ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SOĞUTUCU ÖZELLİĞİ KAZANDIRILMIŞ DOKU DONDURMA AMAÇLI BİR PATOLOJİ CİHAZI TASARIMI VE GERÇEKLEŞTİRİLMESİ

Yavuz ÜNAL
Selçuk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Elektronik ve Bilgisayar Sistemleri Eğitimi Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Hakan IŞIK
2006, 75 sayfa

Doğru bir teşhis konulmadan tedaviye başlamak ve tedaviyi sürdürmek hastanın yararına olmayacaktır. Teşhisin konulmasında da fizik muayenenin yanında çeşitli laboratuar ve görüntüleme sistemleri ile teşhisin desteklenmesi lazımdır. Laboratuar yöntemler içerisinde patolojinin önemi büyüktür. Asıl ve kesin teşhis ancak patolojik yöntemlerle konulur. Patoloji de teşhisi koyarken makroskopik incelemeler yanı sıra ışık mikroskobik düzeyde de dokunun incelemesini yürütür. Bunun için de dokuların ışık mikroskobu ile incelenebilecek şekilde hazırlanması gerekir. Bu hazırlık aşaması çeşitli evreleri kapsar. İlk olarak doku %10'luk formadehidde tespit edilir, daha sonra ototeknikon ile doku takibi yapılır. Daha sonra dokular parafin bloklara gömülür, mikrotom ile 5 mikron kesilir ve lama alınarak boyanır. Bunun için yaklaşık 24 saatlik bir zamana ihtiyaç vardır.

Bazen hasta ameliyatta iken cerrahi tedaviyi yönlendirmek için çok çabuk teşhise ulaşmak ve bunun sonunda da ameliyat esnasında tedaviyi planlamak gerekir. Ameliyat esnasında teşhis için dakikaların önemi çok büyüktür. Bu amaçlarla da dokunun ışık mikroskobik olarak incelenebilir halde hazırlanması için değişik yöntemlere başvurulur. Dondurularak tespit edilir mikrotom ile hemen kesilerek

boyanır. Bu işlen 20 dakika içerisinde tamamlanabilir. Bu amaçla dokunun dondurularak kesilmesi için criostomlar piyasada mevcuttur. Ancak çok pahalı ve büyük hacimler tuttuğundan kullanışlı değillerdir ve taşınamazlar.

Bu çalışmada döner mikrotom cihazına termoelektrik etki ile çalışan hızlı soğutma özelliği eklenmiştir. Bu özellik sayesinde hem aletin boyutu küçültülmüş, hem de maliyeti düşürülmüştür.

Bu çalışmanın teorik kısmında patoloji, mikrotomlar, cryotomlar ve termoelektrik etki hakkında genel bilgiler verilmiştir. Deneysel kısmında bu çalışmada kullanılan özel devre elemanları hakkında bilgi verilmiş, gerçekleştirilen sistemin çalışması ve performans analizleri açıklanmıştır. Sonuçlar bölümünde ise gerçekleştirilen kontrol sistemi hakkında elde edilen sonuçlar verilmiştir.

Tasarlanan bu cihaz ile cihazın taşınabilir özellik kazanması ve maliyetin düşük olmasından dolayı ülke ekonomisine katkısı olacağı düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Patoloji, Döner Mikrotom, Cyrotom, Termoelektrik etki.

ABSTRACT

MS Thesis

DESING AND REALIZATION OF A IMPROVED PATALOGY EQUIPMENT BY GIVING A FROZEN ABILITY.

Yavuz ÜNAL

Selçuk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Electronic and Computer Systems Education

Supervisor :Assoc. Prof. Hakan IŞIK

2006, 74 pages

Its not for patient's benefition to begin treatment and keep on before exact diagnosis. It is necessary to support the diagnosis with laboratuary and producing image systems as well as physics teratment while determining the diagnosis. Pathalogy has great importance in laboratuary methods. Basic and definite diagnosis can only be determined by pathology. During determinig the diagnosis, pathology also maintains tissue study in light microscopic degree as well as macroscopic study. To achieve this tissues must be prepared for light microscopic study. This preparation grade includes various phases. At the first stage the tissue fixed in formadehid, later there is tissue prosecution with ototeknikon. Later tissues buried in parafin blocks, with microtome, 5 microm are cut and painted by taking microscope slide. For that there must be 24 hours time.

Sometimes patient is in surgical operation, and it is necessary to arrive the immediate diagnosis to guide the treatment and at the end of this ,during operation planning the treatment well. Moments have great importance during operation. And also with these aims, various methods are applied for the preparation for tissue at light microscopic study. Determined with freezing and cut with microtome immediately. That process can be completed in 20 moments. For that aim, cutting

frozen tissue, cryotomes are avaible in area. But still they are so expensive and overspread (bulky, having volume) and they are not useful and portable.

At that study, rotary microtome tool is added fast freezing featured which is working by termoelectricic effect. By the help of that feature, both tool's dimension is diminished and ıts cost is shrinked.

At this study's theoric part, common knowledge are given about patholohy, microtomes, cryotomes and termoelectric effect. At the experimental part, common knowledge are given about special circuit elements which is used at this study, and working systems that are materialized, performance analysis are declared. In conclusions parts, conclusions which are gained about materializing control systemsare given.

This designed equipment is thought to contribute country economy owing to its portable feature and small cost.

Key words : Pathalogy , Rotary Microtome, Cryotome, Termoelectric effect.

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek; gerek konu seçimi gerekse çalışmaların yürütülmesi sırasında ilgi ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Hakan IŞIK'a, yardımlarını esirgemeyen S.Ü Meram Tıp Fakültesi Patoloji Bölümü Öğretim üyesi Prof. Dr. M. Cihat AVUNDUK hocama, Ayrıca çalışmamın uygulama kısmında bana gösterdikleri kolaylıktan dolayı GEÇGEL Mak. Sanayi ve Tic. Ltd. Şti.'ye, mesai arkadaşlarıma ayrıca maddi manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Konya 2006 Yavuz ÜNAL

İÇİNDEKİLER **Sayfa**

ÖZET.....**i**
ABSTRACT……...**iii**
ÖNSÖZ……**v**
İÇİNDEKİLER……..**vi**
ŞEKİLLER LİSTESİ……...…….**ix**
ÇİZELGE LİSTESİ……...……...……**xi**
KISALTMALAR VE SİMGELER……**xii**

1. GİRİŞ…….…….....**1**
1.1. Kaynak Araştırması…….……2
2. MİKROTOMLAR……..……**5**
2.1. Mikrotomun Tanımı ve Gelişimi…….....5
2.2. Mikrotom Çeşitleri…….……..7
2.2.1. El mikrotomu…….……....7
2.2.2. Dondurucu mikrotom……...……8
2.2.3 Testere mikrotom……..9
2.2.4 Rocking mikrotom……...10
2.2.5 Titreşimli mikrotom……11
2.2.6 Kızaklı mikrotom……11
2.2.7 Ultra mikrotom……13
2.2.8 Döner mikrotom……..13
2.3. Döner Mikrotomun Yapısı……..……...14
2.3.1 Düz döndürme kolu (Handwell)……..16
2.3.2 Bıçak tutucu ve bıçak (Knife holder and knife)……..16
2.3.3 Kalınlık ayarlama butonu ve göstergesi (Sectioning)…….17
2.3.4 Örnek tutucu (Orienting the specimen)……...…18
2.3.5 Periyodik kesme ayar butonu (Trimming with the mechanical trimming function)……..19
2.3.6 Pürüzleştirici döndürme kolu (Coarse feed weel…….……...…19

2.4. Mikrotom Bıçakları……..……..……..20
2.4.1 Çelik bıçaklar ve profilleri……..……...…21
2.4.1.1. Profil a: güçlü plano iç bükey/ çift içbükey...…….21
2.4.1.2. Profil b:plano iç bükey..…….…22
2.4.1.3. Profil c:kama şekli……....…….23
2.4.1.4. Profil d:düz şekillenmiş…….....…….23
2.4.2 Cryostatlar için paslanmaz bıçaklar……...…24
2.4.3 Tek kullanımlık bıçaklar.....……..……...…24
2.4.4 Tungten carbide bıçaklar.. ……..……...…24
2.4.5 Cam bıçaklar…….……..……...…25
2.4.6 Elmas bıçaklar……...……..……...…25
2.4.7 Safir bıçaklar…….……..……...…25
2.5. Parafin Metodu…….....……..……..25
2.6. Mikrom ile Kesit Alma…..……..……..27

3. CRYOTOMLAR……..…….**29**
3.1. Cryostat ile Kesit Alma ……...……..29
3.2. Cryostat ile Çalışma……...……..……..31
3.2.1. Dokunun tutturulması …….……..……..31
3.2.2. Kabin ısısı ……..…….32
3.2.3. Kesim ……...…..32

4. TERMOELEKTRİK…….……...……**33**
4.1. Yarıiletkenler……...……..……33
4.1.1. Enerji bandları …...……..…….……34
4.1.2. Değerlik bandı …...……...…….……...36
4.1.3. Elektronlar ve deşikler …...…..…….……...38
4.1.4. n-Tipi yarı iletken …...…….……..……...39
4.1.5. p-Tipi yarı iletken …...……..……..……..39
4.2. Termoelektrik Etkiler……...……..……40
4.2.1. Seebeck etkisi...…….40
4.2.2 Peltier etkisi …….……...……...43

4.2.3. Thomson etkisi …..…46
4.2.4. Joule etkisi ……47
4.2.5. Fourier etkisi ……..……..48

5. MATERYAL ve METOT……..……..…**50**
5.1. Materyal……..……...50
5.1.1. Soğutucu özelliği olmayan döner mikrotom ……...…….……..50
5.1.2. Soğutucu termoelektrik modül.…….……...…….……..51
5.1.3. Sıcaklık kontrol yöntemi ve devresi …...…….....…..……..52
5.2. Metot…….……..……...54
5.2.1. Tasarlanan su çevrim sistemi …….....…..…….…..56
5.2.2. Tasarlanan soğutma plakası ……..……..…….57
5.2.3. Tasarlanan doku tutucu……...……..……..……..60
5.2.4. Tasarlanan doku dondurma yüzeyi……...……..……..61
5.2.5. Kondanser, pompa ve borular…….....…….……...61
5.2.6. Deneyde kullanılan ölçü aleti K/J termometre……..……..62

6. GERÇEKLEŞTİRİLEN SİSTEMİN PERFORMANS ANALİZİ ……..**63**

7. SONUÇ ve ÖNERİLER……..……**69**

8. KAYNAKLAR ……...……..……..……...……**71**

EKLER……..……**72**

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No **Sayfa**

Şekil 2.1. 1920' de spencer lens co., firması tarafından yapılmış olan bir dondurucu mikrotom (Macleay müzesinde)…..……6

Şekil 2.2. 1910'da yapılmış bir döner mikrotom …….....…….....7

Şekil 2.3. El mikrotomu……...……8

Şekil 2.4. Dondurucu mikrotom ……..……...…….....9

Şekil 2.5. Testere mikrotom ……...……...……...9

Şekil 2.6. Rocking Mikrotom…….....……10

Şekil 2.7. Titreşimli mikrotom'dan bir kesit …….……11

Şekil 2.8. Kızaklı mikrotom …….……..12

Şekil 2.9. Ultra mikrotom ……...…….……..13

Şekil 2.10. Döner mikrotom……..……14

Şekil 2.11. Leica marka döner mikrotom ve kısımları…….……..15

Şekil 2.12. Mikrotom düz döndürme kolu ……..…….…...16

Şekil 2.13. Mikrotom bıçak tutucusu ……...……...…….…….……17

Şekil 2.14. Mikrotom kalınlık ayarlama butonu ve göstergesi …….…….……17

Şekil 2.15. Mikrotom örnek tutucusu …….…….……..18

Şekil 2.16. Mikrotom periyodik kesme ayar butonu …..……...19

Şekil 2.17. Mikrotom pürüzleştirici kolu ……..……..…..20

Şekil 2.18. Mikrotom bıçağı …….…….…...21

Şekil 2.19. İçbükey ve çift içbükey mikrotom bıçak profil şekli……...……..22

Şekil 2.20. İçbükey mikrotom bıçak şekli ……22

Şekil 2.21. Kama biçiminde mikrotom bıçak şekli ……...…….....23

Şekil 2.22. Düz biçimde mikrotom bıçak şekli ……..……23

Şekil 2.23. Parafin şeridin uygun boyda kesilip biriktirilmesi …….……27

Şekil 3.1. Cryotom cihazı……...……29

Şekil 4.1. Si kristali içinde P atomu ile safsızlık oluşturulması …….34

Şekil 4.2. Enerji Düzeyleri ……..……...35

Şekil 4.3. Yarıiletkenlerde iletim ……..……..…36
Şekil 4.4. İletken, yarıiletken ve yalıtkanın enerji düzeyleri ……....36
Şekil 4.5. E_g enerji aralığı aşılırsa iletkenlik bandı ve değerlik bandı.……...……37
Şekil 4.6. Elektronların atom yörüngelerine yerleşimi ……...……...39
Şekil 4.7. Seeback etkisinin basit gösterimi……..…….41
Şekil 4.8. Seebeck etkisi ……...…….42
Şekil 4.9. Seebeck geriliminin oluşması……...…….42
Şekil 4.10. Peltier etkisi ……....……...…….44
Şekil 4.11. Peltier etkisinin ortaya çıkması..……....…….45
Şekil 4.12. Yarıiletkenlerde Thomson etkisi…..……...…….47
Şekil 5.1. Peltier etkisinin ortaya çıkması……..52
Şekil 5.2. Elektronik ısı kontrol devresinin şematik gösterimi……...…53
Şekil 5.3. Tasarlanan sistemin teknik resim gösterimi…...……54
Şekil 5.4. Tasarlanan sistemin görüntüsü……...……56
Şekil 5.5. Tasarlanan su çevrim sisteminin şematik gösterimi ……..……57
Şekil 5.6. Tasarlanan soğutma plakası …….....……58
Şekil 5.7. Tasarlanan soğutma plakasının şeması……...……59
Şekil 5.8. Tasarlanan doku tutucunun şematik gösterimi ……...……...……60
Şekil 5.9. Tasarlanan doku tutucu……...……...……61
Şekil 6.1. Doku dondurma yüzeyindeki dokunun deney eğrileri …….....…65
Şekil 6.2. Doku tutucuya yerleştirilen doku parçası deney eğrileri.....…...……66
Şekil 6.3. Doku dondurma yüzeyine yerleştirilen doku parçası……...…...….....…67
Şekil 6.4. Mikrotom bıçak yüzeyinin deney eğrileri.....…...……67
Şekil 6.5. Doku tutucu kısıma yerleştirilen kesilmeye hazır doku.....…...……68

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No **Sayfa**

Çizelge 4.1: Bazı iletken, yarıiletken ve yalıtkanlara ait özdirenç değerleri……...33
Çizelge 5.1: Deneyde kullanılan mikrotomun teknik özellikleri…….……...51
Çizelge 5.2: K/J Termometre teknik özellikleri ……...……..62
Çizelge 6.1: Deney sırasında alınan veriler ……...……...……..64

KISALTMALAR VE SİMGELER

Kısaltmalar:

CNC	: (Computer numerical control) bilgisayarlı sayısal denetim.
OCT	: Miles Scientific Firması tarafından yapılmış donma işlemini hızlandıran bir çeşit sıvı.

