

**SÜREKLİ DALGACIK DÖNÜŞÜMÜNDE PAUL
DALGACIĞI KULLANILARAK KIRMIZI KAN HÜCRELERİNİN
YÜZEY MORFOLOJİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Merve Uyanık

Yüksek Lisans Tezi

Fizik Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğrt. Üyesi Özlem KOCAHAN YILMAZ

2018

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SÜREKLİ DALGACIK DÖNÜŞÜMÜNDE PAUL DALGACIĞI
KULLANILARAK KIRMIZI KAN HÜCRELERİNİN YÜZEY
MORFOLOJİLERİNİN BELİRLENMESİ

MERVE UYANIK

FİZİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: DR. ÖĞRT. ÜYESİ ÖZLEM KOCAHAN YILMAZ

TEKİRDAĞ 2018

Her Hakkı Saklıdır

Bu tez TÜBİTAK tarafından 115F168 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Özlem KOCAHAN YILMAZ danışmanlığında, Merve UYANIK tarafından hazırlanan “Dalgacık Dönüşümünde Paul Dalgacığı Kullanılarak Kırmızı Kan Hücrelerinin Yüzey Morfolojilerinin Belirlenmesi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Fizik Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. İlker KÜÇÜK

İmza :

Üye: Prof. Dr. Serbüent YILDIRIM

İmza :

Üye: Dr. Öğrt. Üyesi Özlem KOCAHAN YILMAZ

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SÜREKLİ DALGACIK DÖNÜŞÜMÜNDE PAUL DALGACIĞI KULLANILARAK KIRMIZI KAN HÜCRELERİNİN YÜZEY MORFOLOJİLERİNİN BELİRLENMESİ

Merve UYANIK

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Fizik Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğrt. Üyesi Özlem KOCAHAN YILMAZ

Bu çalışmanın amacı; kırmızı kan hücrelerinin yüzey morfolojilerinin belirlenmesidir. Bu amaç doğrultusunda; mikrometre ölçeğine sahip örnek cismin üç boyutlu yüzey profilinin ölçümü için beyaz ışık kırınım faz mikroskopisi tekniğinin kullanıldığı deney kurulumu gerçekleştirilmiştir. Beyaz ışık mikroskobu, interferometre ve CCD kullanılarak cismin ızgara desenli görüntüleri elde edilmiştir. Ayrıca, faz dağılımını hesaplamak için, sürekli dalgacık dönüşümünde Paul dalgacığının kullanılması önerilmiştir. Paul dalgacığının seçilmesinin sebebi birden fazla serbestlik derecesine sahip olmasıdır.

Anahtar kelimeler: beyaz ışık mikroskobu, interferometre, ızgara deseni, sürekli dalgacık dönüşümü, faz hesaplama, Paul dalgacı.

2018, 53 Sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF SURFACE MORPHOLOGY OF RED BLOOD CELLS BY USING PAUL WAVELET IN CONTINUOUS WAVELET TRANSFORM

Merve UYANIK

Tekirdağ Namık Kemal University
Institute of Natural and Applied Sciences
Department of Physics

Supervisor: Ass. Prof. Dr. Özlem KOCAHAN YILMAZ

The aim of this study is to determine the surface morphology of red blood cells. For this purpose, white light diffraction phase microscopy technique was used for three dimensional surface profile measurements on micrometer scale sample bodies. A white light microscope, interferometer and CCD were combined to obtain images of red blood cell with fringe pattern. Besides, continuous wavelet transform with Paul wavelet was proposed for the phase calculation from the fringe pattern. The reason of choosing the Paul wavelet that it has more than one degree of freedom.

Key words: white light microscope, interferometer, fringe pattern, continuous wavelet transform, phase calculation, Paul wavelet.

2018, 53 Pages

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLO DİZİNİ	iv
ŞEKİL DİZİNİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
TEŞEKKÜR	ix
1. GİRİŞ	1
2. KIRINIM FAZ MİKROSKOBİSİ	4
2.1 Kırınım Faz Mikroskopisi Tasarımı için Gerekli Fiziksel Sınırlar.....	5
3. SİNYAL ANALİZİ İÇİN İNTEGRAL DÖNÜŞÜMLER	15
3.1. Paul Dalgacığı.....	20
3.2. Paul Dalgacığı ile Faz Eldesi.....	22
3.3. Bir Boyutta Dalgacık Dönüşümünde Paul Dalgacığının Kullanım Testi.....	23
4. BEYAZ IŞIK KIRINIM FAZ MİKROSKOBİSİ KURULUMU	26
5. BULGULAR VE TARTIŞMA	32
5.1. BKFM ile Elde Edilen Görüntü ve Bulgular.....	32
5.1.1. Kan Hücreleri İçin	32
5.1.2. İnce Filmler İçin.....	37
5.2. SEM ve AFM ile Kırmızı Kan Hücrelerinin Görüntülenmesi.....	38
5.2.1. Numune Hazırlığı.....	39
5.2.2. SEM Görüntüleme.....	41
5.2.3. AFM Görüntüleme.....	45
6. SONUÇ	49
KAYNAKÇA	50
ÖZGEÇMİŞ	53

TABLO DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1. Paul dalgacığının bazı n değerleri için çözünürlük değerleri.....23

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.1	Airy disk grafik gösterim.....	6
Şekil 3.3.1	Simülasyonda yaratılan faz (Afifi ve ark 2002).....	25
Şekil 3.3.2	(a) Faz kaymasının sıfır olduğu durumda, x yönünde tek taşıyıcı frekansla oluşturulmuş ızgara deseni ($f_{0x} = 0.2$); (b) faz eklenerek elde edilen ızgara deseni.....	25
Şekil 3.3.3	Test fazı kullanılarak Paul ve Morlet dalgacıkları ve FFT için ulaşılan Faz hataları grafiği.....	26
Şekil 4.1	Beyaz ışık faz kırınım mikroskobisi (BKFM) kurulumu şematik gösterimi (Pham ve ark. 2013).....	27
Şekil 4.2	Beyaz ışık mikroskobunun şematik gösterimi.....	28
Şekil 4.3	İnterferometre kurulumunun şeması ve kullanılan filtrenin genel görünümü.....	29
Şekil 4.4	Deney düzeneğinde kullanılan filtre.....	30
Şekil 4.5	BKFM sisteminden elde edilen ve CCD' den gözlenen örnek bir girişim deseni a) örnekteki eğrilmeler b) referans görüntüsü (Kocahan ve ark. 2017).....	30
Şekil 4.6	Deney düzeneğinde kullanılan CCD kamera.....	31
Şekil 4.7.	Fizik Bölümü Optik Araştırma Laboratuvarında kurulan BKFM deney düzeneği.....	32
Şekil 5.1.1.1	Kontrol grubuna ait sağlıklı eritrosit örnekleri BKFM görüntüleri; Paul dalgacığı (n=10) ile analiz sonuçları karşıdan görünümü ve profil görünümü.....	35
Şekil 5.1.1.2	Kontrol grubuna ait sağlıklı bir eritrosit örneğinin BKFM görüntüleri; Paul dalgacığı (n=10) ile analiz sonuçları karşıdan görünümü ve profil görünümü.....	36
Şekil 5.1.1.3	Hasta grubuna ait bir eritrosit örneğinin BKFM görüntüleri; Paul dalgacığı (n=10) ile analiz sonuçları karşıdan görünümü ve profil görünümü.....	37

Şekil 5.1.2.1	BKFM ölçüm sisteminden alınan, bir ince film numunesinin hologramı; BKFM ölçüm sisteminden holografik görüntüsü elde edilen ince film numunesinin, Paul dalgacığı (n=10) ile analiz sonrası karşıdan görünümü ve profil görünümü.....	39
Şekil 5.2.1.1	Yıkanmamış kan numunesinin SEM görüntüsü.....	41
Şekil 5.2.1.2	Sadece PBS ile yıkanmış kan numunesinin SEM görüntüsü	41
Şekil 5.2.1.3	Yıkanmamış ancak lamelin PBS ile kontamine olduğu bir kan numunesi....	42
Şekil 5.2.2.1	FEİ marka QUANTA FEG 250 model taramalı elektron mikroskobu	43
Şekil 5.2.2.2	Hasta grubuna ait kan örneklerinden SEM de elde edilen eritrosit görüntüleri	44.
Şekil 5.2.2.3	Kontrol grubundan alınan numuneden elde edilen bir eritrositin SEM görüntüsü.....	45
Şekil 5.2.3.1	Kontrol grubundan alınan numuneden elde edilen eritrositlerin 2 ve 3 boyutlu görüntüleri.....	47
Şekil 5.2.3.2	Kontrol grubundan alınan numuneden elde edilen bir eritrositin 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüsü ve bir satır için yükseklik grafiğı.....	48
Şekil 5.2.3.3	AFM görüntülemesi yapılan numunelerin Sem görüntüsü.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

a :	: Sürekli dalgacık dönüşümünde ölçek parametresi
b :	: Öteleme parametresi
BKFM	: Beyaz ışık kırınım faz mikroskopisi
CCD	: Charge couple device
f_0	: İzlenen ızgara görüntüsünün temel frekansı
FOV	: Field of view
$G(\alpha)$: Ana dalgacık analiz fonksiyonunun Fourier dönüşümü
$h(x)$: Izgara deseninin bir satırını gösteren (y-piksel), x yönünde değişen tek boyutlu ızgara sinyali
$h(x, y)$: Cismin yükseklik değişimi ve iki boyutlu ızgara sinyali
$H(\alpha)$: $h(x)$ 'in Fourier dönüşümü
$I_0(x)$: Arka plan parlaklığı
KFM	: Kırınım faz mikroskopisi
KZFD	: Kısa zamanlı Fourier Dönüşümü
mm	: milimetre
nm	: nanometre
μm	: mikrometre
rad	: radyan, bir çemberin üzerinde aralarında bir yarıçap uzunluğu mesafe iki yarıçapın arasındaki açı
SDD	: Sürekli dalgacık dönüşümü
1D	: Bir boyutlu
3D	: Üç boyutlu
t :	: Zaman

$V(x)$: Izgara görünürlüğü
$w(t)$: Pencere fonksiyonu
z	: CCD kameranın bir pikselinin fiziksel boyu
$\phi(x)$: Izgaranın yükseklik değişimini gösteren faz
*	: kompleks eşleniđi
$\left(\frac{x-b}{a}\right)$: Ana dalgacık analiz fonksiyonu

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sırasında gereken materyal ve çalışma ortamını sağlayan, desteğini her daim hissettiğim, bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren danıőmanım Dr. Öğrt. Üyesi Özlem KOCAHAN YILMAZ'a; benim için harcadığı zaman ve emek için teşekkür ederim.

Ölçümleri yaptığımız deney düzeneği; 115F168 nolu projesine ait olan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Bana; evreni öğrenme ve bilgiye ulaşma disipliniyi şekillendirirken yardımcı olan, sorularıma olabildiğince cevap vermeye çalışan annem Meral UYANIK'a, beni daima fazlasını öğrenmeye cesaretlendiren rahmetli babam Aynur UYANIK'a ve tüm aileme teőekkürlerimi borç bilirim.

Eylül 2018

Merve UYANIK

1. GİRİŞ

Biyomedikal ölçümleri daha ucuz ve hızlı bir şekilde yapabilen, pratik ve yeterince duyarlı optik sistemleri tasarlamak mümkündür. Daha önceki çalışmalar gösteriyor ki daha az hata ile faz dağılımı hesaplayıp bu sayede yükseklik bilgisine erişilebilir ve dokunmadan, dinamik üç boyutlu profil elde edilebilir (Kocahan ve ark. 2018). Tıp, endüstri ve araştırmanın pek çok alanında kullanılmakta olan optik yüzey ölçüm sistemlerinin hassasiyetinin artırılması; daha doğru ve güvenilir ölçüm ve yeni nesil tedavilerin geliştirilmesi gibi uygulama alanları için gereklidir.

En bilinen optik ölçüm sistemlerinin başında teleskoplar gelmektedir. Hollandalı gözlük üreticisi Hans Lippershey'in 1608 yılında tarihe geçen ilk mikroskobu inşasını takip eden yıllarda Galileo Galilei tarafından bu yeni icatın gökyüzü rasatında kullanılması ile optik görüntüleme sistemlerinin bilimsel gözlemlerde kullanımı hayata geçmiştir.

Newton'ın, "*Opticks or a treatise of the reflections, refractions, inflections and colours of light*" ismiyle 1704 de yayınlanan optik kitabından yaklaşık 119 yıl önce, bir başka Hollandalı gözlük üreticisi olan Hans Jansen ve Oğlu Zacharias 1595 yılında, ilk bileşik mikroskobun temellerini atmışlardır. İki yakınsak merceği bir tüp içinde paralel konumlandırıp, iki mercek arasındaki uzaklığın değişmesiyle büyütme oranının değişeceğini fark eden baba ve oğlunun, bu icatlarını bir gözlemde kullandıklarına dair herhangi bir kayıt bulunmamaktadır. Robert Hooke 1665 yılında yayınladığı "*Micrographia*" adlı eseri aracılığıyla, aynı zamanda tasarım planlarını paylaşımına açtığı, ilk rafine bileşik mikroskop ile bit, sinek, tohum, mantar ve bitki bölümleri gibi çeşitli biyolojik materyallerin mikroskop altındaki görünüşleri hakkında ayrıntılı çizimlere ulaşabiliyoruz. Hooke'un mantarın yapısını incelerken rastladığı gözeneklere hücre adını vermesi ve o an için yanlış olan bu adlandırma, literatürde sıklıkla başvurulan bu kelimenin ilk kullanımınıdır.

Günümüze kadar gelen optik ölçüm sistemleri her geçen gün farklı yöntemler ile güncellenmekte ve geliştirilmektedir. Sadece merceklerin bulunduğu sistemlerden, günümüzde Kuantum Optik prensipleri baz alan taramalı mikroskop sistemlerine ulaşmamız beraberinde pek çok yeni kullanım alanı doğurmuştur. Kullanımları, ilk yıllarında özellikle gök cisimlerinin yer küreye olan uzaklığını ölçmek ile sınırlıyken şimdi Kuantum belirsizliğe sahip çok küçük objelerde yüzey taraması, faz bilgisi ve yüzey morfolojisi hakkında bilgiye ulaşabilmemize olanak sağlamaktadır. Rasatı yapılan objenin, faz bilgisi ve dolayısıyla

yükseklik bilgisine erişimi sağlayan bu optik sistemlerden biri de Izgara Yansıtma Tekniği olarak adlandırılan sistemdir.

Izgara yansıtma tekniği sade bir anlatım ile örnek cismin üzerine bilgisayar programı yardımıyla oluşturulmuş ızgara deseni yansıtılması veya çalışılan deney düzeneğinin cismin görüntüsü üzerinde bu deseni oluşturması sonrasında bunun görüntüsünün kaydedilmesini gerektirir. Örnek üstüne yansıtılan veya örneğin görüntüsü ile birlikte yaratılan bu ızgara deseninin fotoğraflanması ile görüntüde örnek cismin yüksekliğinden kaynaklanan bazı kaymalar/eğilmeler görülmektedir. Izgara deseni üzerindeki bu deformasyonun görüntüsü çeşitli analiz yöntemleri kullanılarak cismin üç boyutlu yüzey bilgisine erişmemizi sağlar ki bu durum aynı zamanda cismin üç boyutlu profilini oluşturmamıza olanak tanır. Izgara yansıtma tekniği ile taramasız, anlık alınacak bir cisim görüntüsü ve bir referans görüntü, örnek cismin yüksekliğinin hesaplanması için yeterlidir.

Cismin üzerine bilgisayar programı yardımıyla oluşturulmuş ızgara desenin yansıtılması ile çalışan ızgara yansıtma yönteminde; projeksiyon, görüntü alma ve görüntü analiz birimleri olmak üzere temel üç birim bulunur (Gorthi ve Rastogi, 2010). Çalışılan deney düzeneğinin, cismin görüntüsüne entegre ızgara deseni oluşturmasıyla çalışan, üç boyutlu yüzey ölçüm yönteminde ise mikroskop, interferometre, görüntü alma ve görüntü analiz birimleri bulunur (Bhanduri ve ark 2012).

Her iki durumda da kaydedilen görüntüde saptanan, ızgara deseninde oluşan, cismin yüksekliğinden kaynaklı meydana gelen eğilmeler; yükseklik bilgisini yani Fourier dönüşümünde faz terimini taşır (Su ve Chen, 2001). Fourier dönüşümü, farklı ana dalgacıkların (Morlet, Morse, Paul gibi) seçimiyle Sürekli Dalgacık Dönüşümü, Hartley dönüşümü (Kaya, 2010) ya da Stockwell dönüşümünden herhangi biri tercih edilerek oluşturulan bir analiz programı sayesinde faz dağılım bilgisini hesaplar. Sistemin geometrisinden faz, yükseklik bilgisine dönüştürülür (Kocahan, 2008). Yüzey üzerinde bulunan her noktanın referans düzlemi başlangıç noktasından olan yüksekliği belirlenerek bir araya getirildiğinde cismin üç boyutlu profili elde edilmiş olur (Kocahan, 2008; Takeda ve Mutoh, 1983).

Izgara yansıtma yöntemi, desenin yansıtılmasıyla gerçekleştirildiğinde, cismin görüntüsü küçüldükçe ölçüm zorlaşacağından hassasiyetini kaybeder. Desenin cismin üstüne yansıtılmaya çalışılması durumunda; örnek cisim boyutu küçüldükçe birim alan başına düşen ızgara sayısı değişecek, azalacaktır. Bu sebeple teknik, küçülen boyutlarda da sağlıklı şekilde kullanılabilmesi için, sistemde projeksiyon birimi yerine interferometre kullanmak makul bir

yaklaşım olur ki bu sistem zaten “Kırınım Faz Mikroskopisi” adıyla mevcuttur (Popescu ve ark 2006). Kırınım Faz Mikroskopisi mikrometre mertebesindeki özellikle hareketli cisimlerin gözlemi için ideal bir tekniktir.

Bu çalışmada, sağladığı avantajlar nedeniyle Beyaz Işık Kırınım Faz Mikroskopisi kullanılmıştır. Çalışmanın amacı doğrultusunda, sistemden alınan, ızgara desenine sahip kırmızı kan hücrelerinin görüntüleri, bir boyutta, Paul dalgacı anne dalgacık olacak şekilde Sürekli Dalgacık Dönüşümü yardımıyla analiz edilmiştir. Yüzey morfolojisi hakkında tartışabilmek için gereken 3 boyutlu model ve yükseklik bilgisine bu analiz sayesinde ulaşılmıştır. Sürekli Dalgacık Dönüşümünde Paul dalgacına alternatif olarak Morlet dalgacı denenmiştir.

Kan hücrelerinin Beyaz Işık Kırınım Faz Mikroskopisinde oluşturulan 3 boyutlu modelleri ise Taramalı Elektron Mikroskopu ve Atomik Kuvvet Mikroskoplarından alınan ölçümlerle karşılaştırılmıştır.

2. KIRINIM FAZ MİKROSKOBİSİ

Literatürde Kırınım Faz Mikroskopisinin temeli olan “Faz Contrast” fikriyle ilk karşılaşmamız, Frits Zernike’nin 1953 yılında Nobel Fizik Ödülünü kazanmasını sağlayan çalışmasıdır (Zernike 1942). Eritrosit, epitel doku örnekleri vb gibi biyolojik materyaller ya da yarı iletken ince filmlerin çoğu kendi kırılma indislerine sahip geçirgen materyallerdir. Zernike bu çalışmasında bu tip geçirgen materyaller için “Phase Contrast” adını verdiği, yeni bir mikroskopik gözlem tekniğinden bahsetmektedir (Zernike 1942). Fresnel denklemleriyle açıklanması mümkün olan bu çalışmanın temel prensibi; tasarlanabilecek ideal bir optik görüntüleme sisteminin, görüntü düzleminde hem faz hem de genlik bilgisi barındıran ölçekli bir kopyasını yaratmanın mümkün olduğudur. Görüntü düzleminden alınan faza duyarlı ölçümler, nesnenin kırılma indisi ve kalınlığı ile ilişkilidir. Takip eden yıllar içinde bu görüşü destekleyici başka bir yayın, iletişim teorisi alanında uzman bir elektrik mühendisi olan Dennis Gabor’dan gelmiştir.

