikinci dereceden bir maliyet veya nesne fonksiyonu üzerinden yürütülür. Algoritmanın işleyişine örnek teşkil etmesi açısından örnek bir kuadratik nesne fonksiyonunun çıkışını maksimize eden ayrık formda bir bilgisayar benzetimi Şekil 2.14'de paylaşılmıştır. Modelde kullanılan fonksiyon Denklem 32'de verilmiştir.

$$f(x) = 20 - (0.2 \times (10 - x)^2) \quad (32)$$

Algoritmanın başarısını etkileyen faktörler arasında optimize edilen parametrelere atanan ilk değerler, uyarım frekansı ve genliği, filtrelerin kesim frekansları vb. unsurlar

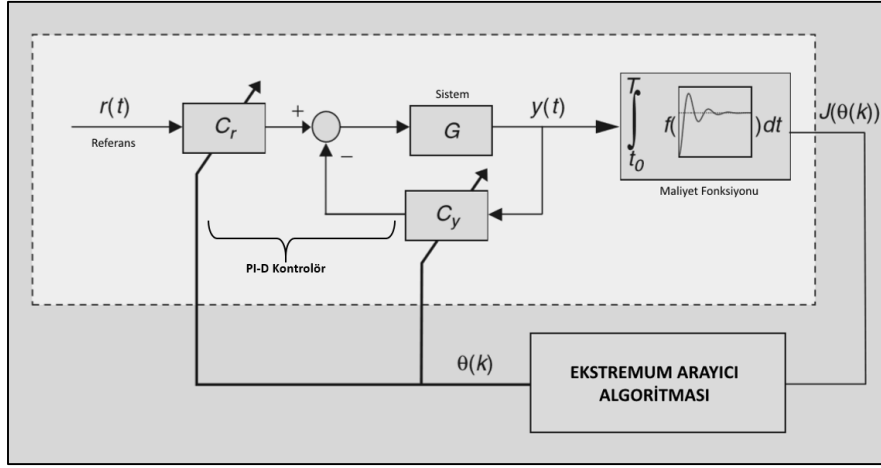
sayılabilir.



Şekil 2.14. Ekstremum Arayıcının Çalışma Metodu

Tez çalışmaları kapsamında tasarımı ve üretimi planlanan mikro akışkan kontrol düzeneğinin, sürekli olarak lineer ve lineer olmayan unsurlar barındıran farklı sistemler ile birlikte etkili bir biçimde çalışma zorunluluğu olması sebebiyle adaptif bir karakterde olması gerekliliği en birincil tasarım ölçütü olarak kabul edilmiştir. Bu noktadan hareketle bu tarz bir kontrol probleminin çözümünde ihtiyaç duyulan meziyetleri barındırması sebebiyle ekstremum arayıcı kontrol yaklaşımı benimsenmiştir. Ekstremum arayıcı müstakil olarak kontrol süreçlerini yönetebildiği gibi farklı tipte kontrol şemalarına katsayı optimizasyonu için eklenerek hibrit bir formda da kullanılabilir.

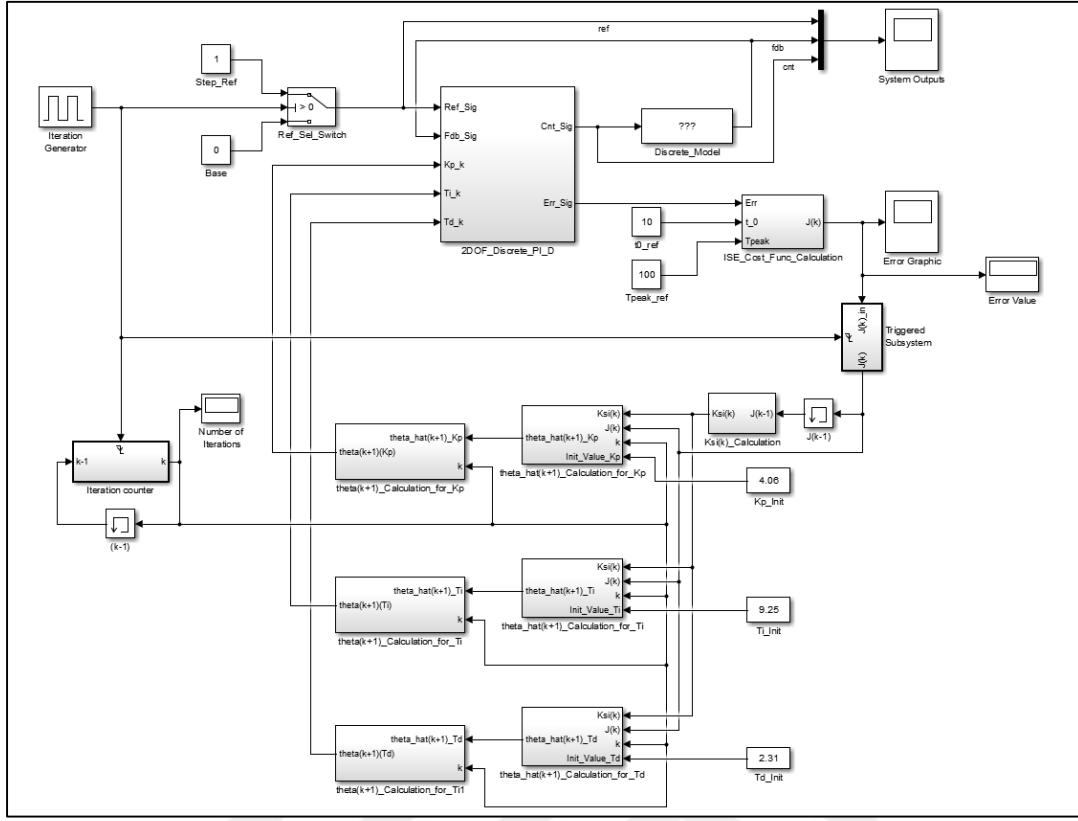
Yapılan literatür taramalarında bu tarz hibrit yaklaşımlara ilişkin yayınlara rast gelinmiş ve bunlar üzerinde durulmuştur. Bu yayınlar içerisinde en dikkat çekenlerden biri ekstremum arayıcı kontrol yaklaşımı konusunda literatüre ciddi katkıları olan matematikçi ve teorisyen *Miroslav Krstic* tarafından kaleme alınmış olan makaledir [87]. Bu yayın temel alınarak ayrık zamanlı bir PI-D kontrolörün ilgili kazanç katsayılarının yine ayrık bir ekstremum arayıcı yardımıyla eniyilendiği bir kendinden ayarlamalı kontrolör tasarımı çalışması gerçekleştirilmiştir. Referans alınan tasarıma ilişkin genel sistem blokları Şekil 2.15'te verilmiştir.



Şekil 2.15. Ekstremum Arayıcı Temelli Kendinden Ayarlamalı PI-D Kontrolör Blokları

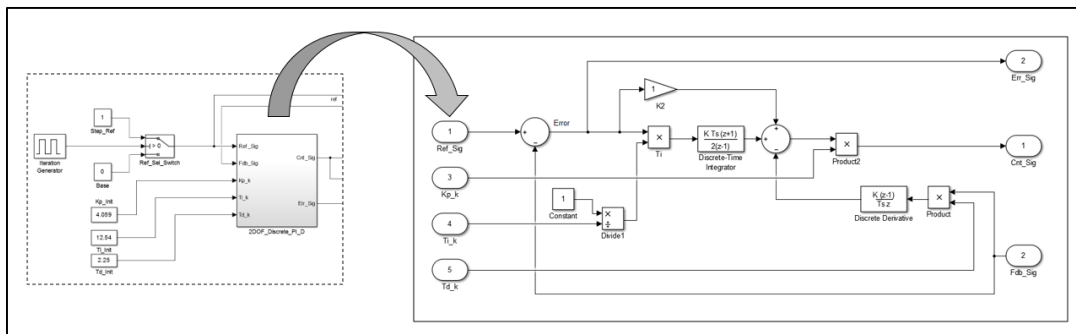
Tasarlanan algoritmanın ön test ve iyileştirme çalışmalarını gerçekleştirebilmek adına bir bilgisayar benzetim modeli oluşturulmuştur. Model unsurlarına ilişkin detaylar sırasıyla ise şu şekildedir.

Çalışmalar esnasında kullanılan MATLAB/Simulink benzetim modeline ilişkin görsel Şekil 2.16’da verilmiştir. Bu modelleme çalışmasında ekstremum arayıcı metot ile PID kontrolör kazanç katsayılarının eniyilemesi öncesinde katsayılara ilişkin ilk değer ataması yapılırken ve Ziegler-Nichols metodu kullanılmıştır. Atanan ilk değerler yardımıyla oluşan sistem cevabına ilişkin hata değeri maliyet fonksiyonundan geçirilerek elde edilen ekstremum arayıcı tarafından yeni kontrol katsayılarının hesaplanmasında kullanılmıştır. Tüm unsurlar ayrı zamanlarda modellenmiştir.



Şekil 2.16. Ekstremum Arayıcı Temelli Kendinden Ayarlamalı PI-D Kontrolör Benzetim Modeli

Kendinden ayarlamalı kontrolör benzetim modelinde sonrasında mikrodenetleyici temelli bir gömülü sistem üzerinde gerçekleştirileceği için sayısal bir PID kontrolör şeması tercih edilmiştir. Kullanılan kontrolör PI-D olarak geçen iki serbestlik dereceli bir PID denetleyicidir. Bahsi geçen kontrolör şemasına ilişkin görseller Şekil 2.17’de paylaşılmıştır.



Şekil 2.17. Ayırık Zamanlı PI-D Kontrolör Şeması

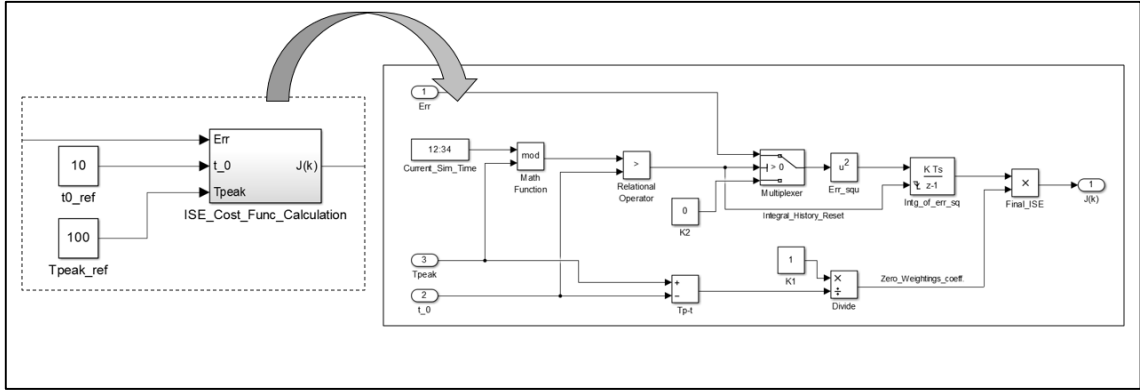
Standart PID algoritmasından farklı olarak türev sinyali integral ve oransal kontrol sinyalleri ile birlikte aynı toplama bloğuna girmemektedir. Bu yaklaşımın temel avantajı referans değerindeki ani değişimlerin türev sinyali tarafından agresif bir biçimde kompanze edilmesinin önüne geçmek ve sistem çıkışını ani darbe sinyallerinden korumaktır. Standart metotlara nazaran daha gürbüz metot olarak kabul edilmektedir [91][92].

PI-D kontrolörün kazanç katsayılarının optimum değerlerine ne oranda ulaştığı ve eniyileme sürecinin devam edip etmeyeceğine karar verebilmek için kontrol sürecinde oluşan hata(e) değerinin değerlendirilmesi ve optimizasyon algoritmasına girdi olarak sunulması gerekmektedir. Ekstremum arayıcı ile yapmış olduğumuz modelleme çalışmasında hatanın değerlendirilmesi ve iterasyon sonlandırması için karar unsuru olarak tercih edilen maliyet fonksiyonu literatürde ISE (Integral of Squared Error) olarak geçen maliyet fonksiyonunun revize edilmiştir bir türüdür. Standart ISE fonksiyonundan farklı olarak hatanın karesinin alınması ve bu değer integral edilmesi aşaması belli bir zaman diliminden sonra gerçekleşmektedir. Sınırlı bir integral metodu tercih edilmesinin ana nedeni sistem cevabının geçici rejim bileşenini göz ardı ederek sistem cevabının değerlendirilmesinin kontrol eniyilemesi noktasında daha verimli sonuçlar ürettiğinin görülmesidir [93]. ISE maliyet fonksiyonuna ait matematiksel ifadeler Denklem 33 ve Denklem 34’de verilmiştir.

$$J(\theta) \triangleq \frac{1}{T - t_0} \int_{t_0}^T e^2(t, \theta) dt \quad (33)$$

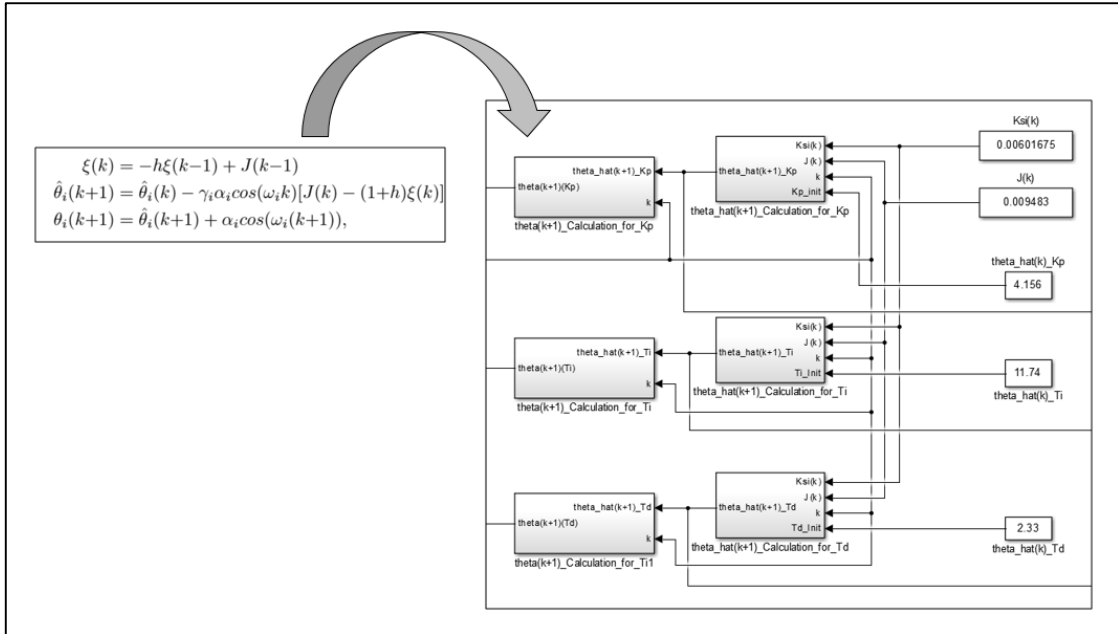
$$\theta \triangleq [K, T_i, T_d]^T \quad (34)$$

Maliyet fonksiyonunun hesaplanmasında kullanılan benzetim bloğuna ilişkin görseller Şekil 2.18’de verilmiştir. İntergasyon işleminin simülasyonun hangi zaman aralığında gerçekleştirileceği ise kullanıcı tarafından belirlenmektedir. Bu modelleme çalışmasında sistem cevabının olduğu t_0 anını takiben 10 ile 100 ms aralığında hesaplama yapılmaktadır.



Şekil 2.18. Maliyet Fonksiyonu

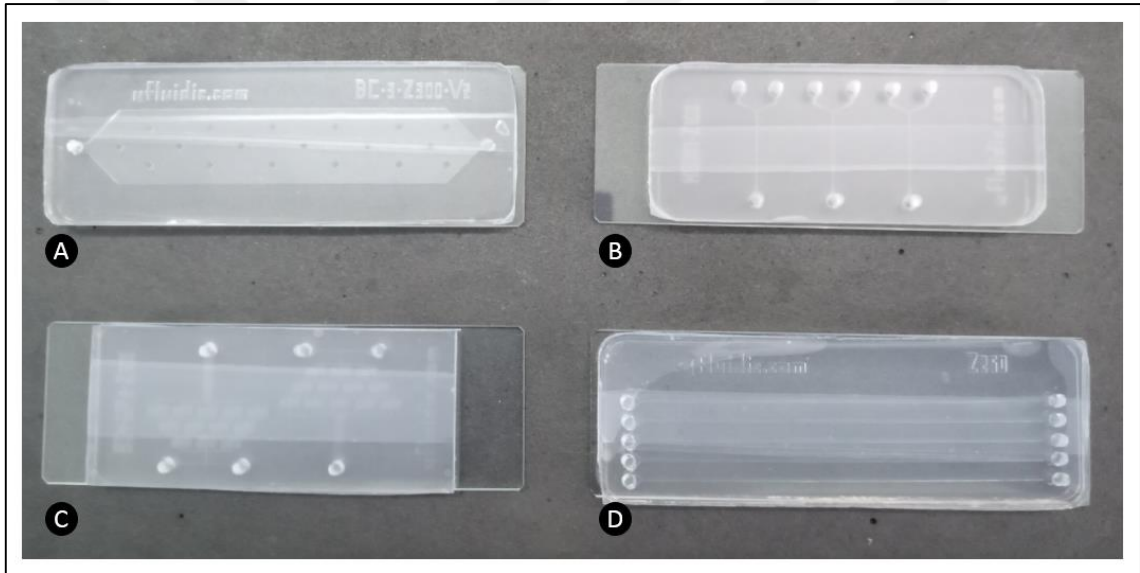
Maliyet fonksiyonundan elde edilen değerler kullanılarak katsayı optimizasyonu gerçekleştirilirken ekstremum arayıcı algoritması her bir kontrol katsayısı için paralel olarak koşturulur. Modelleme çalışmasında kullanılan ve Şekil 2.19’da paylaşılan denklemlerin bazı öğeleri kullanıcı veya tasarımcı tanımlı unsurlardır. Bunlara atanan değerler optimizasyon işinin başarısını da etkilemektedir. Modelleme çalışmasında bahsi geçen bu parametrelere ilişkin değerler yapılan literatür taramalarından elde edilerek kullanılmıştır.



Şekil 2.19. Ekstremum Arayıcı PI-D Katsayı Optimizasyonu

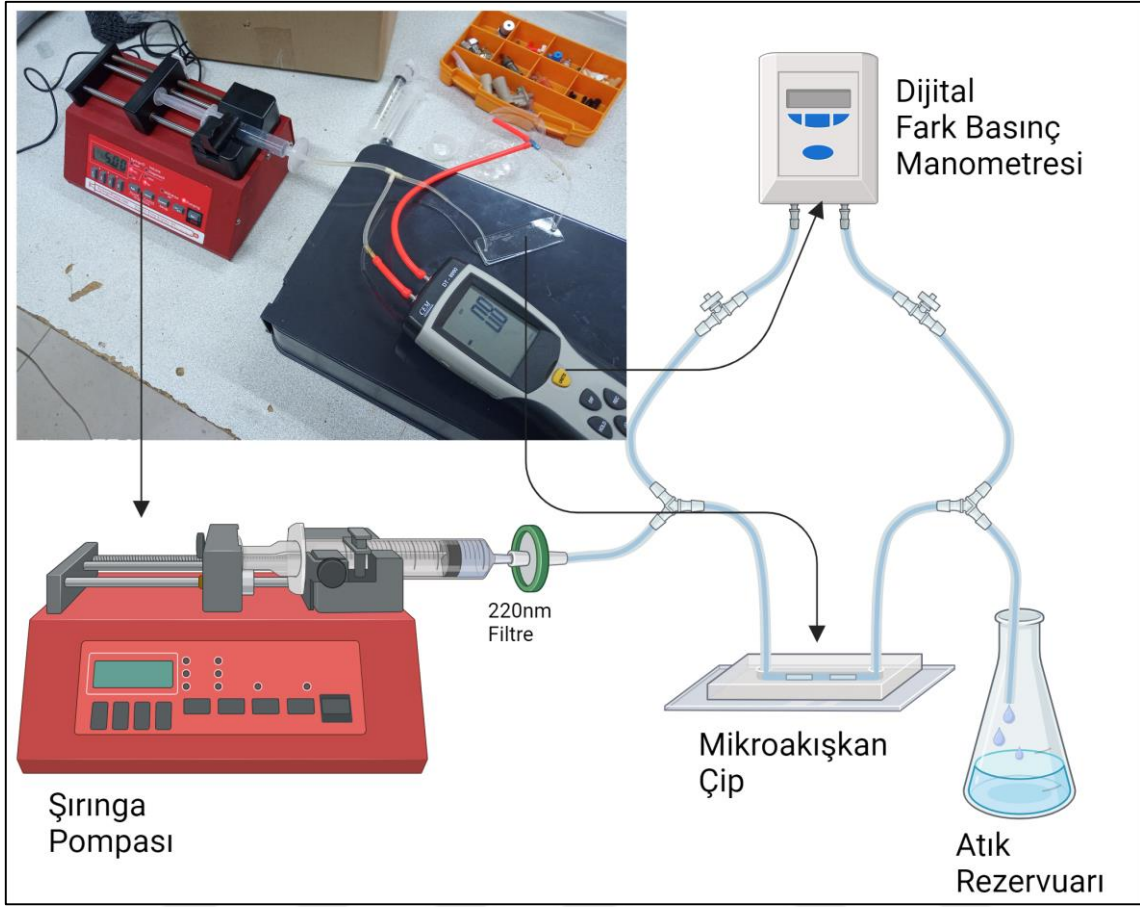
2.4.4. Deneysel Çalışmalarda Kullanılacak olan Mikroakışkan Çipler

Tez çalışmaları kapsamında akışkan kontrol düzeneğinin farklı sistem şartlarında başarılı bir akış kontrol faaliyeti sergileyip sergileyemeyeceğinin test edilmesi için farklı akışkan devresi unsurları barındıran dört adet mikroakışkan çip temin edilmiştir. Bu çipler silikon bazlı PDMS (Polidimetilsiloksan) malzemesinden imal edilmiştir. Mikroakışkan çipler yardımıyla farklı kanal geometrilerinin ve farklı viskoziteye sahip sıvıların beraber kullanımı esnasında oluşabilecek negatif durumların gözlemlenmesi sağlanabilecektir. Ayrıca uyarlamalı kontrolör başarısının nihai göstergesi bu çipler üzerindeki akışkan rejimi olacaktır. Çiplere ilişkin görseller Şekil 2.20’de paylaşılmıştır.



Şekil 2.20. Farklı Tipte Mikroakışkan Çipler

Bu çipler içerisinde A ve D ile gösterilen çipler modelleme ve denetleyici tasarımı safhaları için kullanılmak üzere belirlenmiştir. Dört farklı çip arasından en geniş ve en dar kanal geometrisine sahip olan çipler ile modelleme yaparak benzetim modeli üzerinden kontrolcünün sınırlarını gözlemlenmesi fikri bu seçimlerde belirleyici etmen olmuştur. Seçilen mikroakışkan çiplerin içerisinde farklı debilerde saf su akıtılarak, çiplerin giriş ve çıkış portları arasında oluşan basınç farkları ölçülmüştür. Oluşan basınç değişim grafiğine eğri uydurma yapılarak elde edilen sonuçlar kontrolcünün benzetim modelinde kullanılmıştır. Çiplerin ölçülmesinde kullanılan deney düzeneğine ilişkin görsel Şekil 2.21’de verilmiştir.



Şekil 2.21. Mikroakışkan Çipler Üzerinde Yapılan Fark Basıncı Ölçümleri

Çiplere uygulanan akışlar bir şırınga pompası (New Era Pump Systems Inc., NE-300) yardımıyla kontrollü olarak uygulanmıştır ve çip üzerindeki basınç farkları dijital fark basınç manometresi (CEM, DT-8890) ile ölçülerek kaydedilmiştir. Çiplerin tıkanmaması adına şırınga çıkışına 0.22µm'lik akış filtresi eklenmiştir. Mikroakışkan çiplere bağlanan hortumlar sızdırmazlık sağlamak amacıyla UV ışık ile sertleştirilen yapıştırıcı ile yapıştırılmış ve kürlenmiştir.

2.5. Optik Ölçüm Düzeneği Tasarımı

Bu bölümde hücre yoğunluğu, hücre boyutu vb. ölçümler sırasında kullanmak maksadıyla geliştirmekte olduğumuz araştırma platformuna entegre edilen, temelde bulanıklık ölçümü ve dinamik ışık kırınımı ilkelerine dayanan optik ölçüm düzeneğinin tasarım ve doğrulama safhalarına ilişkin detaylar paylaşılmıştır.

Spektroskopi; en geniş anlamda çeşitli ışın kaynakları (Işık, Ses, X-Ray vb.) kullanılarak maddelerin moleküler ve kimyasal yapısının analiz edilmesi süreçlerini ifade etmektedir. Bileşiklerin veya saf maddelerin maruz kaldığı ışınımı ne oranda soğurduğuna veya salıverdiğine bakılarak spektroskopik tayinler yapılmaktadır. Bu çıkarımlar belirli bir spektrum aralığı için veya tek bir dalga boyuna ait absorbans ve transmittans ölçümlerine dayanılarak yapılabilir. Biyomedikal tanı ve görüntüleme süreçlerinin büyük bir çoğunluğunda ışık madde etkileşimine dayalı olan spektrofotometrik yöntemler kullanılmaktadır. Optik yoğunluk ölçümü ile yapılan analizlerde ise tek bir dalga boyunda ışık yayan kaynaklar barındıran fotometrik yöntemler kullanılmaktadır.