Simgeler:

V	: Devrede oluşan elektriksel gerilim (Volt)
I	: Akım (Amper)
R	: Direnç (ohm)
ΔT	: Sıcaklık farkı (^oC),
α	: Seebeck katsayısı veya termo emk ($V/^oC$),
Q_P	:Birim zamanda transfer edilen ısı miktarı (Watt)
π	: Peltier sabiti (Volt)
Q_T	: Thomson ısısı (W)
ι	: Thomson katsayısı ($V/^oC$)
Q_J	: Açığa çıkan ısı miktarı (W)
Q_F	:Yüksek sıcak bölgesinden düşük sıcak bölgesine doğru giden ısı miktarı (W)
A	: Malzemenin toplam alanı (m^2)
λ	: Malzemenin iletkenlik katsayısı ($W/m\ ^oC$)
d	: Malzemenin kalınlığı (m)
ρ	: Malzemenin elektriksel iletkenliği (cm)
Q	: Birim zamandaki ısı kazancı (Watt)

1. GİRİŞ

Patoloji terimi latince kökenli pathos (hastalık, sayrılık) ve logos (bilim) sözcüklerinden oluşur. Tıbbın ana dallarından biridir. Çeşitli hastalıklara bağlı olarak, insan bedenini meydana getiren doku ve organlarda görülen, işlevsel ve yapısal değişiklileri inceler. Bu nedenle kısaca hastalık bilimi (sayrılık bilim) olarak tanımlanabilir (Canda 1986).

Hastalıkların belirlenebilmesi için kimi zaman organizmalardan doku alınmalıdır.

Organizmalardan alınan doku ve organ parçalarının mikroskopla görülebilecek duruma getirilmesi için tabi tutulduğu işlemlerin tümü histolojik teknik başlığı altında toplanır.

Histolojik tekniklerdeki esas amaç, organizmayı oluşturan hücre, doku ve organların normale en yakın şekilde ve uygun bir biçimde mikroskopta gözlenmesi ya da gözlenebilir duruma getirilmesidir (Soylu ve Sezen 1996).

Dokunun mikroskopta gözlenebilir duruma getirilmesinde kullanılan cihazlardan biri de mikrotomdur.

Parafin bloklardan kesit almak için mikrotom adı verilen cihazlar kullanılır. Parafin blok içindeki doku parçaları mikrotomlarla birkaç mikron enine ya da boyuna dilimlere ayrılırlar (Soylu ve Sezen1996).

1.1. Kaynak Araştırması

1. Akay, M.T., "Genel Histoloji Hücre ve Dokular", Palme Yayın Dağıtım, İstanbul, (2000).

Kitapta, ana histoloji konuları ile birlikte deneysel ve klinik biyopsi materyallerine ait bilgiler yer almaktadır.

2. Bancroft, John. D., "The Theory and Practice of Histological Techniques", Churchill Livingstone, London, (1977).

Bu kitapta histolojik tekniklerin teorik ve pratik kısımları anlatılmıştır. Mikrotomi üzerinde durulmuş, bu kısımda mikrotom çeşitleri görevleri ve kullanım alanları, mikrotom bıçakları, cryotom ve çeşitleri gibi konular detayları ile ele alınmıştır.

3. Canda, M.Ş., "Patolojiye Giriş", Hatipoğlu Yayınevi, İstanbul, 1986.

Bu çalışmada patolojiye giriş yapılmış, patolojinin tanımı, yangı ve yaralar, etyoloji, patogenez gibi konulur yüzeysel anlatılmıştır.

4. Culling, C.F.A., Allison, R.T., Barr, W.T., "Cellular Pathology Technique", Butterworths & Co. L.t.d., London, 1985.

Bu çalışmada hücresel patoloji teknikleri derinlemesine anlatılmış. Mikrotomlar, cryotomlar, bunların çalışma prensipleri, parafinle ve parafinsiz kesit alma yöntemleri detaylarıyla işlenmiştir.

5.Ellis, R.C., "Laboratory Histopathology: A Complete Reference", Churchill Livingstone, London, 1994.

Bu çalışmasında yazar, miktotom nedir?, Ne amaçla kullanılır?, mikroromun parçaları nelerdir?, günümüzde histoloji alanında kullanılan miktotom çeşitleri, endüstride kullanılan mikrotomlar konuları üzerinde durmuştur.

6. Erbengi, T., "Histoloji Atlası**",** Beta Basım Yayın Dağıtım, İstanbul, 1994

Atlasta, genel boyama teknikleri yanında Mason, çeşitli gümüşleme teknikleri, metakromasi, yağ, glikojen, mukus ve çeşitli kristal boyama metotları, fluoresan teknikleri ayrıntıları ile anlatılmıştır. Böylece makroskopik anatomi sınırlarından başlayıp, hücre içi yapı ve işlevleri göstermek olanağı sağlanmıştır.

7. Holland, J., "Cutting It Fine- Microtomes from the Collection", Antiques in New South Wales, Sydney, 2001.

Mikrotomların ilk icadından günümüze kadar olan gelişimlerini tarihsel olarak incelemiştir.

8. Ozban, N., "Mikropreparasyon Yöntemleri", İstanbul Üniversitesi, 1994.

Bu çalışmada, temel biyolojik yöntemler ve bunların biyolojideki kullanım alanları hakkında bilgiler yer almaktadır. Ayrıca zooloji ve tıp alanlarındaki temel yöntemlerin hem normal hem de patolojik dokulara uygulanabilmesi bakımından, laboratuar çalışması için gerekli olan temel ve pratik bilgiler üzerinde durulmuştur. Özel mikroskopi yöntemleri, Preparat yapma yöntemleri, Fiksasyon yöntemi, Parafin kesitlerin hazırlanması gibi yöntemler üzerinde durulmuştur.

9. Soylu, R., "Histoloji Laboratuvarı Özel Histoloji Mikroskopi Çalışmaları Uygulama Kılavuzu", Selçuk Üniversitesi, Konya, 1996.

Bu kitapta, bir doku preparatını incelemeye başlamadan önce histolojik preparatların hazırlanma süreçleri, kullanılan fiksatif solüsyonlar, histolojik teknikler, hücre, doku konuları incelenmiş ayrıca kitabın ilerleyen kısımlarında öğrenciler için örnek deneyler gerçekleştirilmiştir.

10. Boylestad Robert, Louis Nashelsky "Elektronik Elemanlar ve Devre Teorisi" Milli Eğitim Basımevi İstanbul 2000

Bu kaynakta 1.ve 2. bölümde İki uçlu Yarıiletken Diyotların İmalı, 3.bölümde zener diyotlar, 4.bölümde BJT transistor ler 5.bölümde BJT transistor ün dc ön

gerilimlemesi, 6. ve 7. bölümlerde FET devreleri, 8. ve 9. bölümlerde BJT transistor ün ac eşdeğer modelinin geliştirilmesi, 10. ve 11.bölümde FET in ac küçük-sinyal çözümlemesi, 12.bölümde birkaç temel güç yükseltgeci devrelerindeki güç transistor ünün çalışması anlatılmaktadır.

2. MİKROTOMLAR

2.1. Mikrotomun Tanımı ve Gelişimi

Mikrotomlar mikroskop altında incelemek için dokulardan çok ince dilimler kesmeye yarayan cihazlardır. Mikrotomlar genellikle hassas mekanizma parçalarıdır. İlginç tarihleri vardır. Teknoloji ve biyoloji arasında bir köprü sağlarlar.

Birleşik mikroskoplar ilk defa 17. yüzyılda geliştirilmişlerdir. Mikroskopiye ayrılmış ilk kitap Robert Hooke' un micrograpia 1665 yılında Londra'da basıldı. Çok keskin bir bıçakla Hooke şişe mantarından çok ince dilimler kesti ve hücreler olarak adlandırdığı porous yapısını inceledi. Diğer araştırmacılar, 17.yüzyılın sonunda ve 18.yüzyılın başında mikroskobik inceleme için bölümler hazırlamalarına rağmen bunlar çok daha az detaylıydı.

Hooke' un kitabından bir yüzyıl kadar sonra mikroskoplar için örneklerin sistematik kesilmesi için ilk mikrotomlar geliştirildi. Ağaç tomruklarının yapısıyla ilgilenen John HILL, karabiber çekeceğine benzer döner şaft üzerine yerleştirilen bir bıçak aracılığıyla, odun üstünden parça kesmek için bir cihaz tasarlandı. 1770'de Hill, Jesse Ramsden, tarafından üretilen bu cihazın açıklamasını yayınladı. Birçok örnekler bunu takip etti. Diğer mikrotom tasarımları daha sonraki on yıllarda geliştirildi. Fakat kullanımları 19. yüzyılın ikinci yarısına kadar pek yaygınlaşmadı.



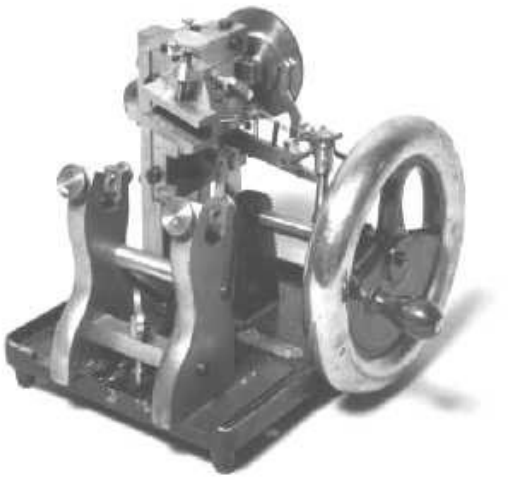
Şekil 2.1. 1920’ de spencer lens co., firması tarafından yapılmış olan bir dondurucu mikrotom (Macleay müzesinde)

Üniversitelerin ve devlet araştırma laboratuarlarının gelişmesi ve bunlara ilaveten mikroskopların optik kalitelerinin iyileşmesi, 19. yüzyılda mikroskoplar için genişleyen bir pazar oluşturdu. Üretim yüzyılın sonuna doğru korkunç bir şekilde arttı ve mikrotomlar benzer bir şekilde tasarlandı ve üretildi.

En basit elle tutulan mikrotom Fransız firması Nachet tarafından 1890’ da yapıldı. Cihazın haznesindeki örnek, elle tutulan jiletin, düzlemin üzerinden itilmesiyle kesilirdi. Daha sonra örnek, yeni dilim için altta yer alan bir düğmenin çevrilmesiyle yükseltilirdi. Daha iyi bir mikrotom modelinde ise, cihaz masanın kenarına sabitlenebilirdi ve kesilecek parçanın dondurulması için karbondioksit sağlayacak bir uca sahiptir.

Daha büyük mikrotomlar sabitlenmiş çeşitte bıçaklar kullandılar. Tasarıma bağlı olarak bıçak ya örnek üzerinden kaydırılırdı ya da bıçak sabitlenip örnek kaydırılırdı.

Günümüzde mikrotomlar çok gelişti, dünyada birçok biyomedikal firması çok çeşitli model ve tipte miktorom üretmektedir. Bunlar elle kontrol edilebildiği gibi, otomatik olarak kontrol edilen modelleri de mevcuttur (Holland 2001).



Şekil 2.2. 1910'da yapılmış bir döner mikrotom

2.2. Mikrotom Çeşitleri

Mikrotom çeşitleri uygulamadaki ihtiyaçlara göre üretilmişlerdir.

2.2.1. El mikrotomu

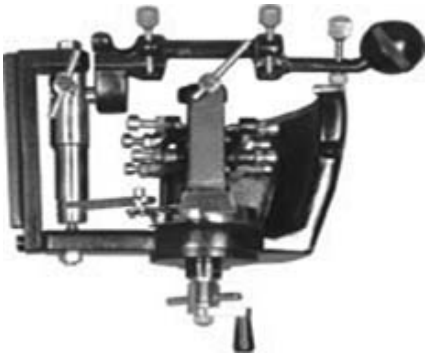
En Basit ve ilkel mikrotom tipidir (Ozban 1994). Kullanımı kolay ve basittir. Genellikle öğrencilerin kullanımına uygundur. Taşıması, temizlemesi ve bakımı kolaydır. El mikrotomunun başarıyla kullanıldığı alanlar kısıtlıdır. Küçük materyallerden kesitler almak için kullanılırlar. Asıl kullanım alanları sert botanik cisimlerden kesitler almada kullanılırlar (Ellis 1994). Hayvansal dokulardan ince kesit almak bile oldukça zordur. Seri kesit alamazlar. Ayrıca maliyeti düşüktür (Erbengi 1994).



Şekil 2.3. El mikrotomu

2.2.2. Dondurucu mikrotom

Daha çok kliniklerde çabuk sonuç bekleyen teşhisler için, dokudan alınan parçaların fiske edilmeden dondurularak kesilmesini sağlar. Laboratuarlarda yağ enzim gibi bazı inklüzyonlarını korumada elverişlidir (Ozban 1994). Ayrıca endüstride kullanılan yarı ince ürünlerden bazı tekstil, kâğıt, deri, yumuşak plastik, macun ve besin ürünlerinden kesitler almada da kullanılır. Dondurucu mikrotomun üzerinde dokuları hızla dondurabilen sıvı karbondioksit ekipmanı bulunmaktadır. Bazı soğutma sistemlerinde sadece bıçağın soğutulmasına olanak tanıyan modelleri de vardır. Döner mikrotomdan farklı olarak bu mikrotomda doku bloğu sabit olup, bıçak hareketlidir (Ellis 1994). Bu mikrotom ile kesitler 15–30 µm kalınlığında ve tek tek alınır. Bu mikrotom ile seri kesit alınamaz (Ozban 1994).



Şekil 2.4. Dondurucu mikrotom

2.2.3. Testere mikrotom

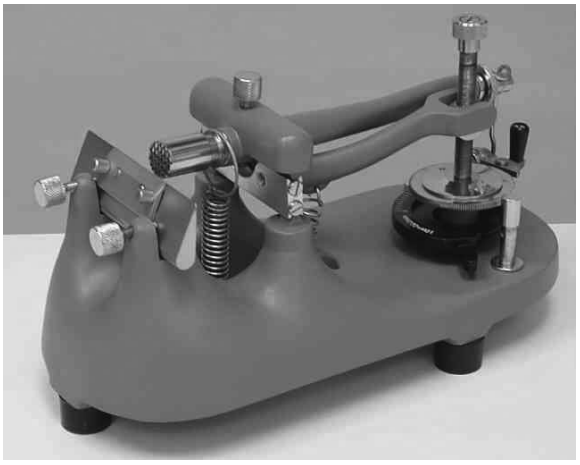
Testere mikrotomu kireçlenmiş kemik, cam veya seramik gibi çok sert materyallerden kesit almada kullanılır. Kestiği doku örmekleri genellikle reçine içine gömülüdür. Doku örnekleri, yaklaşık 600 rpm hızında dönen elmas kaplama testereye aşırı yavaş şekilde yaklaşır. 20 µm ve daha büyük kesitlerde testere bıçaklar en iyi sonucu alır. Çok ince kesitler almak mümkün değildir (Ellis 1994).