Gabor; 20. yüzyılın ilk yarısında, görüntülemenin de temelde bir veri aktarım yöntemi olduğu fikrini ortaya atmıştır. Bir cismin sinyalinin içerdiği toplam bilgiyi (genlik ve faz cinsinden) holografik olarak kaydetmek ve sonrasında bu kayıt kullanılarak orijinal sinyalini yeniden elde etmenin mümkün olduğunu göstermiştir (Gabor 1948). Herhangi bir cismin yaydığı görüntü sinyalinin, koharent bir referans ile girişim yapması sonucunda açığa çıkan dalganın şiddeti, bu iki dalganın faz farkına bağlıdır. Standart görüntü kaydetme teknikleri; siyah-beyaz görüntü için ışık şiddetindeki, renkli görüntüler için ise dalga boyundaki farklılıkları kaydederken; bir hologram hem ışık şiddeti hem doğrultusunu kaydederek, dalganın yükseklik, dalga boyuna bağlı renk ve doğrultusu yani sahip olduğu tüm içeriğe ulaşılabilmesine olanak tanır. Yani bir hologram diğer tekniklerin aksine cismin görüntüsünü değil tüm sinyal içeriğini kaydedilmesini sağlar.

Bu bilgiler ışığında; yükseklik bilgisi için gereken faz bilgisine bir hologram yaratarak ulaşabilmek mümkündür ve yükseklik bilgisine ulaşabilmek için mikro boyutta bir numune üstüne ızgara deseni düşürerek ızgara yansıtma tekniğinin kullanılması yerine ızgara desenini numune görüntüsü ile birlikte yaratmak daha verimlidir.

Numuneden alınan sinyal bilgisi kaybolmadan aynı zamanda görüntüye entegre bir ızgara deseni yaratmak, görüntü düzleminde girişim deseni oluşturmak anlamına gelir ki bu da

aslında görüntü sinyalinin holografik kaydını yapmaktan farklı bir durum değildir. Kırınım Faz Mikroskopisi bu prensip ile çalışmaktadır.

Kırınım Faz Mikroskopisinin (KFM) kullanım amacı; bir inverted mikroskop ve interferometreyi birleştirerek, tam olarak, holografik bir kayıt yapmaya çalışmaktır. İnterferometrik kısım; kırınım ağı, $4f$ mercek sistemi ve CCD kameranın bir araya getirilmesi ile oluşturulur. Bu interferometrik sistem $4f$ sistemi olarak adlandırılır. Bu adlandırma iki merceğin her iki yönde sahip olduğu ikişer odak uzaklık sayısının toplamından gelmektedir. Sistem, mikroskoptan aldığı ve kırınımına uğrattığı görüntünün gözlem düzleminde girişimini oluşturmayı hedefler. Fotonun dalga-parçacık ikilemiyle hareket ettiği bu sistemde interferometre için gereken elemanların tasarlanması yine temel fizik ilkeleri baz alınarak yapılır. Kurulum hatasız gerçekleştirildiğinde, interferometre oldukça kararlı ve yüksek hassasiyette ölçümü mümkün kılar ki bu durum özellikle mikro boyutta hareketli biyolojik materyallerin görüntülenmesini elverişli hale getirmektedir.

Bu sistemin verimli çalışabilmesi ve kullanılabilir bir interferogram yaratabilmesi adına, sistem geometrisinin interferometrik kısmının sahip olması gereken bazı fiziksel sınırlar bulunmaktadır.

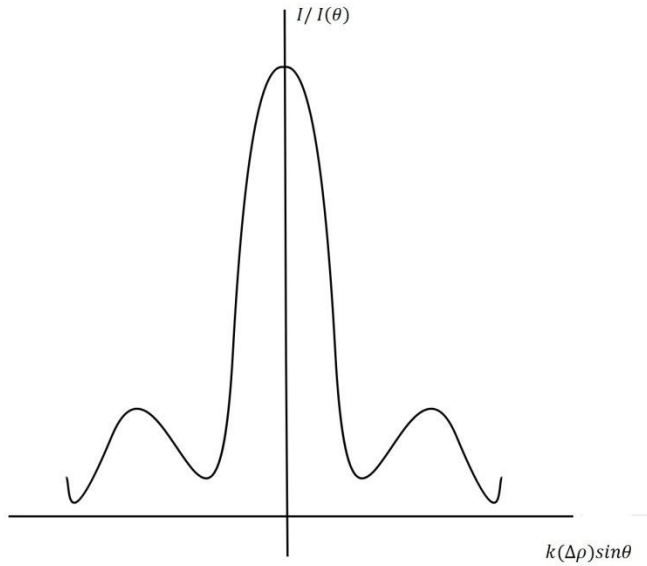
2.1 Kırınım Faz Mikroskopisi Tasarımı için Gerekli Fiziksel Sınırlar

Bunlardan ilki merceklerin ve dolayısıyla sistemin çözünürlüğünü de belirleyecek olan NA olarak adlandıracağımız “Numerical Aperture” yani sayısal açıklıktır. Numune ve mercek arasındaki ortamın kırılma indisi n ve kaynağın, merceğin efektif çapıyla yaptığı açığa θ dersek, sayısal açıklık

$$NA = n \cdot \sin \theta \quad (2.1.1)$$

şeklinde tanımlanabilir. Bu noktada, ışığın dalga davranışının bir sonucu olan kırınım, neyin çözülebileceği konusunda önemli rol oynar.

Mükemmel optik sistemler tasarlasak/kullansak dahi, bir noktaya ışığı mükemmel odaklamamız mümkün değildir. Bir nokta kaynak halindeki ışık, dairesel bir diyaframa sahip bir sistem ile gözlemlendiğinde, görüntü artık bir nokta kaynağı olmaktan çıkıp, birbirini içine geçmiş bir dizi çok zayıf halka ile çevrelenmiş bir disk görüntüsünü alacaktır. Bu fotonun dalga-parçacık ikiliğinden kaynaklanmaktadır. Bu merkez diski çevreleyen bir dizi zayıflayan halkanın oluşturduğu görüntüye Airy disk adı verilir ve grafik gösterimi aşağıdaki şekilde verilmiştir:



Şekil 2.1.1 Airy disk grafik gösterim

Bu halkalar, ışığın Fraunhofer kırınımı ile dairesel açıklık tarafından üretilir. Bu durumda parlaklık aşağıdaki gibi ifade edilir:

$$I(\theta) = I(0) \left[\frac{2J_1(k(\Delta\rho)\sin\theta)}{k(\Delta\rho)\sin\theta} \right]^2 \quad (2.1.2)$$

$I(0)$ kırınım deseninin merkezdeki pik aydınlığı, k dalga sayısı, $\Delta\rho$ merkez kırınım noktasının yarıçapıdır. J_1 ilk tür Bessel fonksiyonunun gelmektedir. Grafikte açıkça görünen merkez aydınlığın pik noktası ile ilk minimum noktası arasındaki uzaklık Airy diskin yarıçapını verir.

$$\Delta\rho = \frac{1.22\lambda}{2NA} \quad (2.1.3)$$

Uygun düzenlemeler ile çözünürlük

$$R = \frac{1.22\lambda}{2(n \cdot \sin\theta)} = \frac{1.22\lambda}{NA_{obj} + NA_{con}} \cong \frac{1.22\lambda}{NA_{obj}} \quad (2.1.4)$$

olarak tanımlanabilir. Abbe'nin formülünden elde edilen çözünürlük, Rayleigh kriterine göre hesaplanır. Bu kriter; farklı iki kaynaktan gelen ışığın çözülebilirlikleri bozulmadan ne kadar yakınlaşabileceğini söyler. Başka bir deyişle; iki Airy diskin ölçümü sekteye uğratmaksızın birbiri içine ne kadar girebileceğini belirler. NA ne kadar büyük olursa Airy Diskin yarıçapı o kadar küçük olacağından, daha büyük bir NA ye sahip mercek daha net ve ayrıntılı bir görüntü elde edebilir. Yani belirli bir dalga boyunda daha iyi bir çözünürlük elde etmek için daha yüksek bir NA gerekir ve daha yüksek bir NA karakteristik beklentide daha küçük bir görüş alanı (FOV) ile sonuçlanan daha yüksek bir büyütme anlamına gelir (Bhanduri ve ark 2014).

Yüksek optik çözünürlüğe erişmek aynı zamanda ölçüme uygun örnekleme yapabilmeyi gerektirmektedir. Örnekleme teoremi bizim için önem teşkil eder çünkü sistemde yarattığımız ızgara, esas olarak görüntüyü örneklemektedir. Bu sebeple, ızgara periyodu yeterince ince olmadıkça, bu örnekleme, mikroskobun doğal optik çözünürlüğünü bozacaktır.

Örnekleme teoremi; limitli bir bant genişliğine sahip sürekli zaman sinyallerinden kararında/gerektiğinde örnek alındığı takdirde, bu örneklerden bilgi zayi olmayacak biçimde, sürekli zaman sinyaline geri dönebilmenin olanaklı olduğunu ifade etmektedir. Bu durum bizim sistemimizde de olduğu gibi sürekli bir analog sinyalin, kesikli bir dijital sinyale dönüştürülebileceği ve hatta tekrar sürekli bir sinyal halindeki ilk forma dönülebileceği anlamına gelmektedir.

Nyquist teoreminin -ki bu bir örnekleme teoremidir- bir sonucu olarak, kırınım noktası başına minimum iki ızgara deseni düşmesini beklenmektedir (Nyquist 1928). İnterferometrik kurulumun bunu sağlayıp sağlamadığı kontrol edilmelidir. İnterferogramdaki frekansın analiz edilebileceği kapsama alanını anlamak için CCD üstünde ölçülen yoğunluğun Fourier dönüşümünü almamız.

KFM nin son elemanı olan CCD kamera, mikroskoptan alınan görüntü sinyalinin girişim deseni ile ulaştığı düzlemdir. CCD kameralar, analog görüntü sinyalini dijital ortama

aktarmak için kullanılan cihazlardır. Üzerlerinde yatay ve dikey olmak üzere alıcılar bulunur ve bu alıcılar ışığa duyarlıdır. Çözünürlükleri de bu alıcıların sayısı ile belirlenir çünkü her bir alıcı bir pikseldir.

Öncelikle şunları hatırlayalım:

1. Correlation teoremi: $U_0(x, y)U_0^* \rightarrow \tilde{U}_0(k_x, k_y) \circledast \tilde{U}_0^*(-k_x, -k_y)$
2. Shift teoremi: $e^{i\beta x'} \rightarrow \delta(k_x - \beta, -k_y)$
3. Convolution teoremi: $U_0(x, y)U_1^* e^{i\beta x'} \rightarrow \tilde{U}_0(k_x, k_y)U_1 \circledast \delta(k_x - \beta, k_y)$
4. Referans bileşeni uniform olmalıdır. Bu sebeple, iğne deliği filtresinden (pinholeden) uniform olarak geçtiğini varsayalım: $U_1 U_1^* \rightarrow |U_1|^2 \delta(k_x, k_y)$
5. \circledast sembolü convolution teoremi temsil ediyor (Bhanduri ve ark. 2014).

CCD üstünde ölçülen yoğunluk:

$$I_{CP}(x', y') = U_{CP}(x, y)U_{CP}^*(x, y) \quad (2.1.5)$$

$$= |A'_0(x', y')|^2 |A'_1|^2 + 2|A'_1||A'_0(x', y')| \cos(\beta x' + \Delta\phi)$$

Fourier dönüşümü alındığında

$$+\tilde{U}_0(k_x, k_y)U_1 \circledast \delta(k_x - \beta, k_y) + \tilde{U}_0^*(-k_x, -k_y) U_1 \circledast \delta(k_x + \beta, k_y) \quad (2.1.6)$$

CCD düzlemindeki girişim deseninin hatasız olabilmesi için örnekleme işleminin hatasız yürütülmesi gerekmektedir. Nyquist teoremi; daha öncede değindiğimiz üzere, belirli bir sinyal hakkında bütün bilgileri edinebilmek için, belirlenen sinyalin, maksimum frekans bileşeninin en az iki katı kadar örnekleme yapılması gerektiğini söyler. Bu sebeple görüntü

sinyalinin birincil lobunun yarıçapı $2k_0NA_{obj}$ ve ikincil lob yarıçapı k_0NA_{obj} olacaktır. Örtüşme hatalarından kaçınabilmek, CCD düzlemindeki gürültüyü azaltmak için, ızgara frekans modülasyonu şöyle seçilmelidir:

$$\beta \geq 3 k_0NA_{obj} \quad (2.1.7)$$

Frekans modülasyonun tercih edilmesinin sebebi, sonuç sinyal kalitesinin genlik modülasyona oranla daha yüksek kalitede elde edilmesidir (Amstrong 1933). Modülasyon, bilgi içeriği yoğun bir sinyalin sadeleştirilerek, taşıyıcı ve bilgi sinyali olmak üzere ikiye ayrılması ve daha sonra tekrar bir araya getirilmesidir. Frekans modülasyonunda taşıyıcı sinüzoidal sinyaldir ki bu KFM de 0 bileşeni yani AC bileşen, bilgi sinyali ise DC olan +1 bileşenidir. +1 bileşeninin bilgi bileşeni seçilmesinin ana sebebi, frekans modülasyonun yüksek frekansa sahip, sonuç sinyalinde gürültüye sebep olan alıcı bileşenlerinin aksine düşük frekansa sahip olup gürültüyü minimize etmesidir.

Aynı zamanda frekans modülasyonu β (örnekleme düzleminde)

$$\beta \equiv \left(\frac{2\pi}{\Lambda}\right)M_{obj} \quad (2.1.8)$$

olarak tanımlanır. Burada M_{obj} mikroskopta uygulanan büyüme ve Λ ızgara periyodudur. Böylece örnekleme sınırlamasından $\Lambda \leq \frac{\lambda M_{obj}}{3 k_0NA_{obj}}$ ulaşırız. Bu temel kıstastır ve ızgara periyodunun seçiminde bir üst sınır sağlar.

Kırınım ile oluşan Airy Disk in yarıçapı değerini biliyoruz ve yerine yazarsak:

$$\Delta\rho \cong \frac{1.22\lambda}{NA_{obj}} \quad (2.1.9)$$

$$\Lambda \leq \frac{\Delta\rho M_{obj}}{3.66} \quad (2.1.10)$$

Bu bize; en uygun çözünürlükte çalışmak ve çakışmalardan kaçınmak için Airy Disk yarıçapı başına başına en az 3.66 ızgara saçağına ihtiyacımız olduğunu söyler.

Nyquist teoremi; kamera üstündeki pikseller tarafından interferogramın düzgün bir şekilde modellenebilmesi için

$$k_s \geq 2k_{max} = 2(\beta + k_0 NA_{obj}) \quad (2.1.11)$$

olması gerektiğini söylemektedir. Burada k_s piksel başına örnekleme sıklığıdır. Bu eşitliği kullanarak $4f$ sistemi sonunda elde edilecek büyüme hesaplanabilir. CCD kameranın sahip olduğu her bir piksel boyu z olsun. Dalga sayısı ve dalga boyu ilişkisini hatırlayacak olursak:

$$k = \frac{2\pi}{\lambda} . \quad (2.1.12)$$

Elimizdeki denklemi bu temel eşitliye benzetmeye çalışalım. k_s yerine aşikar ki

$$2\pi \frac{M_{obj}M_{4f}}{z} \quad (2.1.13)$$

yazılabilir. $\left\{\frac{M_{obj}M_{4f}}{z}\right\}$ kısmına birim analizi yapılırsa $\frac{1}{\lambda}$ benzerliğini verdiği açıkça görülür. O halde denklemi düzenlersem CCD kameranın, piksel örnekleme nedeniyle yaşanacak örtüşmelerden kaçınmak için gereken kısıtlama:

$$k_s = 2\pi \frac{M_{obj}M_{4f}}{z} \geq 2(\beta + k_0 NA_{obj}) \quad (2.1.14)$$

olarak bulunur. Bu aynı zamanda

$$|M_{4f}| \geq 2z \left[\frac{1}{\Lambda} + \frac{1}{\lambda} \frac{NA_{obj}}{M_{obj}} \right] \quad (2.1.15)$$

olarak bulunan, verilen bir ızgara periyodu için $4f$ sistemdeki minimum büyütme belirten bir başka önemli kriterdir.

Bu büyütme, CCD düzlemindeki piksel boyutuna göre ızgara periyodunu ayarlayabildiği için sistem için bir ayar düğmesi olarak kullanılabilir. $4f$ sistemdeki büyütme, aynı zamanda görüş alanını (Field of view) da belirler. $m \times n$ boyutunda bir görüntü için FOV, örnek düzlemde, aşağıdaki gibi hesaplanabilir:

$$FOV = [m, n] \frac{z}{M_{obj} M_{4f}} \quad (2.1.16)$$

Burada m ve n sırasıyla x ve y yönündeki bileşenler ve a daha önce de kullandığımız piksel boyutudur.

Mikroskoptan alınan analog görüntü sinyalimizi frekans modüle edildiğinden bahsedilmişti. Bunu için sinyal önce, mikroskobun önüne konulan bir kırınım ağı ile bileşenlerine ayırıp daha sonra alçak geçirgenlikli bir filtre yardımı ile süzerek yaratılır. Alçak geçirgenlikli filtreyi yaratabilmek için öncelikle $4f$ sistemindeki Fourier düzlemi ve bu düzlemdeki mesafeler/aralıklara hakim olunması ve bu mesafelerin bazı koşullar altında hesaplanması gerekmektedir.

Kırınım ağından geçen m . kırınım bileşeninin normal ile yaptığı açı Snell yasasından yola çıkılarak

$$\sin \theta_m = m \frac{\lambda}{\Lambda} \quad (2.1.17)$$

şeklinde yazılabilir. Merkez ve ardışık bileşenler arasındaki mesafe $M1$ merceğinden geçtikten sonra neredeyse sabit kalır bu mesafe Δx 'dir. Aynı zamanda kırınım ağı ile mercek arasındaki uzaklık ve mercek ile alçak geçirgenlikli filtre arasındaki mesafe aynıdır ve bu mesafe f_1 ile ifade edilir. Temel trigonometrik bağıntılardan yola çıkıldığında,

$$\tan \theta_m = \frac{\Delta x}{f_1} \quad (2.1.18)$$

eşitliğine ulaşılır. Burada θ açısı o kadar küçüktür ki yine temel trigonometrik bağıntılardan

$$\tan \theta_m \cong \sin \theta_m \cong \theta_m \quad (2.1.19)$$

eşitliğinden hareketle iki bileşen arası mesafe

$$\Delta x = \frac{f_1 \lambda}{\Lambda} \quad (2.1.20)$$

olarak hesaplanır. Merceklerin çözünürlüklerinin NA değerleri ile belirlendiğinden bahsedilmişti, bu sebeple M1 merceği için f_1 değeri çözünürlük göz ardı edilmeden hesaplanmalıdır ki bu koşul:

$$NA_1 \geq \frac{\lambda}{\Lambda} + \frac{NA_{obj}}{M_{obj}} \quad (2.1.21)$$

İki bileşen arasındaki mesafe bilindiğinden artık alçak geçirgenlikli filtre tasarlanabilir.

KFM kurulumlarında alçak geçirgenlikli filtre olarak, optik laboratuvar ortamlarında sıkça tercih edilen, Mekansal Işık Modülatörleri (Spatial Light Modulator-SLM) kullanılır(Wang ve ark 2011). SLM'ler ışığı, piksel şablonuna göre modüle eden ve programlayabilen bir çeşit devre elemanlarıdır. Ancak filtre aynı zamanda, referans bileşen için küçük üretilmiş bir iğne deliği ve merkez bileşen için daha büyük bir kesme kullanılarak, ilkel ancak oldukça verimli bir yol ile üretilebilir.