Beer-Lambert yasası ışık – madde etkileşiminin yorumlanmasına dayanan kimyasal analiz yöntemlerine temel teşkil eden ve bu alanda en sık kullanılan yasadır. UV-Visible absorpsiyon spektroskopisinde bir karışım içerisinde yer alan kimyasalların konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılmaktadır. Beer-Lambert yasasından faydalanılarak molar absorpsiyon katsayısı bilinen bir kimyasalın incelemeye tabi tutulan karışım içinde hangi konsantrasyonda bulunduğu belirlenebilmektedir. İlgili yasanın matematiksel ifadesi Denklem 35’te verilmiştir.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (35)$$

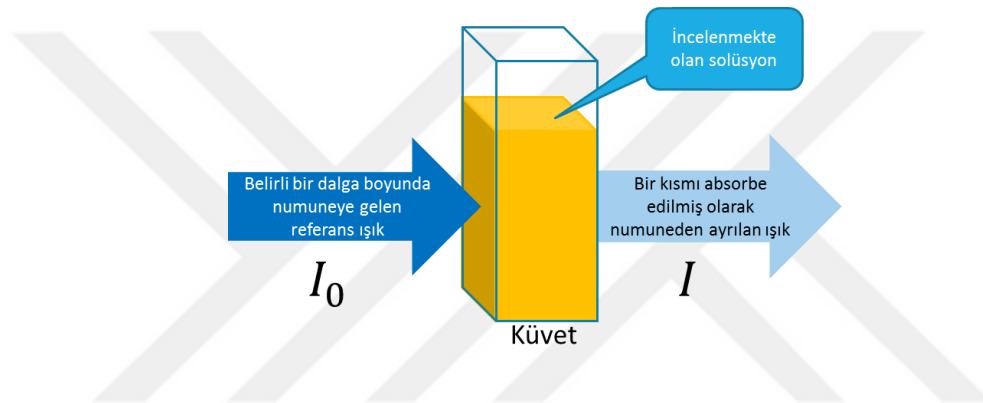
Bu ifadede A absorbans (Abs) değerini, ε molar absorpsiyon katsayısını ($M^{-1} cm^{-1}$), c molar konsantrasyonu (M), l ise optik yol uzunluğunu (cm) temsil etmektedir. Beer-Lambert yasasına dayalı olarak yapılan ölçümlerde numune küvetine giren ve çıkan ışıkların yoğunluğuna oranlarından faydalanılarak solüsyonun ilgili dalga boyundaki transmittans(T) miktarı bulunur. Bu değer ters logaritması alınarak ilgili dalga boyuna ait absorbans(A) değeri hesaplanır. İlgili ifadeler Denklem 36 ve Denklem 37’de

verilmiştir.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (36)$$

$$A = -\log_{10} T \quad (37)$$

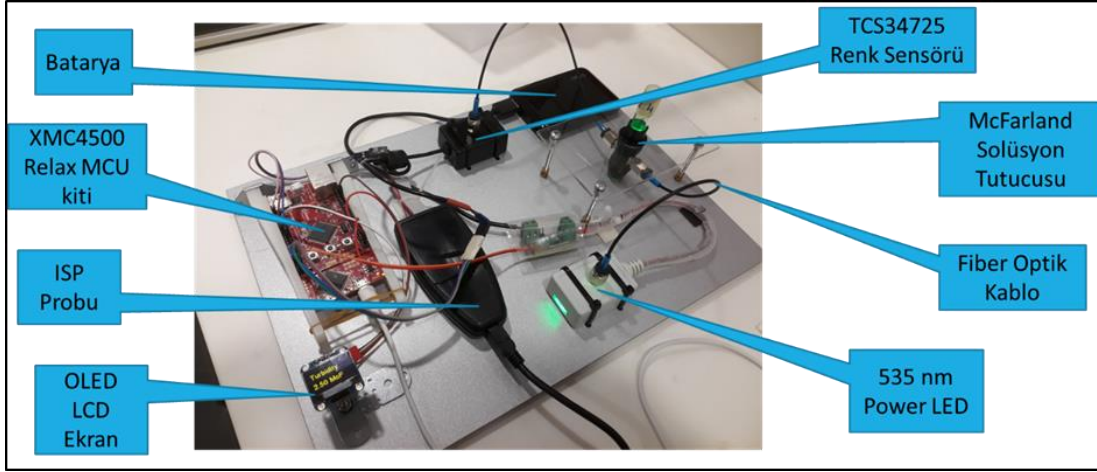
Beer-Lambert uygulanarak bir küvet veya cam tüp içerisinde yer alan bir sıvı süspansiyonunun belirli bir dalga boyundaki absorbandsının ölçülmesine ilişkin figür Şekil 2.22’de verilmiştir.



Şekil 2.22. Beer-Lambert Yardımıyla Absorbans Ölçümü

2.5.1. Donanım Tasarımı

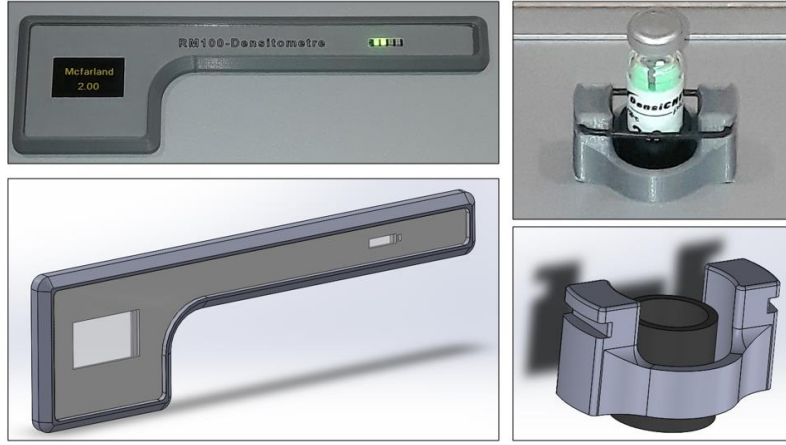
Optik ölçüm düzeneğimizin elektronik donanımını teşkil eden ana unsurlar sırasıyla şu şekildedir: ışık kaynağı vazifesi gören LED diyot (535nm, XPEBGR-L1-G40-Q4-G-01, CREE), bulanık çözeltide absorbe olan ışığın şiddetini ve dalga boyunu algılamak için fotodiyot temelli yarı iletken renk sensörü (TCS34725, TAOS), yapılan ölçümlere dayalı olarak absorbans, McFarland bulanıklık değeri ve parçacık veya hücre boyutu dağılımı verilerini hesaplayabilmek için yeterli işlem gücüne sahip bir mikrodenetleyici (XMC4500, ARM Cortex-M4, Infineon), ölçüm değerinin kullanıcı ile paylaşıldığı OLED ekran(2.42”, 128x64, Winstar). Bunlara ek olarak bilgisayar veya ikincil bir gömülü sistem ile veri aktarımını sağlamak üzere UART haberleşmesi kullanan USB-COM bağdaştırıcı donanımı sisteme eklenmiştir. Tasarlanan sistemin ilk sürümü Şekil 2.23’de gösterilmiştir.



Şekil 2.23. Optik Ölçüm Düzeneği İlk Sürüm

Işık kaynağı ve renk sensörü hem ortam ışığından etkilenmemeleri hem de dış kaynaklı kirleticiler tarafından zarar görmemeleri adına küçük plastik kutulara monte edilmiştir. Gelen ve giden ışınlar ise 100µm çapında bir fiber optik kablo yardımıyla solüsyonların yerleştirildiği yuvaya bağlanmıştır. Ölçüm için kullanılan cam tüpler 12mm çapında olduğu için uygun ölçüde bir tüp bağlantı yuvası düzeneğe eklenmiştir. Işık kaynağı olarak kullanılan LED'in dalga boyu klinik mikrobiyoloji çalışmalarında kullanılan solüsyonların renk skalası incelenerek belirlenmiştir. Bu dalga boyu muadil sistemlerde de kullanılmaktadır.

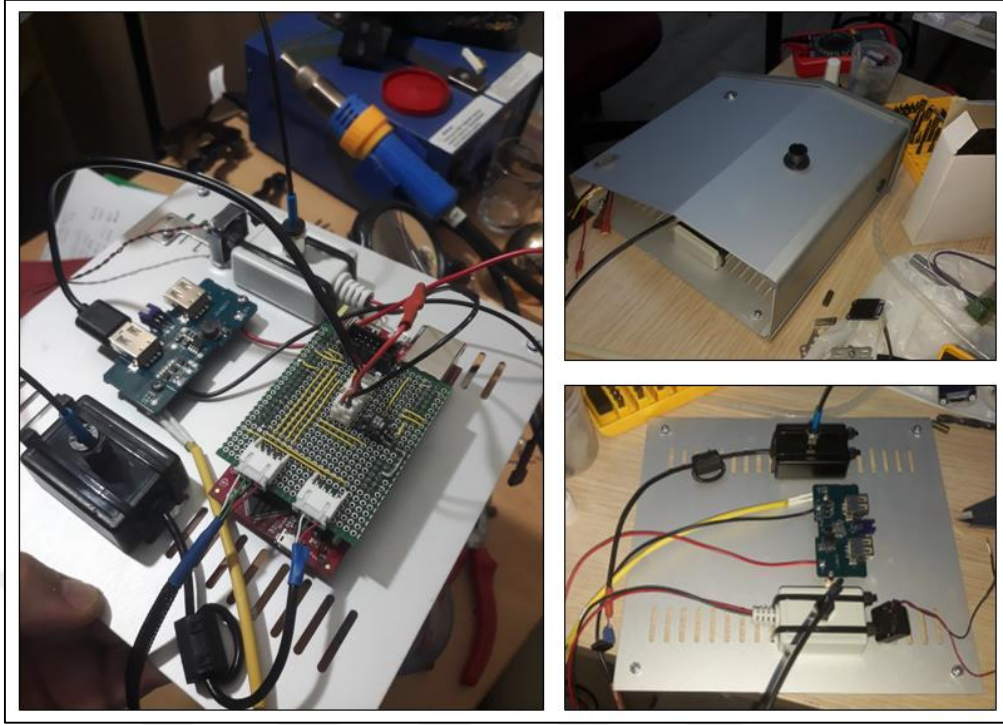
Tez çalışmalarının ilk safhalarında imal edilmiş olan optik bulanıklık ölçümü cihazı veya klinik pratikteki adıyla McFarland yoğunlukölçeri düzeneği, sistem testi ve doğrulaması maksadıyla defaten kullanılmıştır. Bununla beraber prototip üzerinde; klinik sahada yapılacak olan uzun soluklu denemelerde hem kullanıcı açısından kolay kullanılabilir hem de sistemin olası hasarlardan etkilenme ihtimalini en aza indirmek adına sıvı ve partikül girişinden kısmen korunan, konvansiyonel klinik örneklerin ölçülmesine olanak tanıyan bir düzenek olması adına bir takım mekanik revizyonlar gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.24. Mekanik Revizyonlar için Tasarlanan Gövde Bileşenleri

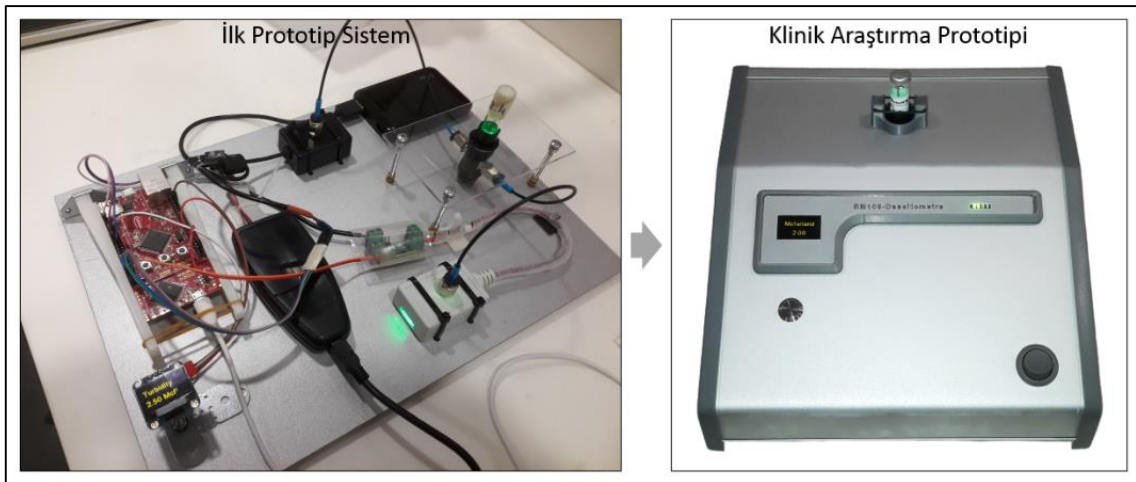
Bu revizyonların başında ölçüm bileşenlerini dış etmenlerden korumak adına yerli üreticilerden temin edilen alüminyum bir elektronik cihaz kutusu (MM-239, Altınkaya Cihaz Kutuları) temin edilmiştir ve donanım bileşenleri bu kutu içerisine yerleştirilmiştir. Cihaz kutusu üzerinde kullanıcı ile etkileşimi sağlayan ve çeşitli verilerin okunduğu (Batarya durumu, Ölçüm sonucu vb.) unsurlara ilişkin katı model tasarımları gerçekleştirilmiş ve eklemeli imalat metotları ile üretilmiştir. Bahsi geçen unsurlara ilişkin görseller Şekil 2.24'te gösterilmiştir.

Klinik uygulamalar için elden geçirilen ölçüm düzeneği üzerinde gerçekleştirilmiş olan revizyonlardan bazıları ise şunlardır. İlk olarak cihazın klinik sahada taşınır şekilde kullanıldığı göz önünde bulundurularak ölçüm düzeneğine uzun süre çalışmaya uygun bir batarya (3.7V li-on, 18650, Panasonic) ve şarj düzeneği eklenmiştir. Daha sonra masaüstü düzenek içerisinde yer alan bileşenlerin cihaz kutusuna sığabilmesine olanak sağlamak adına mikrodenetleyici kitine takılabilen bir bağlantı kartı üretilmiştir. Böylelikle tüm bileşenlerin soketler vasıtasıyla MCU kitine bağlantısı sağlanmıştır. Bunun yanı sıra ışık kaynağı olarak kullanılan LED diyotun sıcaklık değişiminden kaynaklı olarak çıkış dalga boyunda oluşabilecek değişiklikleri en aza indirmek adına bir soğutucu fan cihaza eklenmiştir.



Şekil 2.25. Elektronik Revizyon Aşamaları

Son olarak ölçüm verilerinin kontrol bilgisayarında görüntülenebilmesi ve veri toplanabilmesi için cihaz gövdesine haberleşme portlarına bağlı soketler eklenmiştir. Bu soketler ayrıca dışardan yazılımsal hata ayıklaması yapılabilmesine olanak tanımaktadır. Elektronik donanım da yapılan değişikliklere ilişkin görseller Şekil 2.25'te verilmiştir. Klinik araştırma prototipinin nihai hali ise Şekil 2.26'da gösterilmiştir.



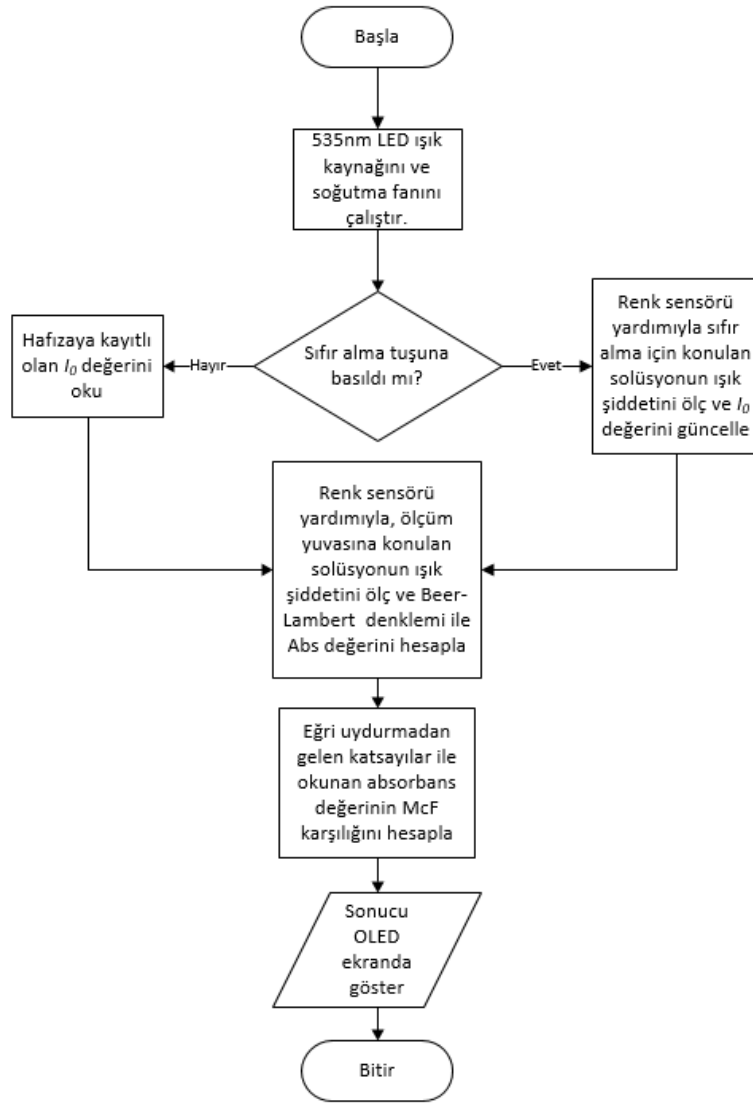
Şekil 2.26. Klinik Araştırma Prototipi

2.5.2. Yazılım Tasarımı

Kodlama ve derleme işlemlerinin büyük bir kısmı için ARM programlama endüstrisinde yaygın olarak kullanılan ve KEIL firması tarafından geliştirilmiş olan uVision5 entegre geliştirme platformu kullanılmıştır. Çok sayıda mikrodenetleyici çeşidi ve JTAG programlayıcısı uVision5 tarafından desteklenmektedir. Ayrıca yüksek maliyetli uVision yazılımına alternatif olarak Infineon firmasının kendi mikrodenetleyicileri üzerinde program geliştirmeye olanak sağlayan DAVE4 IDE'si kullanılarak yazılım geliştirme çalışmaları da yapılmıştır. JTAG ve SWD arayüzleri, ARM Cortex-M mimarisine sahip mikrodenetleyicilerin programlanmasına ve gerçek zamanlı hata ayıklama işlemlerinin yürütülmesine olanak sağlamaktadır. USB Bootloader ve ISP (In System Programming via UART) gibi programlama yeteneklerine sahip mikrodenetleyici serileri belirli üreticiler tarafından üretilmektedir. Tez çalışmaları kapsamında geliştirilen tüm donanımlarda yer alan mikrodenetleyici geliştirme kartlarının tamamı üzerinde bütünleşik JTAG arayüzü barındıran donanımlardır. Bu nedenle ek bir programlayıcı donanım kullanılmamıştır.

Optik ölçüm düzeneğine ilişkin C ve C++ programlama dilleri ile yazılmış olan gömülü yazılımlar, Infineon firmasına ait XMC MCU ailesi üzerinde koşturulmuştur. Bu iş için üzerinde XMC4500 ARM Cortex-M4 işlemcisine sahip Infineon XMC45 Relax Kit V1 geliştirme kartı kullanılmıştır. Mikrodenetleyicinin çevre birimlerine erişim amacıyla XMCLib yazılım kütüphanesinden faydalanılmıştır.

Işık şiddetinin ölçülmesinde kullanılan TCS34725 renk sensöründen okunan 12 bit çözünürlüklü RGB verileri I2C protokolü ile toplanmıştır ve üç ayrı renk kanalından gelen verilerin ortalaması alınarak nihai ışık şiddeti hesaplanmıştır. Tasarlanmış olduğumuz optik ölçüm düzeneği ile yapılacak her absorbands tespiti öncesinde, içerisinde hücre barındırmayan bir süspansiyon ile sıfır alma işlemi gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Bu işlem sırasında süspansiyonun bulanık vaziyete gelmesinde önce sahip olduğu absorbands değeri tespit edilerek cihazın hafızasına kaydedilmektedir. Bu yaklaşım çoğu spektrofotometri sisteminde arka plan alma işlemi olarak kullanılmaktadır. Hücre barındırmayan süspansiyonun sıfır alma işlemi cihaz ön panelindeki sıfır alma butonu ile yapılmaktadır.



Şekil 2.27. Densitometre Yazılımına ait Akış Diyagramı

Optik ölçüm düzeneğinin gömülü sisteminde koşturmakta olan algoritmanın genel işleyişini gösteren akış diyagramı Şekil 2.27’de paylaşılmıştır. Ölçümler sonucunda elde edilen absorbans değerinin, bulanıklığa bağlı koloni miktarı ile olan ilişkisini tanımlayan McF cinsinden karşılığı ise konvansiyonel densitometreler ile yapılan karşılaştırma testleri üzerinden elde edilmiş olan davranış eğrisi ile tespit edilmektedir. Davranış modelinin elde edilmesine yönelik deneysel çalışmalar ve sonuçları ilerleyen kısımlarda paylaşılmıştır.

2.5.3. Bulanıklık Ölçümlerine İlişkin Deneysel Çalışmalar

McFarland ölçümlerinde kullanılan densitometre aygıtları McFarland standardına bağlı olarak hazırlanan ve farklı bulanıklık değerlerine sahip solüsyonlar yardımıyla test ve kalibre edilmektedir. McFarland solüsyonları Sülfürik asit ve Baryum Klorür Dihidrat çözeltilerinin farklı oranlarda karıştırılması ile elde edilmektedir. Solüsyonların hazırlanış aşamaları Şekil 2.28’de verilmiştir.



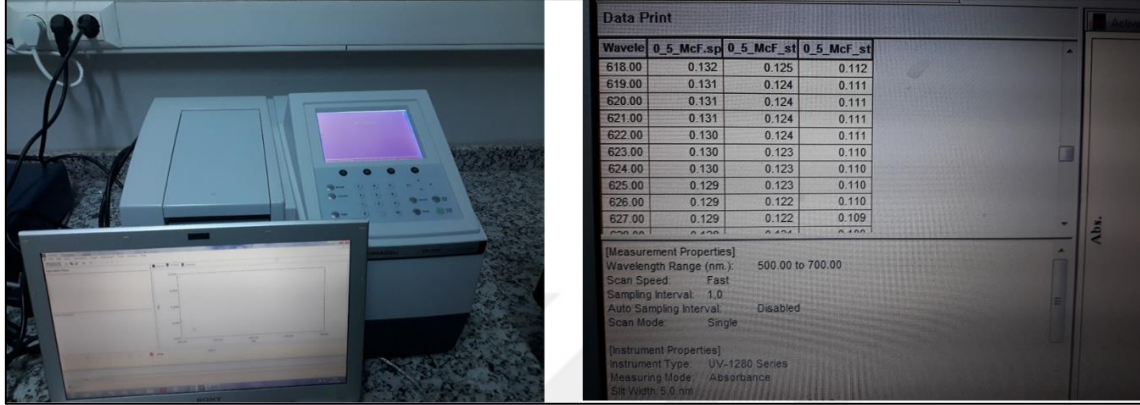
Şekil 2.28. Solüsyon Hazırlama Aşamaları

Solüsyonların hazırlanışı esnasında ilgili kimyasallar Tablo 2.3’de gösterilen oranlarda otomatik pipet ve ölçülü flaskler kullanılarak karıştırılmıştır ve farklı McF değerlerine karşılık gelen çözeltiler hazırlanmıştır. Baryum klorürün homojen olarak çözünebilmesi için her çözelti yaklaşık olarak 30sn boyunca 250 devir/dk hızda vorteks karıştırıcı ile karıştırılmıştır.

Tablo 2.3. McFarland standardı

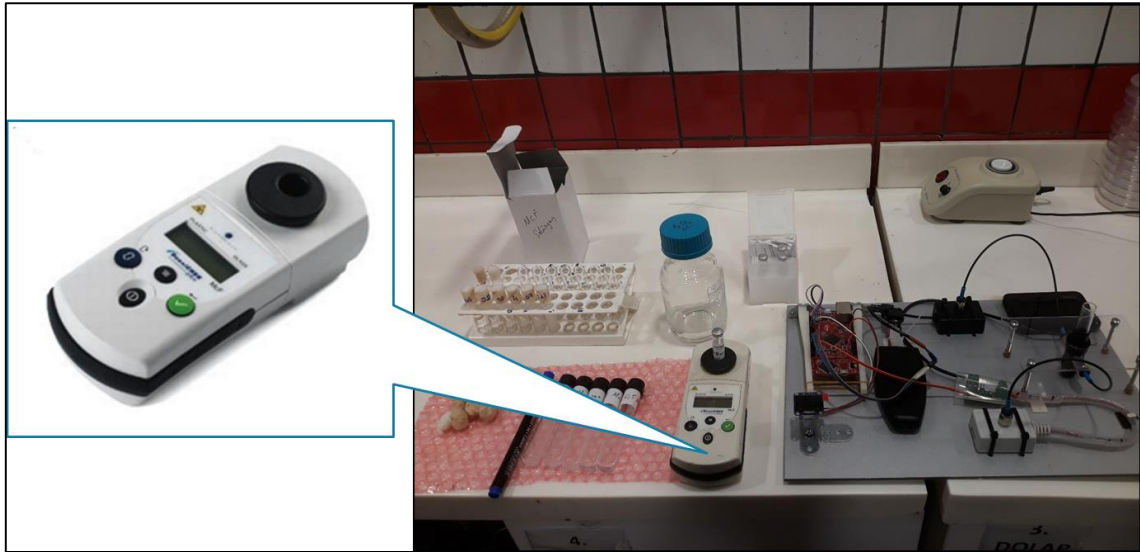
Standart (McF)	Hacim (mL)		1 mL Hacimdeki Bakteri Sayısı ($\times 10^8$)
	BaCl ₂ -2H ₂ O (%1.175)	H ₂ SO ₄ (%1)	
0.5	0.5	99.5	1.5
1	1.0	99.0	3
2	2.0	98.0	6
3	3.0	97.0	9
4	4.0	96.0	12
5	5.0	95.0	15
6	6.0	94.0	18
7	7.0	93.0	21
8	8.0	92.0	24
9	9.0	91.0	27
10	10.0	90.0	30

Hazırlanan McFarland karışımlarının ilgili standarda uygunluğunun tespiti için 600 nm, 625 nm ve 650 nm dalga boylarındaki absorbans değerleri ölçülmüştür. Ölçümler için SHIMADZU marka 1280 model Spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. UV-VIS donanımı Şekil 2.29’da verilmiştir.



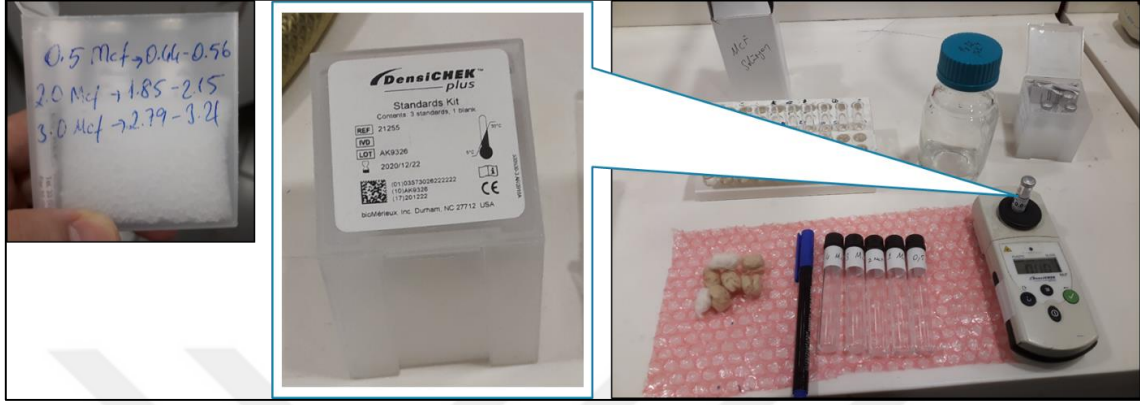
Şekil 2.29. SHIMADZU 1280 UV-VIS Spektrofotometre ve Ekran görüntüsü

McFarland ölçümleri için tasarlanan fotometrik düzeneğinin ölçüm çıktıları mikrobiyoloji laboratuvarlarında ve klinik pratikte sıklıkla kullanılan konvansiyonel bir densitometre ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma testi için *BioMerieux* firmasına ait DensiCHEK Plus cihazı kullanılmıştır. Karşılaştırma testlerine ilişkin görsel Şekil 2.30’da verilmiştir.