Şekil 2.5. Testere mikrotom

2.2.4. Rocking mikrotom

Bu cihaz mikrotomlar içinde en eski tasarlanmış olanıdır, ucuz ve kullanımı kolaydır. 20.yüzyılın başında çok miktarda bu mikrotomdan üretilmiştir. 3 hareketli parçadan oluşan bu mikrotom oldukça güveniliridir. Sadece parafin bloklardan doku kesmek amacıyla tasarlanan bu mikrotomda kesilecek blok bıçağa doğru bir kavis çizerek hareket eder (dışbükey bıçak kullanılır). Çizmiş olduğu bu kavis yüzünden kestiği kesitler de düz olmayabilir. Bu kesitlerin düz olmaması bu mikrotom için bir dezavantaj oluşturur. Bu dezavantajı gidermek için yani tam düz kesitler elde etmek için, kesilecek blok bıçağa doğru açı ile hareket ettirilirse bu dezavantaj ortadan kaldırılabilir. Bir diğer önemli dezavantaj ise kesit alınacak blokların genişliği sınırlıdır. Çok ince kesitler elde etmek zordur. Bu mikrotomlar çoğunlukla cryostatların içinde döner mikrotomların yerine kullanılmaya başlamışlardır. Şu an asıl kullanım alanları botanik uygulamalarıdır ve kesit kalınlığı 5 µm dir (Ellis 1994).



Şekil 2.6. Rocking Mikrotom

2.2.5. Titreşimli mikrotom

Titreşimli mikrotom hayvansal ya da bitkisel kaynaklardan taze, yüksek kalitede doku kesitleri elde etmek amacıyla el mikrotomunun yerine üretilmiştir. Bu cihazın ismi, çok yüksek hızda titreşen bıçaklardan ve kesme gücünden gelmektedir. Bıçak üzerindeki titreşimler, cihaza uygulanan elektrik voltajının azaltılıp artırılması ile değiştirilebilir. Kesit alınacak materyalin sertliğine göre titreşim istenen dereceye ayarlanabilir. Yumuşak materyallerden kesitler alınırken yırtılma meydana gelmemesi için ve bıçaklarda ısı oluşumunun önlenmesine yardımcı olması için, çalıştırılmadan önce bir sıvıya batırılır (Ellis 1994).



Şekil 2.7. Titreşimli mikrotom'dan bir kesit

2.2.6. Kızaklı mikrotom

Bu mikrotomlar parafin ve reçine içine gömülü büyük doku bloklarından (organlar gibi) ışık mikroskop için kesitler almaya yarayan cihazlardır (Ellis 1994). Kızaklı mikrotomların kullanımı ikinci dünya savaşından sonra çok popüler hale gelmiştir. Kesilecek doku bloklarının genişliğinin sınırı oldukça yüksektir (Culling ve arkadaşları 1985).

Çelik taşıyıcıya monte edilmiş doku tutucu, yatay sabitlenmiş bıçağa doğru ileri ve geri yönde hareket eder. Bu mikrotom çok ağırdır. Bu yüzden sabittir ve titreşime maruz kalmaz. Bıçakları oldukça büyüktür (24 cm genişliğinde) ve bıçakları genellikle keskin uçludur. Bu cihazın titreşimi yok denecek kadar az olduğundan dolayı bıçakları bilenmeye fazla ihtiyaç duymazlar. Bıçak tutucu mengenesi ayarlanabilirdir bu sayede bıçak istenilen eğimde sabitlenebilir.

Bu mikrotom, döner ve rocking mikrotoma göre yavaş olduğu konusunda sıkça eleştirilir. Bu sadece kızaklı mikrotom üzerinde bir değişiklik yapıldığında doğrudur. Normalde parafin bloklardan kesit alma işlemi diğer mikrotomlardaki işlemler kadar hızlıdır (Culling ve arkadaşları 1985).

Ayarlanabilir bıçak tutucusu sayesinde, bıçağın eğiminin ayarlanması suretiyle selonoidin kesitleri alınmasında da kullanılır. Bazı laboratuarlarda bıçak sürekli aynı pozisyonda bırakılır. Çünkü parafine gömülmüş mum kesitler bu şekilde daha kolay kesilebilir.

Bu mikrotomla genellikle endüstride kullanılan çeşitli maddelerin (ağaç, plastik, tekstil lifi) kesiminde de kullanılabilir (Ellis 1994).



Şekil 2.8. Kızaklı mikrotom

2.2.7. Ultra Mikrotom

Ultramikrotom ışık ve elektron mikroskobunda incelenebilecek doku kesitleri hazırlamada kullanılırlar. Dokunun çok küçük örneklerini veya sert reçineye gömülmüş endüstriyel ürünleri incelemeye hazır hale getirebilir. 10 nanometreye kadar küçük kesitleri aldığı tespit edilmiştir.

Bu mikrotom türünün geliştirilen iki farklı modeli vardır. Bazı modellerinde çift mikroişlemci ile adım motorlar kontrol edilmektedir.

Kesme hareketi motor ile kontrol edildiği için kesitler düzenli, düz ve istenilen kalınlıkta hassas olarak elde edilebilirler. Bıçakları genellikle cami elmas veya safirdir. Bu mikrotomlar diğerlerine nazaran oldukça pahalıdır (Ellis 1994). Bu mikrotomlar çok duyarlı ve çok pahalı oluşları nedeni ile çok özenle kullanılmalı, kullanılmadığı zamanlarda örtülerek tozdan korunmalıdır (Ozban 1994).

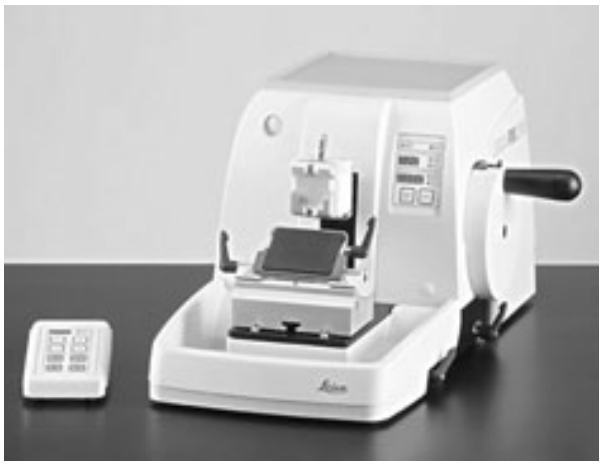


Şekil 2.9. Ultra mikrotom

2.2.8. Döner mikrotom

Döner mikrotomun genel amacı ışık mikroskopları için yarı ince kesitler almaktır. Parafin kesitleri için en çok kullanılan mikrotom türüdür (Ozban 1994). Döner mikrotom denmesinin sebebi, yan tarafta bulunan ve el yardımıyla çevrilen bir kola sahip olmasıdır. Döner mikrotomu ilk tasarlayan kişi Profesör Minot'tur. Bu

yüzden bu cihaza Minot Rotary Mikrotomu da denir. Bu mikrotom geniş bloklardan kesitler almaya elverişlidir (Culling ve arkadaşları 1985). Her geçişte parafin bloğu taşıyan destek, elle çevrilerek hareket ettirilen dikey bir manivela yardımı ile bıçak hizasında milimetrenin istenilen belli bir aralığı kadar ilerler. Günümüz döner mikrotomlarının motorla kontrol edilen modelleri de mevcuttur. Bu mikrotomlar la 1 μm la 25 μm kalınlığa kadar enine ya da boyuna kesitler alınabilir. Döner mikrotomun bir başka özelliği de parçanın tümünden seri kesit alabilme kolaylığı sağlamasıdır. Bu şu demektir; kesit alındıkça kesitler sıra ile bir şerit oluşturur ve böylece parça baştan sona kadar tümü ile lam üzerine aktarılabilir (Ozban 1994). Bu mikrotomlar çoğunlukla cryostatlar içerisinde kullanılırlar (Ellis 1994).



Şekil 2.10. Döner mikrotom

2.3. Döner Mikrotomun Yapısı

Modern mikrotomlar ince kesitleri düzgün bir şekilde kesme amacıyla tasarlanmış hassas cihazlardır. Işık mikroskopları için x1, 800 ‘e kadar ulaşan büyütmelerde kesitin inceliği 1 ile 10 mikron arasında değişebilir(İnce kesit).

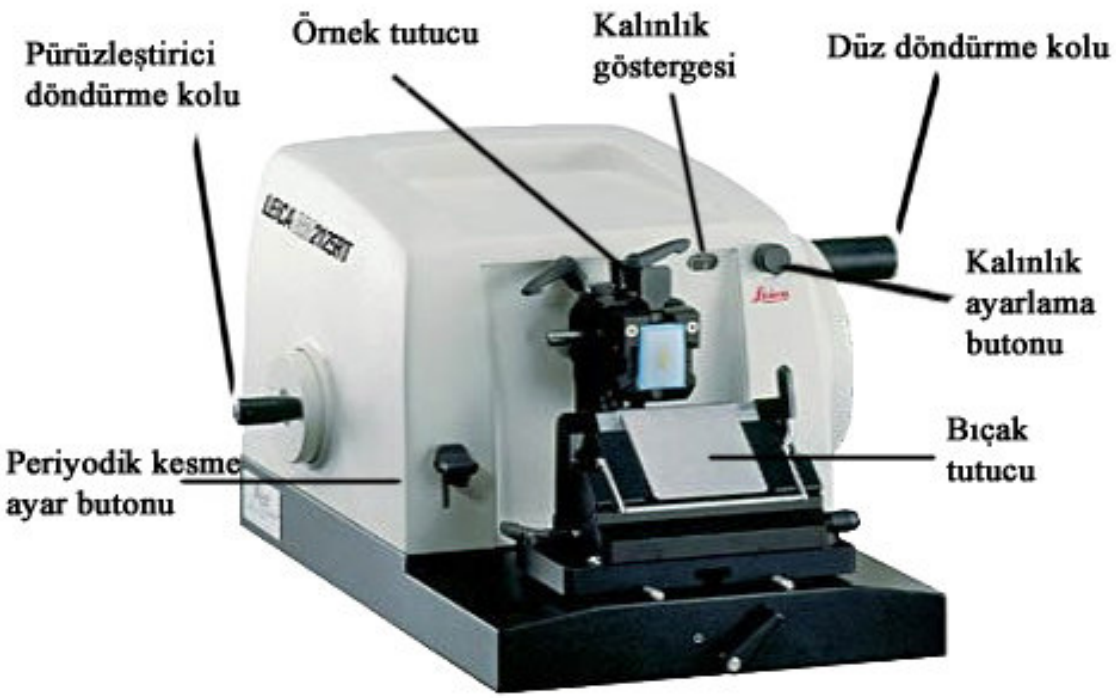
Elektron mikroskopları için , (ki bunlarda büyütme yüz binlerce defa olabilir.) kesitin inceliği 10 nanometre civarında olabilir (çok ince kesitler).

Birçok mikrotomda, bıçaklar sabitlenmiş bir şekilde dururken materyal, taşıyıcının bıçağa doğru ilerlemesiyle bir kesit alınır. Kesme hareketi yatay ya da dikey düzlemde olabildiği gibi, ilerleme mekanizması her kesmeden sonra hareket eder. Bu hareket uzaklığı mikrotom gövdesinde önceden seçilir. İnce kesitler için 0,5 ile 50 mikron arasında, çok ince kesitler için 60 nanometre ile 50 nanometre arasında değişir.

Bir mirotom üç ana kısımdan oluşur. Bunlar;

- Taban (Mikrotom Gövdesi)
- Bıçak tutucu ve bıçak
- Materyal veya doku tutucu

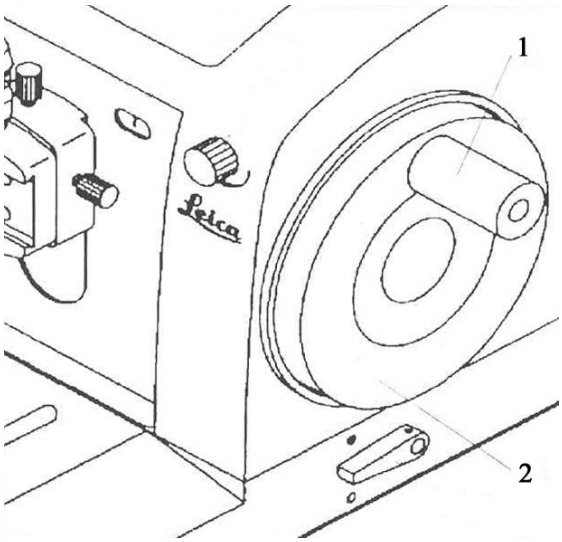
Şimdi bunları teker teker inceleyelim (Ozban 1994).



Şekil 2.11. Leica marka döner mikrotom ve kısımları.

2.3.1. Düz döndürme kolu (Handwell)

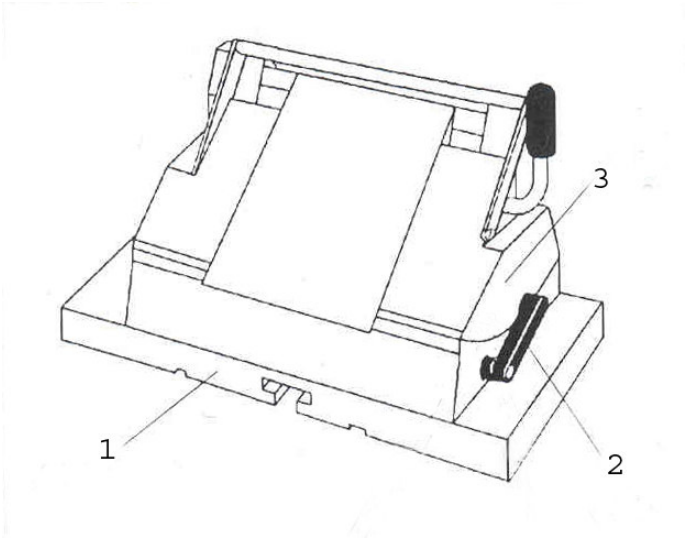
Bu kol mikrotomun sağ kısmında bulunan ve elle döndürülen koldur. Örnek tutucunun bulunduğu kısmı dikey olarak yukarı aşağı hareket ettirmeye yarar. Bu hareketten dolayı parafin madde ve içerisindeki doku mikrotom jiletine temas ederek kesme sağlanmış olur. Ayrıca bu kol üzerinde, her hangi bir kazaya sebebiyet vermemek için bir kilit sistemi bulunmaktadır (Instruction Manuel V 2.0 of Leica RM model 2125 2003).



Şekil 2.12. Mikrotom düz döndürme kolu

2.3.2 Bıçak tutucu ve bıçak (Knife holder and knife)

Bıçak tutucu, mikrotom bıçağının konulduğu ve mikrotom gövdesi ile bıçağın birbirine bağlandığı kısımdır. Bıçak tutucu sadece mikrotoma göre kuzey – güney yönünde hareket eder. Küçük manivela kolu vasıtasıyla mikrotom gövdesine tutturulur.

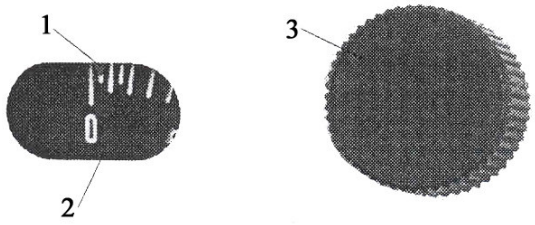


Şekil 2.13. Mikrotom bıçak tutucusu

Şekilde 1 ile gösterilen kısım bıçak tutucu tabanı. 2 nolu kısım küçük manivela kolu. 3 nolu kısım bıçak tutucunun gövdesidir (Instruction Manuel V 2.0 of Leica RM 2125 2003).