Fraunhofer kırınım deseni, bir optik sistemde, sistemin görüntü düzleminde oluşan kırınım ve aşikâr ki KFM de kullanılan 4f sisteminde de bu kırınım desenine rastlanır. Kullanılan filtre üstünde oluşturulan, D çapındaki iğne deliği filtresinden (daireysel açıklık) geçen bir düzlem dalgasından kaynaklanan Fraunhofer kırınım modeli, M2 de bir Fourier dönüşümü gerçekleştirdikten sonra

$$I(x, y) = I_0 \left[\frac{2J_1\left(\frac{\pi D \rho}{\lambda f_2}\right)}{\frac{\pi D \rho}{\lambda f_2}} \right]^2 \quad (2.1.22)$$

formdadır. Burada, I_0 pik aydınlık, λ aydınlığın dalga boyu, f_2 M2 lensinin odak uzaklığı ve $\rho = \sqrt{x^2 + y^2}$. Jinc işlevinin argümanını ilk sıfıra yerleştirmek, merkezi lobun yarıçapı ρ 'yi çözmemize, merkez bileşenin çapı dolayısıyla filtre üstünde merkez bileşenin geçeceği kesmenin boyutunu hesaplayabilmemize olanak tanır. Çünkü $jinc(0)=1$ dir (Blahut 2004, Hende ve ark 1997).

$$\frac{\pi D \rho}{\lambda f_2} = 3.83 \quad (2.1.23)$$

$$\rho = 3.83 \frac{\lambda f_2}{\pi D} = 1.22 \frac{\lambda f_2}{D} \quad (2.1.24)$$

Abbe formülünü türetilmiş oldu. Referans bileşenin geçeceği iğne deliğinin boyutu, bileşeni olabildiğince uniform hale getirmelidir. İğne deliğini küçültmek bu homojenliği sağlayacak ama yoğunluğu azaltacaktır. İğne deliği, yoğunluğu ve homojenliği aynı anda maksimize edecek şekilde üretilmelidir. M2 merceğinin NA değeri

$$NA_2 \geq \frac{\lambda}{|M_{4f}|\Lambda} + \frac{1.22\lambda}{D} \quad (2.1.25)$$

koşulunu sağlamalıdır. Böylece her iki bileşen merceğin efektif alanına sığabilir ve aynı zamanda (FOV'u kapsayacak şekilde) kamera düzleminde üst üste gelebilir.

Standart bir KFM kurulumunda ışık kaynağı olarak lazerler kullanılmaktadır. Lazerler monokromatik kaynaklardır ve yüksek zamansal yani frekans uyumluluğa sahiplerdir. Yüksek

frekans uyumluluğu beraberinde düşük mekânsal uyumluluğu ve deneysel gözlemlerde örnek uzayında beneklenmeyi meydana getirmektedir. Bunun sebebi Karl Küpfmüller belirsizlik ilkesidir. İlke; $k, 1$ ya da $\frac{1}{2}$ olmak koşuluyla

$$\Delta f \Delta t \geq k \quad (2.1.26)$$

şeklinde tanımlanır (Küpfmüller 1928). Bu belirsizlik aslen Heisenberg Belirsizlik ilkesinin sinyal analizine uyarlanmış halidir. Bir elektromanyetik dalganın frekansının tespit edilebilmesi için bir miktar zaman geçmelidir. Yani dalganın frekansını tek bir anda ölçmek olanaksızdır. Bekleme süresi uzadıkça zaman belirsiz hale gelecektir. Enerjisi küçükse, aynı oranda, dalga boyuyla bağlantılı, bekleme süresi uzayacak ölçülen zaman belirsizleşecektir. Tam aksi durumda ise enerji büyükse, aynı oranda, dalga boyuyla bağlantılı olarak bekleme süresi kısalacak ve ölçülen zamanın belirsizliği azalacaktır (Heisenberg 1927).

Farklı frekanslarda aynı faza sahip olmayan dalgalar birleştirildikleri zaman sürekli bir dalga oluşturabilirler. Beyaz ışık farklı renklerdeki farklı frekansların bileşiminden oluştuğu için buna iyi bir örnektir. Öte yandan farklı frekanslara sahip dalgalar sabit faz ilişkileri olması durumunda girişim yapabilirler. Bu duruma spektral uyumluluk denir.

Astronomi için kullanılan optik sistemlerde ışık kaynağını seçebilme lüksü bulunmadığından kullanılan sistemler ışık kaynağının mekânsal ve spektral uyumluluğunu girişim elde etmek için kurgulamak zorundadırlar. Astronomlar; teorik bilgiden yola çıkarak yapılan uygun kurgulama ile interferogram eldeli sistemlerin maksimum verimlilikte ölçüm yapabilmesini sağlamışlardır. Bu durum KFM kurulumuna uyarlanabilir.

Beyaz ışığın spektral uyumluluğu, KFM için lazer kullanımında oluşan beneklenmeyi bertaraf etmek için alternatif bir ışık kaynağı olarak kullanılmasına olanak tanır. Beyaz ışık mikroskobu ve Mach-Zehnder İnterferometresi birleştirilerek Beyaz Işık Kırınım Faz Mikroskobisi adı verilen bu yeni ölçüm sistemi ile kan hücrelerinin yüzey ölçümü daha önce denenmiştir (Bhaduri ve ark, 2012) .

Bu tez çalışmasında da sağladığı avantajlar sebebiyle Kırınım Faz Mikroskobisine alternatif olan Beyaz Işık Faz Kırınım Mikroskobisi kullanılmıştır.

3. SİNYAL ANALİZİ İÇİN İNTEGRAL DÖNÜŞÜMLER

Bir sinyal; bir sistem, davranış ya da bazı olayların nitelikleri hakkında bilgi taşıyan bir fonksiyondur. Bu sebeple değişkenlerin durumu hakkında taşıdığı bilgiye ulaşılabilir ve bu bilgi matematiksel olarak fonksiyon halinde gösterilebilir. Bir sinyal, çok çeşitli bilgilere başvurmak için kullanılabilir (Priemer 1991).

Herhangi bir görüntü ham halde bir sinyal olarak tanımlanabilir. Sinyaller harmonik ya da an harmonik şekillerde içlerinde birden fazla dalgayı barındırabilirler ve her biri sinüs ve kosinüs dalgaları olarak ifade edilebilir. Bir görüntü sinyalinin işlenebilmesi için öncelikle sayısal olarak ifade edilebilmesi gerekmektedir. Sinyallerin frekans bilgilerine ulaşmak için çeşitli integral dönüşüm yöntemleri kullanılmaktadır. En yaygın olanı Fourier Dönüşümü olmakla birlikte (Polikar, 1999) sinyalin karakteristiğine uygun olarak farklı yöntemler de kullanılmaktadır. Bunlardan bir kaçını Hartley dönüşümü (Hartley 1942), Hilbert dönüşümü, Dalgacık dönüşümü (Adison 2002) ve S-dönüşümüdür (Stockwell ve ark., 1996). Her yöntem bazı avantaj ve dezavantajlar barındırmaktadırlar.

Fourier dönüşümü; problemin, çözülebileceği bir uzaya taşınıp, çözüm yeni uzayda gerçekleştirilerek, sonucun ilk uzaya geri taşınabilmesine olanak tanır [2]. Bu tersinirlik sinyalin işlem sürecinde ham hale geri dönülebilmesini mümkün kılar.

Fourier Dönüşümü (FD) ve Ters Fourier Dönüşümleri(TFD) sırasıyla şu denklemlerle tanımlanabilir (Polikar 2006):

$$G(f) = \int_{-\infty}^{\infty} g(t) \exp(-i2\pi ft) dt \quad (3.1)$$

$$g(t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} G(f) \exp(i2\pi ft) df \quad (3.2)$$

Burada; t zaman f frekansı, $G(f)$ frekansa bağlı fonksiyonları, $g(t)$ ise zaman bağlı fonksiyonları temsil etmektedir. Fourier dönüşümü durağan yani frekansı zaman içinde değişmeyen sinyallerin analizinde verimlidir ancak sinyalin durağan olmadığı ve içinde farklı frekansta bileşenler barındırdığı durumlarda; spesifik bir frekansın ne zaman gerçekleştiğini söyleyemez.

Fourier dönüşümünün bu dezavantajını ortadan kaldırmak adına zaman içinde yöntem üstünde bazı düzenlemeler yapılmıştır (Gabor 1946). Gabor, diğer adıyla Kısa Zamanlı Fourier Dönüşümünün (Okamura 2011) matematiksel ifadesi

$$KZFD(b, f) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t)u(t - b)\exp(-i2\pi ft)dt \quad (3.3)$$

şeklindedir (Kwok ve Jones 2000). $u(t - b)$ pencere fonksiyonu ve b öteleme parametresidir. Pencere fonksiyonunun zaman uzayındaki konumunu b parametresi belirler.

Fourier dönüşümü sinyali sonsuz uzunlukta tek bir pencere altında incelerken, Kısa Zamanlı Fourier Dönüşümü, sinyali zaman alanında pencerelere bölerek Fourier dönüşümünü her bir pencere için yapmaktadır (Polikar 2006). Bu sayede belirli zaman aralıklarında analiz sırasında kaybolan zaman bilgisinin de elde edilmesi mümkün olmaktadır (Valens 1999). Bir sinyal için uygulaması şu şekildedir:

- i. $t=0$ anı, sinyalin başlangıcına sonlu bir pencere fonksiyonu yerleştirilir.
- ii. Pencere içinde kalan sinyale FD uygulanır.
- iii. Pencere kaydırılarak her yeni konum için bu işlem tekrarlanır.
- iv. Her yeni pencere içindeki sinyale uygulanan FD ile frekans bilgisi elde edilir ve elde edilen bu değer Fourier katsayısı olarak adlandırılır.

Her bir dönüşüm işlemi esnasında pencerenin uygulandığı zaman bilgisine sahip olduğundan, frekans ve zaman bilgisine aynı zamanda erişilebilir. Ancak pencere fonksiyonunun fiziksel sınırlılığı sahip olması onu bir ikilem içine sokmaktadır. Heisenberg belirsizlik ilkesine benzer şekilde zaman-frekans ikilisini aynı anda mutlak keskinlikle belirleyebilmemiz mümkün değildir. Pencere boyutu küçültüldüğünde daha kesin zaman bilgisi elde edilebilirken frekans bilgisinin ayırt edilmesi zorlaşacak; pencere boyutu büyütüldüğünde ise frekans ayırım gücü artarken bu defa zaman aralığı çok geniş olacaktır (Polikar 2006). KZFD sırasında pencere fonksiyonu frekans ile değişmez, bu sebeple periyodu pencere genişliğinden büyük olan frekansları -ki bu durumda frekanslar düşük olacaktır- çözemez (Stockwell ve ark 1996). Bu sorunu çözmek için Stockwell 1999 yılında KZFD den farklı

olarak pencere fonksiyonunun, frekans ile orantılı olarak genişlediği değişken bir hale getirilebileceğini söylemiş ve şu şekilde tanımlamıştır:

$$S(b, f) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t)u(b - t, f)exp(-i2\pi ft)dt \quad (3.4)$$

Burada, pencere Gaussian fonksiyonu olarak seçilir. Pencere fonksiyonu zaman içinde ilerlerken Fourier sinüzoidi b parametresinden bağımsız ve sabittir (Pinnegar ve Mansinha, 2004).

Kısa zamanlı Fourier dönüşümü için geliştirilen alternatif metotlardan biri de Sürekli Dalgacık Dönüşümüdür. Sürekli Dalgacık Dönüşümü (SDD); görüntü sinyalinde bulunan yükseklik bilgisine erişmek için idealdir çünkü faz hesaplamak için verimli integral dönüşümleridir.

Fourier sinüzoidinin belli bir sınırı bulunmadığından $-\infty$, $+\infty$ aralığında sürekli olarak kendini tekrar eder ve tahmin edilebilirler. Ancak sinyaller bu kadar düzenli olmayabileceğinden çoğu zaman düzensiz ve asimetrik özelliklere sahip dalgacıklar bir sinyal karakteristiğini anlamak adına daha uygundur.

Marsilya teorik fizik merkezi çalışma grubu tarafından, Grossman ve Morlet yönetiminde geliştirilen SSD yöntemi (Abbak 2007); pencere fonksiyonuna alternatif olarak ana dalgacık adı verilen $\Psi(x)$ fonksiyonunu kullanır. “Ana dalgacık fonksiyonu” adlandırmasının sebebi, bu fonksiyonun dalgacıklar yaratmak bir başlangıç formu olup, yapılan ötelenme ve genişlemelerle dalgacıklar yaratılmasıdır (Vetterli ve Cvetkovic, 1995).

$\Psi(k_0)$ ana dalgacık fonksiyonunun şu özelliklere sahip olması gerekmektedir(Meyers ve ark. 1993):

- i. Ana dalgacık fonksiyonunda merkez, sıfırda olacak şekilde seçilmelidir.
- ii. $x \rightarrow \infty$ giderken $\Psi(x) \rightarrow 0$ gitmelidir.
- iii. Kabul edilebilirlik koşulundan; $\Psi(k_0)$ ın sahip olduğu ortalama değer sıfır olmalıdır.
- iv. Dalgacıklar genellikle düzenlidirler dolayısıyla, $\hat{\Psi}(\alpha \leq 0) = 0$ olur.

SDD ile frekansı zaman içinde değişen sinyallerin analizinde zaman-frekans diyagramı elde edilir. Herhangi bir $h(x)$ sinyali için bir boyutta sürekli dalgacık dönüşümü

$$SDD(a, b) = \frac{1}{\sqrt{a}} \int_{-\infty}^{\infty} h(x) \Psi_{a,b}^*(x) dx \quad (3.5)$$

şeklinde tanımlanır (Porch 1989). Ana dalgacık fonksiyonuna genişlemeyi sağlayan a ve ötelemeyi sağlayan b parametreleri eklenerek elde edilir (Addison 2005). Burada $\Psi_{a,b}^*(x)$, ilerleme, germe ve sıkıştırırmayı yapan analiz dalgacık $\Psi_{a,b}(x)$ 'in kompleks eşleniğidir. Genişlemeyi sağlayan a parametresi sıfırdan büyük olmak koşuluyla, a ve b reel sayılar ve $\frac{1}{\sqrt{a}}$ normalizasyon sabiti ise analiz dalgacık

$$\Psi_{a,b}(x) = \frac{1}{\sqrt{a}} \Psi\left(\frac{x-b}{a}\right) \quad (3.6)$$

elde edilir. Konvolüsyon teoremi kullanılarak SDD eşitliği daha kullanışlı olan

$$SDD(a, b) = \sqrt{a} \left[\int_{-\infty}^{\infty} \hat{\Psi}^*(a\alpha) \hat{H}(\alpha) \exp(i2\pi b\alpha) d\alpha \right] \quad (3.7)$$

$$SDD(a, b) = \sqrt{a} TFD\{\hat{\Psi}^*(a\alpha) \hat{H}(\alpha)\} \quad (3.8)$$

şeklinde yazılabilir (Kocahan ve ark. 2018). Son eşitlik Hızlı Fourier Dönüşümü(HFD) algoritması kullanımına olanak verir ve düzenlenmemiş haline göre daha hızlı analiz imkânı sağlar (Addison 2005).

Herhangi bir ızgara sinyalinin tek bir satırını gösteren, x yönünde değişen bir boyutlu sinyal denklemi, $I_0(x)$ arkaplan parlaklığı, $V(x)$ ızgara deseninin görülebilirliği olarak tanımlanırsa

$$h(x) = I_0(x)[1 + V(x) \cos(2\pi f_0 x + \phi(x))] \quad (3.9)$$

şeklinde yazılabilir(Afifi ve ark 2002). $\phi(x)$ faz değeridir ve Taylor serisini açarsak

$$\phi(x) \cong \phi(b) + (x - b)\phi'(b) + \frac{(x - b)^2}{2!}\phi''(b) + \dots \quad (3.10)$$

halini alır. Eşitliğin sağ tarafında bulunan ikinci terimden sonrası şu koşula göre ihmal edilebilir (Takeda, 1983):

$$2\pi f_0 > \left| \frac{d\phi}{dx} \right|_{max} \quad (3.11)$$

Buradan yola çıkarak faz

$$\phi(x) \cong \phi(b) + (x - b)\phi'(b) \quad (3.12)$$

olarak yazılabilir. Sinyal fonksiyonunda yerine yazıldığında

$$h(x) = I_0 \left\{ 1 + V(x) \frac{1}{2} \exp \left(i(2\pi f_0 x + \phi(b) + (x - b)\phi'(b)) \right) + V(x) \frac{1}{2} \exp \left([-i(2\pi f_0 x) + \phi(b) + (x - b)\phi'(b)] \right) \right\} \quad (3.13)$$

halini alır. Fourier dönüşümü alınırsa

$$H(\alpha) = I_0(b)\pi \left\{ 2\pi\delta(x) \right. \quad (3.14)$$

$$+ V(b) \left[\delta\left(\alpha - f_0 - \frac{\phi'(b)}{2\pi}\right) \exp\left(i(\phi(b) - b\phi'(b))\right) \right.$$

$$\left. \left. + \delta\left(\alpha + f_0 + \frac{\phi'(b)}{2\pi}\right) \exp\left(-i(\phi(b) - b\phi'(b))\right) \right] \right\}$$

α' nın sıfırdan küçük olduğu konumlarda sinyalle dalgacığın çarpımından sıfır elde edileceğinden ihmal edilir böylece elde sadece son terim kalır (Dursun ve ark 2004; Lilly ve Olhede, 2009).

Uygun düzenlemeyle eşitlik

$$H(\alpha) = I_0(b)\pi V(b) \left[\delta\left(\alpha - f_0 - \frac{\phi'(b)}{2\pi}\right) \exp\left(i(\phi(b) - b\phi'(b))\right) \right] \quad (3.15)$$

halini alır. Bu noktada yapmamız gereken $\Psi(a\alpha)$ yerine ana dalgacıklardan herhangi birini yazmak ve hem dalgacığın hem de $H(\alpha)$ FD sini alarak, konvolüsyon teoremi kullanılarak daha kullanışlı hale getirdiğimiz 1D SSD eşitliğinde yerine yazmaktır.

3.1. Paul Dalgacı

Bu çalışmada ana dalgacık olarak Paul dalgacığını seçmemizin sebebi sahip olduğu serbestlik derecesi avantajıdır. Paul dalgacığı x ve frekans uzaylarında sırasıyla şu şekilde tanımlanır (Torrence ve Compo 1998):

$$\psi(x) = \frac{2^n n! (1 - ix)^{-(n+1)}}{2\pi \sqrt{\frac{(2n)!}{2}}} \quad (3.1.1)$$

$$\hat{\Psi}(\alpha) = \frac{2^n}{\sqrt{n(2n)!}} (\alpha)^n \exp(-\alpha) U(\alpha) \quad (3.1.2)$$

Burada n; dalgacığın serbestlik derecesi, U(α) ise Heaviside fonksiyonudur. Aynı zamanda basamak fonksiyonu olarak da adlandırabileceğimiz Heaviside fonksiyonu, integrali alındığında Dirac delta fonksiyonunu veren bir basamak fonksiyonudur. 0 anında sıçramalı süreksizliğe sahiptir. a,b, $\psi_{a,b}(x)$ ve $\hat{\psi}(\alpha, \alpha)$ değişkenleri eklendiğinde, x ve frekans uzaylarındaki dalgacık fonksiyonları

$$\psi_{a,b}(x) = \frac{1}{\sqrt{a}} \frac{2^n n! \left(1 - i \left(\frac{x-b}{a}\right)\right)^{-(n+1)}}{2\pi \sqrt{\frac{(2n)!}{2}}} \quad (3.1.3)$$

$$\hat{\Psi}(\alpha, \alpha) = \frac{2^n}{\sqrt{n(2n-1)!}} (\alpha\alpha)^n \exp(-\alpha\alpha) U(\alpha\alpha) \quad (3.1.4)$$

şeklini alır. Paul dalgacığının çözünürlüğü; x ve frekans uzaylarındaki analiz dalgacığının merkezlerindeki değişimin karesidir (Kocahan ve ark. 2018):

$$(\Delta x^2) = \frac{a^2}{2n-1} \quad (3.1.5)$$

$$(\Delta x^2) = \frac{2n+1}{4a^2} \quad (3.1.6)$$

Buradan çözünürlük Paul dalgacığı için:

$$R = \frac{\sqrt{2n+1}}{\sqrt{2n-1}} \quad (3.1.7)$$

olarak bulunur.

Tablo 1. Paul dalgacığının bazı n değerleri için çözünürlük değerleri

n	1	5	10	15	20	25	30	40	50
R	0,8660	0.5527	0.5256	0.5169	0.5126	0.5101	0.5084	0,5062	0,5050

3.2. Paul Dalgacı ile Faz Eldesi

Bir sinyalin faz bilgisine nasıl erişileceğinden bahsetmiş ve $\Psi(a\alpha)$ yerine ana dalgacıklardan herhangi birini yazabileceğini söylemiştik. Şimdi Paul dalgacığını yerine koyarak faz bilgisine ulaşmayı deneyelim.