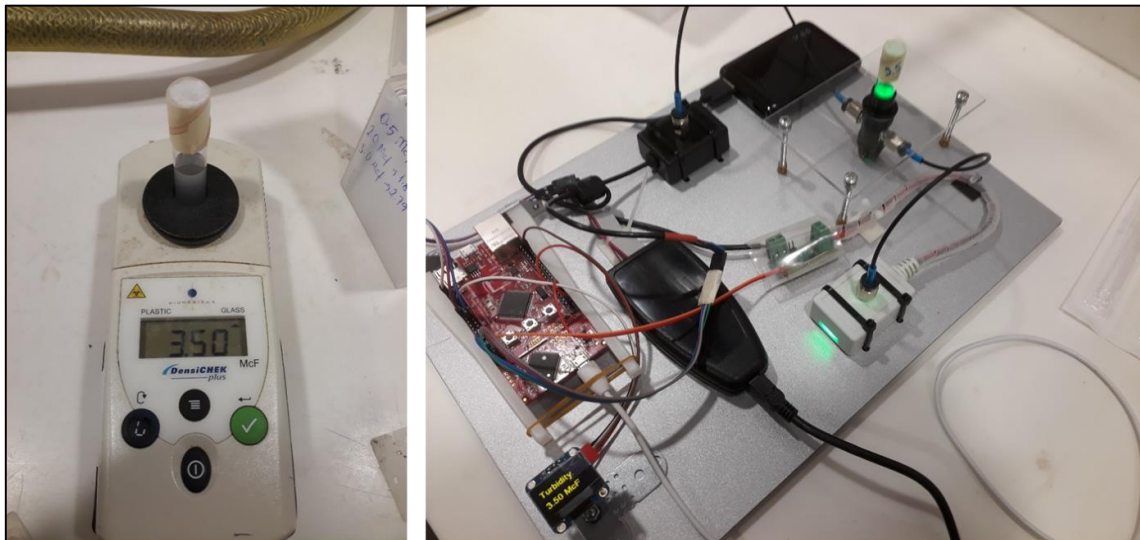
Şekil 2.30. Karşılaştırma Testi Unsurları

Karşılaştırma testlerinin ilk aşamasında referans cihazın sıfır kalibrasyonu üretici tarafından sağlanan McFarland solüsyonları ile yapılmıştır. Şekil 2.31’de referans solüsyonlar gösterilmiştir.



Şekil 2.31. Referans Solüsyonlar

Ölçüm öncesinde vorteks karıştırıcısı ile homojen hale getirilen bulanık çözeltiler eş zamanlı olarak hem DensiCHEK hem de fotometrik ölçüm düzeneğine yerleştirildikten sonra sırayla ölçümler alınmıştır. 3.5 McF referans ölçümünü gösteren örnek görsel Şekil 2.32’de verilmiştir. Karşılaştırma testleri Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.32. Örnek McF Ölçümü

2.5.4. Hücre Boyutu Dağılımının Tespitine Yönelik Yapılan Çalışmalar

Bu kısımda bulanıklık üzerinden bakteri koloni yoğunluğunun tespiti amacıyla konvansiyonel McFarland densitometrelerine benzer yapıda kurgulamış olduğumuz optik ölçüm düzeneğimize hücre miktarının yanı sıra boyutsal dağılım noktasında da bilgi sunabilecek bir nitelik kazandırmaya yönelik yürütülen çalışmalara yer verilmiştir. Eklenen bu ölçüm kabiliyeti ile tasarlamış olduğumuz platform üzerinde büyütülecek biyokütlelerin niceliksel tayini noktasında faydalı olacağı ön görülmüştür.

2.5.4.1. Teorik Altyapı

Giriş bölümlerinde çalışma prensibi temel olarak paylaşılmış olan dinamik ışık saçılımı ilkelerine bağlı olarak bir kolloidal sıvı içerisindeki parçacıkların boyut dağılımının tespitine yönelik matematiksel ifadeler Denklem 38'den Denklem 41'e kadar aşağıda verilmiştir.

$$D = \frac{k_B \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot R} \quad (38)$$

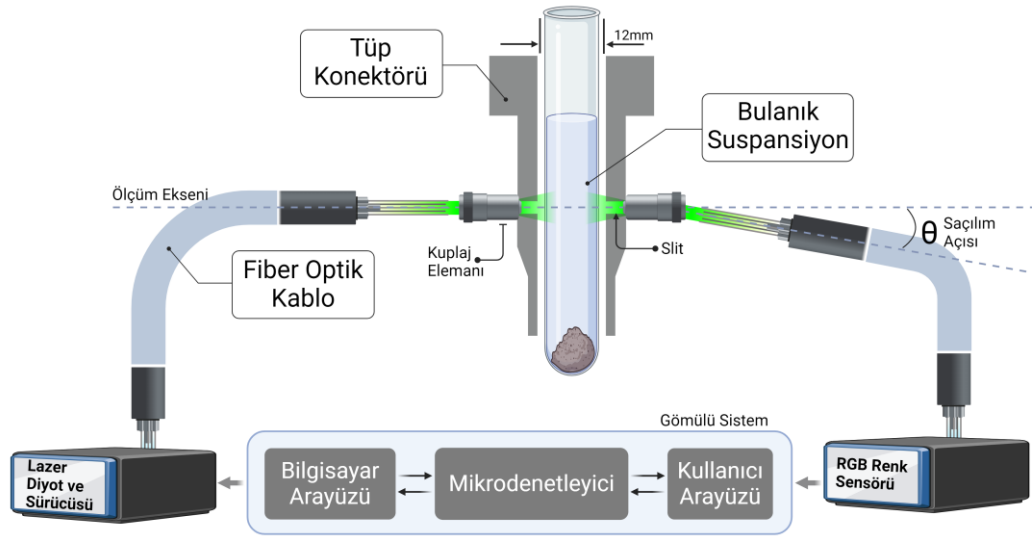
$$q = \frac{4 \cdot \pi \cdot n}{\lambda} \cdot \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (39)$$

$$\Gamma = q^2 \cdot D \quad (40)$$

$$ACF = A \cdot e^{(-\Gamma \cdot \tau)} + B \quad (41)$$

Denklem 40'da yer alan ifadede Γ (s^{-1}) ortalama salıverme oranını (birimleri yazalım), q (cm^{-1}) saçılım vektörünün genliğini, D ($cm^2 s^{-1}$) difüzyon katsayısını göstermektedir. Denklem 38'de ise difüzyon hızı ile solüsyon içerisinde Brown hareketi yapmakta olan parçacıkların yarıçapı arasındaki ilişkiyi gösteren Einstein-Stokes denklemidir. Burada k_B Boltzman sabitini ($g cm^{-1} s^{-2} K^{-1}$), T solüsyonun Kelvin cinsinden mutlak sıcaklığını, η çözücünün viskozitesini R (cm) ise parçacık yarıçapını temsil etmektedir. Denklem 39'da ise θ saçılım açısına, n ise süspansiyonu oluşturan çözücünün kırıcılık indisine karşılık gelmektedir. Denklem 41'de yer alan ifade ise otokorelasyon sonucu ortaya çıkan

eksponansiyel salıverme cevabına uydurulan eğrinin matematiksel ifadesidir, A korelasyon fonksiyonunun genliğini, B taban değerini, τ ise zaman gecikmelerini temsil etmektedir. Şekil 2.33'te tasarlanmış olduğumuz optik ölçüm düzeneğinin dinamik ışık saçılımı yaklaşımları çerçevesinde nasıl ele alındığını göstermektedir. McFarland densitometresi olarak işleyen bulanıklık ölçüm düzeneğimizde donanımsal bir değişiklik yapmadan hücre veya biyokütle boyutu dağılımını tespit edebilme özelliği kazandırılmaya çalışılmıştır.



Şekil 2.33. Dinamik Işık Saçılımı Perspektifinden Ölçüm Düzeneğinin Gösterimi

2.5.4.2. Lateks Nanoparçacıkların Karakterizasyonu

Dinamik ışık saçılımı ilkelerine bağlı olarak kolloidal bir solüsyon içerisinde yer alan parçacıkların boyut dağılımının optik olarak tespit edilmesini sağlayan analiz donanımlarının ölçüm sonuçlarının doğrulanması ve kalibre edilmesi amacıyla farklı ölçülerde lateks nano parçacıklardan faydalanılmaktadır. Bu nano parçacıkların tercih edilme nedenlerinin başında daireselliklerinin yüksek oluşu, homojen boyutlarda üretilebilmeleri, farklı çözücülere karşı dayanıklı olmaları, kararlı süspansiyonlar oluşturabilmeleri, aglomerasyonlarının zayıf oluşu ve kullanım ömürlerinin uzun oluşu gelmektedir.

Geliştirdiğimiz optik yoğunluk ölçümüne yönelik densitometre düzeneğine süspansiyon içerisindeki parçacıkların boyut dağılımını tespit edebilmesi amacıyla entegre etmiş olduğumuz ve yukarıda genel hatları paylaşılmış olan algoritmanın deneysel olarak doğrulayabilmek ve teori ile ne oranda bağdaştığını görebilmek amacıyla farklı boyutlarda lateks parçacıklar temin edilmiş ve düzeneğimiz yardımıyla ışık şiddeti dalgalanmaları ölçülmüştür. Ölçümler sırasında 150 nm ve 700 nm (Wyatt Technology) lateks nano parçacıklar kullanılmıştır. Parçacıkların kimyasal ve morfolojik özelliklerini tespiti için bir dizi malzeme karakterizasyonu çalışması yürütülmüştür.

Nano parçacıklar ilk olarak otomatik mikro pipet kullanılarak distile su ile karıştırılıp 1:10 dilüsyon oranına sahip 2mL'lik süspansiyonlar oluşturulmuştur. Elde edilen çözeltiler 10x10 mm ölçülerinde kuvars bir UV-VIS spektrofotometre küvetine yerleştirilmiştir ve 190 ile 900 nm arasındaki absorbans değerleri ölçülmüştür. Ölçümler öncesinde arka plan alma işlemi yine distile su ile yapılmıştır. Kullanılan UV-VIS cihazı McFarland solüsyonlarının doğrulamasında kullanılan ve Şekil 2.28'de görseli verilmiş olan SHIMADZU 1280 model spektrofotometredir. UV-VIS spektrofotometre cihazları malzeme mühendisliği, kimya, biyoloji vb. pek çok alanda çözeltilerin görünür ışık ve ultraviyole ışık tayfında ışınlarla etkileşimini ölçen ve önceki bölümlerde bahsedilmiş olan Beer-Lambert yasasına bağlı olarak çalışan laboratuvar cihazlarıdır. Süspansiyonların içerisindeki kimyasal bileşenlere bağlı olarak ortaya çıkan piklerin değerlendirilmesi ile içerik tayini yapılabilmektedir. Buna ek olarak kolloidal sıvının içerisindeki parçacıkların boyutlarına bağlı olarak gelen ışınları ne oranda absorbe ettiği ve geçirdiğine bakarak da boyut tayinleri yapılabilmektedir.

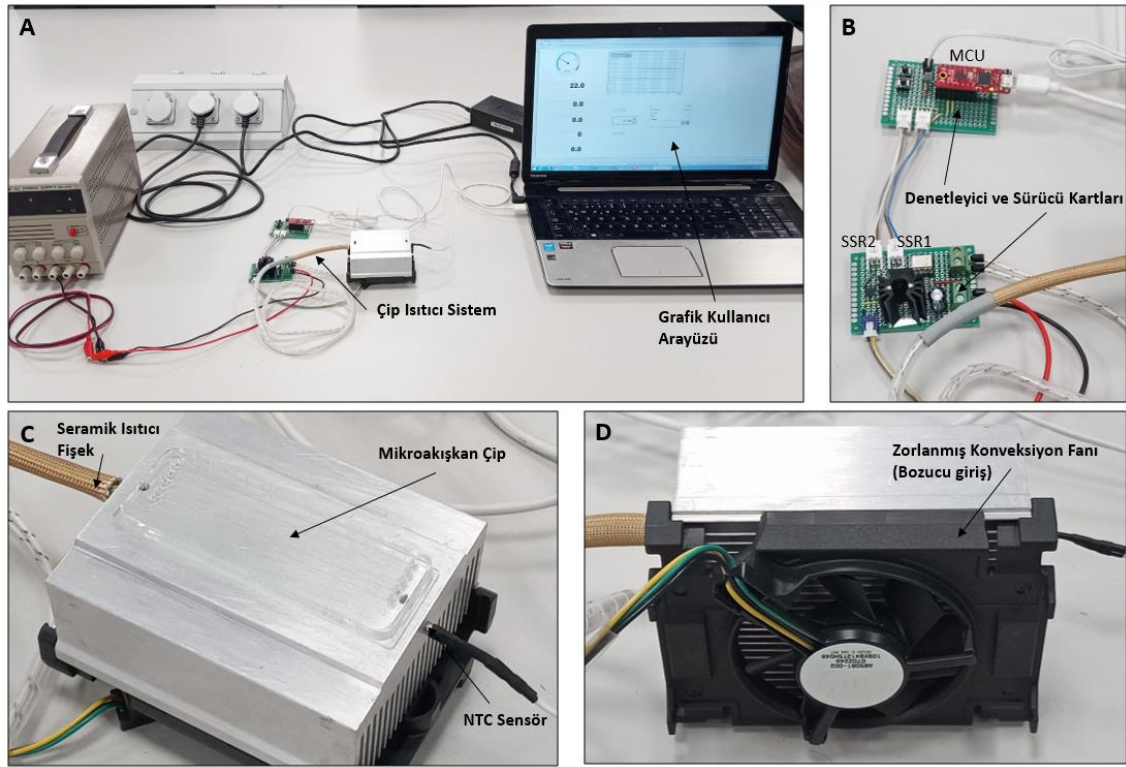
Her iki parçacık grubunun da aynı kimyasal özelliğe sahip olduğunu ve farklı bir kimyasal ile katkılanılmamış olduklarını gösterebilmek amacıyla solüsyonların FT-IR(Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi) analizi gerçekleştirilmiştir. FT-IR analizleri organik ve inorganik kimyada sıklıkla kullanılan ve numunelerin içerisindeki moleküler bağların yapısının kızılötesi ışınlar ile etkileşimi üzerinden değerlendirilmesine olanak tanıyan spektrofotometrik bir yöntemdir. Çeşitli reaksiyonlar yoluyla kimyasalların oluşturmuş olduğu moleküler yapılar bu moleküllerin kuantum seviyesindeki hareketlerinin serbestlik seviyesini etkilemekte ve entropilerinin muhteviyatını

değiştirmektedir. Titreşimsel, rotasyonel vb. entropi bileşimindeki değişimler FT-IR spektrogramında görülebilmektedir. Solüsyonlara ilişkin pikler 400 ile 1400 nm arasında JASCO firmasına ait ATR metodu ile çalışan FT/IR-4700 cihazı ile ölçülmüştür.

Tasarlamış olduğumuz ölçüm düzeneği ile yukarıda bahsi geçen referans nano parçacıkların boyut dağılımını tespit etmeden önce karşılaştırma ve doğrulama verisi olarak kullanmak üzere bu parçacıklar taramalı elektron mikroskobu ile morfolojik incelemeye tabi tutulmuştur. Bu ölçümler sırasında bölüm 2.2.1.1’de bahsedilen ZEISS EVO MA 10 taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. Mikroskop lameli üzerine sürülerek kurutulan solüsyon sürüntüleri 120 saniye boyunca 18mA akım altında Au/Pd karışımı ile kaplanmıştır. Kaplama için Quorum SC7620 püskürtmeli kaplayıcı kullanılmıştır. SEI detektörü ile farklı büyütme ölçeklerinde SEM görüntüleri elde edilmiştir. Sonrasında parçacık boyut dağılımı grafiklerinin elde edilebilmesi için resimler üzerinden görüntü işleme yazılımı olan *ImageJ* ile her iki parçacık grubu üzerinden 100 adet ölçüm alınmıştır.

2.6. Mikroakışkan Çip Sıcaklık Kontrol Sistemi Tasarımı

Gönye düzeneği üzerine yerleştirilen ve içerisine bakteri inokülasyonu yapılan mikroakışkan çiplerin inkübasyon sıcaklığında tutulması amacıyla bir sıcaklık kontrol sistemi tasarlanmış ve üretilmiştir. Tasarlanan sistemin genel görünümü Şekil 2.34’de verilmiştir. Sistem temelde, çiplerin boyutuna uygun şekilde ölçeklendirilmiş olan bir alüminyum blok üzerine yerleştirilmiş olan 50W gücünde ve 12V doğru akım ile sürülen bir seramik ısıtıcı ve NTC sıcaklık sensöründen meydana gelmektedir. Ayrıca bu bloğa monte edilmiş olan ve zorlanmış konveksiyon için kullanılan 12V DC bir fan yer almaktadır. Kapalı çevrim sıcaklık kontrol faaliyetini yürütmek amacıyla dahili JTAG probu barındıran XMC11xx (Infineon, xmc2Go) serisi bir mikrodenetleyici kullanılmıştır. Isıtıcının ve fanın sürülmesi için optik izolasyona sahip 2 farklı SSR devresi barındıran bir sürücü kartı tasarlanmıştır. Bunlara ek olarak sistemde oluşan değişimlerin takibi ve veri toplama maksadıyla bir kullanıcı arayüzü tasarlanmış ve USB üzerinden gerçek zamanlı veri toplanmıştır.



Şekil 2.34. Mikroakışkan Çip Isıtma Sistemi

2.6.1. Modelleme ve Denetleyici Tasarımı

Kapalı çevrim kontrol algoritmasının tasarımı ve kodlaması öncesinde tasarlanan sıcaklık kontrol düzeneğine ilişkin bir dizi sistem tanılama ve modelleme çalışması yürütülmüştür. Buradan elde edilen veriler yardımıyla denetleyici katsayıları ayarlanmıştır. Sıcaklık kontrol sistemleri, ekseriyetle birinci mertebe ve ölü zaman barındıran sistemler oldukları için, tasarlanmış olduğumuz mikroakışkan çip ısıtıcı sisteminin transfer fonksiyonu birim basamak cevabının analizine dayalı bir modelleme yaklaşımı ile oluşturulmuştur.

Birinci mertebe ve ölü zamanlı bir sistem için açık çevrim transfer fonksiyonu; K statik kazanç, L ölü zaman, τ zaman sabiti olmak üzere Denklem 42’de verilmiştir.

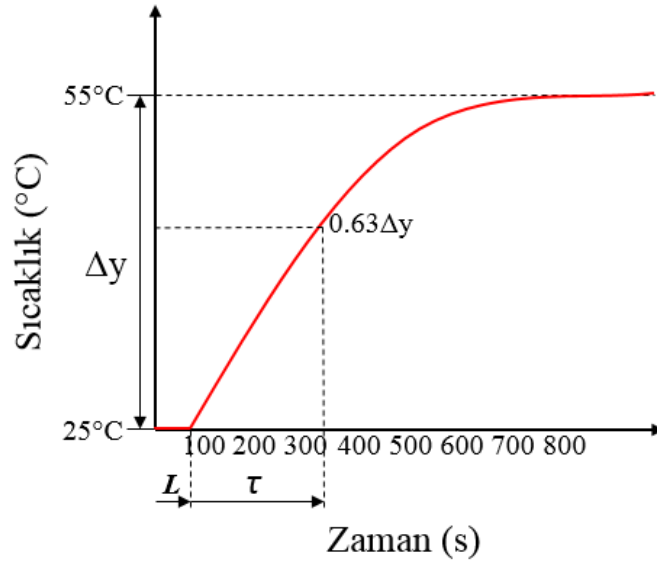
$$G(s) = \frac{K}{1 + \tau s} e^{-Ls} \quad (42)$$

Denklem 42’de verilen model parametreleri sistem üzerinden toplanan gerçek zamanlı

ölçümlere dayalı olarak belirlenmiştir. Model parametrelerinin deneysel tespiti amacıyla ısıtıcı fişeğe 6V DC gerilim uygulanmıştır ve grafik kullanıcı arayüzü üzerinden sıcaklık değişimleri kaydedilmiştir. Ortam sıcaklığı başlangıç durumunda 25°C olarak ölçülmüştür ve birim basamak girişe karşılık sistem sıcaklığının yaklaşık olarak 55°C'ye ulaştığı gözlemlenmiştir. Sistemin statik kazancı Denklem 43 ile hesaplanmıştır.

$$K = \frac{y_{son} - y_{başlangıç}}{u_{son} - u_{başlangıç}} \quad (43)$$

Burada, u ısıtıcı seramik fişeğe uygulanan gerilim değerini, y ise edilen ısıtıcı sistemde izlenen sıcaklık değişimi temsil etmektedir. Ölçümlerin grafiksel gösterimi Şekil 2.35'te verilmiştir.



Şekil 2.35. Isıtıcı Sistemin Açık Çevrim Cevabı

Ölçümler üzerinden L değeri 60 saniye, τ değeri ise 300 saniye olarak belirlenmiştir. Nihai sistem modeli denklem 44'de verilmiştir.

$$G(s) = \frac{5}{1 + 300s} e^{-60s} \quad (44)$$

Çiplerin yerleştirildiği alüminyum blok üzerindeki sıcaklık kontrolü ayrık zamanlı ve örneklenmiş veriler üzerinde çalışan bir gömülü denetleyici olacağı için sisteme ve

kontrolcüye ait tüm transfer fonksiyonları ayırık zamanda modellenmiştir. Gerçek zamanlı kontrol çıktıları ve model arasındaki uyumu arttırmak adına her iki algoritma içinde örnekleme zamanı 0.1sn olarak alınmıştır ve s düzleminde tanımlı tüm fonksiyonlar *Tustin* yöntemi ile Bilineer dönüşüme tabi tutularak z dönüşümü yapılmış ve ayırık zaman karşılıkları bulunmuştur. Ölü zaman eklentisi için genellikle 2 merteye *Pade* yakınsaması tercih edilmiştir. Isıtıcı sistemin barındırdığı ölü zaman bileşeni göz önüne alınarak *Smith öngörücüsü* eklenmiş ayırık PI denetleyici tasarımı gerçekleştirilmiştir. Smith öngörücüsü temelde model ön görümlü kontrol yaklaşımının basit bir türevidir[94][95]. Sistem modelinin ölü zamanlı ve ölü zamansız cevapları arasındaki farka bağlı olarak geri besleme sinyalinin manipüle ederek aşımaların önüne geçmeye çalışmaktadır. Bunu ek olarak bozucu reddetme özelliği de bulunmaktadır. Isıtıcı sistemin ölü zaman eklenmemiş transfer fonksiyonu ve ölü zamanın kontrol algoritmasına dahil edilebilmesi için ayırık zamanlı ifadeleri ters z dönüşümü yardımıyla fark denklemleri şeklinde ifade edilmiştir. İlgili matematiksel ifadeler aşağıda verilmiştir (Denklem 45 - 55).

$$z = e^{Ts} \quad (45)$$

$$s = \frac{2}{T} \left(\frac{z - 1}{z + 1} \right) \quad (46)$$

$$x(k), k = 0, 1, 2, 3 \dots \quad (47)$$

$$x(z) = x_k z^{-n} \quad (48)$$

$$a_n z^n, n = 1(tf \text{ için}), n = 2(ölü zaman için) \quad (49)$$

$$G_d(z) = \frac{0.0008332z + 0.0008332}{z - 0.9997} \quad (50)$$

$$G_d(z) = \frac{Y(z)}{X(z)} = \frac{b_1 z^1 + b_0 z^0}{a_1 z^1 - a_0 z^0} \quad (51)$$

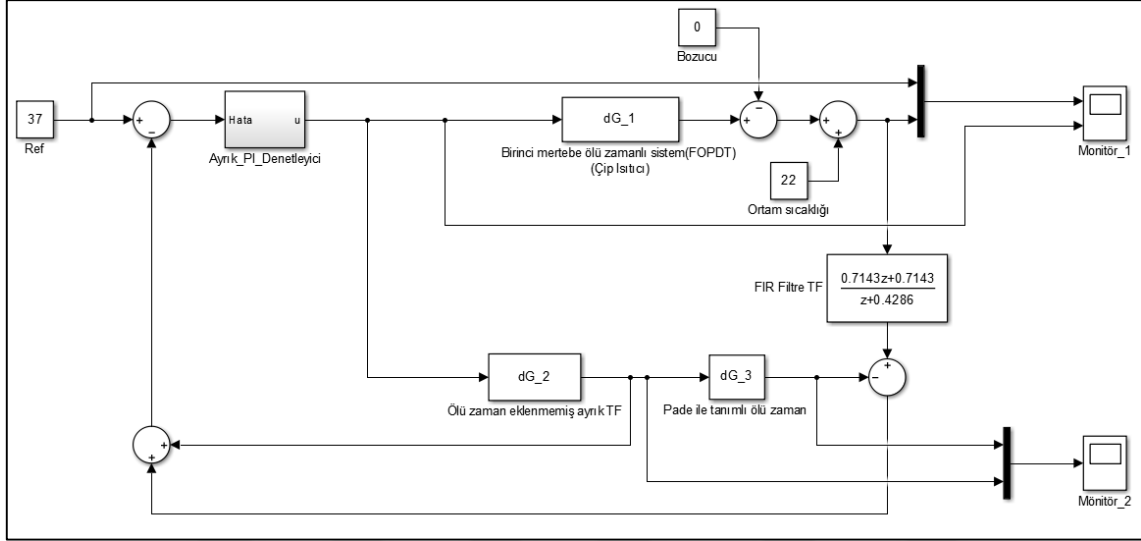
$$Y(k)_d = x(k)0.000832 + x(k - 1)0.000832 + Y(k - 1)0.9997 \quad (52)$$

$$G_L(z) = \frac{0.99z^2 - 1.99z + 1}{z^2 - 1.99z + 0.99} \quad (53)$$

$$G_L(z) = \frac{Y(z)}{X(z)} = \frac{b_2 z^2 - b_1 z^1 + b_0 z^0}{a_2 z^2 - a_1 z^1 + a_0 z^0} \quad (54)$$

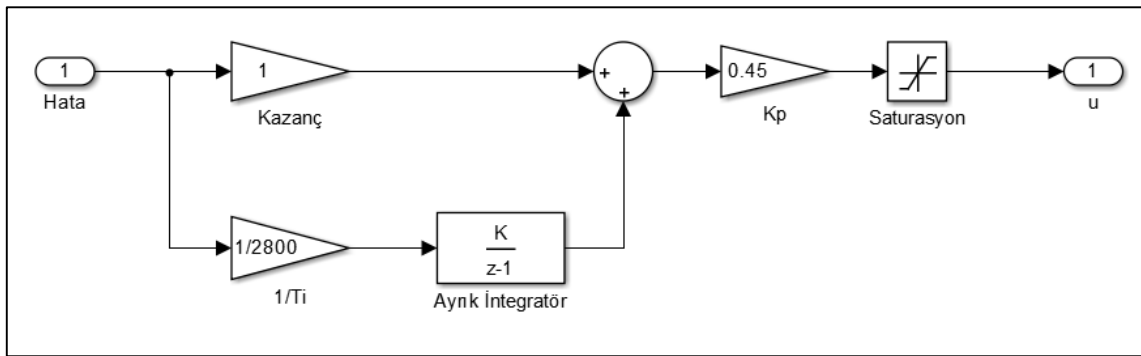
$$Y(k)_L = x(k)0.99 - x(k - 1)1.99 + x(k - 2)0.99 + y(k - 1)1.99 - y(k - 2)0.99 \quad (55)$$

Birim basamak girişe dayalı olarak elde edilen sistem cevabı ile kontrolcü katsayılarının tespit edilmesi için AMIGO PID ayar kuralları[96][97] tercih edilmiştir. Modelleme ve kontrolde kullanılan kontrolcü katsayıları $K_p = 0.45$, $T_i = 1750$ olarak belirlenmiştir. Deneyler sonrasında T_i değeri 2800 olarak ayarlanmıştır. Tasarlanan kontrolcünün MATLAB/Simulink modeli Şekil 2.36’da verilmiştir.



Şekil 2.36. PI Denetleyici MATLAB Modeli

Denetleyici blok şemasının içyapısı Şekil 2.37’de verilmiştir. İntegral alma işlemi ileri Euler metodu ile birikimli olarak yapılmıştır.