2.3.3. Kalınlık ayarlama butonu ve göstergesi (Sectioning)

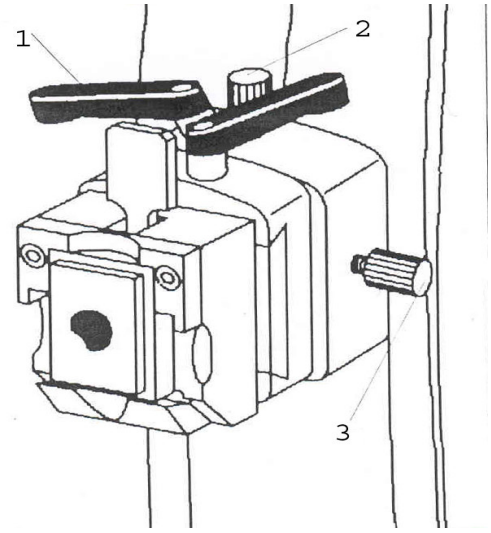
Döner mikrotomlar üzerinde bulunan bu buton yardımıyla, parafin bloğu içinde bulunan örnekten ne kadar kalınlıkta kesit alacağımız seçilir (3 ile gösterilen şekil). Aynı zamanda yan tarafta bulunan gösterge yardımıyla kalınlığı ayarlayabiliriz (1 ve 2 ile gösterilen şekil) (Instruction Manuel V 2.0 of Leica RM 2125 2003).



Şekil 2.14. Mikrotom kalınlık ayarlama butonu ve göstergesi

2.3.4. Örnek tutucu (Orienting the specimen)

Parafin blok içerisinde yer alan doku örneğinin kesilmesi için mikrotoma yerleştirildiği kısma örnek tutucu adı verilir.



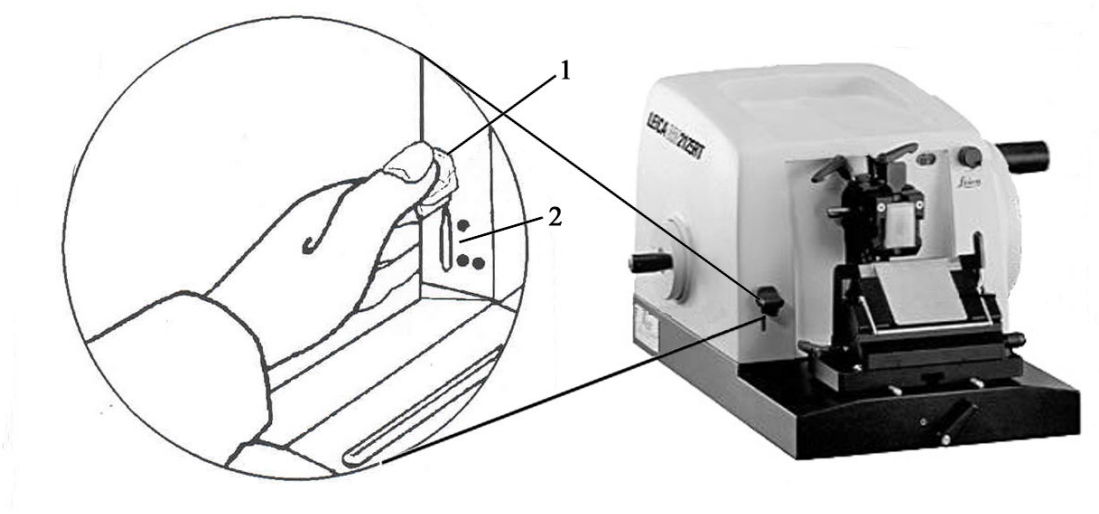
Şekil 2.15. Mikrotom örnek tutucusu

Bu örnek tutucu üzerinde parafin bloğun kayıp düşmemesi için sıkıştırma mandalı da bulunmaktadır. Örnek tutucu 2 ve 3 numarayla gösterilen mandallar sayesinde mikrotom gövdesine tutturulmuştur. Örnek tutucu sökülebilir olup, temizlenmek için bu mandalların gevşetilmesiyle yerinden sökülebilmektedir (Instruction Manuel V 2.0 of Leica RM 2125, 2003).

2.3.5. Periyodik kesme ayar butonu (Trimming with the mechanical trimming function)

Bu buton sayesinde örneklerden sabit kesitler alınabilir. Butonun üç ayar kısmı vardır. Bunlar 0µm, 10µm, 50µm'dır (Instruction Manuel V 2.0 of Leica RM 2125, 2003).

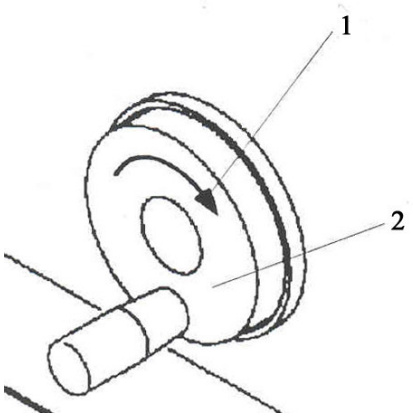
- = 10 µm
- •• = 50 µm'yi temsil eder.



Şekil 2.16. Mikrotom periyodik kesme ayar butonu

2.3.6. Pürüzleştirici döndürme kolu (Coarse feed weel)

Bu kol kesilecek olan örneğin yatayda bıçağa doğru ileri ve geri hareketini sağlar. Kol okla gösterilen yönde yani saat yönünde ve ters istikamette de dönebilir. Örnek Ok yönünde döndürüldüğünde bıçağa doğru yatay pozisyonda yaklaşır. Örnek, yatayda bıçağa doğru ilerlerken son noktaya yaklaştığında kolun dönmesi zorlaşır. Gidebileceği son noktaya vardığında ise pürüzleştirici döndürme kolunun hareketi tamamen durur. Düz döndürme kolunda olduğu gibi bu kol sisteminde de döndürmeyi engelleyen kilit sistemi mevcuttur (Instruction Manuel V 2.0 of Leica RM 2125, 2003) .



Şekil 2.17. Mikrotom pürüzleştirici kolu

2.4. Mikrotom Bıçakları

İyi kesitlerin alınmasında mikrotom bıçaklarının önemi büyüktür. Mikrotomi keskin bıçakla başlar ve biter. İdeal olarak her çalışanın bir kişisel bıçağa sahip olması gerekir ve bunları dikkatle korumalıdır. Atılabilir bıçakların ortaya çıkması iyi kalitede ince kesitlerin üretimine olanak sağlamıştır. Fakat daha sert dokuların bölümlenmesinde alınan sonuçlar tatmin edici değildir (Özellikle kemik). Mikrotomistlere bu tip dokular en zor gelen işler olduğundan keskin bir bıçak ve onun bakımının gereği daha iyi anlaşılmaktadır.

Parafin balmumuna batırılmış dokuları bölümlemek için kullanılan mikrotom bıçakları çelikten yapılma olanlardır. Reçineye batırılmış dokular normal olarak cam bıçaklar kullanılarak kesilir. Çeliğin kalitesi ve sertliği bıçağın iki ucunun kalitesini ve bıçağın ömrünü etkiler. Vicker'in ölçeğine göre sertliği garantilenen bıçaklar almak her zaman iyidir. Vicker'in sertlik testi VHN, kırılgan maddelerdeki plastik akışı üretmek için gerekli olan gerginliği ölçer. Bu metot belli bir yük altında elmas bir noktayı bir yüzeye ittirmeyi öngörür. VHN test edilen materyalin yüzeyinde meydana gelen elmastan kaynaklı izi, büyüklüğü referans gösterilerek ölçülür. Dikdörtgen izin köşegeninin uzunluğu (d) belli bir standart yükleme (p) için sertlik katsayısını saptar. Bunu yapmak için aşağıdaki formül kullanılır (Culling ve arkadaşları 1985).

VHN= $\frac{1{,}72p}{d^2}$ ‘dir.



Şekil 2.18. Mikrotom bıçağı

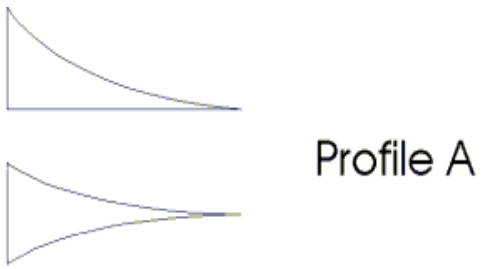
2.4.1 Çelik bıçaklar ve profilleri

Çelik bıçaklar yüksek kaliteli karbondan yapılmışlardır. Kenarları çabuk ısınır. Bu bıçaklar kirden uzak tutulmalıdır. Anti pas içerirler. En iyi çelik bıçaklar çok sert olanlarıdır. Bu bıçaklar yüzeyleri çok sert cisimlere dokundurulduklarında keskinliklerini kaybedebilirler. Fakat tekrardan keskinleştirilebilirler.

Sertleştirilmiş çelikten yapılma mikrotom bıçakları çeşitli materyalleri kesmek için 4 farklı profilde yapılmıştır (Ellis 1994).

2.4.1.1. Profil a: güçlü plano içbükey/ çift içbükey

Plano içbükey bıçağın bir yüzü doğru iken diğer yüzü çukurlu zeminden oluşmuştur. Çift içbükey bıçağı, çift çukur zemin yüzeye sahiptir. İki bıçakta oldukça keskindir ve selonoide gömülü materyaller ya da köpük bileşimleri gibi yumuşak maddeleri kesmek için kullanılır. Bu bıçaklar sert cisimlerde kullanıldıklarında gürültü ve titreşime sebep olduklarından dolayı kullanıma uygun değildir. Kesit alırken en iyi sonuçları elde etmek için bıçak daima objeye dolaylı olarak uygulanmalıdır (Ellis 1994).



Şekil 2.19. İç bükey ve çift iç bükey mikrotom bıçak profil şekli

2.4.1.2. Profil b: plano içbükey

Bu bıçak profil A' da ki bıçağa çok benzer fakat sırt kısmı daha kalındır. Profil A' da belirtilen bıçağın sert cisimleri kesememesi gibi olumsuz yönler bu bıçakta görülmez. Fakat aynı zamanda parafin muma gömülü materyali de kesebilir. Bu bıçak profili aynı zamanda taze botanik tür bileşimleri gibi yumuşak cisimleri de (sap ve yaprak gibi) kesebilir. Bu bıçak diğer profilde olduğu gibi materyale dolaylı yoldan uygulanmalıdır (Ellis 1994).



Şekil 2.20. İçbükey mikrotom bıçak şekli

2.4.1.3. Profil c: kama şekli

Kama şeklindeki bıçak profil A ve profil B deki bıçaklara oranla daha serttir. Bu yüzden daha sert maddeleri kesmede kullanılabilir. Kama şeklindeki bıçakların kalınlığı fazla olduğundan dolayı profil A ve profil B deki gibi keskin olamazlar. Genel olarak daha çok parafin mum içine gömülü materyalleri, donmuş kesitleri, cryostat bölümlemelerini ve küçük sentetik reçineye gömülü materyalleri kesmede kullanılır. Bu bıçaklar aynı zamanda yumuşak plastikleri, kauçuk, odun veya tahta ve bazı tekstil kumaşlarını kesmede de kullanılır. Bu bıçak stili ile kesme işlemi objeye enine olarak yapılır (Ellis 1994) .



2.21. Kama biçiminde mikrotom bıçak şekli

2.4.1.4. Profil d: düz şekillenmiş

Bu bıçak sert ve sıkı materyalleri keser. Çünkü diğer bıçak profillerine nazaran daha müthiş bir sabitliğe sahiptir (Ellis 1994).



Şekil 2.22. Düz biçimde mikrotom bıçak şekli

2.4.2. Cryostatlar için paslanmaz bıçaklar

Çok sert olarak üretilirler. Lekesiz çelikten imal edilmişlerdir. %12 ile %15 arasında krom içerirler.

2.4.3. Tek kullanımlık bıçaklar

Atılabilir bıçaklar tek kullanımlık bıçaklar olarak ya da kullan at bıçaklar olara da adlandırılırlar. Bu bıçaklar mikroplardan arındırılmıştır. Ustura bıçaklarından daha kalındırlar. Özel olarak ayarlanmış bıçak tutucular ile kullanıldıklarında yüksek kalitede kesitler üretebilirler ve giderek normal mikrotom bıçaklarının yerini almaya başlamışlardır.

Tek kullanımlık bıçaklar yüksek kaliteli paslanmaz çelikten imal edilirler. Kalınlıları farklı olan çeşitli dereceli bıçaklar vardır. Tek kullanımlık bıçakların köşeleri platinyum ya da kromla kaplanabilir. Bu bıçakların gücünü arttırır ve daha uzun süre kullanılabilmelerine olanak tanır. Teflon kaplı bıçaklar, sürtünme ve kesme direncini düşürdüğü için cryostat ile kullanıma uygundur. Daha küçük ve daha kalın tek kullanımlık bıçaklar normal bıçaklara göre sıcaklık ayarlamaları sırasında daha iyi performans gösterirler.

Tek kullanımlık bıçaklar kesit alma sırasında meydana gelen titreşimden korumak için özel bir kapta tutulmalıdırlar (Ellis 1994).

2.4.4. Tungsten carbide bıçaklar

Yüksek kalitede Tungsten Carbide denen maddeden yapılmış olan bu bıçaklar paslanmazlar. Manyetik elektrikten etkilenmezler ve çelik bıçaktan yüz kat daha serttir. Bıçaklar eskimeye karşı mükemmel derecede dirence sahiptirler. Keskinleştirildikten sonra methacrylate maddesine gömülü kireçli kemikten otuz binden fazla kesit alabilir (Ellis 1994).

2.4.5. Cam bıçaklar

Parafin veya reçine içine gömülü zor materyallerden kesitler almada kullanılırlar. Üretimleri kolaydır. Bu bıçakların döner mikrotomda kullanılabilmeleri için özel yapılmış cam bıçak tutucuları mevcuttur. Cam bıçaklar sert ama kırılgandır ve tutuşları dikkat gerektirir. Çabucak kullanılamaz hale gelebilirler. Bıçaklar kullanılmadan hemen önce kullanılacak cihaza takılmalıdırlar (Ellis 1994).

2.4.6. Elmas bıçaklar

Bu bıçaklar kusursuz değerli taş kalitesindeki elmas hammaddesinden üretilirler. Bu onları çok pahalı yapsa da bıçaklar yüksek derecede dayanıklıdır bu da elmasın sertlik faktöründen kaynaklanmaktadır. Bu bıçaklar reçineye gömülü materyallerden çok ince kesitler almak için kullanılırlar (Ellis 1994).

2.4.7. Safir bıçaklar

Bu bıçaklar çok özel şartlarda, bilgisayar kontrollü termal şartlar altında alomina mono kristallerinden elde edilen bir parça katı safirden elde edilirler. Safir bıçaklar tungsten carbide ya da cam bıçaklardan çok daha sağlamdır. Bir safir bıçağı kullanırken karşılaşılabilecek tek kısıtlama blok büyüklüğüdür. Yani bu bıçaklar ile büyük blokları kesmek mümkün değildir. Çünkü bıçağın ucu 11mm ile sınırlıdır. Özel bir bıçak tutucu gerektirir (Ellis 1994).