1D SSD yönteminde Paul dalgacığı kullanılarak ızgara sinyali

$$SDD(a, b) = \sqrt{a} \int_{-\infty}^{\infty} \left(\frac{2^n}{\sqrt{n(2n-1)!}} (a\alpha)^n \exp(-a\alpha) U(a\alpha) \right) \left(\pi I_0(b) V(b) \left(\delta \left(\alpha - f_0 - \frac{\phi'(b)}{2\pi} \right) \exp \left(i(\phi(b) - b\phi'(b)) \right) \right) \right) \exp(ib\alpha) d\alpha \quad (3.2.1)$$

bulunur. $a\alpha = t$ ve $d\alpha = \frac{dt}{a}$ olsun. O halde eşitlik

$$SDD(a, b) = \sqrt{a} \int_{-\infty}^{\infty} \left(\frac{2^n}{\sqrt{n(2n-1)!}} (a\alpha)^n \exp(-a\alpha) U(t) \right) \left(\pi I_0(b) V(b) \left(\delta \left(\frac{t}{a} - f_0 - \frac{\phi'(b)}{2\pi} \right) \exp \left(i(\phi(b) - b\phi'(b)) \right) \right) \right) \exp \left(ib \frac{t}{a} \right) \frac{dt}{a} \quad (3.2.2)$$

halini alır. $t > 0$ durumunda $U(t) = 1$ dir. Dirac fonksiyonunu hatırlayalım:

$$\int_{-\infty}^{\infty} f(x_0) \delta(x_0 - \rho) dx_0 = f(\rho) \quad (3.2.3)$$

bu fonksiyondan yararlanarak yeniden yazılırsa eşitlik şu halde düzenlenebilir:

$$SDD(a, b) = \frac{2^n \pi I_0(b) V(b)}{\sqrt{n(2n+1)!}} a^{n+1/2} \left[\left(\left(f_0 + \frac{\phi'(b)}{2\pi} \right)^n \exp \left(-a \left(f_0 + \frac{\phi'(b)}{2\pi} \right) \right) \right) \exp \left(i \left(\phi(b) - b\phi'(b) + bf_0 + b \frac{\phi'}{2\pi} \right) \right) \right] \quad (3.2.4)$$

Elde edilen bu denklem bir dalga denklemdir ve $Ae^{i(\omega t + \phi)}$ formunda yazılabilir. Burada eksponansiyel kısmın içi faz değerini verir ve faz değeri $\phi(b) = \arctan \frac{Im(\omega)}{Re(\omega)}$ ile hesaplanır.

3.3. Bir Boyutta Dalgacık Dönüşümünde Paul Dalgacığının Kullanım Testi

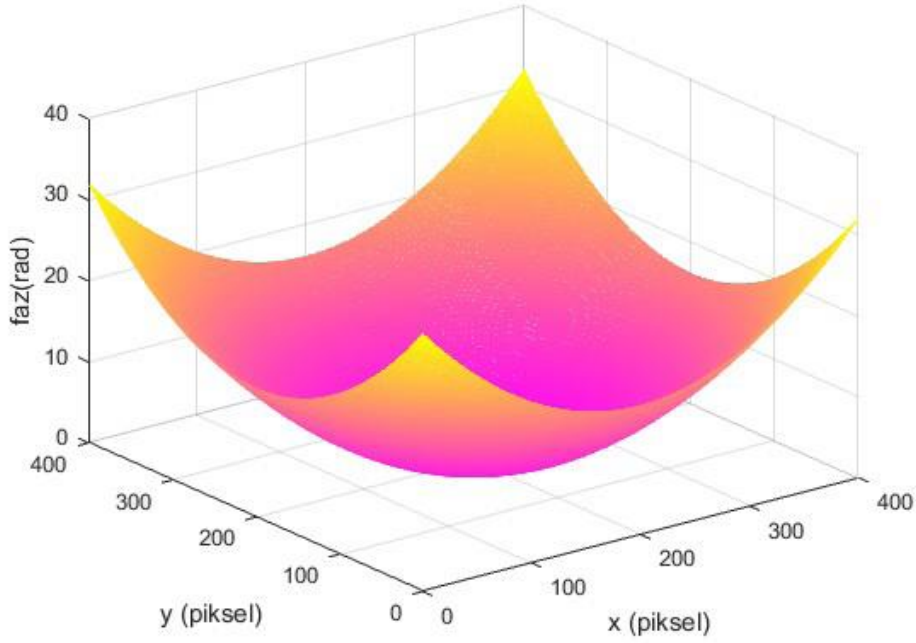
Bir boyutlu SDD algoritmasını denemek amacıyla, keyfi belirlenen bir geometri, yani bir faz fonksiyonu kullanılmıştır. Faz fonksiyonu

$$\phi(x, y) = 0.0004[(x - 200)^2 + (y - 200)^2] \quad (3.3.1)$$

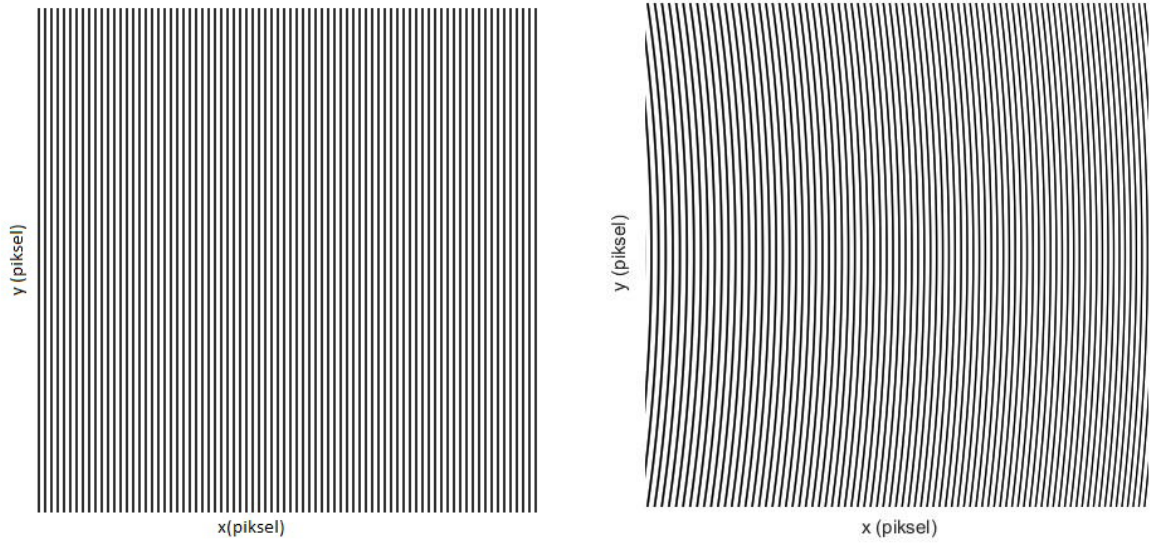
Seçilmiştir (Afifi ve ark 2002). Daha önce tanımlanan tek boyutlu ızgara sinyalinde, arka plan parlaklığını $I_0(x, y) = 1$, ızgara çözünürlüğünü $V(x, y) = 1$ ve taşıyıcı frekansı $f_0 = 0.2$ kabul edildiğinde

$$h(x, y) = 1 + \cos(1.26x + 1.26y + \phi(x, y)) \quad (3.3.2)$$

şeklinde düzenlenebilir. Burada ızgara fonksiyonunda $\phi(x, y)$ kadar bir faz kayması meydana gelecektir. Fazın sıfır ve faz kaymasının geçerli olduğu durumlarda ızgara desenler şekil x deki gibi bir geometriye sahip olur.



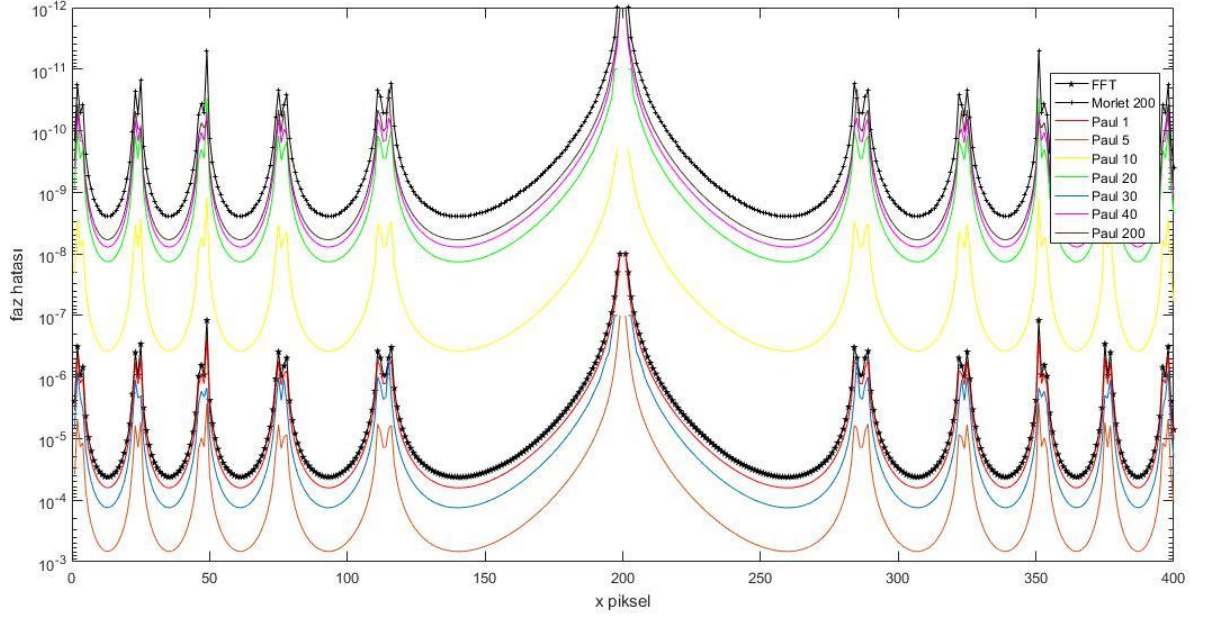
Şekil 3.3.1 Simülasyonda yaratılan faz (Afifi ve ark 2002)



Şekil 3.3.2 (a) Faz kaymasının sıfır olduğu durumda, x yönünde tek taşıyıcı frekansla oluşturulmuş ızgara deseni ($f_{0x}=0.2$); (b) faz eklenerek elde edilen ızgara deseni

Daha önce tanımlanan ızgara sinyali kullanılarak 1D SDD faz hesaplama yönteminde Paul dalgacığı ana dalgacık olacak şekilde her satır için faz değerleri hesaplanmış ve faz düzeltme işlemiyle doğru faz bilgileri elde edilmiştir. Hesaplama yönteminde Paul dalgacığına alternatif olarak, Fourier dönüşümü ve Morlet dalgacığı parametre 6 olacak şekilde kullanılmış ve karşılaştırılmıştır. Test fazı ile Paul Tablo 1 de verilen n değerleri, Fourier dönüşümü ve Morlet dalgacıkları kullanılarak her noktada faz değerleri hesaplanmış, önerilen faz ile olan

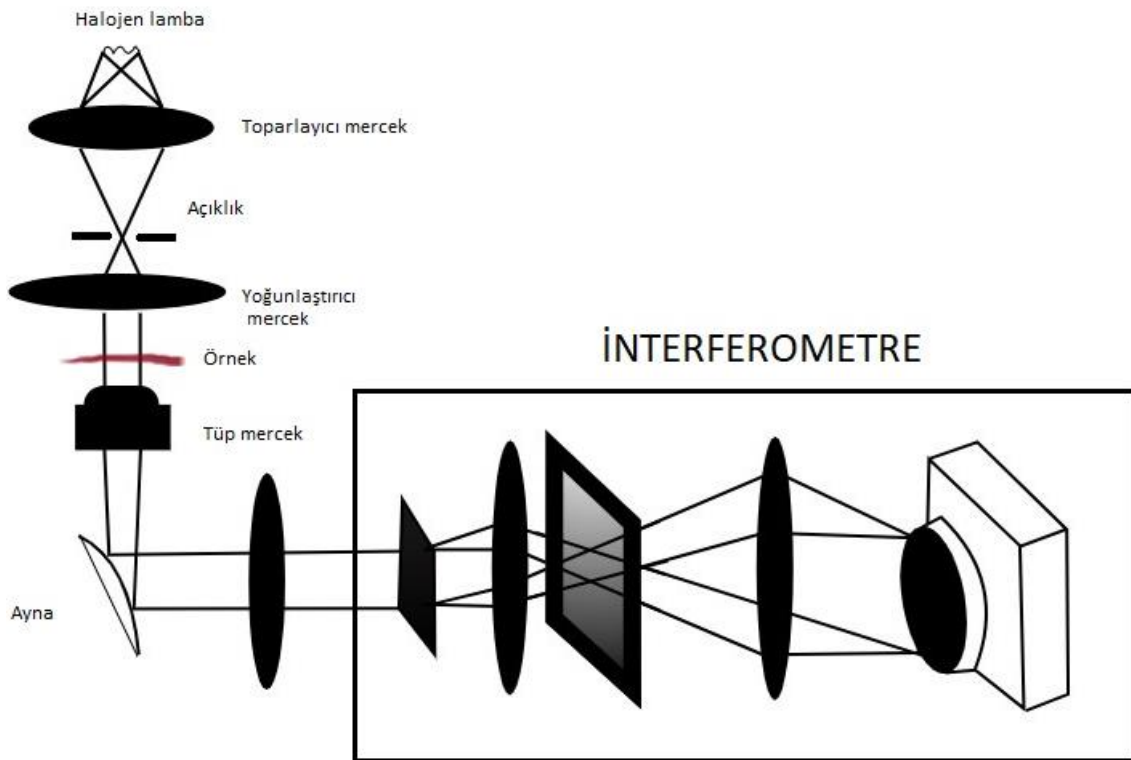
farkı bulunarak, faz hatalarına ulaşılmıştır ve Şekil 3.3.3 de çizilmiştir. Bu grafiğe göre Paul dalgacığının serbestlik derecesi arttıkça, hatanın azaldığı görülmektedir. Optimum bir değer olarak Paul dalgacığının derecesi 10 kabul edilebilir. Çalışmanın devamında, bu simülasyon sonucu optimum değer olarak bulunan Paul dalgacığının derecesi $n=10$ alınarak çözümler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3.3 Test fazı kullanılarak Paul ve Morlet dalgacıkları ve FFT için ulaşılan faz hataları grafiği

4. BEYAZ IŞIK KIRINIM FAZ MİKROSKOBİSİ KURULUMU

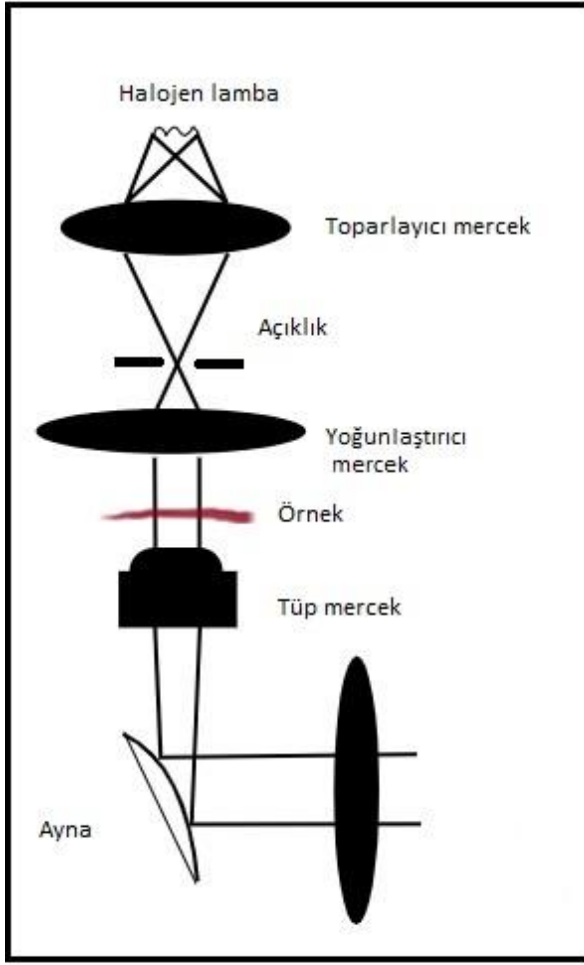
Bu tez çalışmasında ızgara desen içeren örnek görüntülerine ulaşmak için standart KFM den farklı olarak ışığın halojen beyaz ışık kaynağından sağlandığı Beyaz Işık Kırınım Faz Mikroskopisi (BKFM) kullanılmıştır. BKFM kurulumu; Axio Observer A1, Zeiss inverted mikroskop, dört elemanlı bir interferometre ve görüntü alma birimi olarak kullanılan CCD kameradan oluşmaktadır. Şekil 4.1 de tüm birimleri ile BKFM ölçüm sisteminin şematik gösterimini bulunmaktadır.



Şekil 4.1 Beyaz ışık faz kırınım mikroskopisi (BKFM) kurulumu şematik gösterimi (Pham ve ark. 2013)

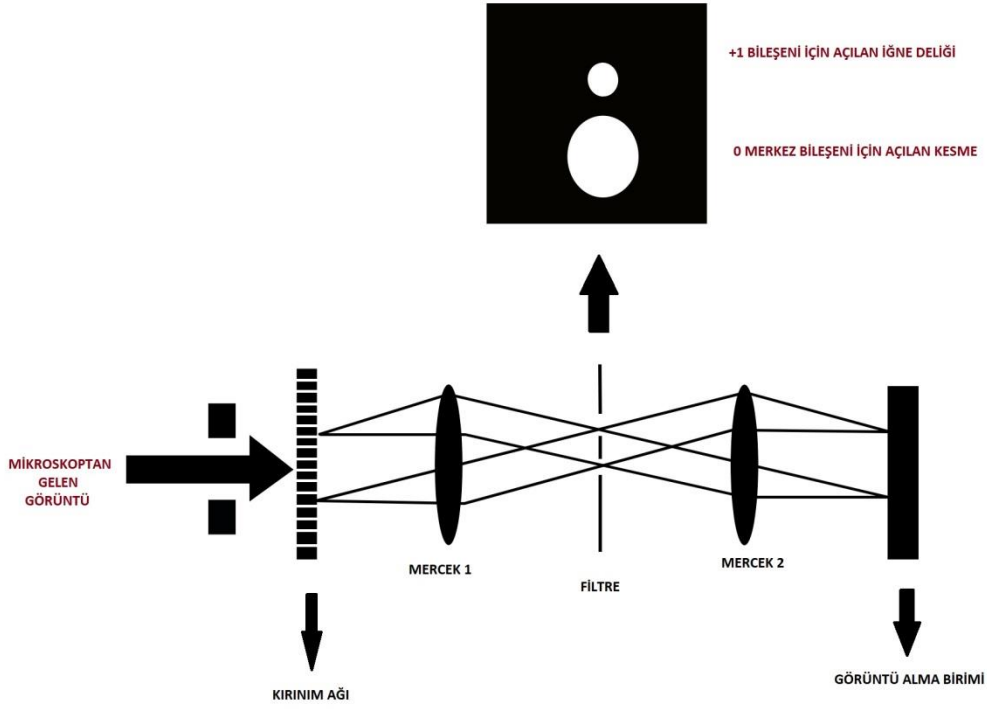
Deney düzeneğinde, Şekil 4.2’de şematik gösterimi bulunan, halojen ışığa sahip mikroskop, tezin amacı doğrultusunda kırmızı kan hücrelerinin incelemesine uygun olarak 40X odak ile kullanılmıştır. Mikroskop ayrıca 10X, 20X ve 100X seçenekleri sunmaktadır.

BKFM kurulumunun test edilmesi aşamasında, yürütülen başka bir tez çalışması için gerekli olan kaplama yükseklik bilgisine erişebilmek adına, geçirgen ince film numunelerinden ölçümler alınmıştır. Bu numuneler için daha sağlıklı sonuç veren 20X odak kullanılmıştır.



Şekil 4.2 Beyaz ışık mikroskobunun şematik gösterimi

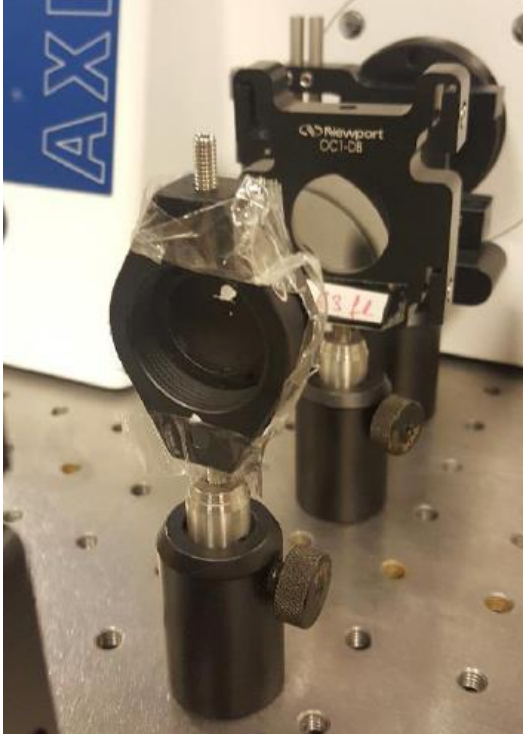
Kan örneği, ön hazırlık olmaksızın ve tahrip edilmeden lamel üzerine yayılarak iyi bir görüntü elde etmek üzere mikroskop odaklanarak ayarlanır. Belirlenen bölgenin görüntüsü inverted mikroskobun alt ucundan çıkarak interferometreye ulaşır. İnterferometrenin ilk elemanı 25 mm² alana sahip, yüzeyinde 110 çizgi/mm bulunan geçirgen bir kırınım ağıdır.