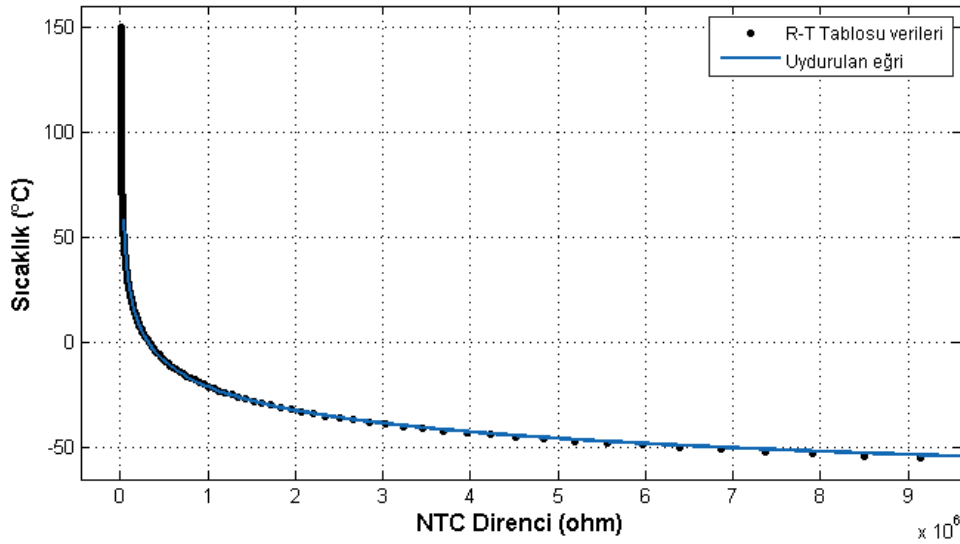


Şekil 2.37. PI Bloğu

Tercih edilen PI denetleyicinin transfer fonksiyonu Denklem 56’da verilmiştir. T burada örnekleme zamanını temsil etmektedir.

$$PI(z) = Kp \left[e(z) + \left(\frac{e(z)}{Ti} \frac{T}{z-1} \right) \right] \quad (56)$$

Sistemde oluşan sıcaklık değişimlerini takip etmek ve sistemden geri besleme alabilmek maksadıyla NTC_{100k} (EPCOS) sıcaklık sensörü kullanılmıştır. Gerilim bölücü bir devre yardımıyla direnç değişimleri voltaj değişimlerine çevrilerek Mikrodenetleyicinin analog ölçüm portundan okunmuştur. Ölçüm doğruluğunu sağlamak amacıyla üretici firma tarafından paylaşılan R-T (Direnç-Sıcaklık) tablosu verileri ile sensörün davranış eğrisi elde edilmiştir. Bahsi geçen tablonun grafiği Şekil 2.38’de verilmiştir.



Şekil 2.38. Sensöre ait R-T Grafiği

Eğri uydurma sonucunda elde edilen matematiksel ifade Denklem 57’de paylaşılmıştır. Burada x ile temsil edilen ADC ölçümleri üzerinden hesaplanan NTC ’nin anlık direnç değeridir. Bu fonksiyonun çıkış değerleri ise °C cinsinden olmaktadır.

$$f(x) = 833.9 \left(\frac{1}{x^{0.1391}} \right) - 143.4 \quad (57)$$

ADC çevre biriminden elde edilen desimal değerler Denklem 58’de verilen formülde işlenerek x değeri tespit edilmiştir.

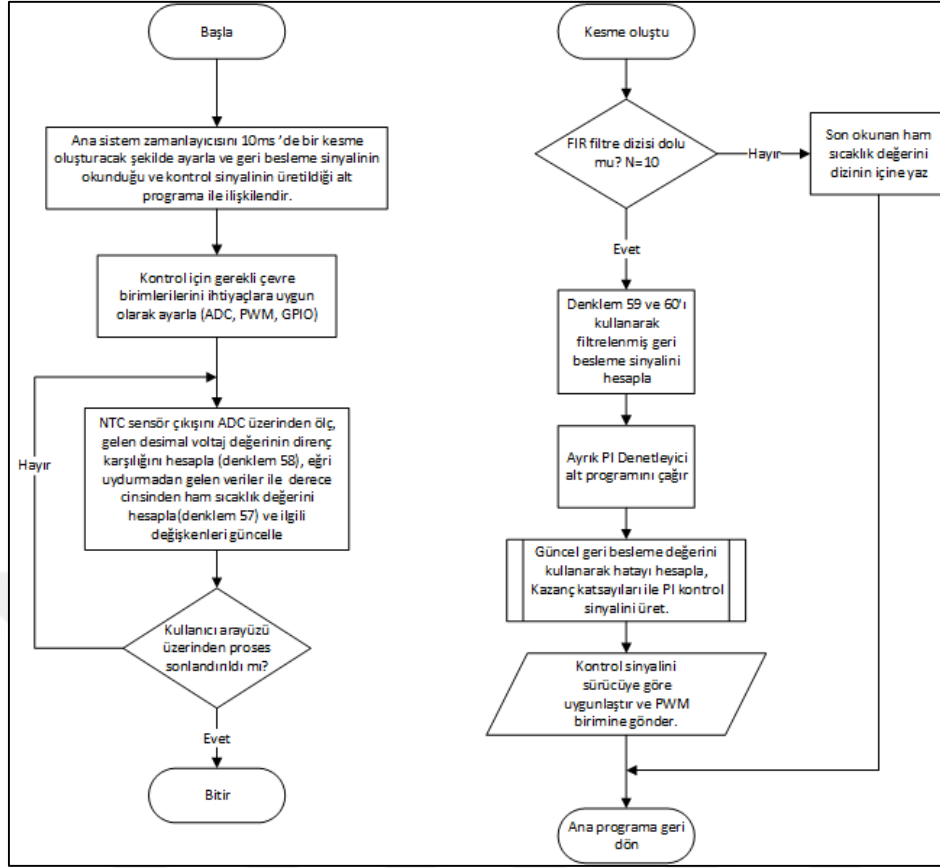
$$R_{NTC} = \frac{ADC_{\text{çözünürlük}} R_{ref}}{V_{ADC}} - R_{ref} \quad (58)$$

Burada, $R_{ref} = 10k\Omega$, V_{ADC} analog-dijital çeviriciden gelen desimal değer, ADC çözünürlüğü 12 bit dolayısıyla $2^{12} = 4096$ olarak kullanılmıştır. Geri besleme hattından gelebilecek gürültüleri zayıflatmak ve daha kararlı bir geri besleme sinyali oluşturmak adına ölçülen ham sıcaklık değerleri öz yinelemeli ortalama filtresinden geçirilerek nihai değer elde edilmiştir. Ortalama değer bulunurken her hesaplama öncesi 10 adet örneklem alınmıştır. Sonrasında bir önceki ölçüm periyodunda yedeklenen ortalama değer ve güncel ortalama değer belirli oranda birleştirilerek filtreye alçak geçiren özelliği de kazandırılmıştır. İlgili denklemler aşağıda paylaşılmıştır.

$$T_{ort} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N T_{ham_i} \quad (59)$$

$$T_{flt} = (T_{ort}(n)(1 - \alpha)) + (T_{ort}(n - 1)\alpha) \quad (60)$$

Burada, $N=10$, (10 ms bir veri okunuyor, dolayısıyla 100ms toplam periyot), $\alpha = 0.1$ filtre katsayısı, T_{ham} , T_{ort} , T_{flt} sırasıyla okunan ham sıcaklığı, ölçülen sıcaklığın ortalama değerini ve filtreden geçtikten sonraki sıcaklığı temsil etmektedir. Sıcaklık denetimi maksadıyla kullanılan algoritmanın akış diyagramı ise Şekil 2.39’da verilmiştir.



Şekil 2.39. Sıcaklık Kontrol Algoritması Akış Diyagramı

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Klinik Doğrulama Testlerinin Sonuçları

İnkübasyon aşamasının tamamlanmasını takiben, petri kapları kültür odaklı bir metodoloji ile incelenmiştir. Bakteri kültürlerinin canlılık değerlendirmesi plaka sayımı ve morfolojik değerlendirme yoluyla gerçekleştirilmiştir. Deneyler sırasında klinik mikrobiyolojide hücre canlılığını belirlemek için kullanılan diğer geleneksel ve kültürden bağımsız yöntemler kullanılmamıştır. Bakteri türleriyle ilgili ayrıntılı klinik incelemeler (örneğin, patolojik bir numunede bilinmeyen bir türün tanımlanması) bu çalışmanın kapsamı dışında değerlendirilmiştir.

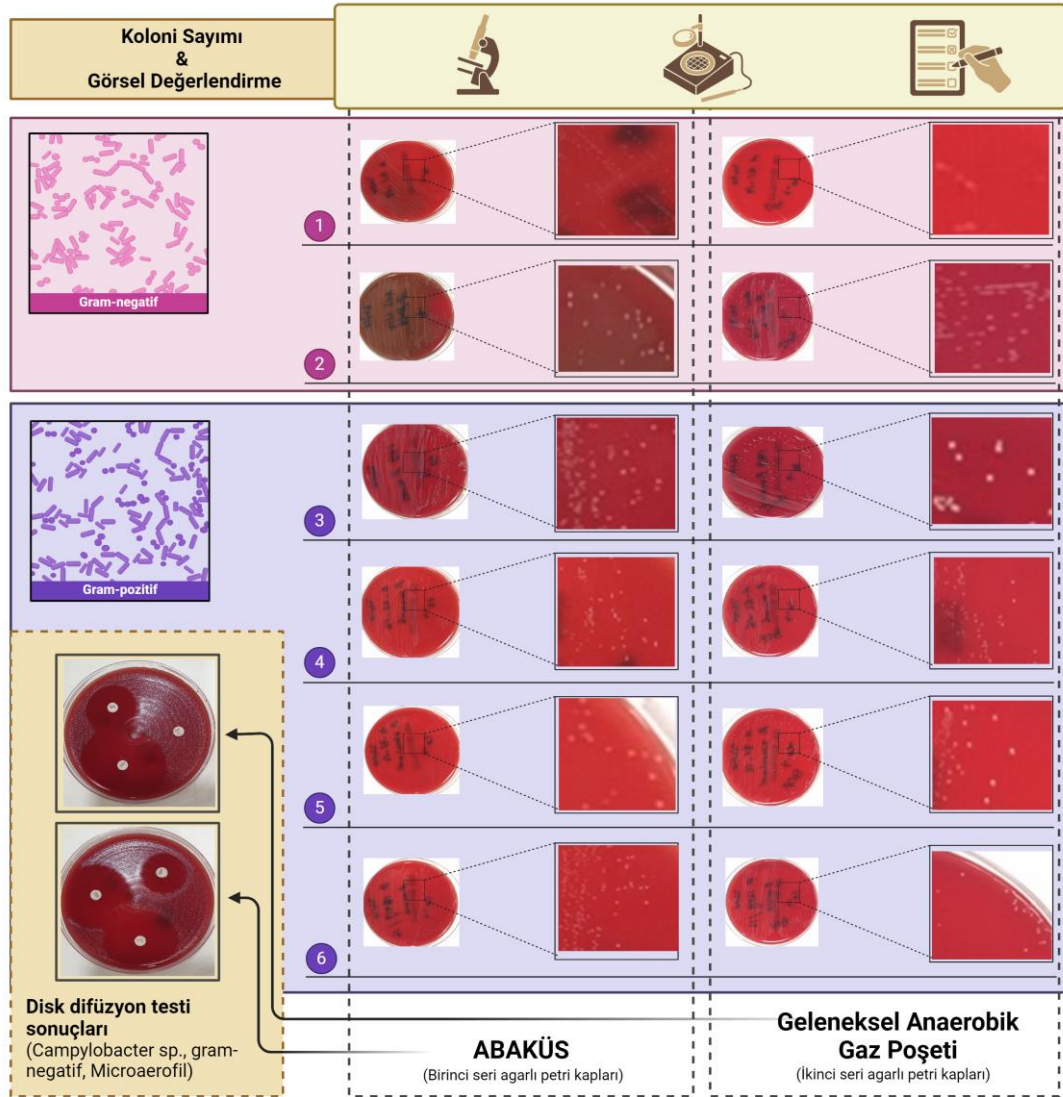
Morfolojik açıdan bakıldığında, Şekil 3.1'de gösterilen sonuçlar, seçilen tüm bakteri suşlarının kültür ortamında belirgin bir büyüme gösterdiğini açıkça ortaya koymaktadır.

Ayrıca, herhangi bir kontaminasyon belirtisi de görülmemiştir. Ek olarak, bu koloni oluşumları plaka sayımı için güvenilir bir temel oluşturmuştur. Disk difüzyon testi, her iki sistemin yetiştirme performansını değerlendirmek için ek bir ölçüt sağlaması sebebiyle tercih edilmiştir. Koloniler tarafından oluşturulan inhibisyon bölgeleri, canlı hücre aktivitesinin bir göstergesi olarak yorumlanabilir. Bu test aynı zamanda mikroaerofilik atmosfer oluşturma özelliğinin doğrulanması için de gerçekleştirilmiştir. Tablo 3.1'de verilen sayısal sonuçlardan da görülebileceği gibi, ABAKÜS tarafından yetiştirilen koloni sayısı geleneksel anaerobik atmosfer oluşturma poşetine oldukça yakındır. Bununla birlikte, anaerobik ekim yöntemlerine odaklanan önceki klinik çalışmalar, tahliye ve değiştirme cihazlarının zorunlu anaerobların ekimi sırasında daha yoğun koloni büyümesine olanak sağladığını ortaya koymuştur [98]. Bu açıdan bakıldığında, ABAKÜS sonuçlarında gözlenen değişkenlik bir işlev bozukluğu olarak değerlendirilmemiştir. Ayrıca, koloni sayımlarındaki değişkenliğin paladyum katalizör performansına bağlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Table 3.1. Karşılaştırmalı bakteri kültürleme sonuçları.

Bakteri Türleri	ABAKÜS ^(a)		GENBox ^(b)		Taksonomi ^(c)
	Hücre Canlılığı	Koloni Miktarı [CFU mL ⁻¹]	Hücre Canlılığı	Koloni Miktarı [CFU mL ⁻¹]	
Bacteroides fragilis ¹	Yüksek	1.34 × 10 ⁵	Yüksek	0.78 × 10 ⁵	Zorlu Anaerop
Prevotella bivia ²	Yüksek	2.17 × 10 ⁵	Yüksek	2.95 × 10 ⁵	Zorlu Anaerop
Cutibacterium acnes ³	Yüksek	1.77 × 10 ⁵	Yüksek	1.43 × 10 ⁵	Zorlu Anaerop
Peptoniphilus asaccharolyticus ⁴	Yüksek	1.26 × 10 ⁵	Yüksek	1.18 × 10 ⁵	Zorlu Anaerop
Finegoldia magna ⁵	Yüksek	2.05 × 10 ⁵	Yüksek	2.27 × 10 ⁵	Zorlu Anaerop
Parvimonas micra ⁶	Yüksek	1.94 × 10 ⁵	Yüksek	2.35 × 10 ⁵	Zorlu Anaerop

^(a) Tez kapsamında geliştirilen sistem; ^(b) Tek kullanımlık geleneksel system(bioMerieux®); ^(c)[45]; ^(1 - 6) Şekil 3.1'deki bakteri suşlarının numaralarına karşılık gelmektedir.



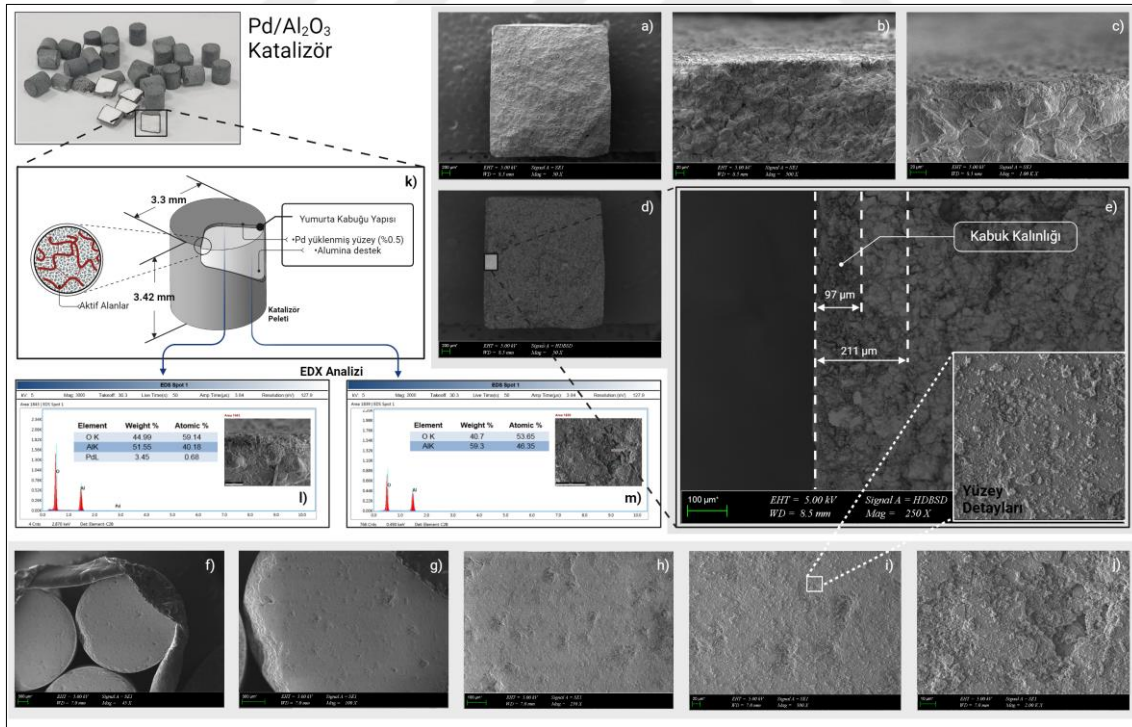
Şekil 3.1. İki farklı sistem aracılığıyla ekilen bakteri kolonilerinin şematik gösterimi. Gram-negatif (1 ila 2) ve Gram-pozitif (3 ila 6) bakteriler ayrı bir bölümde gösterilmiştir. Bakteri türlerinin detayları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Sonuç olarak, ABAKÜS sisteminin, klinik deneylerin sonuçlarının da gösterdiği gibi, konvansiyonel laboratuvar ihtiyaçlarını karşılayabilecek düzeyde anaerobik ve mikroaerofilik koşullar yaratabildiği gösterilmiştir.

3.2. Karakterizasyon Sonuçları

3.2.1. SEM Bulguları

SEM görüntülerinin ayrıntılı bir özeti Şekil 3.2'de verilmiştir. Görüntüler peletlerin iki farklı yüzeyinden toplanmıştır. Üst yüzey ve kesit yüzey incelemeleri peletlerin gözenekli yapısını açıkça göstermiştir. Daha yüksek büyütmelerde, destek malzemesinin ve katkı metalin parçacık boyutu farklılıkları daha kolay gözlemlenebilir (örneğin, Şekil 3.2(c,j)). Kesit incelemeleri sırasında, ikincil elektron (SEI) detektörü ile sıradan yüzey görüntüleri elde edilmiştir. Katalizör ve gövde malzemeleri arasındaki tezatlığı artırmak için geri saçılan elektron (BSD) detektörü kullanılmıştır. BSD detektörü tarafından üretilen görüntüler malzemelerdeki yoğunluk değişimlerini ortaya çıkarabilir. Paladyum kabuk kalınlığı BSD görüntülerinden *ImageJ* yazılımı (sürüm 1.54) kullanılarak ölçülmüştür. Bu kalınlık parametresi aktif bir katalizörün işareti olarak kabul edilebilir. Elde edilen kabuk kalınlığı değerlerinin (Şekil 3.2e) literatürde bildirilen değerlerle tutarlı olduğu görülmüştür [99][100][101]. Peletlerin yüzey ve gövde içeriklerini doğrulamak için çeşitli EDS analizleri gerçekleştirilmiştir. Kabuğun paladyum içeriği ve destek malzemesinin alümina içeriği EDS analizi ile doğrulanmıştır.

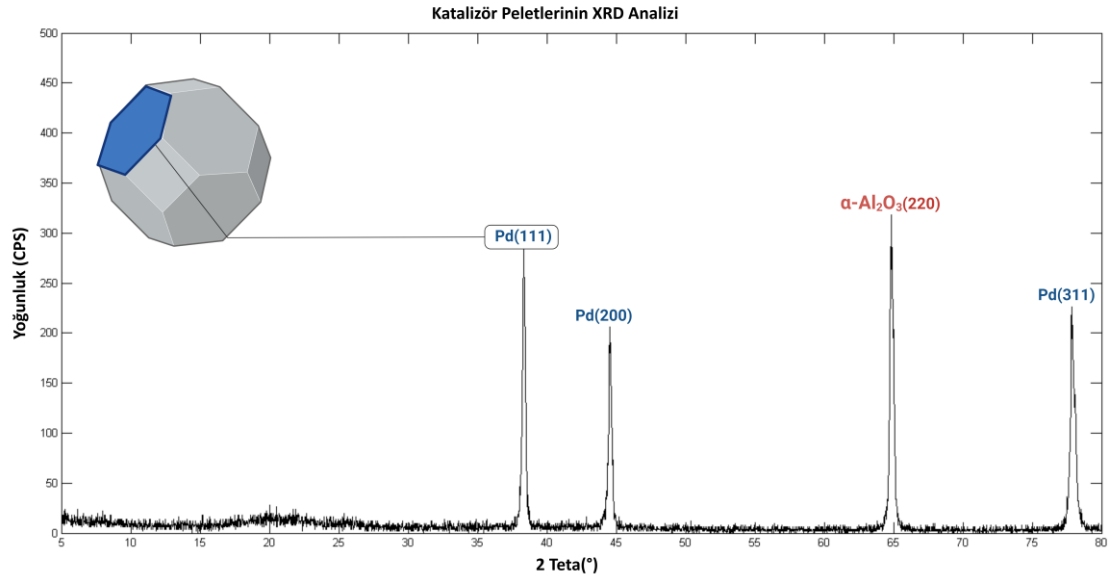


Şekil 3.2. Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri (EHT = 5kV). Kesit görünümü: SEI detektör görüntüleri (a-c), BSD detektör görüntüleri (d,e). Üstten görünüm: SEI-tabanlı görüntüler (f-j), Büyütmeler: Sırasıyla 45x, 100x, 250x, 500x ve 2000x. Yumurta kabuğu yapısının gösterimi (k). Kabuk ve destek malzemesinin EDX ölçümleri (l,m).

3.2.2. XRD Bulguları

Şekil 3.3'de kaydedilen XRD pikleri gösterilmektedir. Bu kırınım sonuçları dört farklı yansıma düzlemine veya fasetine işaret etmektedir. Bu yansıma düzlemlerinin miller indeksleri, paladyumun ICDD (The International Centre for Diffraction Data, JCPDS card, dosya no.46-1043) referans piklerini içeren ilgili bilimsel çalışmalardan belirlenmiştir [102]. Paladyum yüzeylerinde meydana gelen oksijen ve hidrojen rekombinasyon reaksiyonlarının çoğunlukla Pd(111) düzleminde olduğu çok sayıda araştırma ile gösterilmiştir [103][104][105][106]. X-ışını kırınımından belirlenen reaksiyonların elverişli yönleri, mikrokinetik modelleme için önemli bir benzetim parametresidir. XRD piklerinin iğne benzeri şekilleri, amorf bir yapıdan ziyade düzenli bir kristal yapıyı da işaret etmektedir [107][108][109]. Bu veri peletlerin herhangi bir yorulma bileşimine sahip olmadığını göstergesi olarak kabul edilebilir. Kırınım desenlerinden elde edilebilecek bir diğer bulgu da destek malzemesine bağlı olarak ortaya çıkan piklerdir, bu pikler alüminanın α -formuna işaret etmektedir. Şekil 3.2'i'de verilen SEM sonuçlarındaki detaylı yüzey görüntüsü de bu iddiayı desteklemektedir. Kırınım analizinden elde edilebilecek bir diğer önemli veri ise her bir düzlemin kristalit boyutudur. Kristalit boyutunu hesaplamak için en yaygın kullanılan ifade Debye-Scherrer formülüdür [110]. Bu formül Denklem 61'de verilmiştir. Bu denklemde β derece cinsinden yarı maksimumda tam genişlik (FWHM) değeri, θ piklerin 2 teta açısı, K Scherrer şekil faktörü ve λ hedefin dalga boyudur. Hesaplanan boyutlar Tablo 3.2'de gösterilmektedir.

$$L = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (61)$$



Şekil 3.3. Paladyum katalizör peletlerinin XRD spektrogramı

Kristalit boyutu, katalizör aktivitesini ve seçiciliğini etkileyen önemli bir faktördür. Aktivite ve seçicilik, metal katkılanma miktarına ve yüzey alanına bağlı olarak değişebilir [111][112][113]. Bununla birlikte, literatür bulguları nano ölçekli kristalit boyutunun katalitik olarak aktif yüzeylerin bir işareti olduğunu göstermektedir [105][114].

Tablo 3.2. Hesaplanan kristalit boyutları

2 Teta [°]	Yansıma Yüzeyleri [hkl]	FHWM [°]	Kristalit Boyutu, L ^(a) [nm/Å]
38.3253	Pd(111)	0.24310	36.149/361.49
44.5257	Pd(200)	0.23150	38.476/384.76
64.8221	α -Al ₂ O ₃ (220)	0.25500	38.563/385.63
77.8653	Pd(311)	0.27160	39.296/392.96

^(a) Şekil faktörü (*K*): 0.94.

XRD analizinin sonuçları, incelenen paladyum peletlerinin katalitik olarak aktif olduğunu ve Pd(111) düzleminin modelleme amacıyla kullanılması gerektiğini ortaya koymuştur.

3.3. Mikrokinetik Model Çıktıları

Pd(111) üzerindeki hidrojen oksidasyon reaksiyonunun mikrokinetik modellemesi için hesaplanan parametreler, DFT (Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi) Hesaplamaları ve Mikrokinetik Modelleme Detayları başlıklı bölümde belirtildiği üzere Tablo 3.3 ve 3.4’ de sunulmuştur. İleri reaksiyonların ön-eksponansiyel faktörleri, yüzey türlerinin ve geçiş durumlarının titreşim frekansları aracılığıyla tanımlanmıştır. Geriye doğru reaksiyonlar için bu değerler termodinamik denge ifadesi (Denklem (23)) kullanılarak aktivasyon bariyer yükseklikleri ve entropi değerleri ile hesaplanmıştır. Elde edilen model parametreleri, ilgili literatürde yer alan çalışmalarda sunulan verilerle tutarlıdır [76][113].

Tablo 3.3. TST hız parametreleri

Temel Reaksiyon Adımları	β_f [s ⁻¹]	E_f [J mol ⁻¹]	β_b [s ⁻¹]	E_b [J mol ⁻¹]
Denklem (11)	1.228×10^{13}	94570	1.66×10^{13}	97369
Denklem (12)	1.03×10^{13}	47285	1.03×10^{13}	95535
Denklem (13)	4.97×10^{13}	4825	5.166×10^{13}	20265
Denklem (14)	7.288×10^{15}	4,425	0.000	0.000

Not: 1 eV $\approx$ 96.5 kJ mol⁻¹; f ve b sırasıyla ileri ve geri yönlü reaksiyonları temsil etmektedir.