2.5. Parafin Metodu

Doku elemanlarının canlı özelliklerini tam olarak koruyabilmesi için, doku örneği istenilen canlıdan alındıktan sonra önceden hazırlanmış olan çeşitli tespit solüsyonlarından (fiksatif) birinin içine atılır. Bu işleme tespit etme veya fiksasyon adı verilir. Fiksasyonun amacı doku elemanlarını canlı durumlarından en az farklı şekilleriyle

muhafaza etmek, kesit alma sırasında zedelenmelere, eğilip bükülmelere karşı onları korumak ve sertleşmesini sağlayıp; boya içeren ardışık işlemlerden hasar görmelerini engellemektir.

Kullanılan fiksasyon yönteminin tipi ve fiksatifin çeşitli amaca göre değişiklik gösterir. Bu iş için %10 Formol, Bouin, Zenker, Helly, Susa ve Carnoy gibi çeşitli fıksatifler kullanılır.

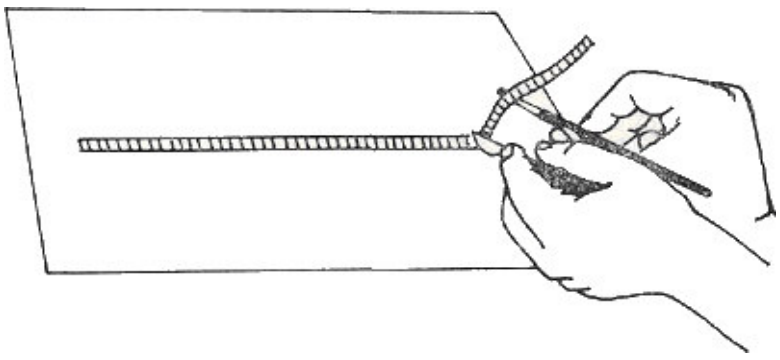
Fiksatifin mümkün olduğu kadar kısa bir zaman içinde dokuya girebilmesi için alınan doku örneklerinin kalınlığının 5–6 mm'yi geçmemesi gerekir. Tespit solüsyonunun hacmi de alınan parçanın 10–15 misli kadar olmalıdır. Doku örnekleri büyüklüklerine göre 2–12 saat arasında tespit edilir. Bu arada, doku örneklerinin isimleri kurşun kalemle küçük kâğıt parçalarına yazılıp hazırlanır. Tespit işleminden sonra, doku parçaları isimleriyle birlikte gazlı bez veya tülbent içine konularak, ağzı sıkıca bağlandıktan sonra akarsu altında 3–24 saat yıkanır. Daha sonra dokular yükselen alkol serilerinden (%60, %70, %80, %90, %95 ve %100) geçirilir. Her alkol kademesinde 1–2 saat tutulduktan sonra doku, ksilene konur. Ksilende 1–2 saat kaldıktan sonra, ksilen-parafin karışımına konulur. Burada 1 saat kadar tutulan doku, %45'lik erimiş parafine gömülür. Erimiş parafin 3 kez değiştirilir. Bu arada da buzlu su banyosu hazırlanır. Doku %45'lik erimiş parafinden alınarak, %55'lik erimiş parafine yatırılır. İki kez %55'lik parafinde tutulduktan sonra doku, buzlu su banyosu içindeki kalıplara dökülen %55'lik erimiş parafine yatırılır. Dokunun adı, tespit maddesi veya diğer istenilen özelliklerin kurşun kalemle yazıldığı küçük kâğıt parçası da kalıbın iç kenarına tutturulur. Kısa bir müddet sonra parafin donar. Böylece doku bloklanmış olur.

Sertleşen bloklardan mikrotom yardımıyla İnce kesitler alınır. Genellikle 4–8 mikron kalınlığında alman kesitler, ya belli bir sıcaklıkta içinde su içeren küçük havuzcuklara atılır, ya da Üzerine bir kaç damla su damlatılan ve ısıtıcı tablası üstüne konulan lamların üstüne konularak, açılmaları sağlanır. Lam üstüne konulan ve kesit alma işlemi sırasında büzülen doku, sıcaklık ile su üzerinde yavaş yavaş açılıp düzleşmeye başlar. Bu arada iki disseksiyon iğnesi ile bu açılmaya yardım edilir. Böylece dokunun düzgünce lama yayılıp yapışması sağlanır. Üzerinde ince kesitler bulunan lamlar, eğik bir şekilde şuraya dizilerek 50–60 °C'lik etüve kaldırılırlar. Bu durumda dokunun etrafındaki ince parafin eriyerek, akar. Arak, preparat boyanmaya hazır hale gelmiştir. Hazırlanan preparat Hematoksilen-Eozin, Mallory-Azan, Trikrom,

Toluidine mavisi vb. gibi İsteğe göre hazırlanan çeşitli boyalardan birisiyle rutin boyama işlemine tabi tutulur. Boyanan preparat ksilende parlatılır. Daha sonra üzerine kanada balzamı veya entellan damlatılır ve lamel ile kapatılır. Etüvde bir müddet kurutulduktan sonra mikroskopta incelenmeye hazır hale gelir (Akay 2000).

2.6. Mikrotomla Kesit Alma

Mikrotomda istenilen kesit kalınlığı ayarlandıktan sonra, manivela kolu bıçakta ilk kesitler başlayana kadar çevrilir. Kesit yapılırken, manivela kolu ne çok yavaş ne çok hızlı olmadan, fakat düzenli bir zaman aralığında çevrilmelidir. İlk kesitler yapılır yapılmaz her-şeyin yolunda olup olmadığına bakılır. Her şey yolunda ise kesit alınmaya başlanır ve sürdürülür. Kesitler bıçağın kenarı hizasında kısmen eriyerek birbirlerine yapıştıklarından parafinden bir şerit oluştururlar. Şerit oluşmaya başlar başlamaz şeridin ucu, ince bir resim fırçası ile bıçaktan kaldırılıp kesmeye devam edilir. Bu kaldırma işlemi kesitlerin üst üste yığılıp yapışmalarını önler. Şeridin uzunluğu 20–25 cm. olunca kesme işi durdurulup ikinci bir fırça yardımı ile şerit bıçaktan alınır ve hava akımı olmamasına dikkat edilerek temiz bir kâğıt üzerine sırası ile dizilir. En iyisi bunları hemen lam üzerine yapıştırmaktır. Parafin şeridin üst yüzü mat, bıçağa bakan alt yüzü daha parlaktır.



Şekil 2.23 Parafin şeridin uygun boyda kesilip biriktirilmesi

Parafin şeritlerin uygun boylarda kesilerek biriktirilmesi sırasında, şeritlerin parlak yüzlerinin alta gelmesine özellikle dikkat edilmelidir. İleride de değinileceği

gibi, kesitler lam üzerine alındıklarında parlak kesit yüzü lama iyi yapışır. Aksi halde kesitler lam üzerine alındıklarında iyi yapışmaz ve daha ileri işlemler sırasında lamdan düşerler. Eğer parafin bloğun yontulması sırasında, yüzler birbirine paralel kesilmemişse mikrotomda kesit alma sırasında şerit oluşmaz ve kesitler düz şerit biçiminde değil, bir tarafa doğru bükülerek eğri bir şerit oluşturur. Bu bükülen taraftaki blok kenarının Öbür kenardan daha kısa olması demektir.

Kesit almak her zaman kolay olmaz ve tek güçlük de bu değildir. Kuru havadaki statik elektrik çok sık rastlanan sorunlardan biridir. Kesitler mikrotom bıçağına ya da mikrotomun herhangi bir yerine yapışarak ziyan olurlar (Canda 1986).

3. CRYOTOMLAR

Cryotom, diğer adıyla dondurucu miktorom ya da cryostat, esas olarak bir mikrotom ile -5 –40 derecede arasında çalışan soğutucu kabinin bir araya getirilmesi ile oluşturulmuş bir mikrotom çeşididir. Son modellerinde ısı ayarı dıştan kontrol edilebilir, bundan dolayı kabinin içine el değmeden ayar yapılabilir. Bununla birlikte kesitlerin yuvarlanmasını önleyici (düzleştirici) aygıta da sahiptir. Bu aygıt sayesinde örnekler kolay kesilirler ve kolay soğutulabilirler. Cryotom' un çoğu parçaları paslanmaz çelikten yapılmıştır (Culling ve arkadaşları 1985).



Şekil 3.1. Cryotom cihazı

3.1. Cryostat ile Kesit Alma

Buz kristallerinin zararlı etkilerine maruz kalmamış taze donmuş dokulardan ince kesitler alma ihtiyacı, 1941 yılında Coons, Creech, ve Jones tarafından floresan antikor lekeleme tekniğinin tanıtılmasına sebep oldu.

Bu tekniğin gerçekleşebilmesi için kesit alınacak dokunun düşük sıcaklıkta çabuk dondurulması gerekmekte ve dokunun erimesine fırsat verilmeden çabucak kesitler alınmalıdır.

Bunlara ek olarak, bu yöntem birçok histokimyasal metod için uygundur.

Cryostat ile alınan kesitlerin bu özellikleri bu cihazların birçok patoloji laboratuarında yaygın şekilde kullanılmalarına sebebiyet vermiştir. Kolayca donmuş doku üretebilmesi acil teşhis bekleyen birçok yerde bu aparatın kullanılmasını sağladı. Cryostatların bu yaygın kullanımı, nöröpatolojinin bazı alanları hariç diğer bütün alanlarda donmuş mikrotom devrini başlatmıştır. Bu devir son olarak öne sürülen lekeleme reaksiyonun modifikasyonuna sebep olur.

Linderstorm-Lang ve Mogesen ilk cryostatı 1938 yılında tasarladılar. Coons ve meslektaşları 1951 yılına Harrison Refrigeration Company tarafından ticari olarak üretilen cryotom cihazını tekrar tasarladılar. Cryotomlar her tür mikrotomu içerebilirler fakat bu içerdiği mikrotom derin bir dondurma işlemine maruz kalacağı için tercihen etrafı paslanmayan bir mikrotom olmalıdır. Kabini çift camdandır ve materyalin içeri girip çıkmasını sağlayacak bir kapı ile donatılmıştır.

Kabin bir floresan lamba ve soğuk havanın dolaşımını sağlayan bir fan ile donatılmıştır. Ayrıca kesit alma sırasında kesitleri geri çekebilmek için bir ayak düğmesi mevcuttur.

Cryostat içerisindeki ısı -10 ^{o}C ile -40 ^{o}C arasında ayarlanabilir.

Sonraki cryotom modelleri kesit alma prosedürü üzerinden direk kontrol sağladığı için açık bir mikrotom operasyonuna izin verir.

Cryotom içerisinde yer alan mikrotom destekli birim tamamen pas tutmaz olmalıdır. Kesitlerin kesim sırasında kolay işlenebilmesi için 45^{o}'lik açıya ihtiyaç vardır.

Her cryostat katı kesitler için dondurucu mikrotoma birer alternatif olarak kullanılırlar. Bazılarında bu amaç için tasarlanmış içsel bir dondurucu kısım ile freon dondurucu ünitesi birleştirilmiştir. Bu aşama, doku donduktan sonra mikrotoma transfer edilen 4 blok tutucu tarafından taşınmaktadır. Kesitlerin sıcak lam yüzeyine sertçe yapışmasından dolayı boyama işleminden çok hızlı sonuçlar alınabilir.

Kabin ısısı -10 ile -20 arasında değişiklikler gösterebilir. Mikrotom ile alınacak kesitlerin kalınlığı da 2–16 μm arasında ayarlanabilir.

Cryostatların gelişimi geniş tabanlı olan kızaklı mikrotomlarıda içerisine alacak şekilde ilerlemektedir. Yukarıda bahsedildiği gibi kızaklı mikrotom akciğer, fare ya da daha büyük hayvanlardan kesit alacak şekilde tasarlanmıştır. Her tip mikrotom cryostat içerisinde kullanılabilir. Cryostat içerisindeki bıçak ve blokların

derecelerini kontrol etmek oldukça kolaydır. Motor ile kontrol edilebilen cryotom modelleri de mevcuttur. Bu motoru bir mikroişlemci kontrol eder ve bu sayede daha uygun kesitler alınmasına olanak sağlamaktadır (Bancroft 1977).

3.2. Cryostat ile Çalışma

Cryostat ile kesit alma işlemi yetenekli bir mikrotomist tarafından küçük bir çalışma ile yapılabilmektedir. Çok keskin bir bıçağın kullanılması önemlidir. Çünkü zorlukların çoğu kesimler sırasında meydana gelmektedir. Bu da bıçağın yeterince kesin olmaması yüzündendir. Tek kullanımlık bıçak tutucularının tercih edilmesi uygun olacaktır (Culling ve arkadaşları 1985).

3.2.1. Dokunun tutturulması

Hızlı teşhis gerektiren dokular, genellikle chuck-holder denen metal üzerinde direk olarak dondurulurlar. Tutturulamamış donuk dokular sırasıyla şöyle eklenir: süzgeç kâğıdının küçük bir parçası chuck-holder yüzeyine yerleştirilir, bir su damlası pastör pipetine yerleştirilir ve doku takip edilir. Su, dokuyu sağlam bir yerde tutarak hemen donmasını sağlar.

Ticari solüsyonların bazıları ise daha iyi sonuçlar elde etmemizi sağlar. Örneğin OCT (Miles Scientific Firması tarafından yapılmıştır). Bu sıvı solüsyon, kolaylıkla donabilir, dokunun chuck'a gitmesini sağlar ve donmadan önceki çözelti etrafını sararak dokuyu destekleyebilir. OCT dokunun kolayca kesilebilmesini ve kaymasını önler. OCT yapıştırıcı olarak kullanılabilir (Culling ve arkadaşları 1985).

3.2.2. Kabin ısısı

Çoğu dokudan ince kesitler alma sırasında sıcaklık -15 -20 arasında olmalıdır. Beyinin kalın kesitleri alınırken sıcaklık -5 ye yükseltilmez ise dokuda parçalanmalar meydana gelebilir (Culling ve arkadaşları1985).

3.2.3. Kesim

İdeal olarak bir bıçak cryotomi için saklanmalıdır ve kalıcı olarak kabinde muhafaza edilmelidir. Aksi takdirde, bıçak cryostatın çalışma ısısı serinliğine getirilmelidir.

Cryoytat için bir diğer önemli özellik rulo olmayı önleyici plakadır (antiroll plate). Bu özellik sayesinde, kesitler bıçağın ucunda birikerek rulo oluşması önlenmiş olacaktır. Rulo olmasını önleyici plakanın pozisyonu dolayısıyla, bıçak ile rulo önleyici plaka arasındaki kayma düz kalacaktır. Plastik ya da camdan yapılmış olsa bile anti-rulo plakasının ayarlanması son derece önemlidir. Plakanın en üstü, bıçağın keskin yüzü üzerine yaklaşık 0,5 mm. ve paralel olarak tasarlanmalıdır.

Geleneksel mikrotomi de kesme hızı deneyimle belirlenir. Genellikle cryostatlarda hızlı kesim yapmak daha iyi sonuçlar doğurur (Culling ve arkadaşları 1985).