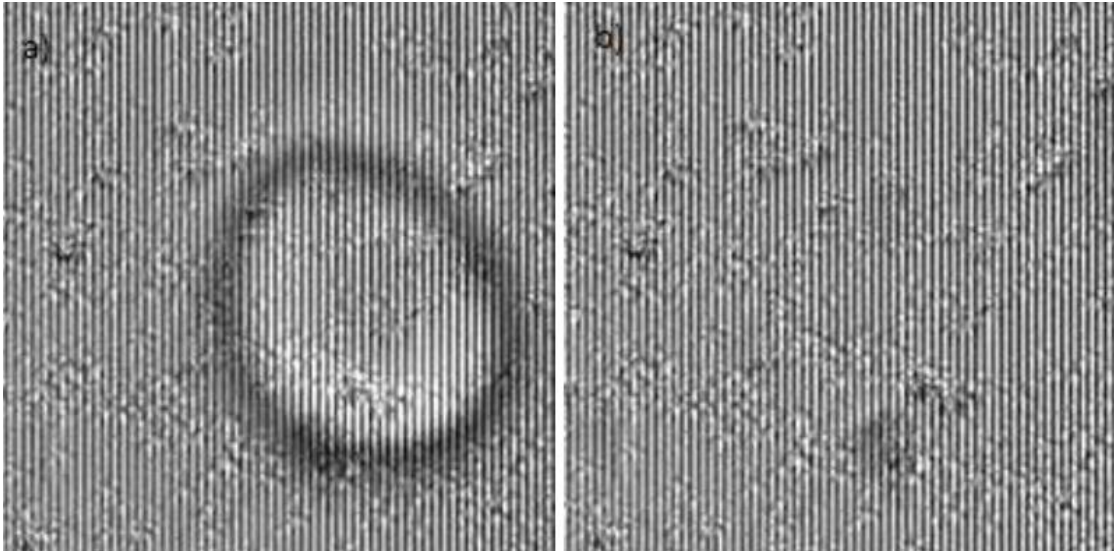
Şekil 4.3 İnterferometre kurulumunun şeması ve kullanılan filtrenin genel görünümü

Kırınım ağından geçen görüntü sinyali bir kırınım deseni halini alır (Şekil 4.3). Çalışmada kullanılan kırınım ağında oluşan ve ilk merceğin efektif alanı içinde bulunan birden fazla bileşen gözlenmektedir. Bu bileşenler farklı açılarda oluşan kopya görüntülerdir. Kırınım ağından geçen ışık hala farklı frekanslarda bilgi içeren spektral modülasyona sahip bileşenlerine ayrılmış haldedir. Bu bileşenler 63 mm lik odak uzaklığına sahip ve aslında bir Fourier düzlemi olarak işlev gören ilk merceğe ulaşır. Fourier düzleminde, tıpkı prizmadan geçen beyaz ışıkta olduğu gibi, bileşenler merkez bileşen beyaz olmak üzere, frekanslarına bağlı olarak, merkezden dışarı doğru sırasıyla mavi, sarı ve kırmızı renklerde 5 bileşene ayrılmaktadır. Farklı açılardan oluşan bu 5 bileşenden, merkez 0. bileşen beyaz ve +1 bileşen mavinin geçmesine için verilecek şekilde bir filtreleme işlemi uygulanır. 0. bileşen bilgi bileşeni ve +1. bileşen referans bileşendir. Referans bileşen seçimi kritiktir. Sebebi frekans modülasyondur (FM). Frekans modülasyonu sinyal kalitesinin yüksek olmasını sağlar. Eğer bu modülasyonda referans bileşen yüksek frekansta seçilirse gürültü miktarı artacaktır. Fourier düzleminde geçen beyaz ışığın bileşenlerinden en düşük frekansa sahip olanı mavi olanıdır ki referans seçilme sebebi budur.

Girişim oluşturacaklar dışındaki bileşenler filtrelenir. Bu filtreleme işlemi için laboratuarda tasarlanmış bir filtre kullanılır (Şekil 4.4). Filtre üstündeki açıklıklar kırınım faz mikroskobisi sistem tasarım ilkeleri temel alınarak yaratılmıştır.



Şekil 4.4 Deney düzeneğinde kullanılan filtre



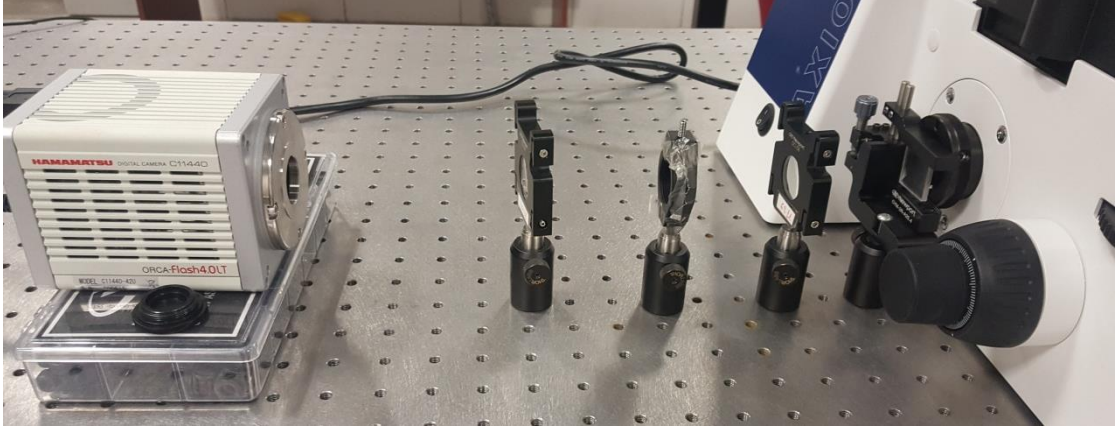
Şekil 4.5 BKFM sisteminden elde edilen ve CCD' den gözlenen örnek bir girişim deseni
a) örnekteki eğrilmeler b) referans görüntüsü (Kocahan ve ark. 2017).

Filtreden geçmesine izin verilen 0. ve +1. bileşenler 150 mm odak uzaklığına sahip yakınsak ikinci mercek ile odaklanıp, kamera üzerinde üst üste bindirilerek interferogram (girişim deseni) elde edilir. Elde edilmesi beklenen interferogram görüntüsü Şekil 4.5 de bulunan örnek görüntüler gibidir.

Girişim deseninin oluştuğu, görüntü sinyalinin yeniden düzenlendiği düzlem CCD kamera düzlemidir ve CCD kamera BKFM deney kurulumunun son elemanıdır. Deney düzeneğinde Hamamatsu marka ORCA Flash 4.0 model CCD kamera kullanılmıştır (Şekil 4.6). Kullanılan kameranın piksel sayısı 2048x2048, efektif alanı 13.312 mm² ve piksel boyutu 6.5 µm'dir. Fizik Bölümü Optik Araştırma Laboratuvarında kurulan BKFM düzeneği Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.6 Deney düzeneğinde kullanılan CCD kamera



Şekil 4.7. Fizik Bölümü Optik Araştırma Laboratuvarında kurulan BKFM deney düzeneği.

CCD çipleri düzlemleri boyunca sensörler bulundurulur, bu sensörler ışığı duyarlıdır, ışığı algılar ve bunu dijital sinyale dönüştürürler. CCD düzleminde oluşan, ızgara deseni entegre haldeki bu holografik görüntü faz terimi yani yükseklik bilgisini taşır. Önceki bölümlerde bahsettiğimiz dönüşüm yöntemleri ile elde edilen sinyal üç boyutlu hale getirilecek şekilde yeniden inşa edilir.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

BKFM’de geçirgen numunelerden alınan, faz bilgisine sahip görüntüler, 1D SDD’de ana dalgacık Paul dalgacığı olacak şekilde analiz edilmiş ve üç boyutlu profillerine ulaşılmıştır.

5.1.BKFM ile Elde Edilen Görüntü ve Bulgular

BKFM kurulumundan alınan faz bilgisine sahip eritrosit ve ince film numunesinin ve her bir ölçüm için kaynak görüntüleri alınmış, 1D SDD faz yönteminde Paul dalgacığı (n=10) kullanılarak her satır için $\phi_0(x,y)$ numunede cismin görüntüsünün ve $\phi_k(x,y)$ kaynak görüntüsünün faz değerleri hesaplanmıştır. Fazlarda oluşan süreksizliklerin düzeltilmesi adına faz düzeltme işlemi uygulanmış, cismin toplam faz dağılım bilgisine $\phi(x,y) = \phi_k(x,y) - \phi_0(x,y)$ işlemiyle ulaşılmıştır.

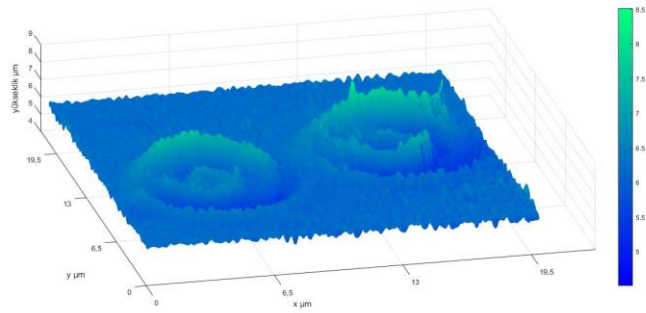
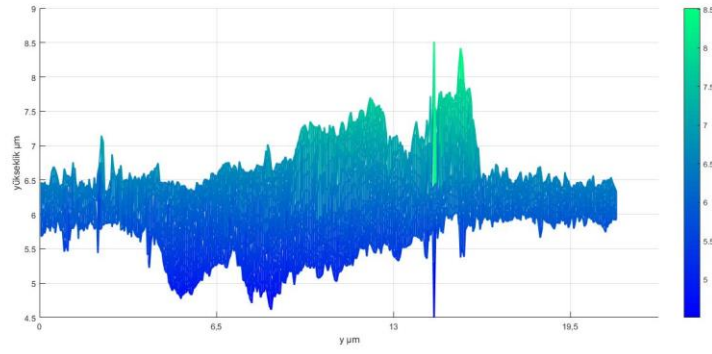
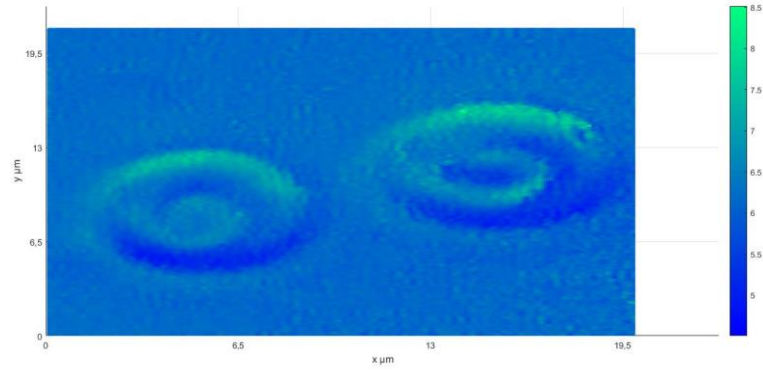
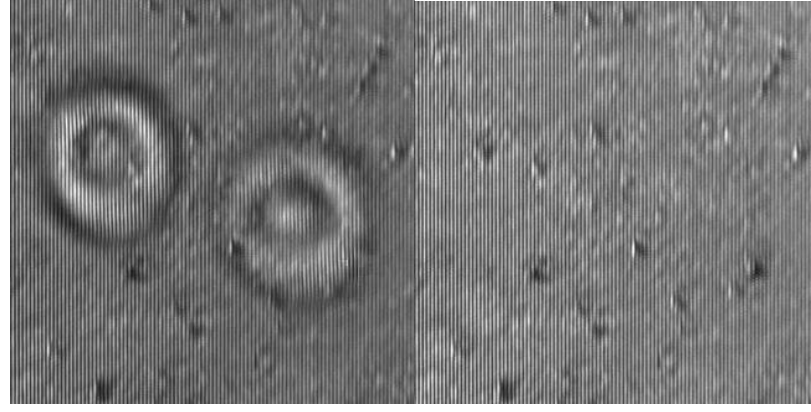
5.1.1. Kan Hücreleri İçin

Kan örnekleri ön hazırlık olmaksızın lamel yüzeyine yayılmış ve iki lamel arasında sıkıştırıldıktan sonra inverted mikroskoba yerleştirilmiştir. Kurulumun hazır ve kırılma indisinin daha önce bilinerek odaklanmanın yapıldığı koşullarda; örnek alımı ile sistemden ızgara desenli görüntü alımı arasında geçen süre 30 saniyenin altındadır. Görüntünün kesme işlemi ve algoritma ile analizi sayesinde, üç boyutlu, dinamik ve her nokta için yükseklik bilgisine erişilebilen sonuca ulaşmamız, kesme işlemi için yaklaşık 60 ve analiz için 125 saniye olmak üzere toplam 185 saniye olmuştur. Örnek alımından sonra, yaklaşık 215 saniyelik bir sürede sonuca ulaşılmıştır.

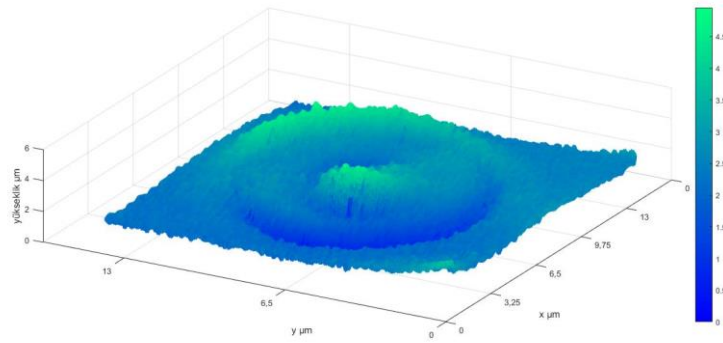
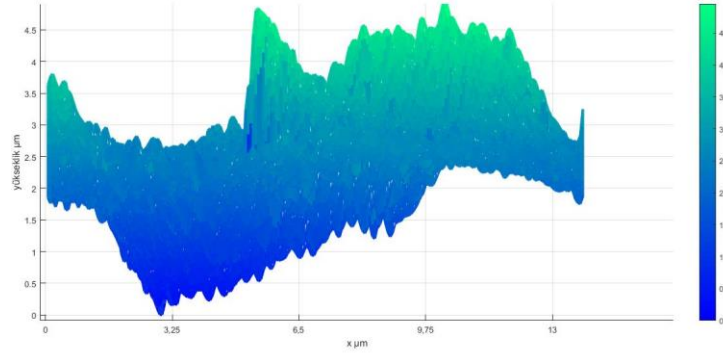
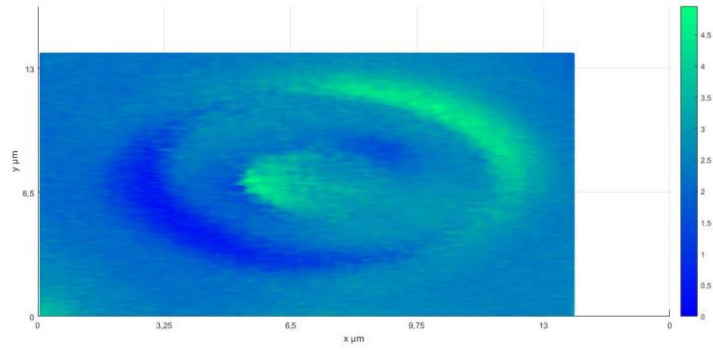
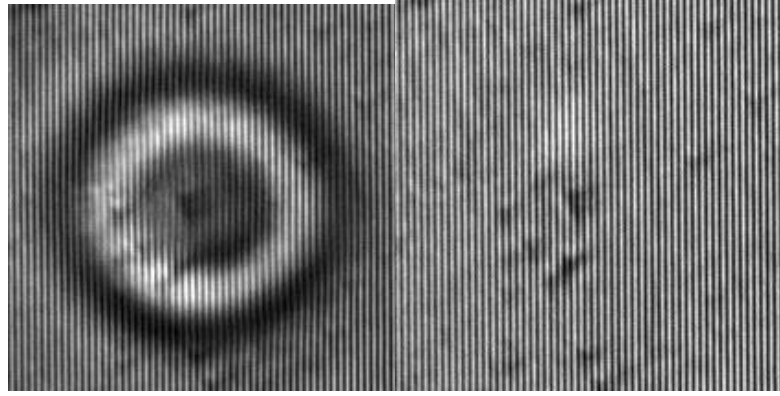
BKFM deney düzeneği ile elde edilen kan hücresi profili faz değerinden yüksekliğe çevrilmiştir. Mikroskopta kullanılan beyaz ışığın orta dalgaboyu $\lambda = 550$ nm olmak üzere yükseklik değerleri $Z(x,y) = \lambda\phi(x,y)/|2\pi(n_c - n_p)|$ (Popescu vd. 2006) denkleminde hesaplanmıştır. Burada kırmızı kan hücresinin kırılma indisi $n_c = 1.41$ ve hücreyi çevreleyen kan plazmasının kırılma indisi $n_p = 1.34$ ’dir. Yükseklik eksenini μm birimine çevrildiği için, yatay eksenler de piksel biriminden μm birimine dönüştürülmelidir. Bunun için kullanılan Hamamatsu ORCA Flash CCD kameranın teknik detayları ile ilgili döküman incelendiğinde 2048x2048 piksel büyüklüğündeki görüntünün bir hücresi 6,5 μm olarak verildiği görülmüştür.

Ayrıca mikroskopta kullanılan objektif 40X büyütme yapmaktadır. Buna ek olarak interferometrede kullanılan merceklerin sağladığı toplam büyütme 2,38X olarak hesaplanmıştır. Bu büyütme dikkate alındığında kaydedilen ham görüntünün bir pikselinin boyu ve eni 0,0683 μm olarak bulunmuştur. Elde edilen bu ham görüntüye zenginleştirme işlemi uygulandığında görüntü boyutu değişmektedir. Bu değişim miktarına göre ölçeklendirildiğinde şekil 5.1.1.1’de verildiği gibi çapının 7 μm civarında olduğu görülebilir. Ayrıca 1D SDD faz yöntemi ile hesaplanan faz değerleri yüksekliğe çevrildiğinde şekil 5.1.1.1’de gösterildiği gibi kırmızı kan hücresi profili elde edilmiştir.