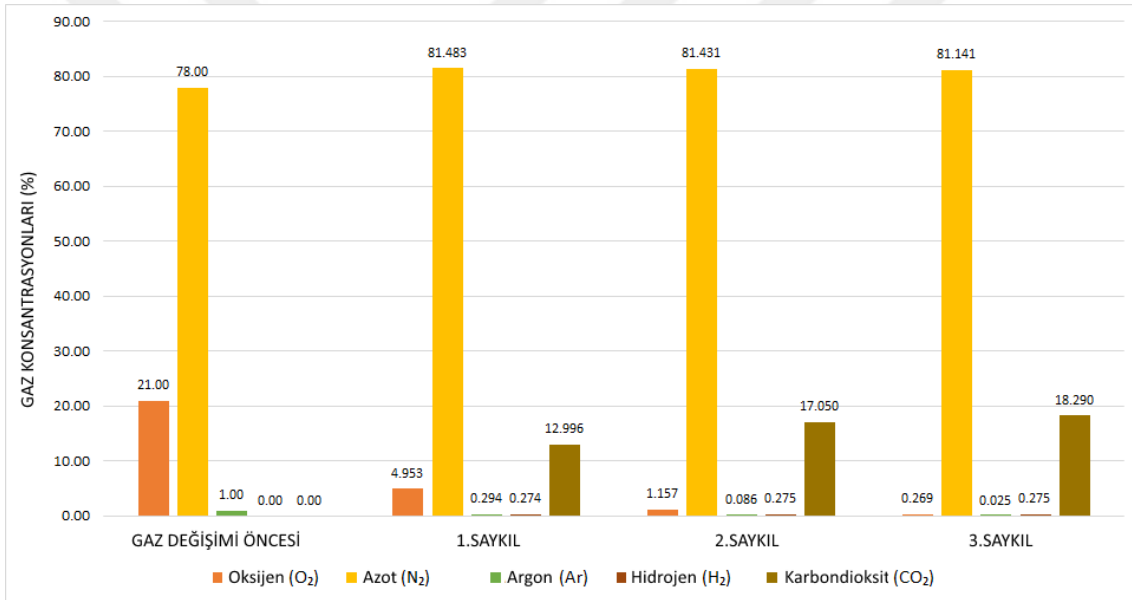
Çarpışma teorisi tarafından tanımlanan reaksiyonların desorpsiyon enerjileri Denklem (9) ve (10) için sırasıyla 0.8 eV ve 1.0 eV olarak alınmıştır. Yapışkanlık katsayısı stokiometrik nedenlerle 1.0 ve 0.5 olarak alınmıştır. Dönme sıcaklığı ve simetri faktörleri moleküler kimya kitaplarından seçilmiştir ve değerler iki atomlu ve homonükleer moleküller için tutarlıdır. Aktif bölge alanının değeri XRD sonuçlarından hesaplanmıştır.

Tablo 3.4. Hertz-Knudsen hız parametreleri

Temel Reaksiyon Adımları	A_{site} [m ²]	m [g]	$\theta_{rot}^{(a)}$ [K]	$\sigma^{(a)}$ [-]	S [-]	E_{des} [J mol ⁻¹]
Denklem (9)	4.37×10^{-26}	32	2.1	2	1	77×10^3
Denklem (10)	4.37×10^{-26}	2	87.9	2	0.5	96×10^3

^(a)[114].

Bir diğer önemli model parametresi de kavanoz içindeki gaz halindeki reaktanların yoğunluklarıdır. Bunlar gaz değişim modeli aracılığıyla belirlenmiştir (Denklem (1)-(8)). Anaerobik gaz karışımının ve atmosferik gaz karışımının başlangıç oranları, gaz kromatografisi analizinden elde edilen sonuçlara dayalı olarak tanımlanmıştır. Kullanılan değerler şu şekildedir: $\gamma_{Kavanoz} = [0.21 \ 0.78 \ 0.01 \ 0.00 \ 0.00]$, $\gamma_{Silindir} = [0.00 \ 0.84404 \ 0.00 \ 0.04916 \ 0.1068]$, $M_{Gazlar} = [31.998 \ 28.014 \ 39.948 \ 2.015 \ 44.01]$, $V_{Kavanoz} = 0.00238483 \ m^3$, $R = 8.314$, $T = 273.15 \ K$, ön tanımlı vakum değeri $P_{Vak} = 80000 \ Pa$ ve $P_{Atm} = 101325 \ Pa$ 'dır. Şekil 3.4 gaz değişimi döngülerine bağlı olarak kavanoz atmosferinde oluşan değişimlerin grafiksel gösterimini sunmaktadır.

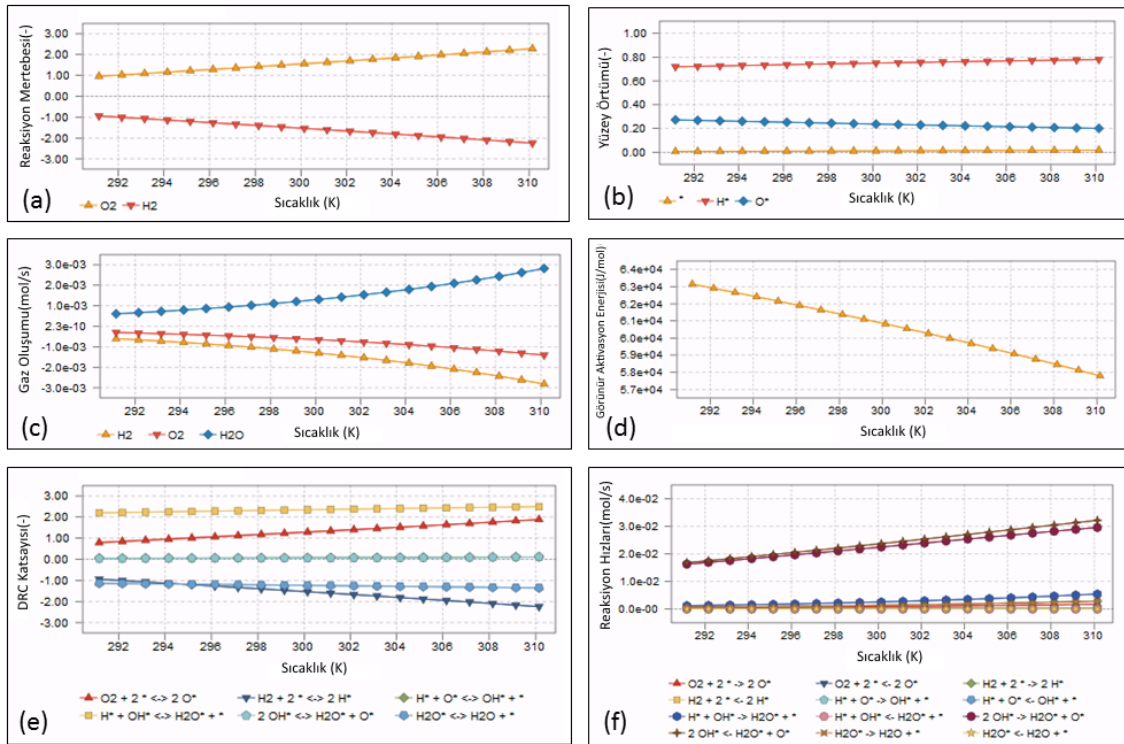


Şekil 3.4. Konsantrasyon değişimleri

Kavanozun gaz atmosferinde yaşanan değişikliklere ilişkin paylaşılan grafiklerden görüleceği üzere, kavanoz atmosferindeki oksijen seviyesi ilk vakumla ve yer değiştir döngüsünün sonunda %4.953 değerine ulaşmaktadır ve bu oksijen miktarı mikroaerofilik yetiştirme için uygundur. Üçüncü döngünün ardından kavanozda kalan oksijen seviyesi yaklaşık %0.2'dir ve bu da anaerobik koşullara işaret etmektedir. Bu bulgular McIntosh ve Fildes tarafından önerilen yöntem ile tutarlıdır. Ayrıca, ABAKÜS kontrol ünitesi klinik doğrulama testleri sırasında döngüleri aynı matematiksel ifadelerle dayanarak

yönetmiştir. Dolayısıyla bölüm 3.1'de özetlenen başarılı ekim sonuçları ışığında, hesaplamalar güvenilir olarak kabul edilmiştir.

Geleneksel kavanoz gazlama sistemlerine uygun olarak, paladyum katalizörlerin aktivitesi katalizör test aşaması devam ederken gözlemlenmiştir. Bu aşamada oluşan gaz atmosferi üzerinden dönüşüm oranı ve mikrokinetik model hesaplamaları yapılmıştır. Katalizör testi aşaması genellikle ilk vakumla ve yer değiştirir saykılı sırasında gerçekleştirilir ve kavanoz atmosferik basıncın yaklaşık %0.8'ine kadar doldurulur. Çalışmamızda yer değiştirme vakum eşiği 200 ± 10 mbar olarak belirlenmiştir. Konsantrasyonları hesaplamak için gerçek zamanlı bir sistemden vakum basıncı değeri elde edilmiştir (20700 Pa). Modelde kullanılan gaz halindeki bileşiklerin normalize edilmiş kısmi basınçları şu şekilde verilmiştir: O₂, N₂, Ar, H₂ ve CO₂ için sırasıyla 0.047, 0.834, 0.00223, 0.0388, 0.0776'tır. Verilen değerler kullanılarak oluşturulan mikrokinetik model benzetim sonuçları Şekil 3.5'te gösterilmektedir.



Şekil 3.5. Mikrokinetik model çıktıları: (a) Reaksiyon mertebeleri; (b) Yüzey örtümü grafikleri; (c) Gaz oluşumu grafiği; (d) Görünür aktivasyon enerjisi; (e) DRC katsayıları; (f) Temel reaksiyon adımlarının hızları.

Mikrokinetik model grafikleri x eksenini sıcaklık olacak şekilde çizilmiştir. Heterojen kataliz çalışmalarındaki yaygın uygulamanın aksine, sıcaklık değerleri oda ve inkübasyon sıcaklıklarını kapsayan sınırlı bir aralıkta ölçeklendirilmiştir. Bu durum uygulamaya özgü bir tercihtir. Mikrokinetik model çıktılarından elde edilebilecek en önemli bulgulardan biri de hız belirleyici adımdır (RDS). Hız belirleyici adım Langmuir-Hinshelwood tipi yüzey reaksiyon mekanizmalarının temel bir bileşenidir. MKMCCX yazılım (sürüm 2.15.3) paketi, RDS adımını belirlemek için Campbell [115] tarafından tanıtilen hız kontrol derecesi (DRC) yöntemlerini kullanmaktadır. Hesaplanan DRC katsayıları Şekil 3.5'te görülebilir. Platin ile katkılanmış yüzeylerde [76][116] 500 K üzerindeki sıcaklıklarda oluşan rekombinasyon reaksiyonlarının aksine özellikle bizim durumumuzda olduğu gibi daha düşük sıcaklık aralıklarında, $H^* + OH^* \rightleftharpoons H_2O^*$ reaksiyonu Pd(111) fasetinde oluşan yüzey reaksiyonları için RDS adımı [75][117] olarak rapor edilmiştir. $O_2 + 2^* \rightleftharpoons 2 O^*$ reaksiyonu ise RDS basamağı ile beraber gözlemlenebilen bir başka önemli reaksiyondur. Bulgularımız mevcut literatürde verilen değerlerle uyumludur.

Şekil 3.5c, O_2 ve H_2 tüketim oranlarının stokiometrik olarak anlamlı olduğunu açıkça göstermektedir. Geniş bir sıcaklık aralığında gerçekleşen reaksiyonları analiz ederken, görünür aktivasyon enerjisinin sıfır olduğu belirli bir sıcaklık, genel reaksiyon hızının optimum seviyesi olarak kabul edilebilir. Bununla birlikte, Şekil 3.5d'de gösterildiği gibi, görünür aktivasyon enerjisi pozitifdir ve mikrokinetik modelin belirtilen sıcaklık aralığı boyunca yaklaşık 5000 J mol^{-1} 'lik hafif bir değişim göstermiştir. Şekil 3.5b'den, yüzeyin çoğunlukla H^* türleri tarafından bloke edildiği görülmektedir. Ayrıca yüzey örtme grafiği, düşük sıcaklık aralığı nedeniyle boş alanların oluşumunun oldukça sınırlı olduğunu göstermektedir [118][119]. Bu örtme modeli klinik doğrulama testlerinde, özellikle de sistem bileşenlerinin arızaları nedeniyle (örn. kavanoz sızıntı testi hatası) tekrarlanan kavanoz gazlama deneyleri sırasında sıklıkla gözlemlenmiştir. Bu gibi durumlarda, kavanoz gazlama süreçleri arasında yeterli bir süre atmosferik havaya maruz bırakılmadıkları takdirde paladyum peletlerinin katalitik aktivitesi önemli ölçüde azalmaktadır. Bu nedenle, katalizör keseleri yeniden kullanılmadan önce beş dakika boyunca atmosfere maruz bırakılmıştır.

3.4. Ekstremum Arayıcı Algoritmanın Analizi

Katalitik sistemimizin (ABAKÜS) gerçek zamanlı davranışı ile DFT tabanlı mikrokinetik model arasında bir bağlantı kurmak için kullanılan ayırık ekstremum arama algoritmasının yakınsama özellikleri bu bölümde açıklanmaktadır.

Modelleme çalışmalarında sıklıkla karşılaşıldığı üzere, model çıktıları modellenen sistemin gerçek tepkisini tam olarak temsil edemeyebilir. Bizim çalışmamızda, bu noktada dikkate alınması gereken birkaç husus vardır. Mikrokinetik model parametrelerinin çoğu, çalışma esnasındaki yüzey analizi sonuçlarına çok yakın değerler sunan DFT bulguları kullanılarak hesaplanmıştır, ancak bu hesaplamalar yüksek vakum koşulları altında çok sınırlı bir molekül yapısıyla gerçekleştirilmektedir ve bu durum bir takım sapmalara yol açmaktadır. Ayrıca, kinetik benzetimler ilk olarak sıfır kapsama yüzey örtümü varsayımı ile koşturulmuştur, ancak bizim örneğimizde olduğu gibi düşük sıcaklık koşullarında, gaz halindeki reaktanların çarpışma aktivitesi azalır ve bu koşullar gerçek katalizör yüzeyinde zehirlenmeye neden olur. Sonuç olarak, bu durum reaksiyon hızlarını düşürmektedir. Bu hususları değerlendirmek ve hız farklılıklarını vurgulamak için, klinik uygulamalar sırasında ABAKÜS sistemi tarafından bir dizi ölçüm gerçekleştirilmiştir. Bu testlerin sonuçları Tablo 3.5'te özetlenmiştir.

Tablo 3.5. ABAKÜS kontrol ünitesi tarafından toplanan reaksiyon hızlarının gerçek zamanlı ölçümleri

Gazlama Testleri	TOF [mol s ⁻¹]	Δt_{kat_test} [s]	$\Delta P_{kayıp}$ [Pa]	T _{tof} [K]	Pd/Al ₂ O ₃ Kesesi Çalışma Durumu
Test 1, Kese 1	1.633×10^{-5}	90	1400	296.15	1. kullanım
Test 2, Kese 2	1.283×10^{-5}	90	1100	295.15	1. kullanım
Test 3, Kese 3	1.633×10^{-5}	90	1400	296.15	1. kullanım
Test 4, Kese 2	1.225×10^{-5}	180	2100	295.15	2. kullanım
Test 5, Kese 2	5.833×10^{-6}	90	500	296.15	3. kullanım
Test 6, Kese 2	9.917×10^{-6}	180	1700	295.65	4. kullanım

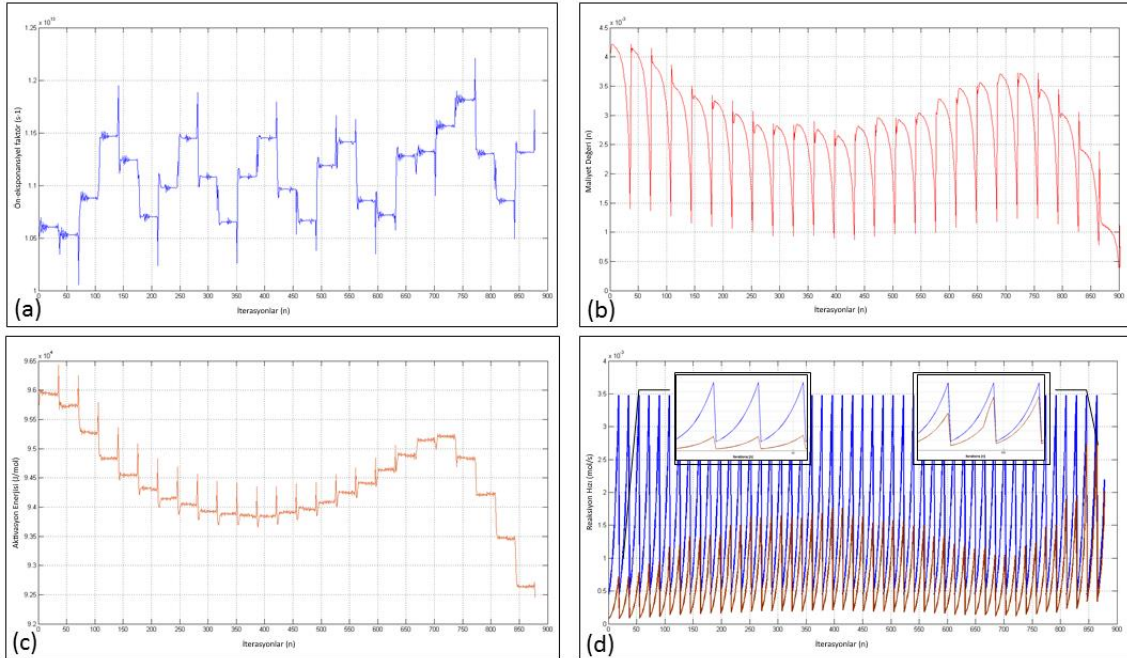
Not: Ölçülen yer değiştirme vakum eşliğinin belirtilen tolerans aralığında kaldığı gözlemlenmiştir.

Ölçümler farklı zamanlarda ancak aynı laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiş ve çevresel sıcaklık dalgalanmaları 22°C ile 23°C arasında ölçülmüştür. Minimum ve maksimum katalizör test aralıkları kullanılmıştır. Testten önce tüm poşetler 180 °C'de fırınlanarak deşarj edilmiştir. Yinelemeli kavanoz gazlama işleminde taze katalizörler kullanılmıştır. Tablo 3.5'te sunulan TOF değerlerine dayanarak aşağıdaki sonuçlara varılmıştır. Her bir kese içindeki pelet miktarı eşit olmasına rağmen, keserin ilk kullanımı esnasında, gözenekli yüzey ve geçiş metali katkı oranındaki heterojenliklere bağlı olduğu değerlendirilen değişken reaksiyon hızları gözlenmiştir. Kavanoz içinde sabit bir gaz akışı olmadığından, kavanoz içindeki petri plakalarının sayısı ve konumları kavanoz atmosferindeki anaerobik gazın doğal konveksiyonunu etkilemektedir. Bu durum, keselerin katalitik performansını da değiştirmiştir. Ayrıca, zehirlenme etkisi Test 4 ile 6'nın sonuçlarından görülebilir.

Optimizasyon algoritmasının çalışma prensibi de bu ölçümler aracılığıyla görselleştirilmiştir. Tablo 3.5'ten seçilen örnek sistemin (Test 4) Arrhenius parametrelerini belirlemek için kullanılan ekstremum arama katsayıları şu şekilde verilmiştir: $h = 0.5$, $a = 0.8$, $\xi = 0.0135$, $\alpha = [20, 12 \times 10^3]^T$, $\gamma = [1000, 15 \times 10^8]^T$. İlgili testin TOF değeri, kaydedilen ortam sıcaklığı ve 292 K'deki reaksiyon hızı sırasıyla aşağıdaki gibidir: $TOF = 1.225 \times 10^{-5}$, $T_{tof} = 295.15 K$, $k_{s@292K} = 8.38 \times 10^{-6}$. Mikrokinetik model aracılığıyla belirlenen ekstremum arama algoritmasının başlangıç parametreleri şunlardır: $\beta_m = 1.03 \times 10^{13} s^{-1}$, $E_{act_m} = 95535 J mol^{-1}$ (RDS adımı). k_{sistem} ile temsil edilen reaksiyon hızı Denklem (31)'in doğal logaritması alınarak hesaplanmıştır.

Optimizasyon algoritmasının yakınsama sonuçları ve ayar grafikleri Şekil 3.6'da sunulmuştur. Algoritma, maliyet değeri belirlenen sonlandırma şartına ulaşana kadar Bölüm 3.3'te özetlenen ekstremum arama şemasına dayalı olarak yinelenmiştir. Arrhenius ifadesinin parametreleri her iterasyon sırasında öğrenme oranı ve maliyet değerine göre güncellenmiştir. Ekstremum arama süreci θ vektörünün her bir elementi için ayrı ayrı işletilmiştir.

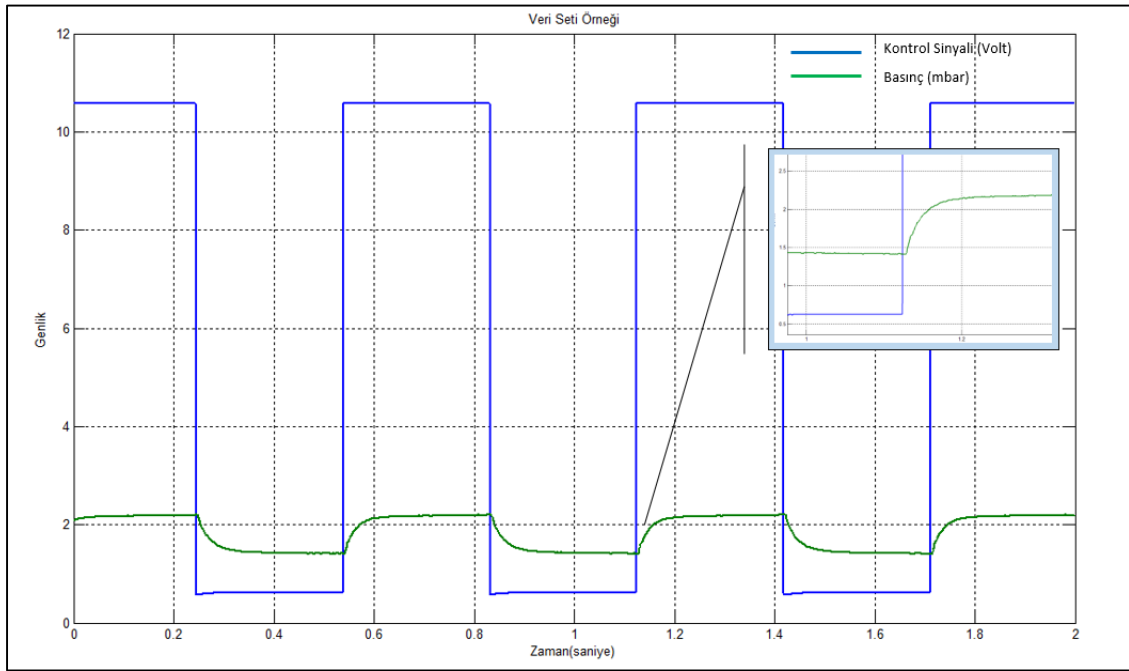
Şekil 3.6(d) iterasyonlar sırasında ölçülen reaksiyon hızı ve modellenen reaksiyon hızı arasındaki yakınsamayı göstermektedir. k_{model} 'de gözlemlenen değişimler Şekil 3.6'de yer alan alt grafikler üzerinde de görülebilir. İlk ve son çıktılar bu grafiklerde görselleştirilmiştir. Ekstremum arayıcı algoritması 878 iterasyondan sonra sonlandırılmıştır. Son iterasyonda Arrhenius parametreleri $\theta = [91950, 1.156 \times 10^{13}]^T$ olarak kaydedilmiştir. Şekil 3.6(a,c) sırasıyla ön-eksponansiyel faktör ve aktivasyon enerjisi dalgalanmalarını göstermektedir. Beklendiği gibi, algoritma çoğunlukla aktivasyon enerjisini değiştirmiştir çünkü bu, reaksiyon hızı ifadesinin üstel kısmını temsil etmektedir. Dalgalanmaların genliği γ katsayısı tarafından belirlenir ve bu parametrenin seçimi algoritmanın arama kabiliyetini etkiler. Buna ek olarak, pertürbasyonların frekansı nihai iterasyon sayısını etkilemekte ve aynı zamanda arayıcının ana eğilimini tanımlamaktadır. Bu grafiklerde gözlemlenen iğne şeklindeki dalgalanmalar, pertürbasyon sinyalinin sıklığının ve algoritmanın ayrık formunun bir sonucudur. Maliyet fonksiyonunun iterasyonlar boyunca değişimi Şekil 3.6(b)'de gösterilmektedir. Maliyet fonksiyonu çıktısının dalgalı ancak azalan eğilimi göz önüne alındığında, ekstremum arayıcı algoritmasının hata değerini etkili bir şekilde en aza indirdiği kolayca görülebilir.



Şekil 3.6. Ekstremum arayıcı yakınsama sonuçları: (a-b) Arrhenius parametrelerinin varyasyonları; (c) Maliyet fonksiyonu varyasyonu; (d) Reaksiyon hızının yakınsama grafiği.

3.4. Mikroakışkan Sistem Bileşenlerine İlişkin Modelleme Sonuçları

Veri toplama kartı yardımıyla tekrarlı testler neticesinde elde edilen sinyaller dönüşüm ve uygunlaştırma safhalarından geçtikten sonra grafiğe dökülerek çeşitli mühendislik programları yardımıyla incelemeye tabi tutulmuştur. Deney düzeneği yardımıyla toplanan ve bilgisayar ortamına aktarılan örnek bir veri setine ilişkin oluşturulan grafikler Şekil 3.7’de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. Veri Toplama Kartı Yardımıyla Toplanan Örnek Veri Seti

Örneklendirilerek dijital ortama aktarılan veriler literatürden elde edilen veriler ışığında değerlendirilerek piezoelektrik basınç regülatörünün transfer fonksiyonu tespit edilmiştir. Veri seti örneğinden de görülebileceği gibi basınç kontrol valfi birinci mertebe ve ölü zamanlı bir sistem davranışı sergilemektedir. Bu tarz sistemlere ait açık çevrim transfer fonksiyonunun genel ifadesi Denklem 62’de verilmiştir.

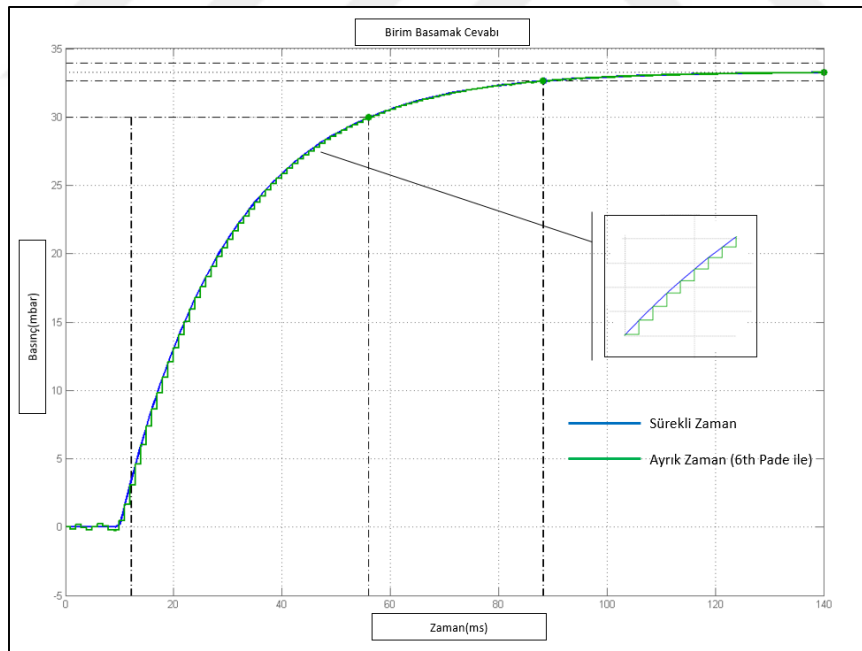
$$G(s) = \frac{K e^{-\tau_{DT}s}}{\tau s + 1} \quad (62)$$

Yapılan ölçümler neticesinde basınç kontrol valfinin τ_{DT} ifadesi ile temsil edilen ölü

zaman değeri 0.01 saniye olarak tespit edilmiştir. Buna ek olarak sistemin oturma süresinin yaklaşık olarak 0.1 saniye bandında olduğu tespit edilmiştir. Buradan hareketle sistemin τ ile temsil edilen zaman sabiti değeri 0.02 saniye olarak belirlenmiştir. Valfin giriş basıncı 80 mbar değerinde tutulduğunda uygulanan kontrol sinyaline bağlı olarak regülatör çıkışında oluşacak basınç değerini modelleyebilmek adına K değeri 3.33 olarak alınmıştır. Bu katsayı değeri giriş basınç değerinin kontrol sinyalinin maksimum genliğine bölünmesi yoluyla elde edilmiştir. Regülasyon valfinin nihai transfer fonksiyonu Denklem 63’de verilmiştir.

$$G(s) = \frac{3.33e^{-0.01s}}{0.02s + 1} \quad (63)$$

Denklem 44’de belirtilen transfer fonksiyonunun birim basamak girişe karşılık oluşturmuş olduğu çıkış Şekil 3.8’de gösterilmiştir. Bahsi geçen şekilde sistemin birim basamak cevabı hem sürekli formda hem de ayırık formda gösterilmiştir.