4. TERMOELEKTRİK

4.1 Yarı iletkenler

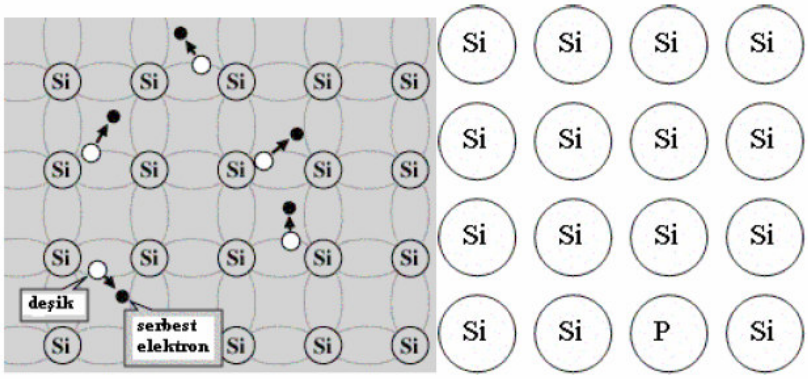
Termoelektrik olayı daha iyi anlayabilmek için yarıiletkenlerin özelliklerinden biraz bahsetmek yararlı olacaktır. Yarıiletkenler, iletkenlerle yalıtkanlar arasında olan özdirençleri 10-3-10-5 ohm arasında değişen eleman ve bileşiklerdir (Çizelge 4.1 e bakınız).

Yarıiletkenlerin çok düşük sıcaklıklarda ve çok saf halde iken özdirenç değerleri bu tür malzemelerin iyi yalıtkan olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.1 Bazı iletken, yarıiletken ve yalıtkanlara ait özdirenç değerleri.

Malzeme	Özdirenç ρ (ohm.m)		İletkenlik $\sigma \times 10^7$ /Ωm
Gümüş	1.59	×10-8	6.29
Bakır	1.68	×10-8	5.95
Aluminyum	2.65	×10-8	3.77
Tungsten	5.6	×10-8	1.79
Demir	9.71	×10-8	1.03
Platin	10.6	×10-8	0.943
Manganin	48.2	×10-8	0.207
Kurşun	22	×10-8	0.45
Civa	98	×10-8	0.10
NiKrom (Ni,Fe,Cr alaşımı)	100	×10-8	0.10
Constantan (%40Ni, %60Cu)	49	×10-8	0.20
Karbon* (grafit)	3-60	×10-5	…
Germanyum*	1-500	×10-3	…
Silikon*	0.1-60	...	…
Cam	10000	×109	…
Kuartz	7.5	×1017	…
Sert kauçuk	1-100	×1013	…

Metallerin aksine yarıiletkenler sıcak bir ortamda, soğukta olduklarından daha iyi iletkendirler. Yani yarı iletkenlerin özdirençleri sıcaklıkları artıkça azalır. Bunların özdirençlerinin sıcaklıkla değişim katsayısı negatiftir. Sıcaklık yükseldiği zaman özdirencin küçülmesi yarıiletkenleri diğer maddelerden ayıran özelliktir. Silisyum ve Germanyum gibi saf yarıiletkenlere *özgün yarıiletken* denir. Özgün yarıiletkenin türü olan *katkılı yarıiletkenler* ise silisyum veya germanyuma başka tür atomlar az miktarlarda karıştırılarak elde edilirler. Aşağıdaki Şekil 4.1.' de saf silisyum ve P atomunun Si kristali içindeki safsızlığı gösterilmektedir. Silisyumun atom numarası 14 dür ve elektron konfigürasyonu ise 1s22s22p63d4 şeklindedir. Si içine atom numarası 15 olan P katkılanırsa 1s22s22p63d5 1 deşik ortaya çıkacaktır (Şekil 4.1) (Boylestad ve Louis 2000).



Şekil 4.1 Si kristali içinde P atomu ile safsızlık oluşturulması.

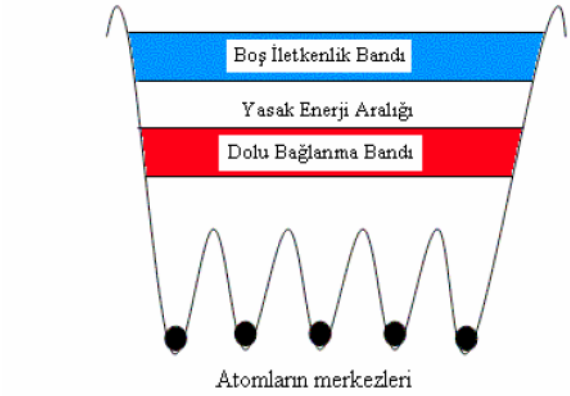
4.1.1. Enerji bandları

Herhangi bir katı maddenin özellikleri, içinde bulunan atomların özelliklerine ve atomların birlikte gruplanma biçimine bağlıdır.

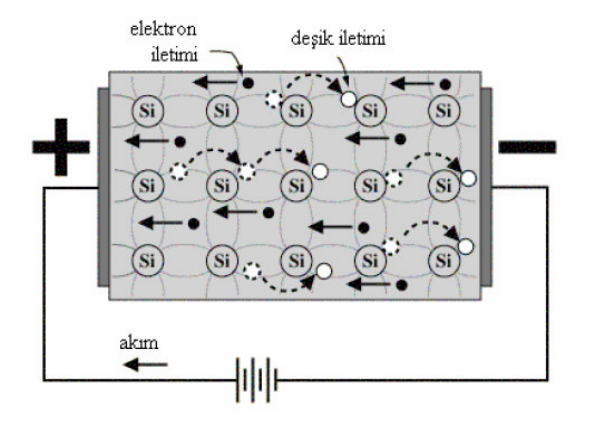
Bir atomdaki elektronların alabileceği enerjiler, enerji düzeyi şeklinde yatay çizgilerle gösterilir. Eğri çizgiler, çekirdeğin yakınındaki bir elektronun potansiyel enerjisini temsil etmektedir. Pauli'nin dışarlama ilkesine göre, herhangi bir atomda elektronlar önce en düşük enerji düzeylerini doldururlar.

Enerji düzeylerinin her birinde bir elektron bulunan ve böylece elektronlarla büsbütün dolu olan en düşük enerji bandına dolu band denir. En üst enerji bandı elektron bakımından boştur. Çünkü burası yalıtılmış atomlarda dolmamış yüksek enerji düzeylere karşılık gelir. Bu şeride iletkenlik bandı denir. Kristal içinde dolu band ile iletkenlik bandı arasındaki enerji bölgesine yasak enerji aralığı denir. Başka bir deyişle elektronların bulunma olasılığının zayıf olduğu yerlerdir.

Kristaldeki elektronik enerji düzeylerinin bu biçimi bir kristalin enerji bandı modeli olarak bilinir (Şekil 4.2). Elektriksel iletkenlik için atomun dış yüzeyindeki elektronlara denk gelen bandlar söz konusudur. Bu elektronlar komşu atomlarla olan bağlantıyı sağlarlar ve özgür duruma geçtiklerinde, yani atomlar iyonize olduklarında, bir elektrik alanının etkisi altında toplu hareketleri ile elektrik akımı oluştururlar (Şekil 4.3) (Türköz 1998).



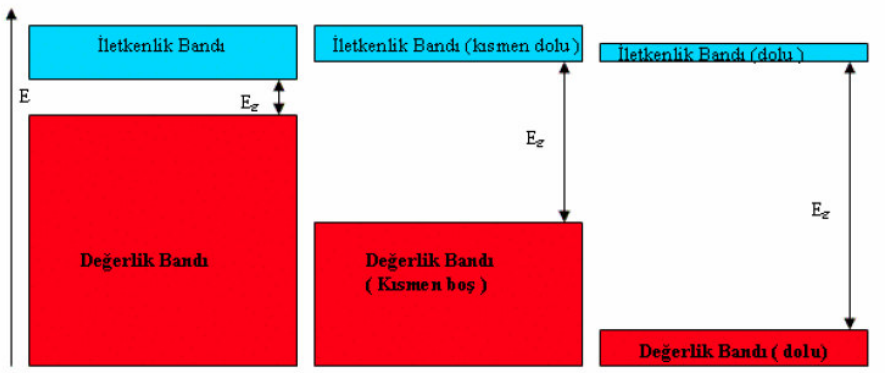
Şekil 4.2 Enerji Düzeyleri



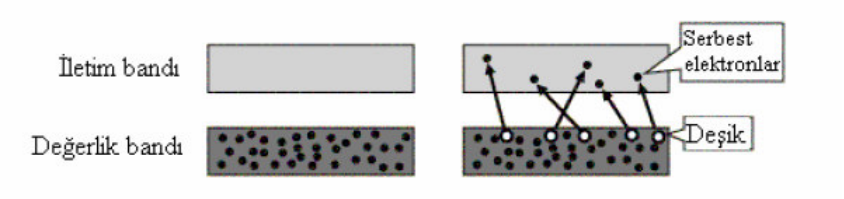
Şekil 4.3 Yarıiletkenlerde iletim.

4.1.2. Değerlik bandı

Sıfır sıcaklığında yalıtkan bir silisyum atomu enerji açısından temel durumdadır, yani elektronlar en düşük enerji düzeyini işgal etmektedirler. Diğer bir şekliyle değerlik bandındaki bütün enerji düzeyleri elektronlar bir atomdan diğerine geçmeyecek biçimde doludur. Atomun enerji düzeylerinin uyarılması durumunda (elektrik gerilimi, ısıl uyarım, foton, parçacık (α, β) ışınları bombardımanı gibi etkilerle), değerlik bandının bir elektronu yasak band genişliği E ye eşit bir enerji kazanabilir ve elektron iletkenlik bandına geçebilir. Bu durumda yarıiletken iletken hale geçmiş olur (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5).



Şekil 4.4. İletken, yarıiletken ve yalıtkanın enerji düzeyleri: E_g -yasak enerji band aralığı.



Şekil 4.5 E_g enerji aralığı aşılırsa iletkenlik bandı ve değerlik bandı.

Isıl uyarım durumunda değerlik bandındaki bir elektronun iletkenlik bandına geçmesi $-\frac{E}{kT}$ değeri ile orantılıdır ve görüldüğü gibi saf bir yarıiletkenin iletkenliği sıcaklıkla yani T ile hızla büyür fakat E büyük olduğu zaman elektriksel iletkenlik hızla azalır. Metallerin atomik ve kristal yapılarında yasak band bulunmadığından, değerlik elektronlarının bazıları katının içinde dolaşmaya ve bir elektrik alanın etkisi altında hareket etmeye hazırdır. Bu nedenle metaller çok iyi iletkenlerdir. Elektronlar band içinde Pauli ilkesine göre dağılmışlardır. Sıfır sıcaklıkta bütün elektronlar en alt enerji düzeylerini doldururlar ve dolu olan en üst düzeye *Fermi düzeyi* denir. Sıcaklık artırılmaya başlandığında bazı yüksek enerjili elektronlar Fermi düzeyinin üstündeki enerji düzeylerine geçebilecek biçimde uyartılmış olurlar. Bunun sonucu olarak Fermi düzeylerinin üstündeki bazı enerji düzeyleri dolu ve bu enerji düzeylerinin hemen altındaki bazı düzeylerde boş olur. Fermi düzeyinin konumu E=0 ile belirtilir. Fermi dağılımı f(E), elektronla doldurulmuş enerji bandındaki E enerji seviyesinin olasılığını verir:

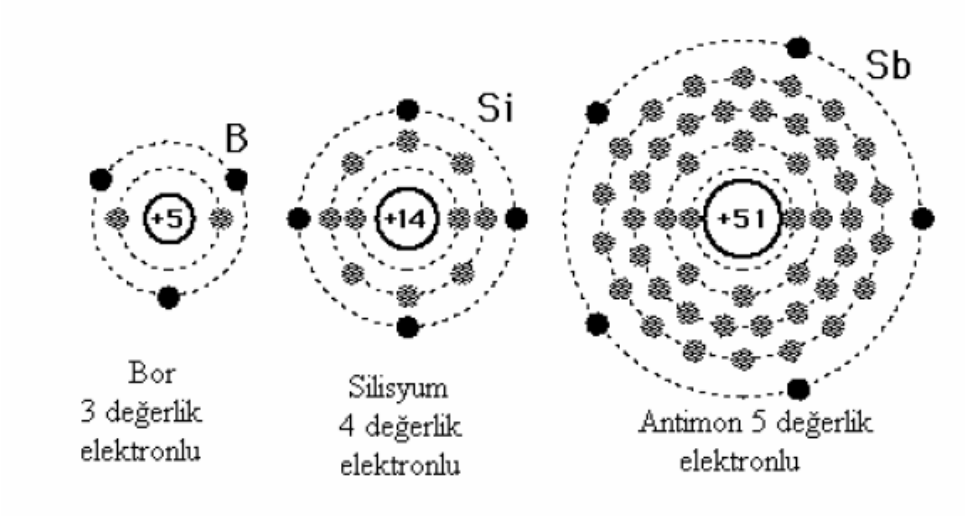
$$f(E) = \frac{1}{1 + e^{\frac{E - Ef}{Kt}}} \qquad (4.1)$$

Yalıtkan bir kristal yarıiletken ve iletkene göre daha geniş bir yasak band aralığına sahiptir. Bir elektronun değerlik bandından iletkenlik bandına geçebilmesi için elektrona çok büyük bir enerji verilmesi gerekir. Isıl uyarım veya elektrik alan ile sağlanabilecek bu derece büyük enerji cismin bozulmasına neden olur. Yarıiletkenin enerji band örneği yalıtkanınkine benzer, yasak band daha dardır. Yaklaşık 1 eV tur. Oda sıcaklığında birkaç elektron yasak bandı aşarak iletkenlik

bandına yükselir. İletkenlik bandına geçen elektronların değer bandında bıraktıkları boşluklar bu banttaki elektronların hareketine olanak verdiklerinden iletkenliğe dâhil olurlar. Yarıiletkenlerde yük taşıyıcılar metallerinkinden daha az olduğundan, metallerden daha az iletken fakat yalıtkanlardan daha iyi iletkendirler. Bir yarıiletken düşük sıcaklıklarda yalıtkan olur. Yarıiletken düzenlemeler için yasak band genişliği büyük olan yarıiletkenler daha önemlidir. Bu tür yarı iletkenlerde sıcaklık değişimi ile daha az elektron iletkenlik bandına yükseleceğinden yarıiletken düzeneğin özgüllerinde önemli bir değişme olmaz (Türköz 1998).

4.1.3. Elektronlar ve deşikler

Saf bir yarıiletkenin değerlik bandındaki bir elektronu uyarılarak iletkenlik bandına geçerse, bu elektron iletkenlik bandında serbestçe hareket eder ve akım taşır. Fakat bu akıma eşlik eden ikinci bir akım daha vardır. Değerlik bandında bir elektronun geride bıraktığı boşluk nedeniyle değerlik bandındaki diğer elektronlar bu boşluğun ya da deşiğin bulunduğu yere doğru hareket eder. Burada, sağa doğru bir elektrik alan uygulandığında iletkenlik bandındaki elektron sola doğru hareket eder ve akım yönü sola doğru olur. Değerlik bandında ise boşluğun sağındaki elektron bu boşluğa geçer daha sonra onun da sağındaki elektron bu boşluğu doldurur. Böylece değerlik bandındaki elektronlar da sola doğru olduğundan akım yine sağa doğru olur. Bir elektronun hareketi sonucu yani atomdan ayrılması sonucu pozitif bir iyon oluşur. Değerlik bandındaki boşluk pozitif bir yük sayılabilir. Aşağıdaki Şekil 4.6 da B(atom 11 numarası 5), Si(atom numarası 14) ve Sb(atom numarası 51) için elektron konfigürasyonu verilmektedir. Bu atomlarla oluşturulan yarı iletkenlerde atomlar son yörüngelerini tamamlayıp kararlı hale gelmeye çalışacaktır. Bunun olabilmesi için diğer atomlarla elektron alışverişine girerler (Boylestad ve Louis 2000).