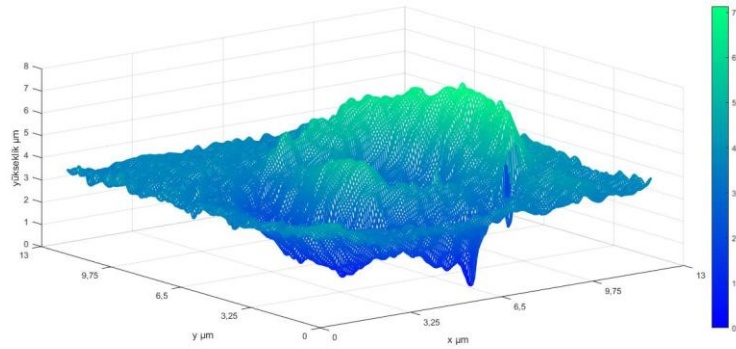
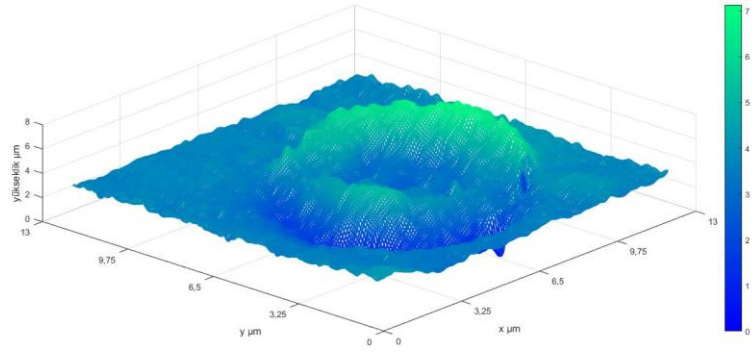
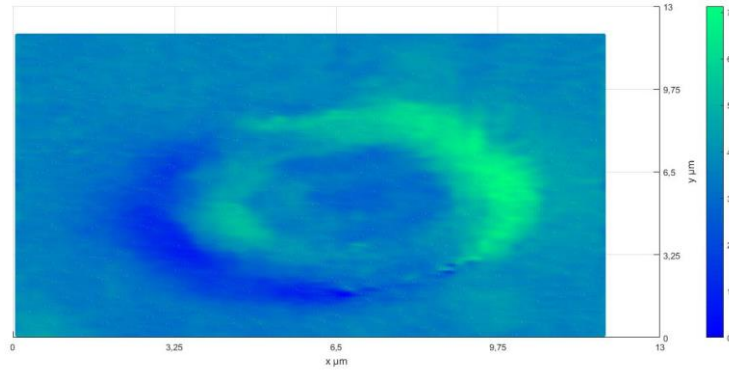
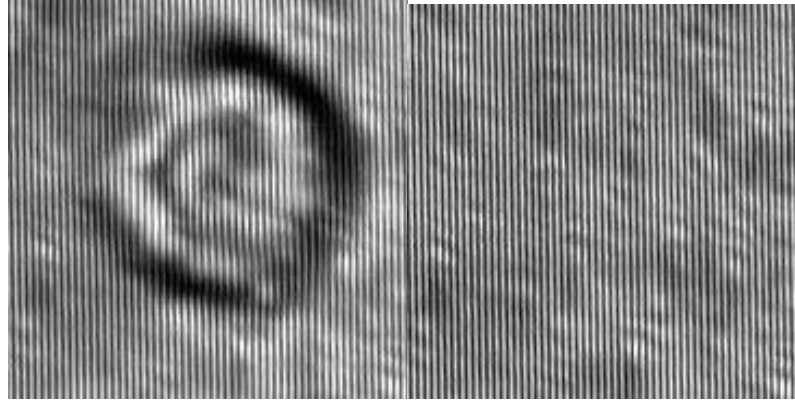
Sağlıklı kontrol grubu ve Epilepsi teşhisi konmuş hasta grubundan alınan kan örnekleri topolojik farklılıklar yönünden incelenmiştir. BKFM görüntüsünün analiziyle elde edilen bilgiler ışığında iki gruptan alınan kan örneklerindeki eritrositler arasında nitel olarak da açıkça seçilebilen farklılıkların kantitatif verisine de başarıyla ulaşılmıştır. Şekil 5.1.1.1 ve Şekil 5.1.1.2’de kontrol grubuna ait sağlıklı eritrosit örnekleri ve Şekil 5.1.1.3’te hasta grubuna ait bir eritrosit örneğinin BKFM ve analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 5.1.1.1 Kontrol grubuna ait sağlıklı eritrosit örnekleri BKFM görüntüleri; Paul dalgacı (n=10) ile analiz sonuçları karşıdan görünümü ve profil görünümü.



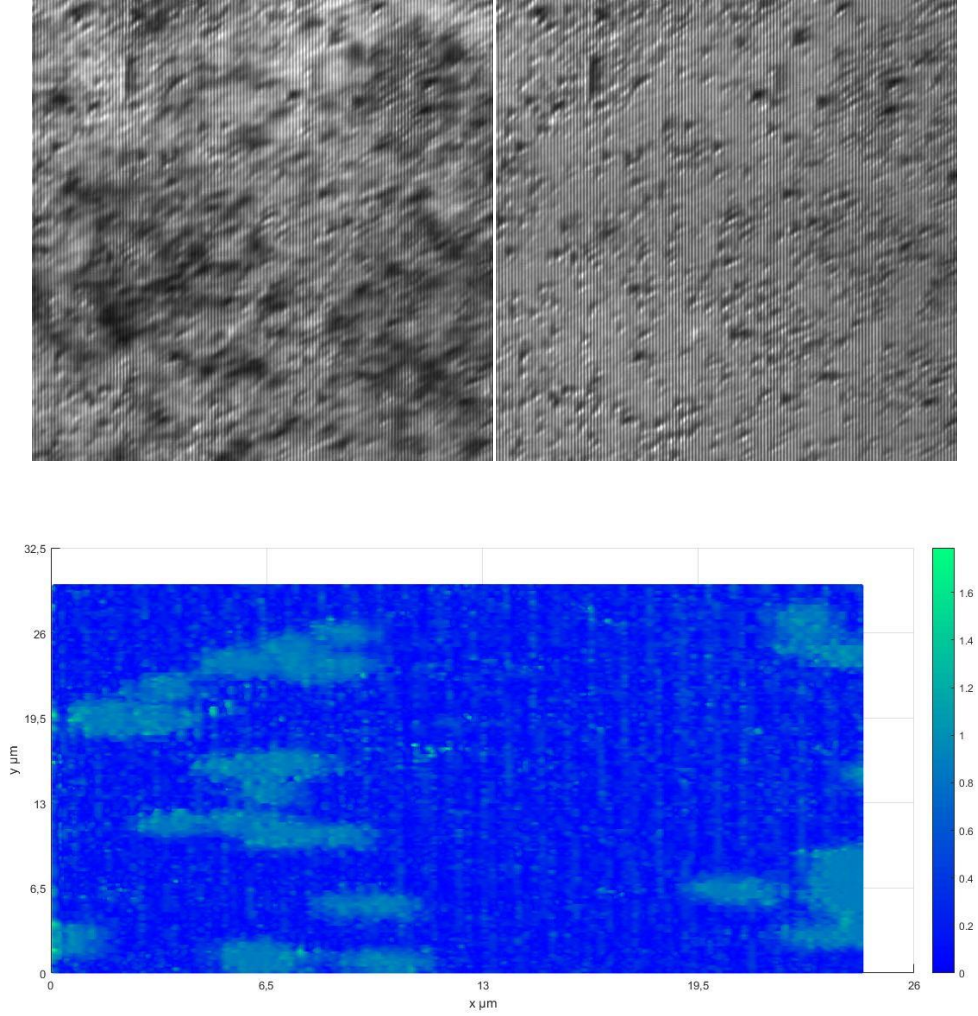
Şekil 5.1.1.2 Kontrol grubuna ait sağlıklı bir eritrosit örneğinin BKFM görüntüleri; Paul dalgacı (n=10) ile analiz sonuçları karşıdan görünümü ve profil görünümü.

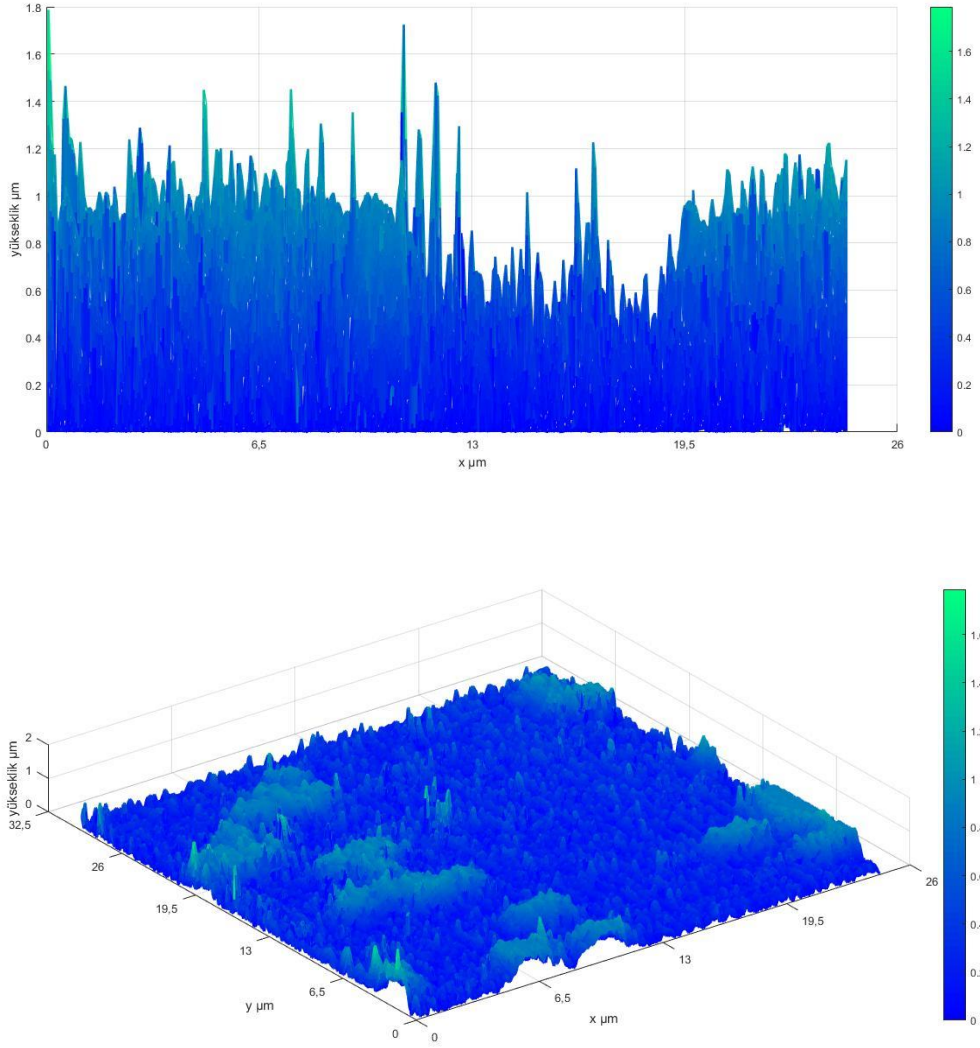


Şekil 5.1.1.3 Hasta grubuna ait bir eritrosit örneğinin BKFM görüntüleri; Paul dalgacı ($n=10$) ile analiz sonuçları karşıdan görünümü ve profil görünümü.

5.1.2. İnce Filmler İçin

Enstitüde, ince film geliştirme çalışmaları konusunda devam eden başka bir yüksek lisans tez çalışması sırasında; ince film kaplama örneklerinin kaplama kalınlık bilgilerine ihtiyaç duyulmuştur. Bu bilgiye ulaşmak için spektroskopik ve karşılaştırma için AFM görüntüleme sistemlerini kullanmış ancak AFM den yükseklik bilgisi alamamış ve spektroskopik ölçüm için maliyeti yüksek bir sonuç elde etmişlerdir. Aynı örnekler BKFM de ölçülüp analiz edilerek yükseklik yani kaplama kalınlık bilgisine ulaşılmıştır. Şekil 5.1.2.1 de bu kalınlık bilgisine ulaşılan bir ince film kaplamasının BKFM ve analiz sonuçları görülmektedir.





Şekil 5.1.2.1 BKFM ölçüm sisteminden alınan, bir ince film numunesinin hologramı; BKFM ölçüm sisteminden holografik görüntüsü elde edilen ince film numunesinin, Paul dalgacığı (n=10) ile analiz sonrası karşıdan görünümü ve profil görünümü

5.2. SEM ve AFM ile Kırmızı Kan Hücrelerinin Görüntülenmesi

BKFM den alınan görüntü ve ölçümler, farklı görüntüleme sistemlerinden elde edilen görüntü ve ölçümlerle karşılaştırıldı. Karşılaştırma için Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (NABİLTEM) bünyesinde bulunan Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) kullanıldı. Bu mikroskoplarda BKFM'nin aksine, kan numuneleri, ön hazırlık olmaksızın kullanılmadığından bir dizi hazırlık aşamasından geçti.

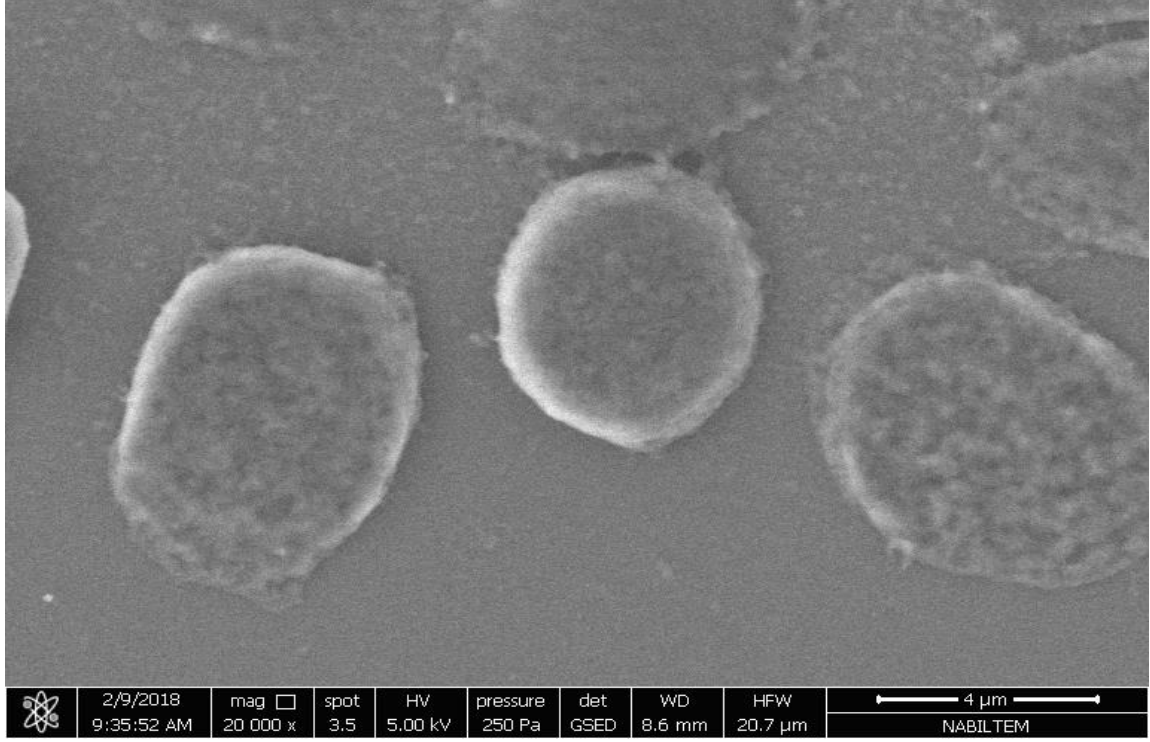
5.2.1. Numune Hazırlığı

Taze kan örnekleri lamel üstüne alınarak başka bir lamel yardımıyla yayıldı. Numuneler, eritrositlerin rahatça görüntülenebilmesi, plazma ve kirlilikten arındırılabilmesi için önce PBS (phosphate buffered saline) ile yıkandı. Yıkama işlemi aynı zamanda eritrositlerin yığın halde durup tekil görüntülerinin alınamayacağı durumlardan kaçınmak içinde elverişli bir uygulamadır.

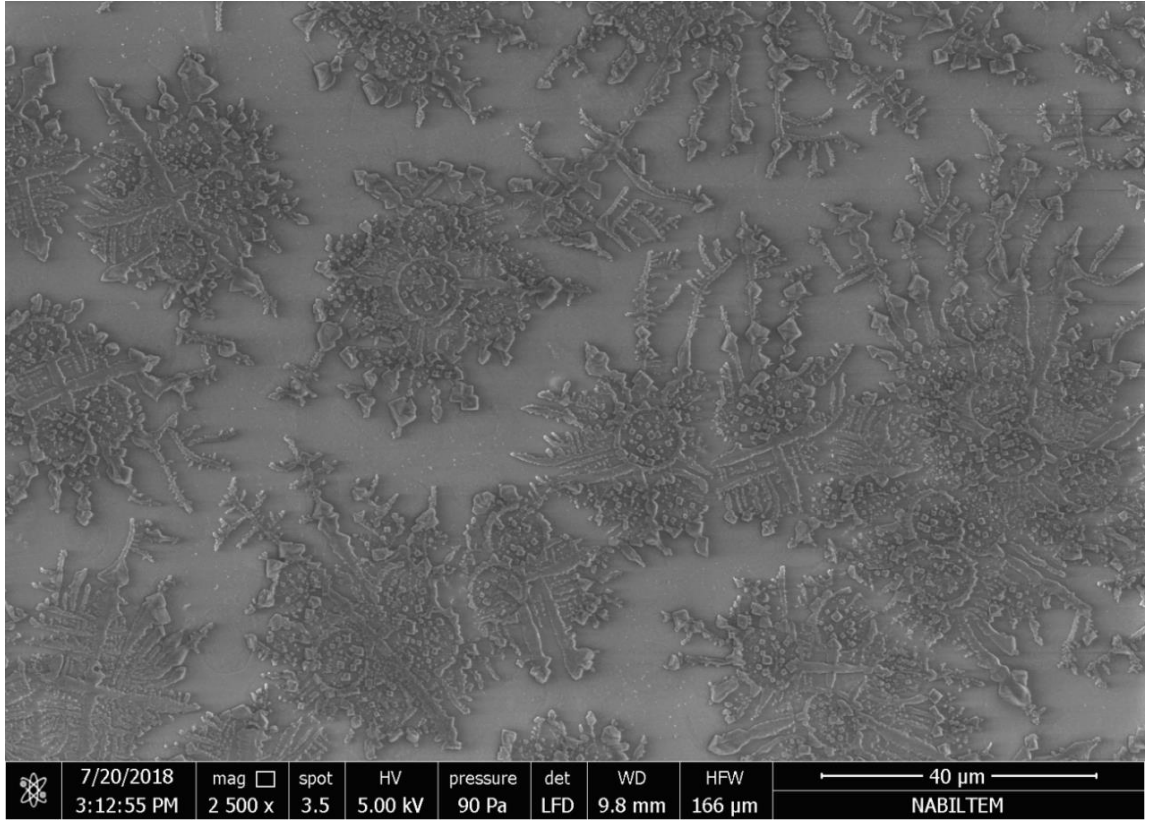
PBS, izotonik ve hücelere toksik olmayan bir tampondur. Biyolojik numunelerin ozmolaritesini (su tutma gücü) muhafaza etme kabiliyetine sahiptir. Böylece tampon, hücre kültürlerinde ve immün analizlerde yıkama prosedürleri için uygundur (Morris ve ark. 2001). Ancak yıkama işlemi tek başına yeterli olmamaktadır. İşlem sonrası lamel yüzeyine yayılmış ve arındırılmış numune sabitlenmelidir. Bu sabitleme işlemi; biyolojik numuneler için en sık tercih edilen fiksatif olan 0.1M tamponda %2,5 glutaraldehit ile lamel yüzeyine yayılmış olan kan örneğini ortalama iki saat bekletmek suretiyle gerçekleştirildi. Bu şekilde fikslenmiş örnekler sodyum kakodilat tamponda birkaç ay muhafaza edilebilir.

Böylece hem SEM hem de AFM görüntülemesi için hazırlık süreci tamamlanmıştır. Numune hazırlık aşamasında, elde edilecek görüntüden daha iyi verim alabilmek adına farklı yıkama işlemleri de denendi fakat başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Bu denemelerden ilki numuneyi hiç yıkama işlemi olmaksızın incelemeye çalışmaktı ancak kan örneğindeki plazma öyle yoğundu ki eritrositlerin varlıkları görülmesine rağmen şekilleri gözle görülür düzeyde bozdu. Numunenin yıkanmamış haline ait SEM görüntüsünü Şekil 5.2.1.1 de verilmiştir.