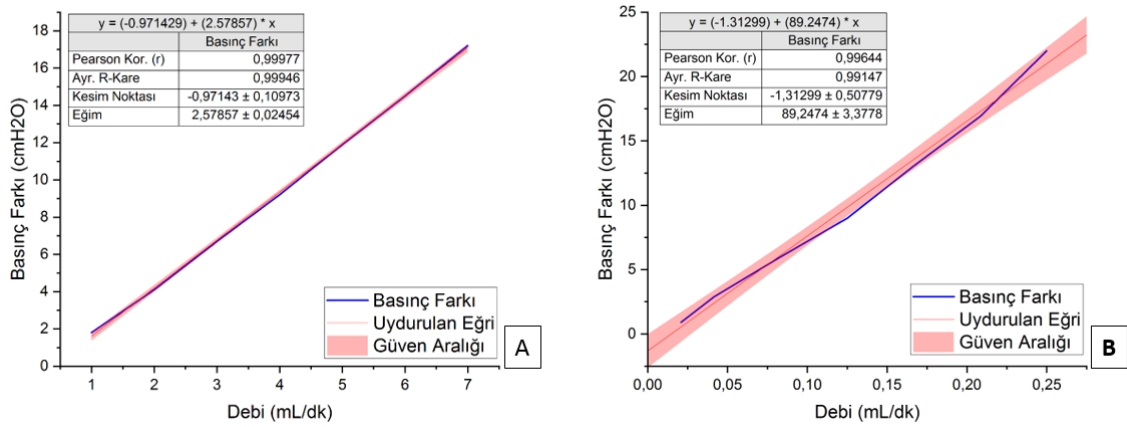
Şekil 3.8. Deneysel Olarak Elde Edilen Açık Çevrim Cevabı(Sürekli ve Ayırık)

Bilgisayar ortamında yaratılan benzetim unsurlarının gömülü sisteme aktarılması esnasında kolaylık yaratması adına kontrol algoritması ve tüm simülasyon bileşenlerinin

ayrık zaman modellerinin kullanımı tercih edilmiştir. Ölü zamanın ayrık sistemlerde modellenmesinde oldukça başarılı ve kolay hesaplanabilir sonuçlar ürettiği için *Pade* yaklaşımı metodu ile modele ölü zaman eklentisi yapılmıştır.

3.4.1. Mikroakışkan Çip Basınç Farkı Ölçümleri

Akışkan kontrol donanımı bileşenlerinin modellenmesine ilişkin materyal ve yöntem kısmında paylaşılmış olan ölçüm düzeneği üzerinden iki farklı mikroakışkan çipe dair toplanan veriler ve yapılan eğri uydurmaları Şekil 3.9’da verilmiştir.



Şekil 3.9. Eğri Uydurma Sonuçları

Sonuçlardan görülebileceği üzere her iki çip üzerinde oluşan basınç düşümleri lineer bir grafik sergilemektedir. Akışkanlar mekaniği prensipleri noktasından bakıldığında çipler üzerinde ani genişleme veya daralma sergileyen kanal geometrilerinin bulunmaması, şırınga pompası yardımıyla akıtılan debinin mL/saat ve mL/dk gibi oldukça düşük değerlerde olması sebebiyle doğrusal olmayan ve türbülanslı akışlar başlatacak bir akış profili gözlemlenmemesi anlamlı olarak değerlendirilmiştir[120]. Ayrıca Newton tipi akışkan özelliği taşıyan sıvı akışkanların dar kanallarda akışlı esnasında yüzeyin viskoz kuvvetleri akışkanın ataletine göre daha baskın olduğu için akışın türbülanslı hale gelmesi ve ek basınç kayıplarına yol açması beklenmedik bir durumdur[121]. Ölçümlerini yapmış olduğumuz çiplerin doğrusal bir direnç elemanı gibi davrandığı söylenilebilir. Çiplerden Şekil 3.9A’da verilen grafik en geniş kanal geometrisine sahip olan çipe, diğeri ise en dar kanal geometrisine sahip olanıdır.

3.5. Optik Ölçümlere İlişkin Sonuçlar

Bu kısımda McFarland bulanıklık ölçümlerine ilişkin karakterizasyon, ölçüm, eğri uydurma ve doğrulama safhalarına ilişkin sonuçlar paylaşılmıştır.

3.5.1. Bulanık Ölçümlerine İlişkin Sonuçlar

Optik yoğunluk ölçümüne dayalı olarak bir süspansiyon içerisindeki bakteri kolonilerinin miktar tayini maksadıyla kullanılan ve anti mikrobiyal duyarlılık süreçlerinde standart bir ölçüm prosedürü içerisinde yer alan bu ölçümleri gerçekleştiren donanımlar mikrobiyoloji klinik standartlarına bağlı olarak hazırlanan bulanık solüsyonlar ile kalibre edilerek kullanılmaktadırlar[122]. Buradan hareketle tez çalışmaları kapsamında üretilen ölçüm düzeneği ilgili yönetmeliklere bağlı kalınarak test edilmiştir.

3.5.1.1. Solüsyon Doğrulama

İlk olarak McF ölçümleri için referans süspansiyonlar materyal ve yöntem kısmında belirtildiği şekilde üretilmiştir. Sonrasında solüsyonların UV-VIS absorbans değerleri ölçülmüş ve ilgili standarda uygunluğu değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 3.6'da paylaşılmıştır.

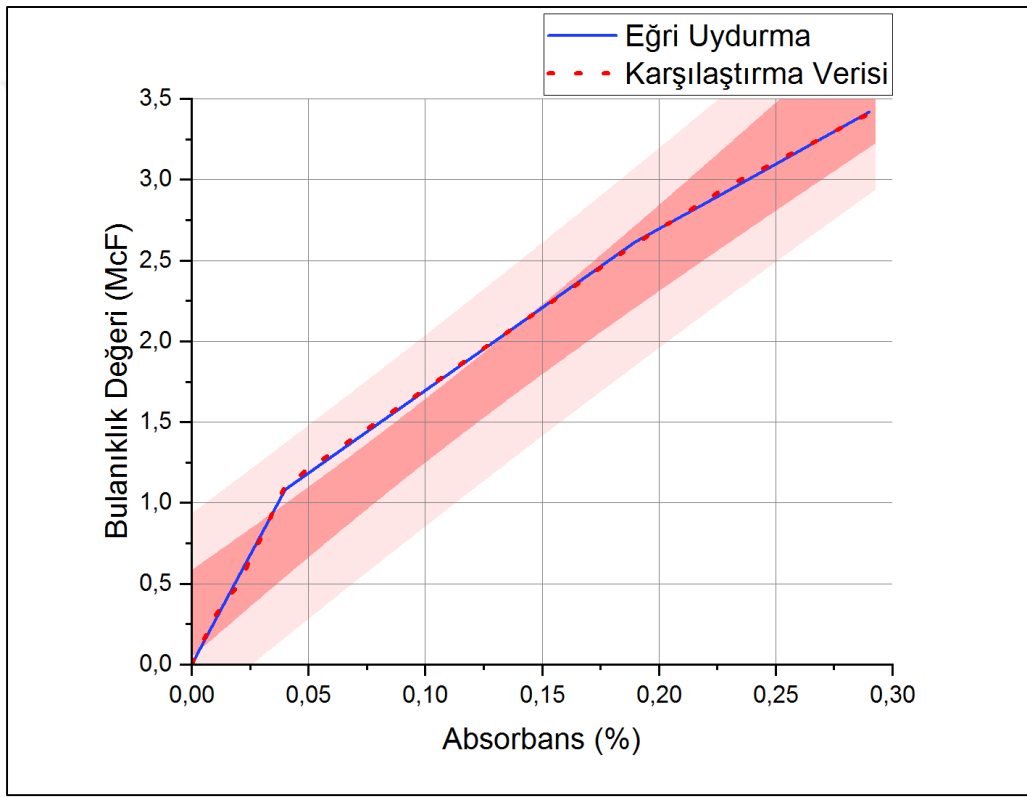
Tablo 3.6. Hazırlanan McFarland solüsyonlarının UV-VIS absorbans ölçümleri

	McFarland Katsayısı (McF)					Referans Dalga Boyu (nm)
	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	
Standart Absorbans Değerleri	0.08-0.1	0.257	0.451	0.582	0.669	600
UV-VIS ile Ölçülen Absorbans Değerleri	0.118	0.267	0.490	0.593	0.688	600
UV-VIS ile Ölçülen Absorbans Değerleri	0.110	0.250	0.460	0.569	0.661	625
UV-VIS ile Ölçülen Absorbans Değerleri	0.100	0.235	0.432	0.545	0.634	650

Yapılan karşılaştırmalar neticesinde hazırlanan solüsyonların belirtilen dalga boyunda vermiş olduğu absorbans değerlerinin standartlar ile uyumlu olduğu görülmüştür ve McF karşılıkları belirlenmiştir.

3.5.1.2. Eğri Uydurma

Çeşitli McF değerlerine sahip bulanık solüsyonlar klinik pratikte kullanılan konvansiyonel bir densitometre cihazı ölçüldükten sonra prototip ölçüm düzeneğine takılmış ve absorbens değerleri ölçülmüştür. Bu ölçümler neticesinde tarafımızdan üretilen sistemin davranış grafiğinin Şekil 3.10’da gösterilen biçimde olduğu görülmüştür. Sistemimize ait bu transfer fonksiyonu McF ölçüm cihazlarının tolerans aralıkları göz önüne alındığında iki farklı eğim bileşenine sahip lineer bir parçalı fonksiyon ile temsil edilebileceği görülmüştür. Ölçüm verileri kullanılarak uydurulan eğrinin denklemi ise Denklem 64’de verilmiştir.



Şekil 3.10. Uydurulan Ölçüm Eğrisi

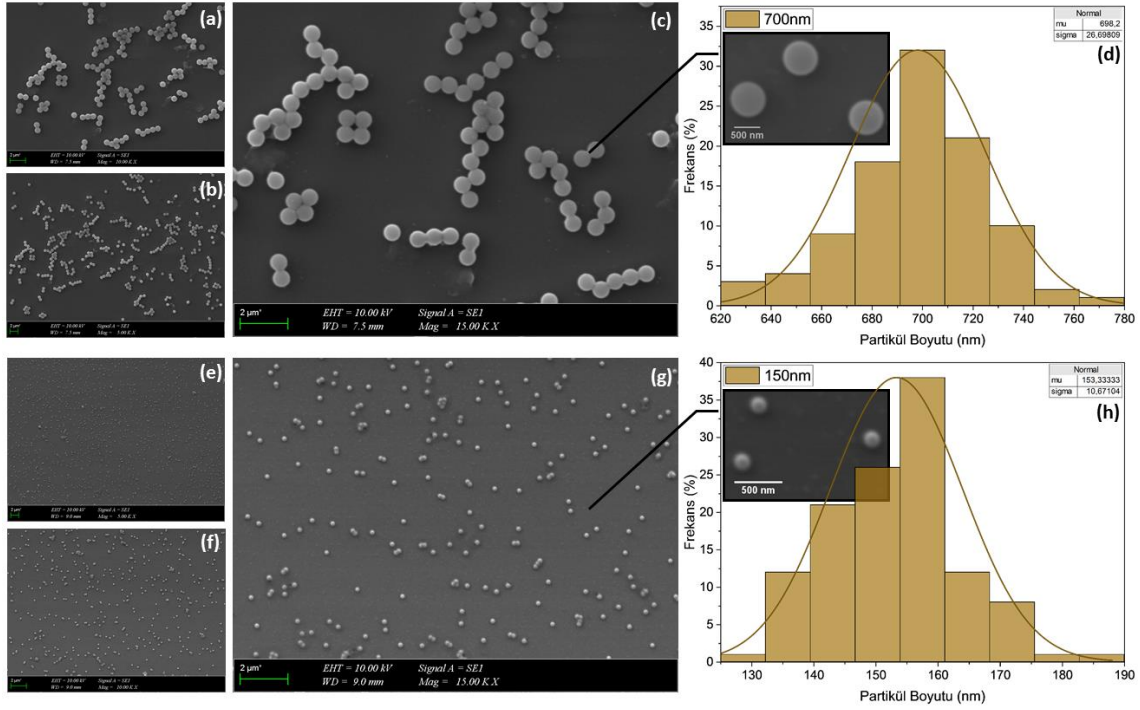
$$f(x) = \begin{cases} 27.2x - 0.004, & 0 < x \leq 1.2 \\ 8.053x + 1.084, & 1.2 < x \leq 6 \end{cases} \quad (64)$$

Elde edilen davranış modeli densitometre yazılımına entegre edilerek klinik ölçümlerde kullanılmıştır.

3.5.2. Partikül Boyutu Dağılımının Tespitine İlişkin Sonuçlar

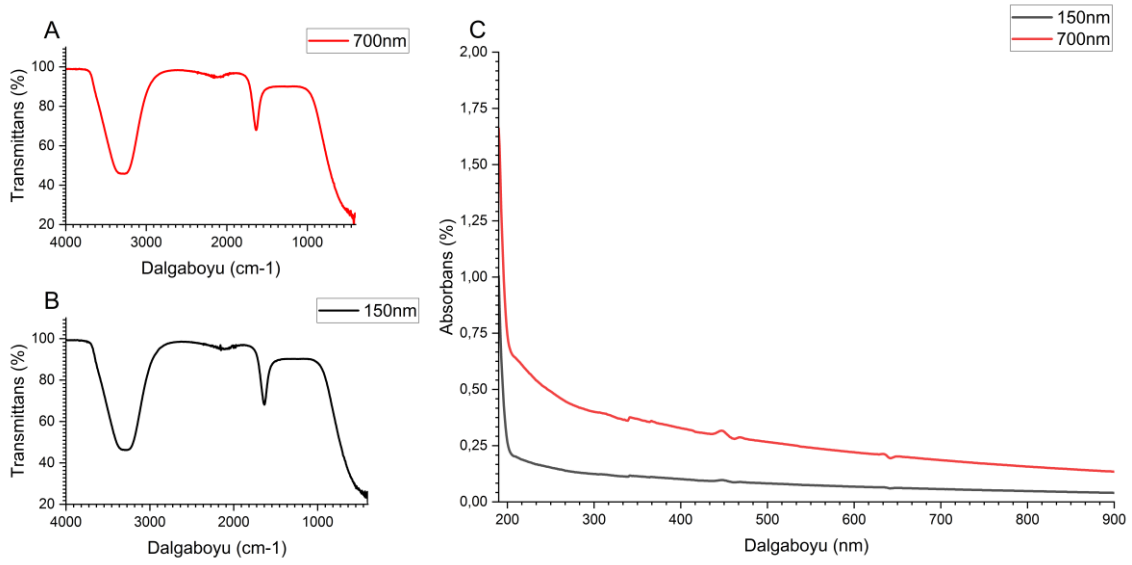
Dinamik ışık saçılımı ölçümlerimizi kalibre etmek ve ışık şiddeti dalgalanmaları ile

parçacık boyutları arasındaki bağıntıları doğrulamak amacıyla kullandığımız 150 nm ve 700 nm çapındaki lateks nano parçacıkların morfolojik değerlendirmesi için taramalı elektron mikroskobu yardımıyla elde edilen fotoğraflar Şekil 3.11’de paylaşılmıştır.



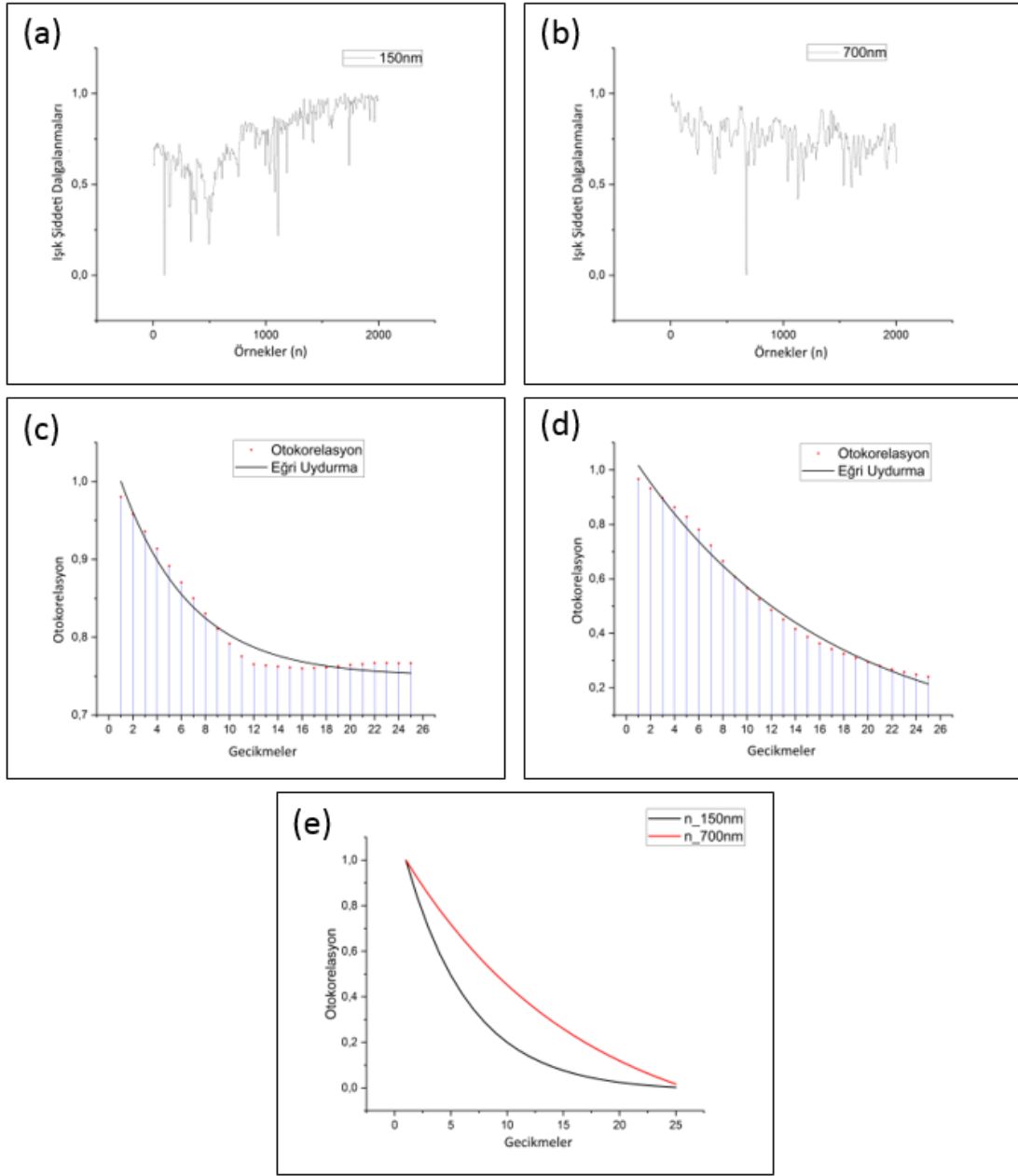
Şekil 3.11. SEM Analizleri ve Nano Parçacık Boyut Dağılımları

Burada her iki parçacık içinde 5000x(b,e), 10000x(a,f) ve 15000x(c,g) büyütme oranlarında incelemeler yapılmıştır. 100 kV EHT voltajı altında yapılan incelemelerde bu parçacıkların daireselliklerini korudukları ve herhangi bir deformasyon sergilemedikleri görülmüştür. Şekil 3.11c ve 3.11g’den alınan 50000x detay büyütme nano parçacıkların üretici tarafından belirtilen tolerans aralığında olduğu görülmüştür. Her iki görüntüye eklenmiş olan ölçekler üzerinden bu çıkarımın doğrulanması gerçekleştirilebilmektedir. Morfolojik uygunluğun tespitini takiben her iki numuneden de 100’er adet ölçüm alınmıştır. Toplanan çap verileri üzerinden parçacıkların ortalama çapları ve boyut dağılım grafikleri oluşturulmuştur. Elde edilen boyut dağılımı histogramı üzerinden eğri uyurma yoluyla parçacık çaplarının olasılık dağılım eğrisi çizdirilmiştir. Bu eğriler ışığında her iki parçacığında homojen bir boyut dağılımına sahip olduğu söylenilebilir. İlgili sonuçlar Şekil 3.11d ve 3.11h’de görülebilmektedir.



Şekil 3.12. Spektrofotometrik Ölçüm Sonuçları

SEM analizlerine ek olarak bahsi geçen nano ölçekli parçacıkların ışık-madde etkileşimi bağlamında kimyasal yapı tayinini gerçekleştirmek adına çeşitli spektrofotometre cihazları ile analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.12A ve 3.12B’de paylaşılan FT-IR analizi sonuçlarına göre iki farklı boyuta sahip bu referans parçacıkların aynı karakteristik pikleri verdikleri görülmüştür. Buradan hareketle kimyasal yapılarının aynı olduğu sonucuna varılmıştır[123]. İkinci olarak UV-VIS ışık tayfında yapılan absorbans ölçümlerinde her iki parçacığında artımsal olarak değişen dalga boylarına verdikleri tepkinin benzer olduğu görülmüştür. Genlik anlamında izlenen değişimlerin ise boyut farklılığından kaynaklı olduğu incelenen literatür çalışmaları üzerinden doğrulanmıştır[65][124]. UV-VIS absorbans grafikleri Şekil 3.12C’de verilmiştir. Ayrıca bu grafikler üzerinde görülen oldukça düşük genlikli piklerin her iki parçacık için aynı noktalarda olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında her iki nano parçacığında benzer optik özelliklere sahip olduğu söylenebilir.



Şekil 3.13. Işık Şiddeti Ölçümlerine İlişkin Bulgular

Karakterizasyon çalışmaları sonucunda analiz edilen nano parçacıklar dilute edildikten sonra elde edilen süspansiyon tasarlamış olduğumuz optik ölçüm düzeneği ile ölçülmüştür. Her iki süspansiyonda 2.37 McF bulanıklık değerini gösterecek şekilde hazırlanmıştır. Takiben süspansiyonların ışık şiddeti dalgalanmaları densitometrenin bilgisayar arayüzü üzerinden kaydedilmiştir. TCS34725 renk sensörü yardımıyla ölçülen desimal değerler 0 - 1 aralığına uygunlaştırıldıktan sonra otokorelasyon grafikleri

çizdirilmiştir. Işık şiddeti dalgalanmaları Şekil 3.13(a,b)'de gösterilmiştir. Yapılan incelemelerde 150 nm nano parçacıkların salıverme hızının dinamik ışık salınımı prensipleri ile uyumlu olarak 700 nm nano parçacıklardan daha hızlı olduğu görülmüştür. İlgili sonuçlar Şekil 3.13(c,d) gösterilmiştir. Işık şiddeti ölçüleri üzerinden elde edilen otokorelasyon eğrileri Denklem 65'te verilen matematiksel ifade ile gösterilmiştir. Burada belirtilen R_0 katsayısı salıverme oranına y_0 taban değerine, x ise orijinal veri setini ötelemek için kullanılan gecikmelere karşılık gelmektedir. Eğri uydurma işlemleri 0 ile 1 arasında bir genlik aralığına normalize edilmiş değerler üzerinden gerçekleştirilmiştir.

$$y = y_0 + A \cdot \exp(R_0 \cdot x) \quad (65)$$

$$ACF_{150nm} = 0.74985 + 0.29766 \cdot \exp(-0.17285 \cdot x) \quad (66)$$

$$ACF_{700nm} = -0.00847 + 1.09188 \cdot \exp(-0.06361 \cdot x) \quad (67)$$

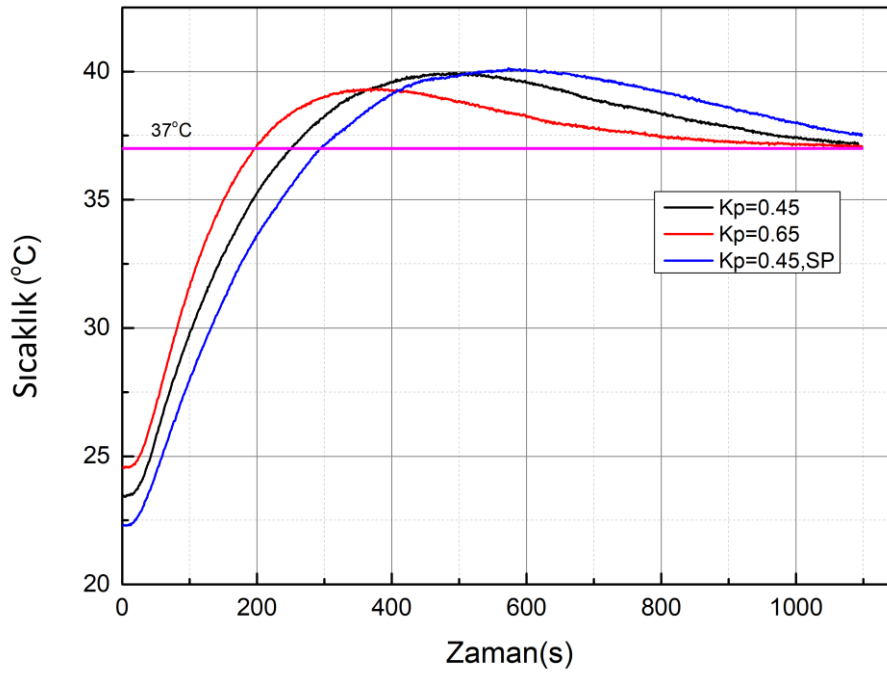
Şekil 3.13e'de paylaşılan 150 nm ve 700 nm nano parçacıkların otokorelasyon eğrilerine ait matematiksel ifadeler Denklem 66 ve Denklem 67'de verilmiştir. Paylaşılan sonuçlar noktasında üzerinde durulması gereken bazı önemli hususlar bulunmaktadır. Konvansiyonel laboratuvar aygıtları olarak kullanılan DLS cihazları, incelenmekte olan solüsyonun yerleştirildiği haznenin sıcaklığını kontrol altında tutan, ortam titreşimlerini bloke eden, monokromatik ve kohorent ışık kaynakları ve dalga boyu seçiciler ile donatılmış hassas karakterizasyon donanımlarıdır. Tez kapsamında önermiş olduğumuz yaklaşımın çıktılarının hata tolerans bandı ile bahsi geçen DLS cihazlarının tolerans bandı arasında oluşan farklılar gayet tabidir. Geliştirmiş olduğumuz optik ölçüm düzeneğinin tek dalga boyuna sahip olması sebebiyle salıverme oranına ilişkin denklemde yer alan doğrusal ilişki bizim sistemimiz için geçerli olmamaktadır. İdeal kabullerden sapmaya neden olan bu durumun belirleyici faktörü, ışık kaynağının dalga boyunun referans için kullanılan nano parçacıkların nm cinsinden boyutlarının arasında kalan bir değerde olmasıdır. İlgili literatür ışığında bu durumun DLS ölçümünün gerek şartlarının sağlanmamasından kaynaklı olduğu sonucuna varılmıştır. Buradan hareketle uygulama özelinde, denklem üzerinde bir değişikliğe gidilerek kalibrasyon aralığını kapsayacak şekilde eklentiler yapılmıştır. Algoritma değişiklikleri yoluyla farklı kabiliyetler

kazandırılmış olan optik ölçüm düzeneğimizin üretmiş olduğu sonuçlar SEM analizlerinden gelen ölçümlerle karşılaştırılmış ve çıktıların anlamlı olduğu kanaatine varılmıştır.