Şekil 4.6 Elektronların atom yörüngelerine yerleşimi.

4.1.4. n-Tipi yarı iletken

Ergimiş durumdaki silisyuma; beş değerlik elektronlu arsenik, antimon, fosfor gibi elementler ile katkılama yapılırsa iletkenliğinin türü değişir. Ergimiş durumdaki silisyuma arsenik katılırsa silisyumun son yörüngesindeki dört değerlik elektronu komşu arsenik atomu ile kovalent bağ oluşturur. Boşta kalan arseniğin beşinci elektronu bu bağa katılmayarak, çekirdeğe zayıf bağlanmış durumda kalacaktır. Periyodik cetvelde beşinci sütundaki elementler ilave yük taşıyıcıları olarak yarıiletken sisteme elektron sağlarlar. Bu elektronların hepsi oda sıcaklığında iletkenlik bandına ulaşırlar. İletkenliğin büyük kısmı elektronlarca sağlanır. Bu tip silisyuma *n-tipi yarıiletken* denir.

4.1.5. p-Tipi yarı iletken

Ergimiş durumdaki silisyuma periyodik çizelgenin üç değerlik elektronu içeren indium, galyum, bor gibi elementler katılırsa *p-tipi yarı iletkenler* oluşur. Bor atomunun üç değerlik elektronu silisyum atomunun dört değerlikli elektronları ile kovalent bağ yapabilmeleri için birer elektrona gereksinimi vardır. Bunun için bor

atomu komşu atomlardan bir elektron çekerek dış katmanındaki elektron sayısını dörde çıkarırken, elektron çektiği silisyumda bir deşik oluşmasına neden olur. Değerlik bandında bir deşik oluşması için yaklaşık 0.01 eV 'luk enerjiye gereksinim vardır. Bu da oda sıcaklığında sağlanabilir enerji değeridir. İletkenliği pozitif yük taşıyıcıların içeriğine bağlı olan bu tür yarı iletkenlere p-tipi yarı iletken denir (Boylestad ve Louis 2000).

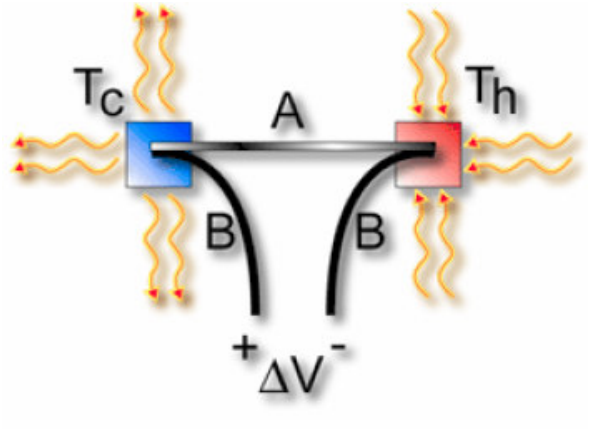
4.2. Termoelektrik Etkiler

Termoelektrik olay, ısı enerjisinin elektrik enerjisine veya elektrik enerjisinin ısı enerjisine dönüşümüdür. Termoelektrik jeneratörler katı haldeki güç kaynaklarıdır ve bu güç kaynaklarında Seebeck etkisinden yararlanılırken, termoelektrik soğutucular ise katı haldeki ısı pompalarıdır ve burada Peltier etkisinden yararlanılır. Uygun malzemeyi seçmek ve termoelektrik jeneratör veya Peltier soğutucusunu yapmak için öncelikle genel anlamda termoelektrik etkilerin neler olduğunu anlamak gerekmektedir. İki farklı yarıiletken malzemenin kimyasal yöntemlerle birbirine birleştirilmesi ile oluşturulan bir devreden elektrik akımı geçirilmesiyle yarıiletkenler farklı sıcaklıklara sahip olurlar. Farklı sıcaklıklardaki yarıiletkenlerde, aynı anda çeşitli etkiler oluşmaktadır. Bu etkiler mucitlerin isimleri ile anılır. Bunlar Seebeck, Peltier, Thomson, Joule ve Fourier etkileridir. Bunun için aşağıdaki kesimlerde çeşitli termoelektrik etkiler anlatılmaktadır.

4.2.1.Seebeck etkisi

1821 yılında Johann Seebeck iki farklı metal kullanarak oluşturduğu elektrik devresinde bu metallerin farklı sıcaklıklarda olması durumunda elektrik akımını ürettiğini gözlemledi. Seebeck önce bu olayı farklı sıcaklıklardaki metallerin magnetik alan oluşturduğunu ve bu magnetik alanında bir akım ortaya çıkardığına inandı. Ancak indükleme ile oluşan elektrik akımının magnetler tarafından Ampere yasasına uygun bir şekilde olacağı biliniyordu. Daha sonra metaller arasındaki sıcaklık farkının bu metaller arasında bir elektriksel gerilim farkını oluşturduğu ve bu gerilim farkında devrede akım oluşturduğu anlaşıldı ($V=\alpha(T_h-T_c)$). Bu olay Seebeck

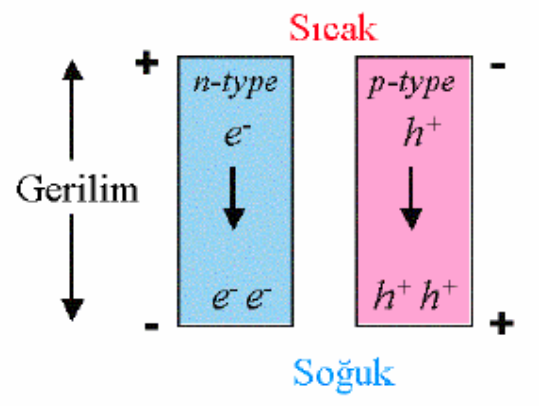
olayı olarak bilinmektedir. Metaller arasında oluşan elektriksel gerilim sıcaklık farkının büyüklüğüne bağlıdır. Bu büyüklük Seebeck katsayısı ile tanımlanabilir. Sıcaklık ölçümlerinde kullanılan ısıl çiftlerin çalışma prensibi bu olayla açıklanabilir. Aşağıda bu etki daha ayrıntılı bir şekilde anlatılmaktadır.



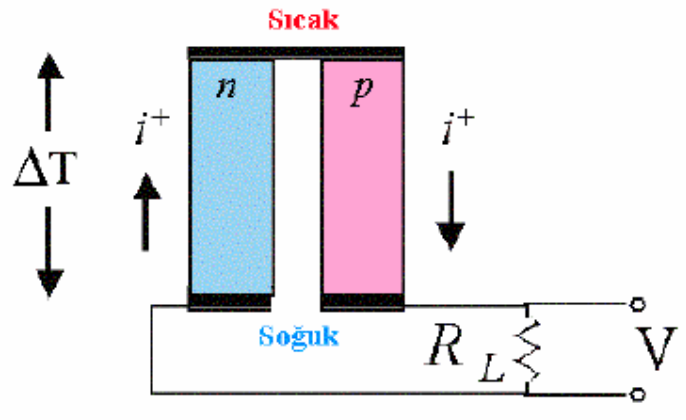
Şekil 4.7. Seeback etkisinin basit gösterimi

Termoelektrik malzemeler hem elektrik yükünü hem de ısıyı taşıyan serbest taşıyıcılara sahiptir. Bunun anlamak için gaz halindeki yüklü parçacıklar örnek verilebilir. Gaz halindeki yüklü parçacıkları, bir tarafı sıcak diğer tarafı soğuk olan yani sıcaklık gradyeninin olduğu kapalı bir kutuya konulsun. Böyle bir durumda gaz halindeki yüklü moleküller sıcak bölgeden soğuk bölgeye doğru hızlı bir şekilde hareket ederler. Sıcak moleküller soğuk moleküllere göre kutu içinde daha fazla bölgeye yayılacak ve böylece soğuk bölgede daha fazla molekül yoğunluğu olacaktır. Bu yoğunluk farkı moleküllerin tekrar sıcak bölgeye yayılmasına neden olacaktır. Kararlı durumda sistem, molekül yoğunluğu gradyenti sıcaklık gradyeninin oluşmasını karşılayacak şekilde kalır ve böylece molekül hareketinde net akış olmayacaktır. Eğer moleküller elektriksel olarak benzer yüklere sahip iseler soğuk bölgede yoğunlaşan moleküller elektriksel yüklerinden dolayı birbirlerini itecekler ve moleküllerin bir kısmı kutunun sıcak kısma doğru sürüklenecektir. Bu şekilde gaz elektriksel yüklerinden ve sıcak soğuk bölmelerden dolayı moleküllerinin dağılımının ortaya çıkardığı bir elektriksel potansiyel farkı olacaktır. Sıcaklık farkından dolayı oluşan bu elektrik potansiyeline *Seebeck etkisi* denir ve bu etki bir sabitle tanımlanabileceği için bu sabite *Seebeck katsayısı* denir. Eğer serbest yük taşıyıcıları olan gaz molekülleri pozitif yüklü ise bu malzemeye *p-tipli malzeme*

denir. Pozitif yükler soğuk kısımda birikeceğinden pozitif potansiyel ortaya çıkacaktır. Benzer olarak serbest yükler negatif yüklü iseler *n-tipi malzeme* denir ve böylece negatif potansiyel ortaya çıkar (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Seebeck etkisi.



Şekil 4.9. Seebeck geriliminin oluşması.

İki farklı yarıiletken malzemenin (n ve p tipi) birbirine seri olarak birleştirilmesi ile oluşturulan bir devrede elektrik yani "Seebeck gerilimi" nin ölçülmesi Şekil 4.9' da verilmektedir. Devre uçları arasında ölçülen elektrik gerilimi, malzemelerin yüzeyleri arasındaki sıcaklık farklı ile doğru orantılıdır. Şekil 4.9' da iki farklı yarıiletken malzemeden oluşturulan p-n tipli devrede ölçülen elektriksel gerilim aşağıdaki gibidir:

$$V = \alpha \, \Delta T \tag{4.2}$$

Bu eşitlikte,

V : Devrede oluşan elektriksel gerilim (Volt)

ΔT : T_H-T_C Yarıiletken malzemelerin yüzeyleri arasındaki sıcaklık farkı (^oC),

α : α_2-α_1 Seebeck katsayısı veya termo emk (V/ ^oC),

olarak bilinir. α Seebeck katsayısının değeri termoelektrik devreyi oluşturan malzemelerin özelliklerine bağlıdır. Yarıiletkenlere bağlı R_L yük direnci aşağıdaki gibidir:

$$R_L \approx R_{TE} = \frac{1}{\sigma A} \tag{4.3}$$

Denklemdeki l termoelektrik malzemenin uzunluğu, A ise kesit alanıdır. Yarıiletken tarafından üretilen güç ise aşağıdaki gibidir:

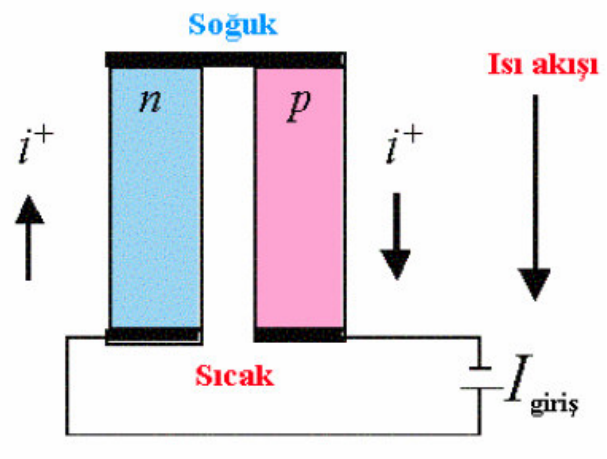
$$Güç = IV = \frac{V^2}{R} = \frac{\sigma A \alpha^2 \Delta T^2}{1} \tag{4.4}$$

Yukarıdaki denklemde $\sigma\alpha^2$ katsayısına güç faktörü denir. İyi bir termoelektrik yarıiletken, küçük sıcaklık farklarında büyük güç değerlerinin elde edilmesini sağlar. Örneğin bakır konstantan dan yapılan bir ısılçift için α=40μV/^{o}C dir. Yani her ^{o}C sıcaklık farkı durumunda ısılçift 40μV luk gerilim üretir. α nın değeri 100μV/^{o}C den büyük olan yarıiletkenlere, *termoelektrik yarıiletken* denir. Seebeck etkisinden yararlanılarak yarıiletkenler jeneratör, metaller ise ısılçift veya ısı sensörü olarak kullanılır.

4.2.2. Peltier etkisi

1834 yılında Fransız saatçi ve fizikçi Jean Charles Athanasa Peltier tarafından bulunan Peltier etki, Seebeck etkisinin tam tersi olan bir etkidir. Farklı metallerden oluşturulan bir elektrik devresinde bu metaller farklı gerilimlerde iseler biri sıcak diğeri soğuk olacaktır. 1838 de Lenz bu olayın akımın yönüne bağlı olduğunu gösterdi. Bu durum, yarıiletken içinde ısıyı taşıyacak olan parçacıkların dışarıdan uygulanan sıcaklıktan etkilenerek yer değiştirmeleri yerine dışarıdan yarıiletken uçlarına uygulanan gerilim farkı ile ısı taşıyıcı parçacıkların yer değiştirmesi sağlanır. Böylece ısı yarıiletkenin bir ucundan diğer ucuna aktarılmış olur. Bu ısı aktarımının hızı kullanılan malzemelerin özelliklerine bağlıdır. Yani p ve n tipli

yarıiletkenlerin seri olarak birleştirilmesi ve bu devre üzerinden doğru akım geçtiğinde, yarıiletkenin bir ucundan ısı emilirken, diğer ucundan ısı açığa çıkar. Açığa çıkan ısı miktarı, devreden geçirilen doğru akımla doğru orantılı olup, aşağıda verilen denklem ile hesaplanır:



Şekil 4.10. Peltier etkisi.

$$Q_P = n\, I \tag{4.5}$$

Denklemdeki

Q_P:Birim zamanda transfer edilen ısı miktarı (Watt),

I:Devre üzerinden geçen doğru akım (Amper),

п : Peltier sabiti (Volt)

şeklindedir. Yukarıdaki denklem

$$Q_P = \alpha\, T\, I \tag{4.6}$$

şeklinde de yazılabilir. Bu denklemde

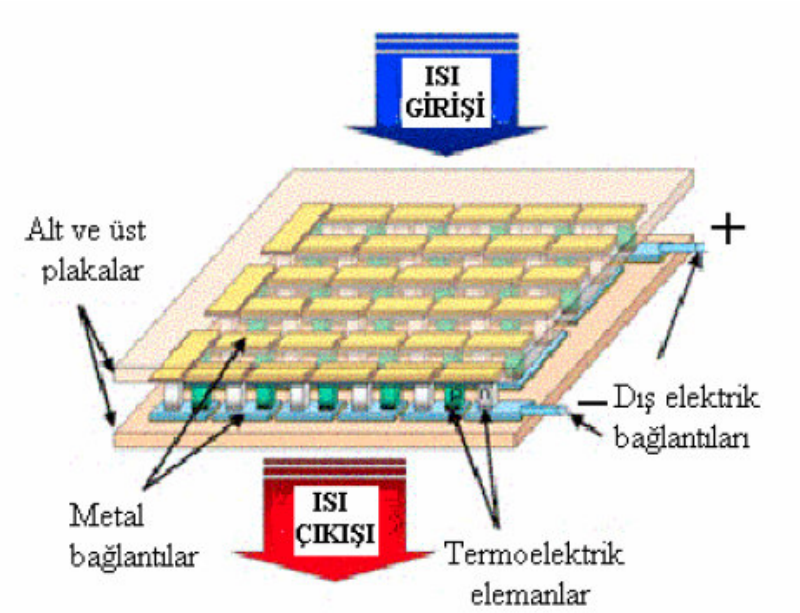
$n = \alpha\, T$

α : Seebeck katsayısı (Volt/ ^{0}C)

T : Sıcaklık – Kelvin şeklindedir.