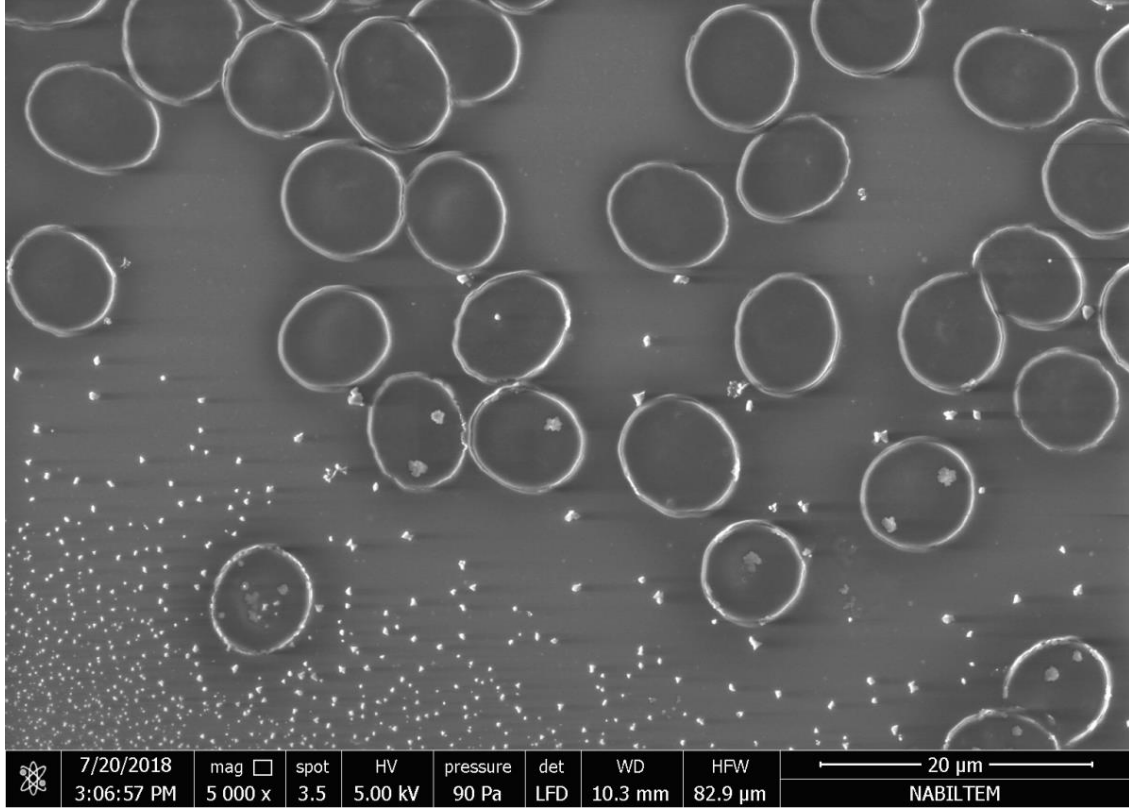
Bir diğer deneme, numuneyi sadece PBS ile yıkamak ve fiksasyonu kullanmamaktı. Bu koşullarda taranan numunede, lamel yüzeyini genişçe kaplayan kristalize fosfat tuzu öyle yoğun haldeydi ki eritrositleri nadiren seçebilmekle birlikte kullanılabilir bir eritrosit görüntüsü almak mümkün olmamıştır (Şekil 5.2.1.2). Şekil 5.2.1.3 de ise yıkanmamış ancak lamelin PBS ile kontamine olduğu bir numune görünmekte. Son deneme ise numuneyi yıkama işlemi saf su kullanarak yapmaktı. Bu defa tüm numune lamel üstünden akıp gittiğinden mutlak bir başarısızlıkla sonuçlanmıştır.



Şekil 5.2.1.1 Yıkanmamış kan numunesinin SEM görüntüsü



Şekil 5.2.1.2 Sadece PBS ile yıkanmış kan numunesinin SEM görüntüsü



Şekil 5.2.1.3 Yıkanmamış ancak lamelin PBS ile kontamine olduğu bir kan numunesi

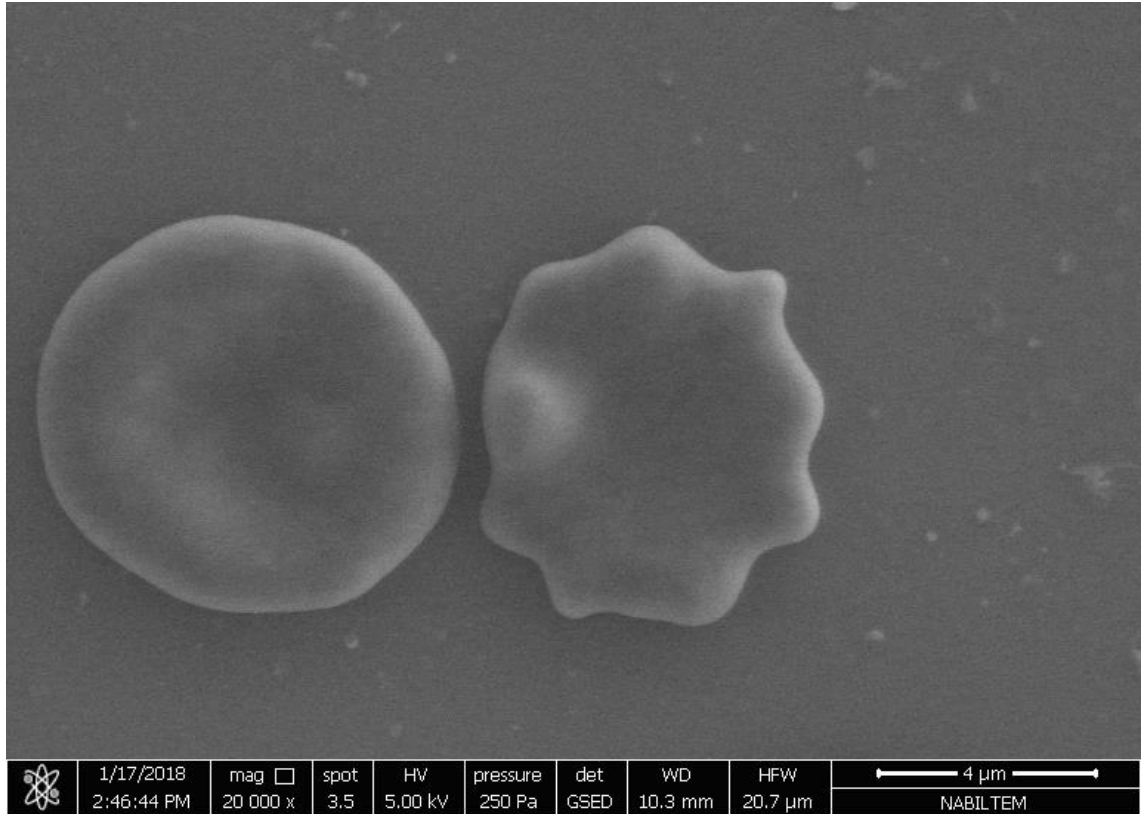
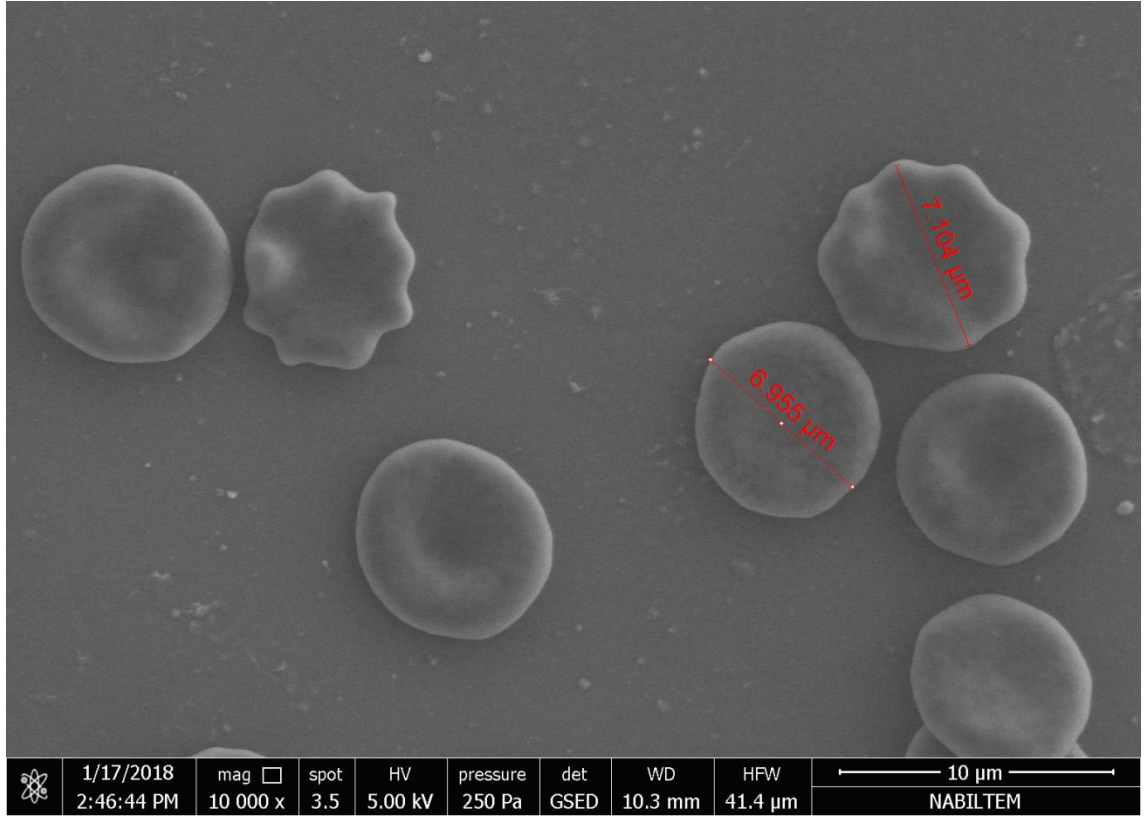
5.2.2. SEM Görüntüleme

SEM de görüntüye, yüksek voltaj yardımıyla hızlandırılan elektronların numune ile teması sırasında elektron ve numune yüzey atomları arasında oluşan etkileşim sonucu açığa çıkan girişimlerin, uygun detektörler ile toplandıktan sonra güçlendirilen sinyalin bir katot tüpünden monitör edilmesiyle ulaşılır. Bu çalışma sırasında NABİLTEM bünyesinde bulunan FEİ marka QUANTA FEG 250 model taramalı elektron mikroskobunu kullanılmıştır (Şekil 5.2.2.1).

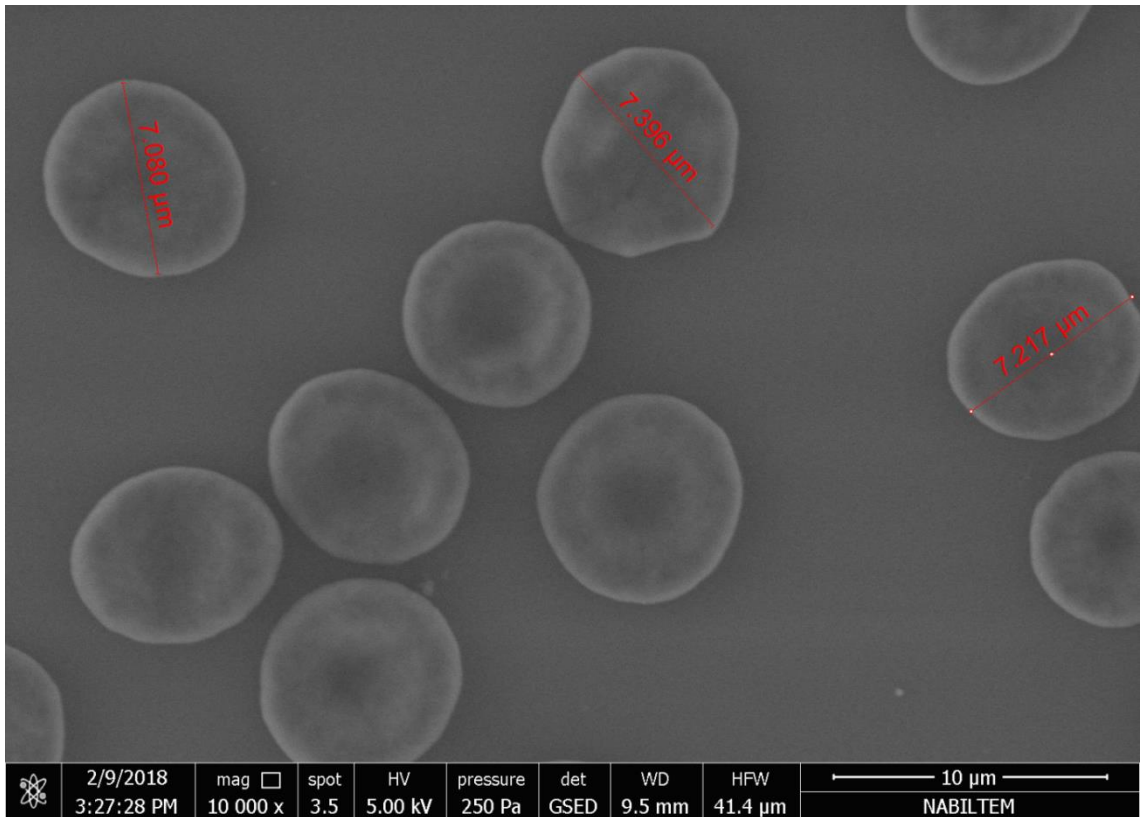
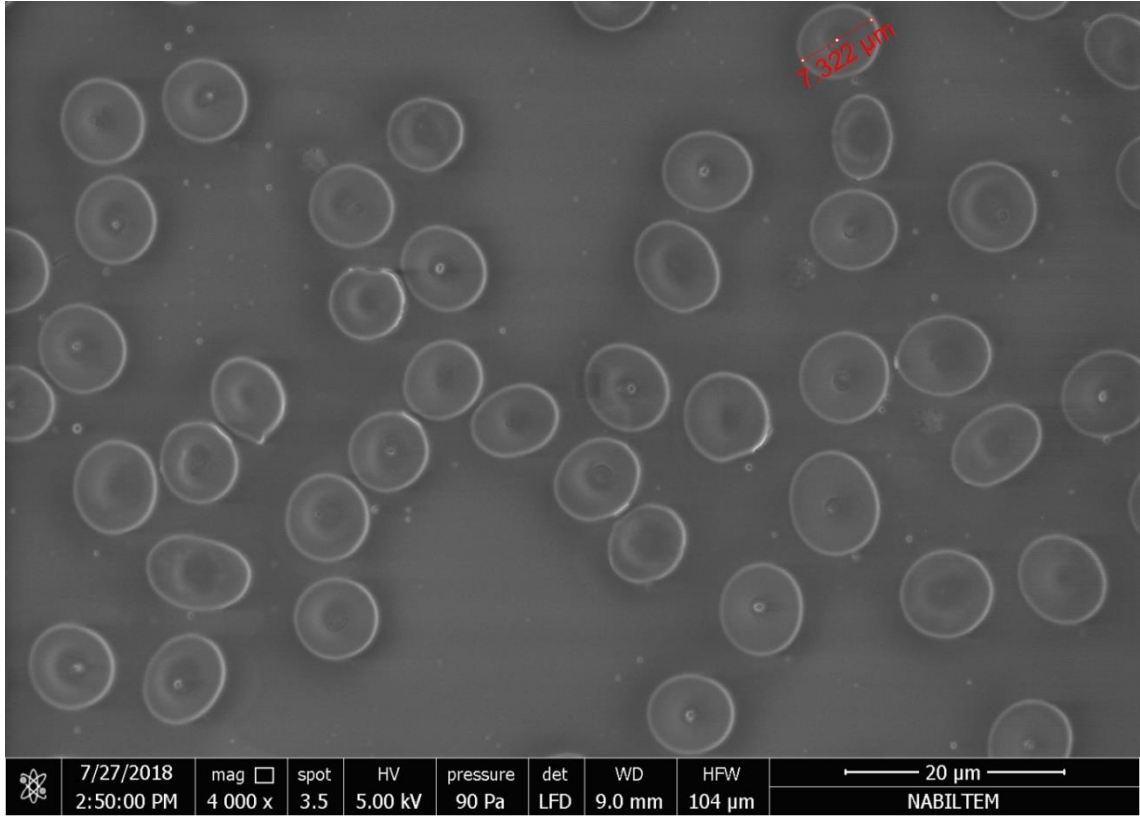


Şekil 5.2.2.1 FEİ marka QUANTA FEG 250 model taramalı elektron mikroskobu

Numune stub adı verilen sabitleme diski üzerine iletken bant yardımı ile sabitlendi. Numuneye gönderilen elektronlar, bant üstünde iletkenlik olmaması halinde yüzeyde toplanıp, kümelemektedirler. Bunun sonucu olarak görüntüleme, numune üstünde bazı parlamalar meydana gelmektedir. Bu parlamadan kaçınmak için iletken bant şarttır. Stub mikroskop içine yerleştirildi ve geri saçılan elektron detektörü 10 mm irtifadayken görüntülemeye başlandı. Şekil 5.2.2.2 ve Şekil 5.2.2.3’de görüleceği üzere ortalama çapları 6-7 mikrometre olan hasta ve kontrol gurubuna ait örneklerden eritrositlerin görüntüsü alındı.



Şekil 5.2.2.2 Hasta grubuna ait kan örneklerinden SEM de elde edilen eritrosit görüntüleri



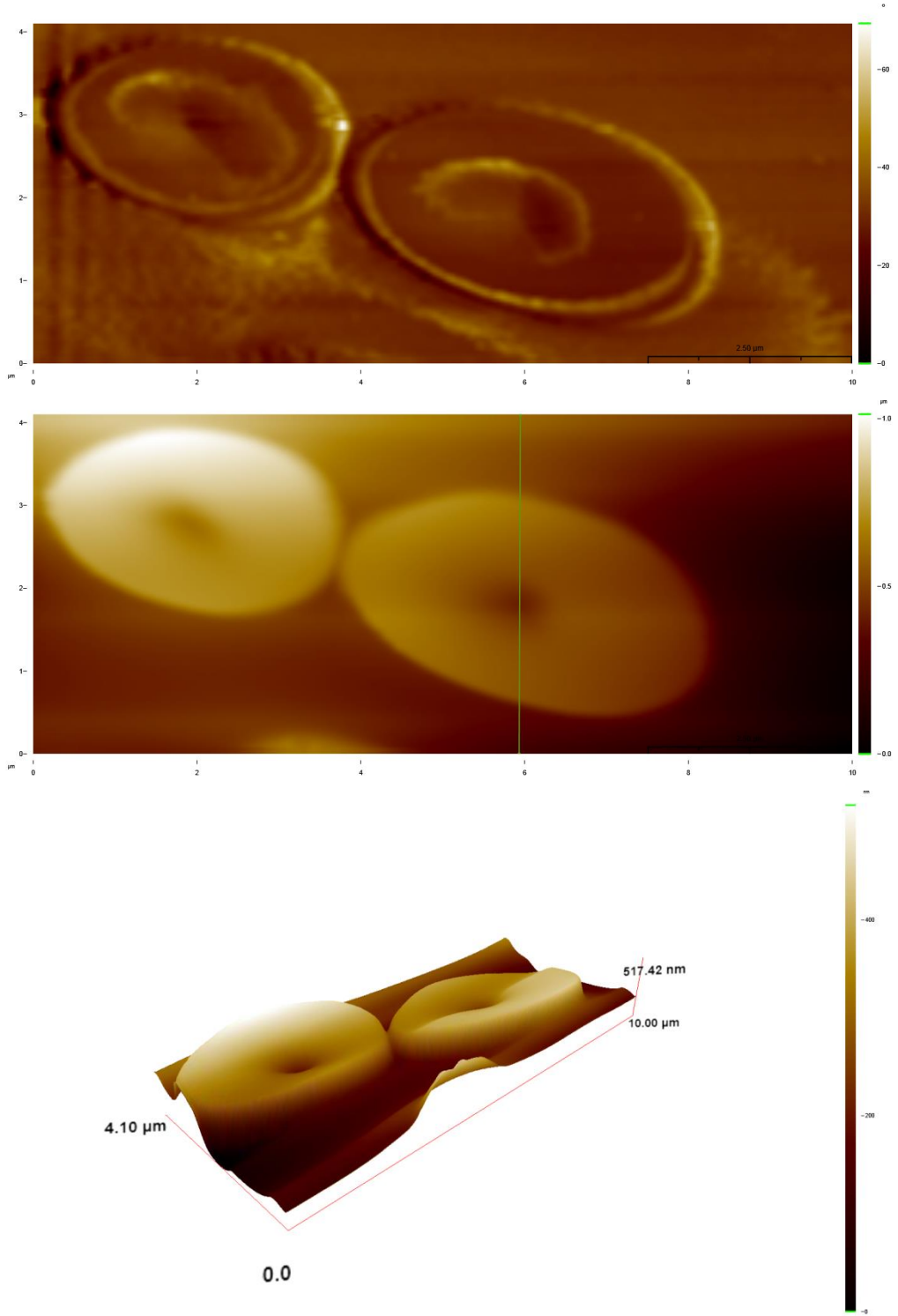
Şekil 5.2.2.3 Kontrol grubundan alınan numuneden elde edilen eritrositlerin SEM görüntüsü

Ancak SEM görüntülerinden hücre çap bilgisi ve hasta grubundan elde edilen nitel olarak gözlenip kesinlik atanamayacak şekil bozuklukları dışında bir veriye ulaşmak mümkün olmamıştır. Yükseklik, hacim dolayısıyla bozunma miktarı hakkında kantitatif veriye ulaşlamamıştır.