3.6. Çip Isıtma Sistemine İlişkin Sonuçlar

Bu bölümde mikroakışkan çip sıcaklığının inkübasyon sıcaklığında tutulması için tasarlanan sıcaklık kontrol sisteminin kapalı çevrim kontrol davranışı ile ilgili sonuçları paylaşılmıştır. Deneysel verilerden elde edilen parametreler ile oluşturulan bilgisayar benzetimi ve gerçek zamanlı sistem çıktıları karşılaştırılmıştır.

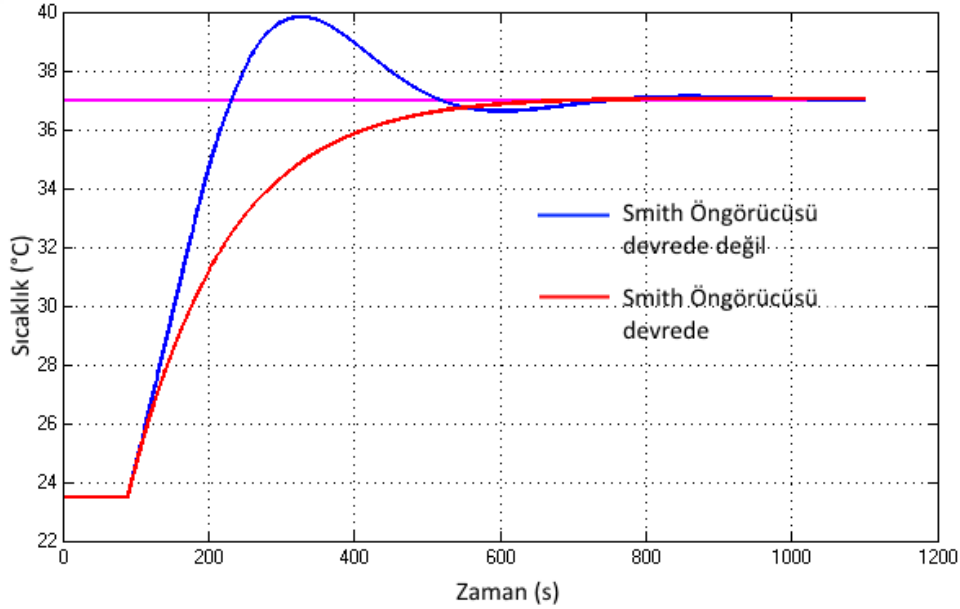
Şekil 3.14’de mikrodenetleyici üzerinde gerçekleştirilen ayırık zamanlı PI denetleyicinin farklı kazanç katsayıları kullanılarak elde edilen kapalı çevrim kontrol davranışı verilmiştir.



Şekil 3.14. Ayırık PI Denetleyicinin Gerçek Zamanlı Kontrol Davranışı

Sisteme referans olarak 37°C sıcaklık girilmiştir. Kontrolcü kazanç katsayıları olan integral zamanı AMIGO kurallarına göre 2800, Kp değeri ise 0.45 ve 0.65 olarak

kullanılmıştır. Kontrol sisteminin gerçek zamanlı çıktıları 1 saniye örneklem süresiyle ölçülmüş ve kaydedilmiştir. $K_p = 0.45$ ve $T_i = 2800$ olduğu senaryo için elde edilen kontrolör cevap süresine nazaran $K_p = 0.65$ ve $T_i = 2800$ olduğu senaryoda oluşan cevap süresinin daha hızlı oluşu oransal etkinin beklenen bir etkisi olarak yorumlanmıştır. Gerçek zamanlı sistem çıktılarında görülen aşım davranışı, sistemin ölü zamanlı bir sistem oluşu ve kontrolcüde yer alan integral denetleyicinin etkisi olarak yorumlanmıştır. Bu çıktılar bilgisayar benzetimi ile de yüksek benzerlik sergilemektedir. Ayrıca sistemin referansa oturma süresi hem gerçek zamanlı sistemde hem de benzetim modelinde yaklaşık olarak 1000 sn olarak tespit edilmiştir. Sistem referansa oturduktan sonra $\pm 0.1^\circ\text{C}$ hassasiyetle çip sıcaklığının kapalı çevrim kontrolünü gerçekleştirmiştir.

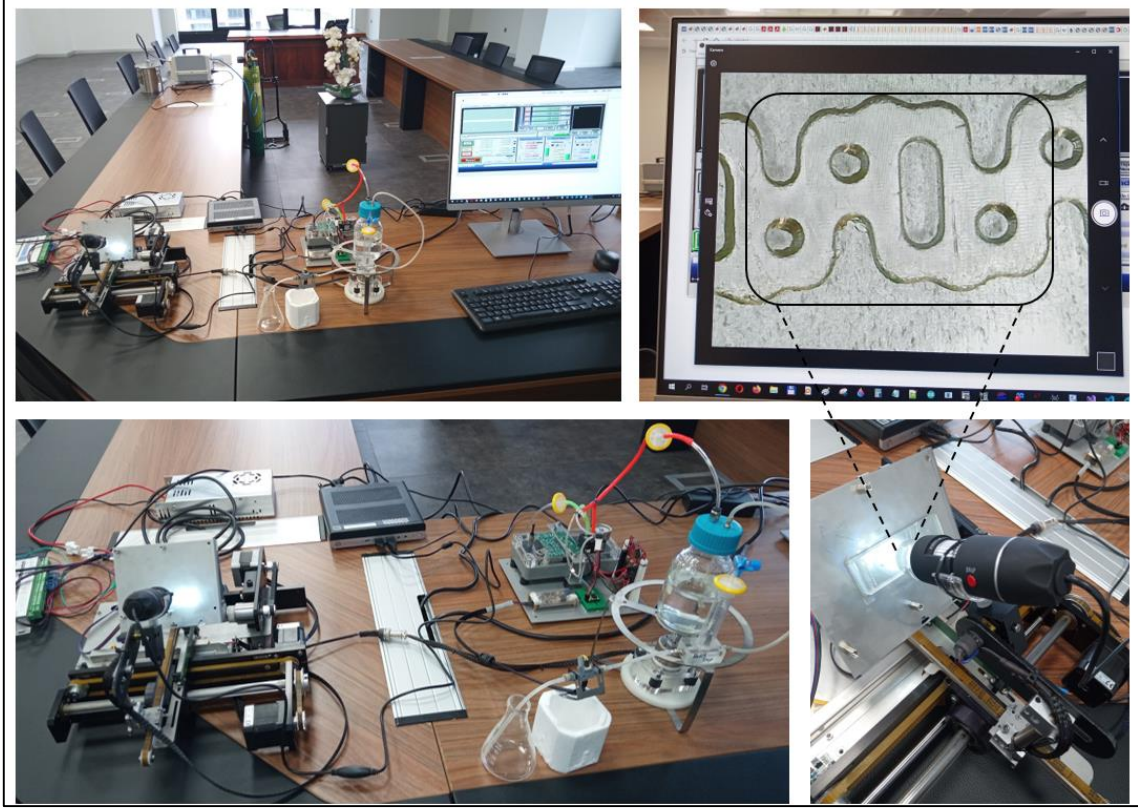


Şekil 3.15. Ayrık PI Denetleyici Modelinin Kapalı Kontrol Davranışı

Ölü zaman ve integral etkisiyle ortaya çıkan aşımın azaltılması amacıyla gömülü denetleyici algoritmasına Smith öngörücüsü eklenmiştir. Bu öngörücünün kapalı çevrim davranışına üzerindeki etkisi Şekil 3.15'te yer alan model çıktılarından görülebilmektedir. Smith öngörücüsü eklenmiş gömülü kontrolör davranışı ile model davranışındaki arasındaki farkın temel sebebi, mikrodenetleyici yazılımı içerisinde 2. mertebe Pade yakınsaması gerçekleşen ölü zaman transfer fonksiyonunun sistemin gerçek ölü zamanı temsil etmekte yetersiz kalması şeklinde değerlendirilmiştir.

3.7. Genel Sistem Görünümü

Tez çalışmaları kapsamında geliştirilen görüntüleme ve mikroakışkan kontrol platformunun alt unsurlarının bir arada görülebileceği bir görsel Şekil 3.16’da verilmiştir.



Şekil 3.16. Sistem Bileşenlerinin Genel Görünümü

4. SONUÇLAR

Sunulan çalışmada klinik mikrobiyoloji, bağırsak mikrobiyotası, biyoterapötik uygulamalar ve anti mikrobiyal duyarlılık vb. araştırma alanlarında ciddi önem arz eden anaerobik mikroorganizmaların; kültürlenmesi, biyofilm oluşumunun takibi, üreme miktarının tayini ve gaz atmosferinin hazırlanmasına yönelik özelleşmiş bir görüntüleme ve mikroakışkan kontrol platformu tasarlanmış ve üretilmiştir. Platformu oluşturan alt sistemlere ait test ve doğrulamaları çalışmaları yürütülmüştür.

Öncelikle üreme için oksijenden arındırılmış atmosfer koşullarına ihtiyaç duyan anaerobik organizmaların ihtiyaç duyduğu özel gaz atmosferinin temini için bir anaerobik atmosfer hazırlayıcı sistem geliştirilmiştir. Bu amaçla elektropnömatik bir kontrol ünitesi ile beraber temel sistem bileşenleri tasarlanmış ve üretilmiştir. Cihazın yetiştirme kabiliyetlerini doğrulamak için, geleneksel bir anaerobik atmosfer oluşturma poşetine paralel olarak bir dizi atmosfer oluşturma testi gerçekleştirilmiştir. Hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif anaerobik bakterileri kapsayan altı farklı bakteri suşu agar plakalarına aşılanmıştır. Ayrıca, bir *Campylobacter jejuni* suşu mikroaerofilik koşullar altında yetiştirilmiştir. Çoğalma sonuçlarına göre sistemin temel yetiştirme amaçları için yeterli olduğu düşünülmüştür. Anaerobik saflaştırma katalizörü, hesaplamalı kimya ve malzeme bilimi çerçevesinde incelenmiştir. Mikrokinetik model parametrelerinin tahmini sırasında, Pd ve Al₂O₃ 'ün kristal yapısı XRD analizi ile aydınlatılmış ve Pd(111), Pd(200), Pd(311) ve Al₂O₃ (220) kırılma düzlemleri tanımlanmıştır. Ayrıca, düzlemlerin kristalit boyutu Debye-Scherrer denkleminin uygulanmasıyla belirlenmiş ve bu bulgular reaksiyon hızlarının hesaplanmasında kullanılmıştır. Katalizör peletlerinin kimyasal bileşimi EDS spektrogramı ile doğrulanmıştır. Yumurta kabuğu yapısı kesitsel SEM görüntüleri ile gözlemlenmiş ve Pd/Al₂O₃ katalizörünün kabuk kalınlığı ölçülmüştür. SEM sonuçları ayrıca XRD pikleri ile korelasyon gösteren α -formlu Al₂O₃ kristalitlerinin varlığını da ortaya koymuştur. Gözenekli yapının morfolojik olarak izlenmesi ve iğne benzeri XRD piklerinin gözlemlenmesine dayanarak, heterojen kataliz üzerine yapılan çalışmaların bulgularına uygun olarak, peletlerin katalitik olarak aktif bir gövde oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Kavanoz içindeki gazların tahliye ve değiştirme döngülerine bağlı olarak değişen kısmi basınçları, gaz değişim modeli denklemleri aracılığıyla hesaplanmış ve GC/MS sonuçları girdi parametreleri olarak kullanılmıştır.

Mikrokinetik modelimizi oluşturmak için kullandığımız deneylerinden öğrenme yaklaşımı, gerçek zamanlı gaz değişimi testleri dikkate alındığında anlamlı sonuçlar sağlamıştır. Anaerob atmosfer hazırlayıcı sisteminin işlevselliğini artırmak için, cihaz yazılımına ayırık bir ekstremum arayıcı algoritması entegre edilmiştir ve devam eden katalitik reaksiyonlar için gerçek hız parametrelerinin değerlendirilmesini sağlamıştır.

Hücre yoğunluğu, hücre boyutu tayini vb. ölçümler sırasında kullanmak maksadıyla geliştirmekte olduğumuz araştırma platformuna eklenenebilen, temelde bulanıklık ölçümü ve dinamik ışık kırınımı ilkelerine dayanan optik ölçüm düzeneğinin tasarımı ve doğrulaması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla fiber optik bir ölçüm düzeneği ve gömülü sistem unsurları barındıran bir ölçüm aygıtı geliştirilmiştir. Optik ölçüm düzeneğine sistemin diğer unsurları ile entegrasyon sağlayabilmesi adına haberleşme portları eklenmiştir. Ölçüm sonuçlarının kalibrasyonu için ilgili klinik standartlara göre numune süspansiyonlar hazırlanmış ve çeşitli analiz aygıtları (XRD, SEM, FTIR, UV/VIS vb.) yardımıyla doğrulaması yapılmıştır.

Mikroakışkan çip, mikrobiyoreaktör veya biyofilm akış haznesi üzerindeki değişimlerin görüntülenmesi ve farklı yer çekimi koşulları altında biyofilm oluşumunun tayini için motor tahrikli bir hareket mekanizması üretilmiştir. Sıvı besiyerlerinin karıştırılması amacıyla mekanik donanım ile uyumlu çalışabilecek şekilde bir manyetik karıştırıcı tasarlanmış ve üretilmiştir.

Hareket mekanizması ile görüntülenen çip üzerine ekilmiş olan mikroorganizmaların inkübasyon şartlarının kontrol edilmesi amacıyla kapalı çevrim sıcaklık kontrolü özelliği olan bir çip ısıtıcı sistem geliştirilmiştir. Sistemin sıcaklık kontrolü ayırık zamanlı gömülü bir PI denetleyici ile yapılmıştır. Sıcaklık kontrol sistemi çipin bağlandığı yüzey üzerindeki referans sıcaklığı $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ hassasiyetle kontrol edecek şekilde ayarlanmıştır.

Klinik araştırma sırasında mikroakışkan çip içerisinden akıtılan akışkanların debi miktarının yüksek hassasiyetle sabit tutulabilmesi için geri beslemeli bir akışkan kontrol sistemi tasarlanmıştır. Basınç tahrikli akış kontrol esasına dayanan mikroakışkan debi kontrol düzeneğinin ana bileşenlerine ilişkin modelleme ve benzetim çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Gerçek zamanlı ölçümlere dayalı deneysel veriler üzerinden eğri uydurma yoluyla bileşenlerin davranış modelleri elde edilmiş ve benzetimlerde kullanılmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] J. Gomes, V. Chopda, A.S. Rathore, Monitoring and Control of Bioreactor: Basic Concepts and Recent Advances, in: Bioprocess. Technol. Prod. Biopharm. Bioprod., John Wiley & Sons, Ltd, 2018: pp. 201–237.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119378341.ch6>.
- [2] S. Nikita, S. Mishra, K. Gupta, V. Runkana, J. Gomes, A.S. Rathore, Advances in bioreactor control for production of biotherapeutic products, Biotechnol. Bioeng. 120 (2023) 1189–1214. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/bit.28346>.
- [3] W. Peng, P. Datta, Y. Wu, M. Dey, B. Ayan, A. Dababneh, I.T. Ozbolat, Challenges in Bio-fabrication of Organoid Cultures., Adv. Exp. Med. Biol. 1107 (2018) 53–71. https://doi.org/10.1007/5584_2018_216.
- [4] D. Wendt, S.A. Riboldi, M. Cioffi, I. Martin, Bioreactors in Tissue Engineering: Scientific Challenges and Clinical Perspectives, in: C. Kasper, M. van Griensven, R. Pörtner (Eds.), Bioreact. Syst. Tissue Eng., Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2009: pp. 1–27. https://doi.org/10.1007/10_2008_1.
- [5] C.F. Mandenius, Bioreactors: Design, Operation and Novel Applications, Wiley, 2016. <https://books.google.com.tr/books?id=tkWXCwAAQBAJ>.
- [6] O.Y.F. Henry, R. Villenave, M.J. Cronce, W.D. Leineweber, M.A. Benz, D.E. Ingber, Organs-on-chips with integrated electrodes for trans-epithelial electrical resistance (TEER) measurements of human epithelial barrier function., Lab Chip 17 (2017) 2264–2271. <https://doi.org/10.1039/c7lc00155j>.
- [7] C.P.P. de Mello, J. Rumsey, V. Slaughter, J.J. Hickman, A human-on-a-chip approach to tackling rare diseases., Drug Discov. Today 24 (2019) 2139–2151. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.08.001>.
- [8] D. Huh, B.D. Matthews, A. Mammoto, M. Montoya-Zavala, H.Y. Hsin, D.E. Ingber, Reconstituting organ-level lung functions on a chip., Science 328 (2010) 1662–1668. <https://doi.org/10.1126/science.1188302>.
- [9] C.-P. Segeritz, L. Vallier, Cell Culture: Growing Cells as Model Systems In Vitro., Basic Sci. Methods Clin. Res. (2017) 151–172.

- <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803077-6.00009-6>.
- [10] M. Jedrzejczak-Silicka, History of Cell Culture, in: S.J.T. Gowder (Ed.), *New Insights into Cell Cult. Technol.*, IntechOpen, Rijeka, 2017.
<https://doi.org/10.5772/66905>.
 - [11] H.-J. Park, H. Hong, R. Thangam, M.-G. Song, J.-E. Kim, E.-H. Jo, Y.-J. Jang, W.-H. Choi, M.-Y. Lee, H. Kang, K.-B. Lee, Static and Dynamic Biomaterial Engineering for Cell Modulation., *Nanomater.* (Basel, Switzerland) 12 (2022).
<https://doi.org/10.3390/nano12081377>.
 - [12] S. Hinkel, K. Mattern, A. Dietzel, S. Reichl, C.C. Müller-Goymann, Parametric investigation of static and dynamic cell culture conditions and their impact on hCMEC/D3 barrier properties, *Int. J. Pharm.* 566 (2019) 434–444.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.05.074>.
 - [13] H. Mertsching, J. Hansmann, Bioreactor Technology in Cardiovascular Tissue Engineering, in: C. Kasper, M. van Griensven, R. Pörtner (Eds.), *Bioreact. Syst. Tissue Eng.*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2009: pp. 29–37.
https://doi.org/10.1007/10_2008_11.
 - [14] S. Concaro, F. Gustavson, P. Gatenholm, Bioreactors for Tissue Engineering of Cartilage, in: C. Kasper, M. van Griensven, R. Pörtner (Eds.), *Bioreact. Syst. Tissue Eng.*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2009: pp. 125–143.
https://doi.org/10.1007/10_2008_10.
 - [15] M. Kapalczyńska, T. Kolenda, W. Przybyła, M. Zajączkowska, A. Teresiak, V. Filas, M. Ibbs, R. Bliźniak, Ł. Łuczewski, K. Lamperska, 2D and 3D cell cultures - a comparison of different types of cancer cell cultures., *Arch. Med. Sci.* 14 (2018) 910–919. <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.63743>.
 - [16] X. Huang, Z. Huang, W. Gao, W. Gao, R. He, Y. Li, R. Crawford, Y. Zhou, L. Xiao, Y. Xiao, Current Advances in 3D Dynamic Cell Culture Systems, *Gels* 8 (2022). <https://doi.org/10.3390/gels8120829>.
 - [17] K.R. Astell, D. Sieger, Zebrafish In Vivo Models of Cancer and Metastasis., *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 10 (2020).
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a037077>.

- [18] M. Hason, P. Bartůněk, Zebrafish Models of Cancer-New Insights on Modeling Human Cancer in a Non-Mammalian Vertebrate., *Genes (Basel)*. 10 (2019). <https://doi.org/10.3390/genes10110935>.
- [19] R. White, K. Rose, L. Zon, Zebrafish cancer: the state of the art and the path forward, *Nat. Rev. Cancer* 13 (2013) 624–636. <https://doi.org/10.1038/nrc3589>.
- [20] C. Terryn, A. Bonnomet, J. Cutrona, C. Coraux, J.-M. Tournier, B. Nawrocki-Raby, M. Polette, P. Birembaut, J.-M. Zahm, Video-microscopic imaging of cell spatio-temporal dispersion and migration, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 69 (2009) 144–152. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2008.06.005>.
- [21] E. Meijering, O. Dzyubachyk, I. Smal, Chapter nine - Methods for Cell and Particle Tracking, in: P.M. conn (Ed.), *Imaging Spectrosc. Anal. Living Cells*, Academic Press, 2012: pp. 183–200. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391857-4.00009-4>.
- [22] S.C. Terry, J.H. Jerman, J.B. Angell, A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer, *IEEE Trans. Electron Devices* 26 (1979) 1880–1886. <https://doi.org/10.1109/T-ED.1979.19791>.
- [23] W.-C. Tian, E. Finehout, Introduction to Microfluidics, in: *Microfluid. Biol. Appl.*, Springer US, Boston, MA, 2009: pp. 1–34. https://doi.org/10.1007/978-0-387-09480-9_1.
- [24] K. Ren, J. Zhou, H. Wu, Materials for Microfluidic Chip Fabrication, *Acc. Chem. Res.* 46 (2013) 2396–2406. <https://doi.org/10.1021/ar300314s>.
- [25] S. Cardoso, V. Silverio, Chapter 2 - Introduction to microfabrication techniques for microfluidics devices, in: E. Chappel (Ed.), *Drug Deliv. Devices Ther. Syst.*, Academic Press, 2021: pp. 19–30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819838-4.00026-2>.
- [26] M.K. Bacic, C.J. Smith, Laboratory Maintenance and Cultivation of Bacteroides Species, *Curr. Protoc. Microbiol.* 9 (2008) 13C.1.1-13C.1.21. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc13c01s9>.
- [27] N. Hanišáková, M. Vítězová, S.K.-M.R. Rittmann, The Historical Development of Cultivation Techniques for Methanogens and Other Strict Anaerobes and Their

- Application in Modern Microbiology, *Microorganisms* 10 (2022).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms10020412>.
- [28] W. Bulloch, others, The history of bacteriology., *Hist. Bacteriol.* (1960).
- [29] M. Sebald, S.M. Finegold, Pasteur: The Anaerobic Life and the Anaerobes, *Clin. Infect. Dis.* 20 (1995) S111–S111.
https://doi.org/10.1093/clinids/20.Supplement_2.S111.
- [30] L.G. Ljungdahl, M.W. Adams, L.L. Barton, J.G. Ferry, M.K. Johnson, eds., *Biochemistry and Physiology of Anaerobic Bacteria*, 1st ed., Springer New York, NY, 2003. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/b98857>.
- [31] W.J. Loesche, Oxygen sensitivity of various anaerobic bacteria., *Appl. Microbiol.* 18 (1969) 723–727. <https://doi.org/10.1128/am.18.5.723-727.1969>.
- [32] F.P. Tally, P.R. Stewart, V.L. Sutter, J.E. Rosenblatt, Oxygen tolerance of fresh clinical anaerobic bacteria, *J. Clin. Microbiol.* 1 (1975) 161–164.
<https://doi.org/10.1128/jcm.1.2.161-164.1975>.
- [33] Z. Lu, R. Sethu, J.A. Imlay, Endogenous superoxide is a key effector of the oxygen sensitivity of a model obligate anaerobe, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115 (2018) E3266–E3275. <https://doi.org/10.1073/pnas.1800120115>.
- [34] D.J. Hentges, The anaerobic microflora of the human body., *Clin. Infect. Dis. an Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 16 Suppl 4 (1993) S175-80.
https://doi.org/10.1093/clinids/16.supplement_4.s175.
- [35] I. Brook, Pericarditis caused by anaerobic bacteria, *Int. J. Antimicrob. Agents* 33 (2009) 297–300.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.06.033>.
- [36] E. Nagy, Anaerobic infections: update on treatment considerations., *Drugs* 70 (2010) 841–858. <https://doi.org/10.2165/11534490-000000000-00000>.
- [37] J.-C. Lagier, S. Edouard, I. Pagnier, O. Mediannikov, M. Drancourt, D. Raoult, Current and Past Strategies for Bacterial Culture in Clinical Microbiology, *Clin. Microbiol. Rev.* 28 (2015) 208–236. <https://doi.org/10.1128/cmr.00110-14>.
- [38] S.G. Jenkins, Infections due to anaerobic bacteria and the role of antimicrobial

- susceptibility testing of anaerobes, *Rev. Res. Med. Microbiol.* 12 (2001).
https://journals.lww.com/revmedmicrobiol/fulltext/2001/01000/infections_due_to_anaerobic_bacteria_and_the_role.1.aspx.
- [39] D.W. Hecht, Anaerobes: Antibiotic resistance, clinical significance, and the role of susceptibility testing, *Anaerobe* 12 (2006) 115–121.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2005.10.004>.
- [40] S. Reissier, M. Penven, F. Guérin, V. Cattoir, Recent Trends in Antimicrobial Resistance among Anaerobic Clinical Isolates, *Microorganisms* 11 (2023).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11061474>.
- [41] A.K. Bei, S.D. Patel, S.K. Volkman, A.D. Ahouidi, D. Ndiaye, S. Mboup, D.F. Wirth, An Adjustable Gas-Mixing Device to Increase Feasibility of In Vitro Culture of *Plasmodium falciparum* Parasites in the Field, *PLoS One* 9 (2014) 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090928>.
- [42] R.A. Börner, Isolation and Cultivation of Anaerobes, in: R. Hatti-Kaul, G. Mamo, B. Mattiasson (Eds.), *Anaerobes Biotechnol.*, Springer International Publishing, Cham, 2016: pp. 35–53. https://doi.org/10.1007/10_2016_1.
- [43] S.K. Khanal, Environmental Factors, in: *Anaerob. Biotechnol. Bioenergy Prod.*, John Wiley & Sons, Ltd, 2008: pp. 43–63.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9780813804545.ch3>.
- [44] C.M. Plugge, Anoxic Media Design, Preparation, and Considerations, in: *Environ. Microbiol.*, Academic Press, 2005: pp. 3–16.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)97001-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)97001-8).
- [45] P.M. Tille, Bailey \& Scott's Diagnostic Microbiology, Elsevier, 2017.
<https://books.google.com.tr/books?id=Rh65jwEACAAJ>.
- [46] A. Imhof, I. Heinzer, Continuous monitoring of oxygen concentrations in several systems for cultivation of anaerobic bacteria, *J. Clin. Microbiol.* 34 (1996) 1646—1648. <https://doi.org/10.1128/jcm.34.7.1646-1648.1996>.
- [47] J. McIntosh, P. Fildes, W. Bulloch, A NEW APPARATUS FOR THE ISOLATION AND CULTIVATION OF ANAEROBIC MICRO-ORGANISMS., *Lancet* 187 (1916) 768–770.

[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)11835-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)11835-0).

- [48] P. Fildes, J. McIntosh, An Improved Form of McIntosh and Fildes' Anaerobic Jar., *Br. J. Exp. Pathol.* 2 (1921) 153–154.
- [49] G.S. Wilson, A modification of McIntosh and Fildes' anaerobic jar, *J. Pathol. Bacteriol.* 31 (1928) 113–115.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/path.1700310110>.
- [50] K.C. Sandeep, R. Bhattacharyya, C. Warghat, K. Bhanja, S. Mohan, Experimental investigation on the kinetics of catalytic recombination of hydrogen with oxygen in air, *Int. J. Hydrogen Energy* 39 (2014) 17906–17912.
<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.08.148>.
- [51] X. Li, S.-Y. Zhou, J. Zhang, Z.-W. Guo, M.-Q. Guan, B. Li, D. Zhang, Y.-X. Wang, L.-F. Xie, Kinetics study on the catalytic recombination of non-premixed hydrogen–oxygen system: Effects of initial temperature, oxygen flow rate, and hydrogen diffusion time, *Fuel* 350 (2023) 128775.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.128775>.
- [52] B. Kowalska-Krochmal, R. Dudek-Wicher, The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance., *Pathog. (Basel, Switzerland)* 10 (2021).
<https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>.
- [53] I. Gajic, J. Kabic, D. Kekic, M. Jovicevic, M. Milenkovic, D. Mitic Culafic, A. Trudic, L. Ranin, N. Opavski, Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods., *Antibiot. (Basel, Switzerland)* 11 (2022). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040427>.
- [54] A. Zapata, S. Ramirez-Arcos, A Comparative Study of McFarland Turbidity Standards and the Densimat Photometer to Determine Bacterial Cell Density, *Curr. Microbiol.* 70 (2015) 907–909. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0801-2>.
- [55] M.R.G. Maia, S. Marques, A.R.J. Cabrita, R.J. Wallace, G. Thompson, A.J.M. Fonseca, H.M. Oliveira, Simple and Versatile Turbidimetric Monitoring of Bacterial Growth in Liquid Cultures Using a Customized 3D Printed Culture Tube Holder and a Miniaturized Spectrophotometer: Application to Facultative

- and Strictly Anaerobic Bacteria, *Front. Microbiol.* 7 (2016).
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01381>.
- [56] B.G.B. Kitchener, J. Wainwright, A.J. Parsons, A review of the principles of turbidity measurement, *Prog. Phys. Geogr. Earth Environ.* 41 (2017) 620–642.
<https://doi.org/10.1177/0309133317726540>.
- [57] F. Babick, Fundamentals in Colloid Science, in: *Suspens. Colloid. Part. Aggregates*, Springer International Publishing, Cham, 2016: pp. 75–118.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-30663-6_3.
- [58] D.S. Bolintineanu, G.S. Grest, J.B. Lechman, F. Pierce, S.J. Plimpton, P.R. Schunk, Particle dynamics modeling methods for colloid suspensions, *Comput. Part. Mech.* 1 (2014) 321–356. <https://doi.org/10.1007/s40571-014-0007-6>.
- [59] P.A. Hassan, S. Rana, G. Verma, Making Sense of Brownian Motion: Colloid Characterization by Dynamic Light Scattering, *Langmuir* 31 (2015) 3–12.
<https://doi.org/10.1021/la501789z>.
- [60] X. Bian, C. Kim, G.E. Karniadakis, 111 years of Brownian motion., *Soft Matter* 12 (2016) 6331–6346. <https://doi.org/10.1039/c6sm01153e>.
- [61] P. Todorovic, Elements of Brownian Motion, in: *An Introd. to Stoch. Process. Their Appl.*, Springer New York, New York, NY, 1992: pp. 62–91.
https://doi.org/10.1007/978-1-4613-9742-7_3.
- [62] A. Baer, S.E. Wawra, K. Bielmeier, M.J. Uttinger, D.M. Smith, W. Peukert, J. Walter, A.-S. Smith, The Stokes–Einstein–Sutherland Equation at the Nanoscale Revisited, *Small* 20 (2024) 2304670.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/sml.202304670>.
- [63] Z. Jia, J. Li, L. Gao, D. Yang, A. Kanaev, Dynamic Light Scattering: A Powerful Tool for In Situ Nanoparticle Sizing, *Colloids and Interfaces* 7 (2023).
<https://doi.org/10.3390/colloids7010015>.
- [64] N.A. Clark, J.H. Lunacek, G.B. Benedek, A Study of Brownian Motion Using Light Scattering, *Am. J. Phys.* 38 (1970) 575–585.
<https://doi.org/10.1119/1.1976408>.

- [65] X. Wang, Y. Cao, Characterizations of absorption, scattering, and transmission of typical nanoparticles and their suspensions, *J. Ind. Eng. Chem.* 82 (2020) 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.10.030>.
- [66] J. Stetefeld, S.A. McKenna, T.R. Patel, Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences, *Biophys. Rev.* 8 (2016) 409–427. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0218-6>.
- [67] X. Zhao, Y. Chang, W.-J. Chen, Q. Wu, X. Pan, K. Chen, B. Weng, Recent Progress in Pd-Based Nanocatalysts for Selective Hydrogenation, *ACS Omega* 7 (2022) 17–31. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c06244>.
- [68] Y. Pan, X. Shen, L. Yao, A. Bentalib, Z. Peng, Active Sites in Heterogeneous Catalytic Reaction on Metal and Metal Oxide: Theory and Practice, *Catalysts* 8 (2018). <https://doi.org/10.3390/catal8100478>.
- [69] M.M. Montemore, M.A. van Spronsen, R.J. Madix, C.M. Friend, O(2) Activation by Metal Surfaces: Implications for Bonding and Reactivity on Heterogeneous Catalysts., *Chem. Rev.* 118 (2018) 2816–2862. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00217>.
- [70] S.W. Chee, T. Lunkenbein, R. Schlögl, B. Roldán Cuenya, Operando Electron Microscopy of Catalysts: The Missing Cornerstone in Heterogeneous Catalysis Research?, *Chem. Rev.* 123 (2023) 13374–13418. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.3c00352>.
- [71] A. Bruix, J.T. Margraf, M. Andersen, K. Reuter, First-principles-based multiscale modelling of heterogeneous catalysis, *Nat. Catal.* 2 (2019) 659–670. <https://doi.org/10.1038/s41929-019-0298-3>.
- [72] B.W.J. Chen, L. Xu, M. Mavrikakis, Computational Methods in Heterogeneous Catalysis, *Chem. Rev.* 121 (2021) 1007–1048. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c01060>.
- [73] S. Matera, W.F. Schneider, A. Heyden, A. Savara, Progress in Accurate Chemical Kinetic Modeling, Simulations, and Parameter Estimation for Heterogeneous Catalysis, *ACS Catal.* 9 (2019) 6624–6647. <https://doi.org/10.1021/acscatal.9b01234>.

- [74] I. Langmuir, The mechanism of the catalytic action of platinum in the reactions $2\text{Co} + \text{O}_2 = 2\text{Co}_2$ and $2\text{H}_2 + \text{O}_2 = 2\text{H}_2\text{O}$, *Trans. Faraday Soc.* 17 (1922) 621–654. <https://doi.org/10.1039/TF9221700621>.
- [75] E.M. Dietze, L. Chen, H. Grönbeck, Surface steps dominate the water formation on Pd(111) surfaces, *J. Chem. Phys.* 156 (2022) 64701. <https://doi.org/10.1063/5.0078918>.
- [76] H.W.H.J.F.Y.W.D.J.A.H.G.J.S.T.N.K. Dmitriy Borodin Michael Schwarzer, A.M. Wodtke, The puzzle of rapid hydrogen oxidation on Pt(111), *Mol. Phys.* 119 (2021) e1966533. <https://doi.org/10.1080/00268976.2021.1966533>.
- [77] I.A.W. Filot, R.A. van Santen, E.J.M. Hensen, The Optimally Performing Fischer–Tropsch Catalyst, *Angew. Chemie Int. Ed.* 53 (2014) 12746–12750. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/anie.201406521>.
- [78] I.A.W. Filot, Introduction to microkinetic modeling, Technische Universiteit Eindhoven, 2018.
- [79] A.A. Gokhale, S. Kandoi, J.P. Greeley, M. Mavrikakis, J.A. Dumesic, Molecular-level descriptions of surface chemistry in kinetic models using density functional theory, *Chem. Eng. Sci.* 59 (2004) 4679–4691. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ces.2004.09.038>.
- [80] K. Reuter, M. Scheffler, First-principles kinetic Monte Carlo simulations for heterogeneous catalysis: Application to the CO oxidation at $\text{RuO}_2(110)$, *Phys. Rev. B* 73 (2006) 45433. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.73.045433>.
- [81] M.A. Vannice, *Kinetics of Catalytic Reactions*, Springer US, 2006. <https://books.google.com.tr/books?id=DEOHFTkTmhMC>.
- [82] R.D. Cortright, J.A. Dumesic, Kinetics of heterogeneous catalytic reactions: Analysis of reaction schemes, in: Academic Press, 2001: pp. 161–264. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0360-0564\(02\)46023-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0360-0564(02)46023-3).
- [83] W.-Y. Yu, L. Zhang, G.M. Mullen, G. Henkelman, C.B. Mullins, Oxygen Activation and Reaction on Pd–Au Bimetallic Surfaces, *J. Phys. Chem. C* 119 (2015) 11754–11762. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b02970>.

- [84] M. Schwarzer, N. Hertl, F. Nitz, D. Borodin, J. Fingerhut, T.N. Kitsopoulos, A.M. Wodtke, Adsorption and Absorption Energies of Hydrogen with Palladium, *J. Phys. Chem. C* 126 (2022) 14500–14508.
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.2c04567>.
- [85] S. Kandoi, J. Greeley, M.A. Sanchez-Castillo, S.T. Evans, A.A. Gokhale, J.A. Dumesic, M. Mavrikakis, Prediction of Experimental Methanol Decomposition Rates on Platinum from First Principles, *Top. Catal.* 37 (2006) 17–28.
<https://doi.org/10.1007/s11244-006-0001-1>.
- [86] Discrete Time Extremum Seeking, in: *Real-Time Optim. by Extrem. Control*, John Wiley & Sons, Ltd, 2003: pp. 61–70.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/0471669784.ch4>.
- [87] N. Killingsworth, M. Krstic, Auto-tuning of PID controllers via extremum seeking, in: *Proc. 2005, Am. Control Conf. 2005.*, 2005: pp. 2251–2256 vol. 4.
<https://doi.org/10.1109/ACC.2005.1470304>.
- [88] J.-Y. Choi, M. Krstic, K.B. Ariyur, J.S. Lee, Extremum seeking control for discrete-time systems, *IEEE Trans. Automat. Contr.* 47 (2002) 318–323.
<https://doi.org/10.1109/9.983370>.
- [89] C. Zhang, R. Ordóñez, Design of Extremum Seeking Control, in: *Extrem. Control Appl. A Numer. Optim. Approach*, Springer London, London, 2012: pp. 47–66. https://doi.org/10.1007/978-1-4471-2224-1_3.
- [90] D. Dochain, M. Perrier, M. Guay, Extremum seeking control and its application to process and reaction systems: A survey, *Math. Comput. Simul.* 82 (2011) 369–380. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matcom.2010.10.022>.
- [91] K. Ogata, *Modern Control Engineering*, 4th ed., Prentice Hall PTR, USA, 2001.
- [92] C.L. Phillips, H.T. Nagle, *Digital control system analysis and design* (3rd ed.), Prentice-Hall, Inc., USA, 1995.
- [93] O. Lequin, M. Gevers, M. Mossberg, E. Bosmans, L. Triest, Iterative feedback tuning of PID parameters: comparison with classical tuning rules, *Control Eng. Pract.* 11 (2003) 1023–1033. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0967-0661\(02\)00303-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0967-0661(02)00303-9).

- [94] The Smith Predictor, in: *Control Dead-Time Process.*, Springer London, London, 2007: pp. 131–163. https://doi.org/10.1007/978-1-84628-829-6_5.
- [95] T. Hägglund, An industrial dead-time compensating PI controller, *Control Eng. Pract.* 4 (1996) 749–756. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0967-0661\(96\)00065-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0967-0661(96)00065-2).
- [96] J.A.R. Pérez, P.B. Herrero, Extending the AMIGO PID tuning method to MIMO systems, *IFAC Proc. Vol.* 45 (2012) 211–216.
<https://doi.org/https://doi.org/10.3182/20120328-3-IT-3014.00036>.
- [97] N.N.B.M. Mazlan, N.M. Thamrin, N.A. Razak, Comparison Between Ziegler-Nichols and AMIGO Tuning Techniques in Automated Steering Control System for Autonomous Vehicle, in: *2020 IEEE Int. Conf. Autom. Control Intell. Syst.*, 2020: pp. 7–12. <https://doi.org/10.1109/I2CACIS49202.2020.9140089>.
- [98] M. Shahin, W. Jamal, T. Verghese, V.O. Rotimi, Comparative Evaluation of Anoxomat and Conventional Anaerobic GasPak Jar Systems for the Isolation of Anaerobic Bacteria, *Med. Princ. Pract.* 12 (2003) 81–86.
<https://doi.org/10.1159/000069116>.
- [99] L. Sorbier, A.-S. Gay, A. Fécant, M. Moreaud, N. Brodusch, Measurement of palladium crust thickness on catalysts by optical microscopy and image analysis., *Microsc. Microanal. Off. J. Microsc. Soc. Am. Microbeam Anal. Soc. Microsc. Soc. Canada* 19 (2013) 293–299.
<https://doi.org/10.1017/S1431927612014316>.
- [100] T. Ngwenya, N. Nombona, M. Shoji, Synthesis and Characterization of Supported Pd Catalysts for Potential Application in Glycerol Electro-Oxidation, *Catalysts* 12 (2022). <https://doi.org/10.3390/catal12020192>.
- [101] J.Y. Chung, S. Kodama, H. Sekiguchi, Preparation of a Pd/Al(2)O(3) Catalyst with Microwave-Induced Plasma Jet Irradiation under Atmospheric Pressure., *Nanomater. (Basel, Switzerland)* 9 (2019). <https://doi.org/10.3390/nano9121734>.
- [102] N.J.J. Johnson, B. Lam, B.P. MacLeod, R.S. Sherbo, M. Moreno-Gonzalez, D.K. Fork, C.P. Berlinguette, Facets and vertices regulate hydrogen uptake and release in palladium nanocrystals, *Nat. Mater.* 18 (2019) 454–458.

<https://doi.org/10.1038/s41563-019-0308-5>.

- [103] P. TIAN, L. OUYANG, X. XU, J. XU, Y.-F. HAN, Density functional theory study of direct synthesis of H₂O₂ from H₂ and O₂ on Pd(111), Pd(100), and Pd(110) surfaces, *Chinese J. Catal.* 34 (2013) 1002–1012.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(12\)60537-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1872-2067(12)60537-3).
- [104] K. An, G.A. Somorjai, Size and Shape Control of Metal Nanoparticles for Reaction Selectivity in Catalysis, *ChemCatChem* 4 (2012) 1512–1524.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cctc.201200229>.
- [105] M. Johansson, E. Skúlason, G. Nielsen, S. Murphy, R.M. Nielsen, I. Chorkendorff, Hydrogen adsorption on palladium and palladium hydride at 1bar, *Surf. Sci.* 604 (2010) 718–729.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.susc.2010.01.023>.
- [106] P.B. Raja, K.R. Munusamy, V. Perumal, M.N.M. Ibrahim, 5 - Characterization of nanomaterial used in nanobioremediation, in: H.M.N. Iqbal, M. Bilal, T.A. Nguyen (Eds.), *Nano-Bioremediation Fundam. Appl.*, Elsevier, 2022: pp. 57–83.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823962-9.00037-4>.
- [107] B.D. Cullity, S.R. Stock, *Elements of X-ray Diffraction*, Third Edition, Prentice-Hall, 2001.
- [108] H.M. Alshammari, O.F. Aldosari, M.H. Alotaibi, R.L. Alotaibi, M.S. Alhumaimess, M.H. Morad, S.F. Adil, M.R. Shaik, M.S. Islam, M. Khan, A. Alwarthan, Facile Synthesis and Characterization of Palladium@Carbon Catalyst for the Suzuki-Miyaura and Mizoroki-Heck Coupling Reactions, *Appl. Sci.* 11 (2021). <https://doi.org/10.3390/app11114822>.
- [109] D. Decarolis, I. Lezcano-Gonzalez, D. Gianolio, A.M. Beale, Effect of Particle Size and Support Type on Pd Catalysts for 1,3-Butadiene Hydrogenation, *Top. Catal.* 61 (2018) 162–174. <https://doi.org/10.1007/s11244-018-0887-4>.
- [110] K.V.R. Chary, D. Naresh, V. Vishwanathan, M. Sadakane, W. Ueda, Vapour phase hydrogenation of phenol over Pd/C catalysts: A relationship between dispersion, metal area and hydrogenation activity, *Catal. Commun.* 8 (2007) 471–477. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.catcom.2006.07.017>.

- [111] L.B. Belykh, N.I. Skripov, T.P. Sterenchuk, F.K. Schmidt, The effect of crystallinity on selectivity of palladium catalysts in hydrogenation of 2-ethyl-9,10-anthraquinone, *Catal. Commun.* 146 (2020) 106124.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.catcom.2020.106124>.
- [112] B. Roldan Cuenya, F. Behafarid, Nanocatalysis: size- and shape-dependent chemisorption and catalytic reactivity, *Surf. Sci. Rep.* 70 (2015) 135–187.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.surfrep.2015.01.001>.
- [113] J.A. Dumesic, *The Microkinetics of Heterogeneous Catalysis*, Wiley, 1993.
<https://books.google.com.tr/books?id=agrwAAAAMAAJ>.
- [114] K.A. Dill, S. Bromberg, *Molecular Driving Forces: Statistical Thermodynamics in Biology, Chemistry, Physics, and Nanoscience*, Garland Science, 2011.
https://books.google.com.tr/books?id=_DKAQgAACAAJ.
- [115] C.T. Campbell, Finding the Rate-Determining Step in a Mechanism: Comparing DeDonder Relations with the “Degree of Rate Control,” *J. Catal.* 204 (2001) 520–524. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/jcat.2001.3396>.
- [116] D. Fantauzzi, T. Zhu, J.E. Mueller, I.A.W. Filot, E.J.M. Hensen, T. Jacob, Microkinetic Modeling of the Oxygen Reduction Reaction at the Pt(111)/Gas Interface, *Catal. Letters* 145 (2015) 451–457. <https://doi.org/10.1007/s10562-014-1448-5>.
- [117] T. Mitsui, M.K. Rose, E. Fomin, D.F. Ogletree, M. Salmeron, A scanning tunneling microscopy study of the reaction between hydrogen and oxygen to form water on Pd(111), *J. Chem. Phys.* 117 (2002) 5855–5858.
<https://doi.org/10.1063/1.1502655>.
- [118] M. Vaidulych, L.-Y. Yeh, R. Hoehner, J. Jašík, S.A. Kadam, M. Vorochta, I. Khalakhan, J. Hagen, Š. Vajda, Low-Temperature Selective Oxidative Dehydrogenation of Cyclohexene by Titania-Supported Nanostructured Pd, Pt, and Pt–Pd Catalytic Films, *J. Phys. Chem. C* 128 (2024) 3180–3192.
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.3c07064>.
- [119] E.A. Lashina, E.M. Slavinskaya, A.I. Boronin, Low-temperature activity of Pd/CeO₂ catalysts: Mechanism of CO interaction and mathematical modelling of

- TPR-CO kinetic data, Chem. Eng. Sci. 244 (2021) 116812.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ces.2021.116812>.
- [120] Y.A. Çengel, J.M. Cimbala, Fluid Mechanics: Fundamentals and Applications, McGraw-Hill Education, 2018.
<https://books.google.com.tr/books?id=DqFJvgAACAAJ>.
- [121] F.M. White, Fluid Mechanics, McGraw Hill, 2011.
<https://books.google.com.tr/books?id=egk8SQAACAAJ>.
- [122] Antimicrobial Susceptibility Testing, in: Clin. Microbiol. Proced. Handb., John Wiley & Sons, Ltd, 2010: pp. 5.0.1-5.18.2.1.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1128/9781555817435.ch5>.
- [123] M.M. Eid, Characterization of Nanoparticles by FTIR and FTIR-Microscopy, in: Handb. Consum. Nanoproducts, Springer Nature Singapore, Singapore, 2022: pp. 645–673. https://doi.org/10.1007/978-981-16-8698-6_89.
- [124] F. Babick, Characterisation of Colloidal Suspensions, in: Suspens. Colloid. Part. Aggregates, Springer International Publishing, Cham, 2016: pp. 7–74.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-30663-6_2.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Fatih Serdar SAYIN

Eğitim Bilgileri

Doktora: Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elektrik-Elektronik Mühendisliği, 2020-

Yüksek Lisans: Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elektrik-Elektronik Mühendisliği, 2013-2017

Lisans: Kocaeli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği, 2020-2021

Lisans: Marmara Üniversitesi, Teknik Eğitim Fakültesi, Bilgisayar ve Kontrol Öğretmenliği, 2009-2013

Akademik Görevler

Öğretim Görevlisi Marmara Üniversitesi / Teknoloji Fakültesi / Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü / Kontrol ve Kumanda Sistemleri Anabilim Dalı

Öğretim Görevlisi Üsküdar Üniversitesi / Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu / Bilgisayar Teknolojileri Bölümü / Sağlık Bilgi Sistemleri Teknikerliği

Projelerde Yaptığı Görevler

Yüksek Frekanslı Yenidoğan Yoğun Bakım Ventilatorü (Yapay Solunum Cihazı), Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Yürütücü: ERDAL HASAN, Araştırmacı: SAYIN FATİH SERDAR, 11/02/2015 - 11/02/2017 (ULUSAL)

Anaerobik/Mikroaerofilik/Kapnofilik Bakteri Kültürleme Sistemi Geliştirilmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Yürütücü: HASAN ERDAL, Araştırmacı: MEHMET BURAK AKSU, Araştırmacı: NURVER ÜLGER, Araştırmacı: Mehmet Mücahit Güncü, Araştırmacı: FATİH SERDAR SAYIN, 28/04/2023 (Devam Ediyor) (ULUSAL)

Parkinson ve Tremor Hastaları için Dengeleyici Kaşık ve Karar Destek Sistemi, TÜBİTAK 1512, Yürütücü: ERDEM DİLMEN, Araştırmacı: FATİH SERDAR SAYIN, Araştırmacı: TALHA KILIÇ, , 01/02/2022 (Devam Ediyor) (ULUSAL)

Lenfödem Tedavisine Yönelik Tıbbi Cihaz Geliştirilmesi, TÜSEB, Araştırmacı: FATİH SERDAR SAYIN, Araştırmacı: TALHA KILIÇ, Yürütücü: MUSTAFA ŞENGÖR, Araştırmacı: AYSEL YILDIZ ÖZER, , 14/04/2023 (Devam Ediyor) (ULUSAL)

Türk Malı Yenidoğan Yoğun Bakım(Yapay Solunum Cihazı) Ventilatorü Geliştirilmesi ve Üretimi, Diğer (Ulusal), Yürütücü, Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı Teknogirişim Sermayesi Desteği, , 15/05/2015 - 15/06/2016 (ULUSAL)

Eserler

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

SAYIN FATİH SERDAR, ERDAL HASAN, ÜLGER NURVER, AKSU MEHMET BURAK, Güncü Mehmet Mücahit (2024). A Comprehensive Investigation on Catalytic Behavior of Anaerobic Jar Gassing Systems and Design of an Enhanced Cultivation System. *Bioengineering*, 11, Doi: 10.3390/bioengineering11111068 (Yayın No: 9184450)

BİNGÖL ÖZAKPINAR ÖZLEM, Daştan Havva, GÜRBOĞA MERVE, SAYIN FATİH SERDAR, ÖZSAVCI DERYA, ÇALIŞKAN SALİHİ ELİF (2023). Carbon Nanofiber—Sodium Alginate Composite Aerogels Loaded with Vitamin D: The Cytotoxic and Apoptotic Effects on Colon Cancer Cells. *MDPI AG*, 9, Doi: 10.3390/gels9070561 (Yayın No: 8758449)

CESUR SÜMEYYE, ÇAM MUHAMMET EMİN, SAYIN FATİH SERDAR, GÜNDÜZ OĞUZHAN (2022). Electrically controlled drug release of donepezil and BiFeO₃ magnetic nanoparticle-loaded PVA microbubbles/nanoparticles for the treatment of Alzheimers disease. *Elsevier BV*, 67, Doi: 10.1016/j.jddst.2021.102977 (Yayın No: 8606526)

CESUR SÜMEYYE, ÇAM MUHAMMET EMİN, SAYIN FATİH SERDAR, SU TORUN SENA, Harker Anthony, Edirisinghe Mohan, GÜNDÜZ OĞUZHAN (2021). Metformin-Loaded Polymer-Based Microbubbles/Nanoparticles Generated for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *American Chemical Society (ACS)*, 38, Doi: 10.1021/acs.langmuir.1c00587 (Yayın No: 8606537)

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

CESUR SÜMEYYE, ÇAM MUHAMMET EMİN, SAYIN FATİH SERDAR, SU TORUN SENA, GÜNDÜZ OĞUZHAN (2020). Controlled Release of Metformin Loaded Polyvinyl Alcohol (PVA) Microbubble/Nanoparticles Using Microfluidic Device for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. 8th International Work-Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, IWBBIO 2020 (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 8603411)

SAYIN FATİH SERDAR, AKGÜN ÖMER (2018). Higher Order Spectral Analysis of Ventricular Arrhythmic ECG Signals with MATLAB HOSA Toolbox. 6th International Conference on Control Engineering and Information Technologies (Tam Metin Bildiri/Poster) (Yayın No: 4440362)

SAYIN FATİH SERDAR, ERDAL HASAN (2018). Design, Modelling, Prototyping and Closed Loop Control of a Mechanical Ventilator for Newborn Babies. CEIT 2018 6th International Conference on Control Engineering and Information Technology (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 4436921)

SAYIN FATİH SERDAR, KAMIŞLIOĞLU MİRAC, ERDAL HASAN (2018). Trajectory Tracking Fuzzy Logic Controller Design and Implementation for Mechanical Ventilator Devices. 5th International Conference on Computational and Experimental Science and Engineering (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 4472228)

SAYIN FATİH SERDAR, Özen Sertan, BAŞPINAR ULVİ (2018). Hand Gesture Recognition by Using sEMG Signals for Human Machine Interaction Applications. SPA 2018 Signal Processing Algorithms, Architectures, Arrangements, and Applications (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 4402026)

SAYIN FATİH SERDAR, ERDAL HASAN, ATMACA MUSTAFA (2018). Centrifugal Blower Design, CFD Analysis, and Prototyping for Portable Mechanical Ventilators. 1st International Conference on Physical Chemistry and Functional Materials (Tam Metin Bildiri/Poster) (Yayın No: 4472326)

SAYIN FATİH SERDAR, KAMIŞLIOĞLU MİRAC, ERDAL HASAN (2018). Real Time Fuzzy Control Implementation for Mechanical Ventilation Devices. 1st International Conference on Physical Chemistry and Functional Materials (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 4472282)

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

SAYIN FATİH SERDAR, ERDAL HASAN (2015). Bilgisayar Destekli Yenidoğan Akciğer Simülatörü Tasarımı Computer Aided Newborn Lung Simulator Design. Tıp Teknolojileri Ulusal Kongresi (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 3586355)

ERDAL HASAN, SAYIN FATİH SERDAR (2014). “MATLAB / Simulink Tabanlı Otomatik Kod Üretimi ve Gömülü Anti-Windup PI Denetleyici Tasarımı. Otomatik Kontrol Ulusal Toplantısı (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 4191180)

Üniversite Dışı Deneyim

Arge Müdürü, 2015-2017 Respikon Medikal ve Mühendislik LTD. ŞTİ.

Arge Personeli, 2010-2015 İstanbul Medikal LTD. ŞTİ.