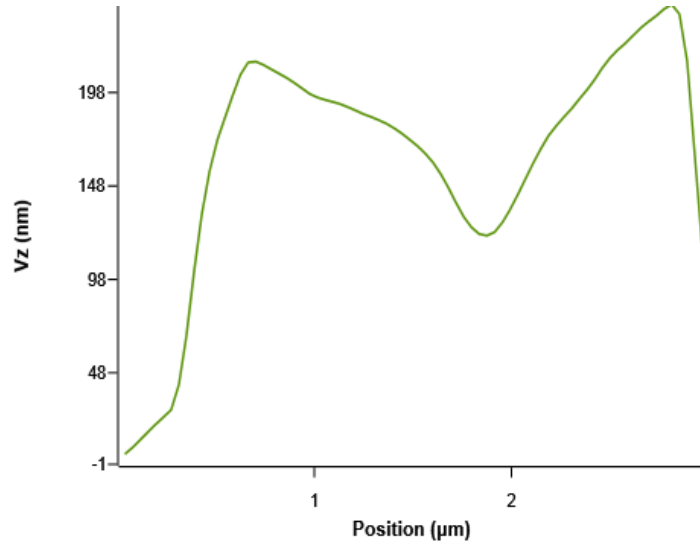
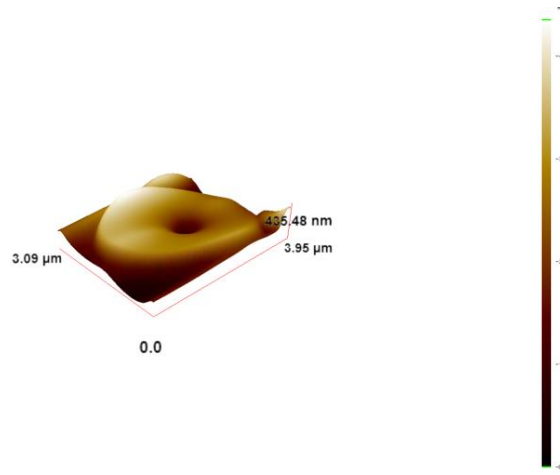
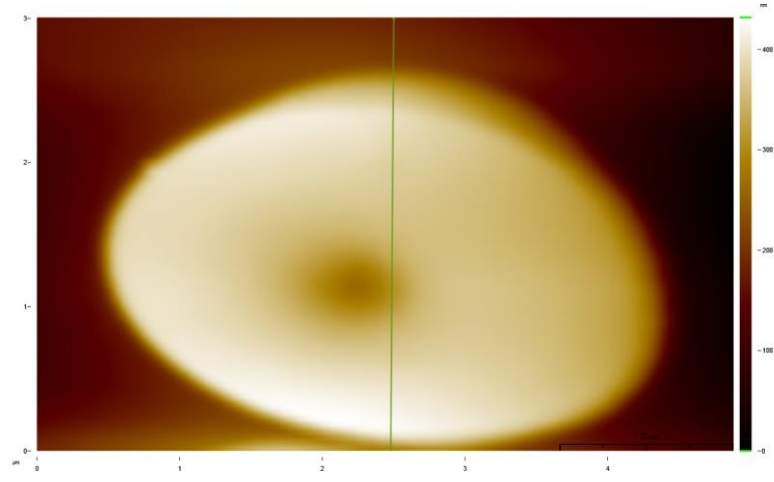
5.2.3. AFM Görüntüleme

AFM yüzeyin 3 boyutlu görüntüsünü oluşturmak için esnek bir manivela ve buna bağlı sivri bir uç ile numuneyi tarar. Aynı zamanda tarama sonucunda numunenin yüksekliği ve yüzey morfolojisi verisine ulaşılabilir. Bu çalışma sırasında NABİLTEM bünyesinde bulunan NanoMagnetics Instruments marka AFM PLUS + model atomic kuvvet mikroskobu kullanılmıştır.

Numunenin bulunduğu lamel üstünde hedef bölge gözle belirlenip küçültülerek metal bir disk üstüne sabitlendi. Alınan ilk görüntü çerçevesinde görsel tarama yapıp bir eritrositin yeri tespit edildikten sonra hedefi taratıldı. Her bir örneğin tarama işlemi minimum 45 dakika sürdü. Şekil 5.2.3.1 ve 2’de verilen görüntüler elde edildi.



Şekil 5.2.3.1 Kontrol grubundan alınan numuneden elde edilen eritrositlerin 2 ve 3 boyutlu görüntüleri

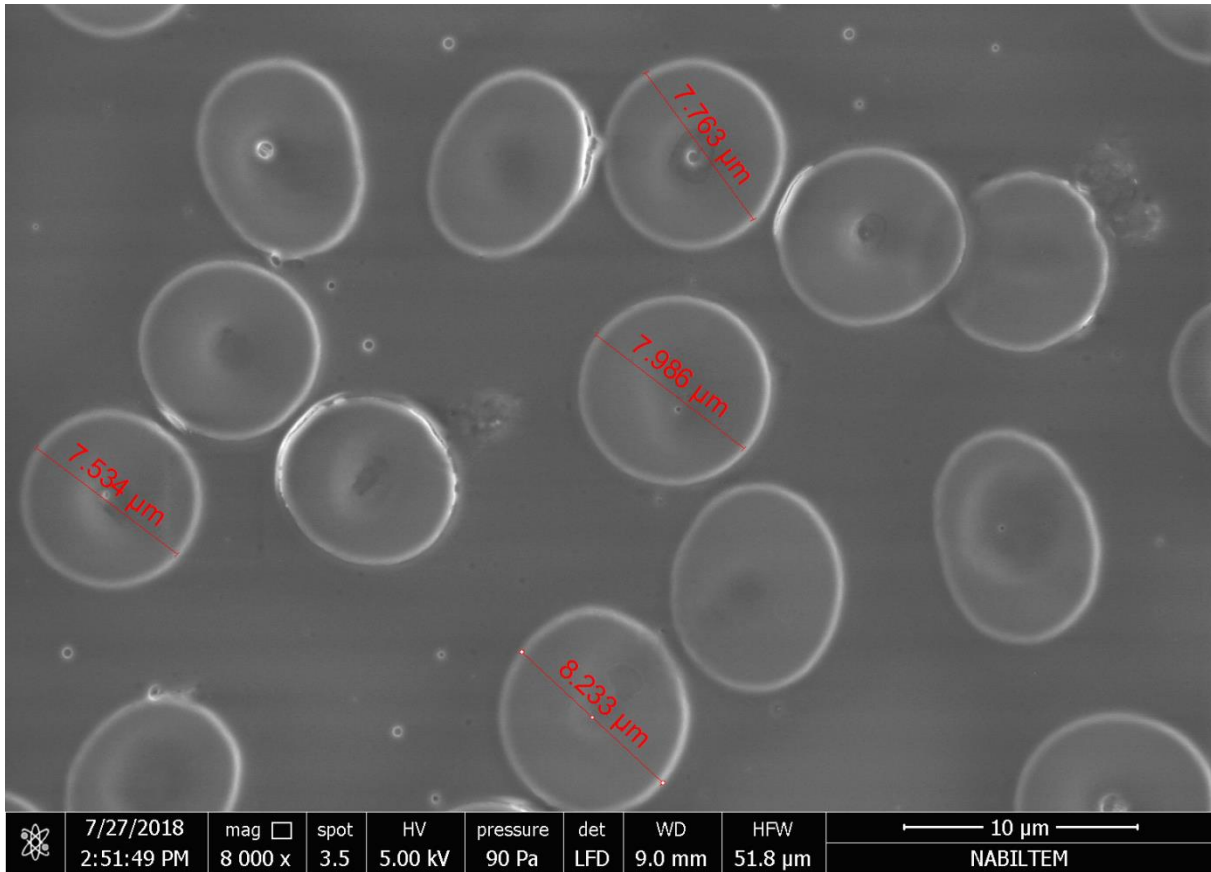


Şekil 5.2.3.2 Kontrol grubundan alınan numuneden elde edilen bir eritrositin 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüsü ve bir satır için yükseklik grafiği

AFM görüntüsünden hücrelerin çapı ve yükseklik bilgisine erişilebilmiştir. Ancak kullanılan cihazdaki kalibrasyon hatası sebebiyle bilgiler hatalıdır.

AFM operatörünce son iki taramaya kadar bu hata fark edilememiş, numuneler içinde şeklen tespit edilen hücrelerin çapları 2 mikrometre seviyelerinde olduklarından numunelerin hatalı olduğu düşünülmüştür. Kalibrasyon hatası, örneklerin SEM den alınan bilgilerindeki tutarsızlık üzerine fark edilmiş ve ölçüm hatası bir miktar düzeltilmiştir. Ancak Şekil 5.2.3.3 de görülebileceği üzere görüntülemesi yapılan numunede bulunan eritrositlerin çapı ortalama 7.5 mikrometre uzunluğa sahip olmasına rağmen AFM den alınan sonuç bu değerin yarısı kadardır.

AFM görüntüleme operasyon süresi fazla uzundur ve çalışma prensibi sebebiyle solid malzemelerde iyi sonuçlar elde etmesine rağmen, yapısal olarak esnek, plazma içinde yüzen, sabitlenmemiş, geçirgen materyallerde görüntülemeye uygun olmadığı ve özellikle yüzey geometrisini deforme ettiği gözlenmiştir.



Şekil 5.2.3.3 AFM görüntülemesi yapılan numunelerin Sem görüntüsü

6. SONUÇ

Bir boyutlu sürekli dalgacık dönüşüm yönteminde Paul dalgacığı kullanılarak faz hesaplaması yönteminde, dalgacığın serbestlik derecesi sayesinde algoritmanın geliştirilebileceğı gösterilmiştir. Kullanılan, biyolojik materyal ve ince film numunelerinin yükseklik bilgisine, BKFM ile elde edilen görüntü ve geliştirilen yeni algoritmanın analizi sayesinde erişilmiştir.

Örnek alımı ve sonuç eldesi arasında geçen süre yaptığımız çalışma sırasında yaklaşık 215 saniye olmuştur. Analiz birimi için kullanılan algoritma ve bilgisayar donanımının geliştirilmesi ile süreyi kısaltmak mümkündür.

Bu tezin ana konusu olan kırmızı kan hücreleri eritrositlerin üç boyutlu, her açıdan gözlenebilen, her noktada yükseklik bilgisine ulaşılabilen profilleri oluşturulmuştur. Bu sayede sağlıklı ve Epilepsi hastası bireylerin sahip oldukları eritrositler arasındaki nitel ve nicel farklar tespit edilebilmiştir.

Çalışmamız için kullandığımız BKFM kurulumundan edinilen bilgiler, SEM ve AFM gibi faz bilgisine erişebilen alternatif sistemlerle karşılaştırılmış ve BKFM nin, bazı açılardan, alternatiflerine oranla daha verimli olduğu görülmüştür. Numuneleri tahrip etmediğinden, kurulumda görüntü almayı sekteye uğratacak bir hata yahut analiz biriminde bir sorun olsa dahi çözüme ulaşılan dek örneklerin saklanabilmesi imkanı sağlar. Ayrıca alınan ölçümlerde oluşabilecek hataları analiz aşamasında Paul dalgacığının serbestlik derecesi sayesinde temizlemek mümkündür. Alternatiflerine oranla kurulum maliyeti oldukça düşüktür. Kurulum ve kullanımı pratik, konuda spesifik olarak eğitilmiş bir uzman operatöre ihtiyaç duymadığından, temel çalışma prensiplerine hakim biri tarafından ön bilgilendirme ile kullanımı mümkündür. Bunlarla beraber, alternatiflerinin aksine ön hazırlık ihtiyacı duymadığından, ekstra operatör, işlem süresi, kimyasal ve saklama ihtiyacını ortadan kaldırır. Tüm bu sebeplerle zaman ve maliyetten tasarruf sağlar. Analiz algoritması gelişime açık olduğundan görüntü alma sistemi de fiziki maliyet olmaksızın iyileştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Abbak, Alpay R. (2007). Jeodezi Zaman Dizilerinin Dalgacık Analizi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya
- Addison, P. S. (2002). The Illustrated Wavelet Transform Handbook. Institute of Physics Publishing. IOP. <http://doi.org/10.1201/9781420033397.fmatt>
- Addison, Paul S. (2005). "Wavelet transforms and the ECG: a review." *Physiological measurement* 26 (5): R155-99. doi:10.1088/0967-3334/26/5/R01.
- Afifi, M., Fassi-Fihri, A., Marjane, M., Nassim, K., Sidki, M., & Rachafi, S. (2002). Paul wavelet-based algorithm for optical phase distribution evaluation. *Optics Communications*, 211(1-6), 47–51. [http://doi.org/10.1016/S0030-4018\(02\)01828-X](http://doi.org/10.1016/S0030-4018(02)01828-X)
- Amstrong, E. 1936. A method of reducing disturbances in radio signaling by a system of frequency modulation. *Proceedings of Radio Engineers* 24:689-740. 10.1109/PROC.1984.12971
- Bhaduri, B., Pham, H., Mir, M. and Popescu, G. (2012) *Opt. Lett.* 37, 1094.
- Bhaduri, Basanta et al. 2014. "Diffraction Phase Microscopy: Principles and Applications in Materials and Life Sciences." *Advances in Optics and Photonics* 6(1):57
- Blahut, Richard E. (2004). *Theory of Remote Image Formation*. Cambridge University Press. p. 82. ISBN 9781139455305.
- Dursun, A., Özder, S., & Ecevit, F. N. (2004). Continuous wavelet transform analysis of projected fringe patterns. *Measurement Science and Technology*, 15(9), 1768–1772. <http://doi.org/10.1088/0957-0233/15/9/013>
- Gabor, D. 1946. "Theory of communication". *Journal of the Institution of Electrical Engineers*, sayı 93: 429–41.
- Gabor, D. (1948). "A new microscopic principle," *Nature* 161, 777–778
- Gorthi, S.S. & Rastogi, P., 2010. Fringe projection techniques: Whither we are? *Optics and Lasers in Engineering*, 48(2), pp.133–140.
- Hartley R V L (1942) A more symmetrical Fourier analysis applied to transmission problems, *Proc. IRE(Institute of Radio Engineers)*, vol. 30, pp. 144-150
- Heisenberg, W. (1927), "Über den anschaulichen Inhalt der quantentheoretischen Kinematik und Mechanik" (de), *Zeitschrift für Physik* 43 (3–4): 172–198, Bibcode 1927 ZPhy...43..172H, DOI:10.1007/BF01397280.
- Hendee, William R. , Peter Neil Temple Wells (1997-). *The perception of visual information*. p. 204. ISBN 978-0-387-94910-9.

- Kaya, H. (2010). Phase Recovery From Optical Interference Patterns by Using Hartley Transform, Zonguldak Karaelmas University
- Kocahan, Ö. (2008). İntegral dönüşümler kullanılarak cisimlerin profillerinin belirlenmesi. Çanakkale Onsekiz Mart University.
- Kocahan, O. et al., 2017. Quantitative Phase Imaging of Red Blood Cell by Diffraction Phase Microscopy. 2017 Computing and Electromagnetics International Workshop (CEM), pp.21-22.
- Kocahan, O. ,Tiryaki, Erhan Coskun, Emre Ozder, Serhat (2018) “Determination of phase from the ridge of CWT using generalized Morse wavelet” Measurement Science and Technology. Vol. 29
- K. Küpfmüller, "Über die Dynamik der selbsttätigen Verstärkungsregler",Elektrische Nachrichtentechnik , vol. 5, pp 459-467, 1928.
- Kwok, H.K., ve D.L. Jones. 2000. “Improved instantaneous frequency estimation using an adaptive short-time Fourier transform”. IEEE Transactions on Signal Processing 48 (10): 2964–72. doi:10.1109/78.869059.
- Lilly, J. M., & Olhede, S. C. (2009). Higher-Order properties of analytic wavelets. IEEE Transactions on Signal Processing, 57(1), 146–160. <http://doi.org/10.1109/TSP.2008.2007607>
- MC Morris, J Depollier, J Mery, F Heitz.(2001) A peptide carrier for the delivery of biologically active proteins into mammalian cells. Nature Biotechnology 19, 1173 - 1176.
- Meyers, S. D., Kelly, B. G., & O'Brien, J. J. (1993). An Introduction to Wavelet Analysis in Oceanography and Meteorology: With Application to the Dispersion of Yanai Waves. Monthly Weather Review, 121(10), 2858–2866
- Newton, Isaac (1704). Opticks: Or, A treatise of the Reflections, Refractions, Inflexions and Colours of Light. Also Two treatises of the Species and Magnitude of Curvilinear Figures
- Nyquist, Harry. "Certain topics in telegraph transmission theory", Trans. AIEE, vol. 47, pp. 617–644, Apr. 1928
- Okamura, Shuhei. 2011. “The Short Time Fourier Transform and Local Signals”.
- Ökcücü, E. Ö. (2014). Bazi integral dönüşümler ve uygulamalari.
- Pinnegar C.R. ve Mansinha L., 2004. Time-local Fourier analysis with a scable phase modulated analyzing function: the S-transform with a complex window. Signal Processing 84: 1167 – 1176.
- Polikar R., 1999. The Wavelet Tutorial.

- Polikar, R. (2006). THE WAVELET TUTORIAL.
- Posch, T E. 1989. “Wavelet transform and time-frequency distributions”. Proc.\ SPIE:
Advanced Algorithms and Architectures for Signal Processing IV 1152: 477–82.
- Popescu, G. et al., 2006. Observation of dynamic subdomains in red blood cells. Journal of
Biomedical Optics, 11(4), p.40503
- Priemer, Roland (1991) Introductory Signal Processing. World Scientific. p. 1. ISBN
9971509199. Archived from the original on 2013-06-02
- Stockwell R.G., Mansinha L. ve Lowe R.P., 1996. Localization of the Complex Spectrum: The
S Transform. IEEE Transactions on Signal Processing 44:998 – 1001
- Su, X., & Chen, W. (2001). Fourier transform profilometry: Optics and Lasers in Engineering,
35(5), 263–284. [http://doi.org/10.1016/S0143-8166\(01\)00023-9](http://doi.org/10.1016/S0143-8166(01)00023-9)
- Takeda, M., & Mutoh, K. (1983). Fourier transform profilometry for the automatic
measurement of 3-D object shapes. Applied Optics, 22(24), 3977.
<http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1364/AO.22.003977>
- Torrence, C., & Compo, G. P. (1998). A Practical Guide to Wavelet Analysis. Bulletin of the
American Meteorological Society, 79(1), 61–78. [http://doi.org/10.1175/1520-0477\(1998\)079<0061:APGTWA>2.0.CO;2](http://doi.org/10.1175/1520-0477(1998)079<0061:APGTWA>2.0.CO;2)
- Valens, C. (1999). A Really Friendly User Guide to Wavelet.
- Zernike, F. , (1942). “Phase contrast, a new method for the microscopic observation of
transparent objects, Part 1,” Physica 9, 686–698
- Z. Cvetkovic and M. Vetterli (1995). Discrete-time wavelet extrema representation: Design
and consistent reconstruction. IEEE Trans. Signal Proc., 43(3), March 1995.
- Z. Wang, L. Millet, M. Mir, H. Ding, S. Unarunotai, J. Rogers, M. U. Gillette, and G. Popescu,
(2011) Spatial light interference microscopy (SLIM) 19, 2643

ÖZGEÇMİŞ

Merve UYANIK 24 Eylül 1988 tarihinde İstanbul Sarıyer’de doğmuştur. İlk öğrenimini İstanbul Yeniköy Mehmetçik İlköğretim Okulunda tamamlamıştır. Sarıyer İstinye Lisesi’nin fen bilimleri alanından mezun olmuştur. 2011 yılının Eylül ayında İstanbul Kültür Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Tam burslu Fizik bölümüne giriş yapmış ve bölümü 7 dönemde, bölüm üçüncüsü olarak bitirmiştir. “Termal Alıcılarla Konveksiyon Akımlarının Tespiti Ve Hava Araçlarına Uygulanması” adıyla teslim edilen lisans bitirme tezi, infrared alıcılarla uzaktan algılamayı konu almıştır. Yüksek lisansını, Namık Kemal Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Fizik anabilim dalında 2018 yılında tamamlamıştır. Yüksek lisans eğitimi süresince bir kongreye katılmıştır ve kongre dahilinde bir adet sözlü sunum yapmıştır.

Lisans ve lisansüstü eğitimi sırasında çeşitli sektörlerde çalışmış ve havacılık sektöründe danışmanlık hizmeti vermiştir.