Yarıiletken fiziğinde bu olay şu şekilde açıklanmıştır: Termoelektrik soğutucuda, ısıyı transfer edebilmek için elektronların enerji seviyelerindeki değişiminden yararlanılır. Bu ısı transferi, sistemin bir ısı pompası gibi davrandığını

göstermektedir. Elektronlar, farklı iki yarıiletken malzemenin birleşme noktasından birinden diğerine geçerken, yarıiletkenlerin bir tarafları ısı enerjisini soğurucu diğer tarafında ise ısı enerjisini yayıcı bir şekilde davranmaktadır. Akım, düşük enerji seviyesine sahip p-tipi yarıiletkenden yüksek enerji seviyesine sahip n-tipi yarıiletkene doğru akarken, akım taşıyıcısı elektronlar soğuk yüzeyden aldıkları ısı enerjisini sıcak yüzeyde terk etmektedir. Yarıiletkene dışarıdan verilen elektriksel güç ile elektronların sistem içinde yani yarıiletkenler arasında hareket etmeleri için gerekli enerji sağlanmış olur. Böylece hareketlenen elektronlar değişen enerji düzeyleri arasında ilerlerken ısı enerjisini de transfer etmekte, başka bir deyişle ısı taşımaktadır. Yandaki şekilde yeşil ve beyaz renkler ile p (Sb_2 Te_3) veya n tipi (Bi_2 Te_3) yarıiletkenler, metal bağlantıları ise mavi ve sarı renkler ile gösterilmiş, krem renkli kısım ise ısı transferinin yapılacağı ısısal iletkenliği yüksek olan alt ve üst tabakları göstermektedir.



Şekil 4.11. Peltier etkisinin ortaya çıkması.

Yarıiletkenin uçlarına dışarıdan verilen elektriksel güç arttırılırsa, hareketli elektron sayısı da artacağından soğuk yüzey ile sıcak yüzey arasındaki ısı transfer miktarı da artacaktır. Eğer akım yönü ters çevrilirse, bu işlem tersine işleyecek ve sıcak yüzeyle, soğuk yüzey kendi arasında yer değiştirecektir.

İyi termoelektrik malzemeler içlerine yoğun bir şekilde safsızlık eklenmiş ve taşıyıcı yoğunlukları 10^{19} dan 10^{21} taşıyıcı/cm^3 kadar değişen yarıiletken veya yarı metallerdir.

P ve n tipi yarıiletkenler arasında yeteri kadar boşluk bırakılmışsa yarıiletken birimler tek tipte taşıyıcılar olacaklardır. Böylelikle iyi termoelektrik malzemeler yeteri kadar büyük aralığa sahip p ve n tipi yarıiletkenlerin birleştirilmesi ile ve her birimin (n veya p tipi birimlerinin) tek tipte taşıyıcıya sahip olmaları ile oluşturulur (yüksek safsızlık/aşılama ve yüksek hareketlilik). Bu durum termoelektrik malzemede yüksek elektriksel iletkenliğin oluşmasını sağlar. İyi termoelektrik malzemeler az termal iletkenliğe sahip malzemelerdir. Termoelektrik malzemelerde ısı transferi iki şekilde sağlanır: Fononların kristal örgü içindeki hareketleri ile elektron veya deşiklerin bir atomdan diğerine yer değiştirmeleri sonucunda ısısal iletkenlik sağlanır (Rowe 1995).

4.2.3. Thomson etkisi

1856 yılında William Thomson (Lord Kelvin) tarafından Seebeck ve Peltier etkileri kapsamlı bir şekilde açıklandı ve birbileri arasındaki ilişki ortaya çıkartıldı. Bu anlatıma göre Seebeck ve Peltier katsayıları termodinamik yasaları ile açıklanmıştır. Basit olarak açıklanabilir ki Peltier sabiti Seebeck sabitinin sıcaklıkla çarpımına eşittir. Thomson un bu açıklaması termoelektriğin üçüncü etkisi veya Thomson etkisi olarak bilinir. Bu açıklama şu şekilde de yapılabilir: Bir malzemenin uçları arasında elektrik akımı geçtiğinde, malzemenin bir tarafından ısı enerjisi soğuruluyor veya ısı enerjisi açığa çıkarılıyor demektir. Isı hem elektrik akımına hem de sıcaklık gradyenine bağlıdır. Bu bağlılık Thomson katsayısı ile tanımlanır. Thomson ısısı, akım şiddeti, sıcaklık farkı ve zaman ile doğru orantılıdır. Ortaya çıkan Thomson ısısı;

$$Q_T = \iota \, \Delta T \, I \tag{4.7}$$

Denklemi ile verilebilir. Denklemdeki

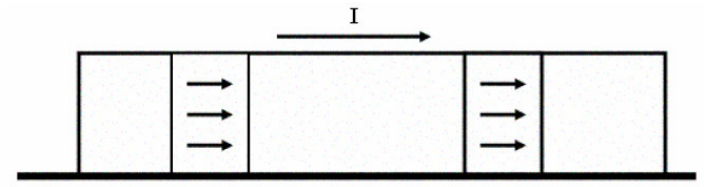
Q_T : Thomson ısısı (W),

ΔT : İletkenin uçları arasındaki sıcaklık farkı (^oC),

I : İletken üzerinden geçen akım şiddeti (A),

ι : Thomson katsayısı ($V/^oC$) şeklindedir.

Şekil 4.12.'de termoelektrik modül üzerinde elektrik akımından dolayı meydana gelen Thomson etkisi gösterilmektedir.



Şekil 4.12. Yarıiletkenlerde Thomson etkisi.

4.2.4. Joule etkisi

Farklı iki yarıiletken içinden geçen akımdan dolayı yarıiletkenler üzerinde ısı açığa çıkar. Açığa çıkan ısı enerjisi aşağıdaki bağıntı ile bulunur:

$$Q_J = R \, I^2 \tag{4.8}$$

Q_J : Açığa çıkan ısı miktarı (W),

R : Malzemenin direnci (ohm),

I : Malzeme üzerinden geçen akım şiddeti (A)

4.2.5. Fourier etkisi

Fourier etkisi, ısının yüksek sıcaklığa sahip bölgeden, düşük sıcaklığa sahip bölgeye doğru transfer edilmesi olayıdır. Fouier etkisinden dolayı açığa çıkan ısı enerjisi aşağıdaki denklemdeki gibi verilebilir:

$$Q_F = A\ K\ \Delta T \tag{4.9}$$

Denklemdeki

Q_F : Yüksek sıcak bölgesinden düşük sıcak bölgesine doğru giden ısı miktarı (W),

A : Malzemenin toplam alanı (m^2),

K : Malzemenin ortalama ısı iletim katsayısı (W/ m^2 ^oC) şeklindedir. Denklemdeki K'nın ortalama değeri aşağıdaki gibidir:

$$K_{ORT=} \frac{1}{\frac{1}{\alpha_1} + \frac{d}{\lambda} + \frac{1}{\alpha_2}} \tag{4.10}$$

α : İletim katsayısı (W/m^2 ^oC),

λ : Malzemenin iletkenlik katsayısı (W/m ^oC),

d : Malzemenin kalınlığı (m) şeklindedir.

Joule ve Fourier etkisinden dolayı soğuk ve sıcak yüzey arasındaki sıcaklık değişimi aynı oranda olmamaktadır. Devre kararlı hale geldiğinde soğuk yüzeyden soğurabilen ısı miktarı,

$$Q = \alpha\ T\ I \tag{4.11}$$

Eşitliği ile bulunmaktadır. Ancak sistem üzerinden geçen akımdan dolayı ters yönde istenmeyen ısı kazançları aşağıdaki eşitlikten bulunur.

$$Q = \alpha\ T_H\ I - ½\ I^2\ R + K\ \Delta T \tag{4.12}$$

Bu eşitlikte;

Q : Birim zamandaki ısı kazancı (Watt)

T_H : Sıcak yüzey sıcaklığı (^oC)

T_C : Soğuk yüzey sıcaklığı (^oC)

α : $\alpha_2 - \alpha_1$, Seebeck katsayısı (V/ ^oC)

I : Devre üzerinden geçen akım şiddeti (Amper),

R : $R_1 + R_2$, Elektriksel direnç (Ohm),

K : $K_1 + K_2$, Isıl iletkenlik (Watt/ ^oC),

ΔT : $T_H - T_C$, Sıcaklık farkı (^oC)

Yukarıdaki ifadelerden yararlanarak, kullanılan yarıiletken malzemelerin elektriksel direnci,

$$R_1 = \frac{\rho_1 L_1}{A_1} \qquad R_2 = \frac{\rho_2 L_{21}}{A_2} \tag{4.13}$$

ρ : Malzemenin elektriksel iletkenliği (cm),

L : Malzemenin uzunluğu (m) ,

A : Malzemenin alanı (m^2),

şeklinde yazılabilir. Kullanılan yarıiletkenin ısıl iletkenliği ise

$$K_1 = \lambda_1 \frac{A_1}{L_1} \qquad K_{2=} \lambda_2 \frac{A_2}{L_2} \tag{4.14}$$

denklemleri ile verilebilir. Denklemlerdeki λ malzemenin iletkenlik katsayısıdır ve birimi (W/m ^oC) dir (Terry ve arkadaşları1997).

5. MATERYAL ve METOT

Çalışmanın amacı, parafinleme metodu ile çalışan döner bir mikrotoma soğutucu özelliği kazandırarak, parafinleme yapılmaksızın hızlı bir şekilde kesit alabilme özelliğinin kazandırılmasıdır. Diğer bir ifadeyle cyrotom cihazının yaptığı işlevi bir mikrotom cihazına yaptırabilmektir. Bu amaçla leica marka 1512 model döner mikrotom sağlanmıştır. Daha sonra bunun üzerinde gerekli çalışmalar yapılarak bu mikrotoma soğutucu özelliği kazandırılmıştır. Kullanılan materyal ve metot aşağıda açıklanmıştır.

5.1. Materyal

5.1.1 Soğutucu özelliği olmayan döner mikrotom

Döner mikrotomun genel amacı ışık mikroskopları için yarı ince kesitler almaktır. Parafin kesitleri için en çok kullanılan mikrotom türüdür (Ozban 1994).

Elle kontrol edilen döner mikrotomlar parafin bloklar içerisinde yer alan dokulardan kesitler alırlar. Doku paçalarının parafinlenerek kesit almaya hazır hale getirilmesi uzun zaman alabilmektedir. Bu zaman kaybının önüne geçilmesi ya da acil sonuç gerektiren durumlarda hızlı teşhis konulabilmesi için cryotomlar geliştirilmişler. Cryotom, diğer adıyla dondurucu miktorom ya da cryostat, esas olarak bir mikrotom ile -5 –40 derecede arasında çalışan soğutucu kabinin bir araya getirilmesi ile oluşturulmuş bir mikrotom çeşididir (Culling ve arkadaşları 1985).

Deneylerde kullanılan döner mikrotomun teknik özellikleri çizelge 5.1’ de verilmiştir.

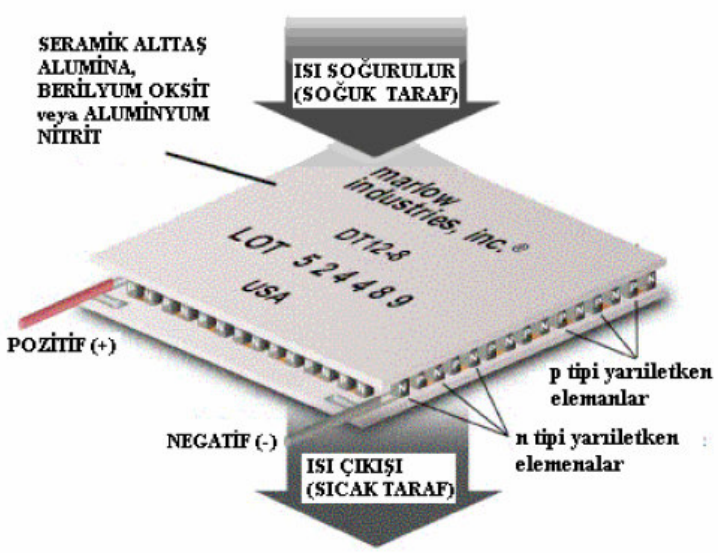
Çizelge 5.1. Deneyde kullanılan mikrotomun teknik özellikleri

Markası	Leica
Modeli	1512
Ağırlığı	29 k.g
Çalışma Prensibi	Elle
Çalışma Isı Aralığı	+10 ^{o}C +40 ^{o}C
Kesme Kalınlığı	0.5 – 60 μm
Kesebileceği Dokunun Genişliği	25mm
Kesebileceği Dokunun Boyu	59mm

5.1.2 Soğutucu termoelektrik modül

Herhangi bir termoelektrik cihazı oluşturan modülün temelinde bir termoelementmikromodül bulunmaktadır. Bir mikromodül iki seramik dilim arasına P ve N-tipi yarıiletken malzeme birbirine elektriksel olarak seri, termal olarak birbirine paralel olacak şekilde sıkıştırılarak monte edilirler. Bu tabakalar mekanik olarak bütün yapıyı bir arada tutmaya ve ayrı elementlerin elektriksel olarak birbirine ve dış bağlantı yüzeylerinden yalıtılmasına yardımcı olur. Bir modül içerisinde ortalama 100 adet termoelement-mikromodül bağlantısı içermektedir. Termoelektrik modül ortalama olarak, yüzey alanı 2,5 ile 50 mm^2 ye ve yüksekliği de 2,5 ile 5 mm arasında olmaktadır. Bu düzenleme elektrik akımlarının her N ve P-tipi elementlerinin alt ve üst tabak boyunca ileri ve geri hareket etmesiyle sıcaklığın soğutucu boyunca tek yönde hareket etmesine sebep olur. N-tipi malzeme elektron fazlalığına sahip (mükemmel bir moleküler kafes yapısı oluşturmak için ihtiyaç duyulandan fazla elektron) maddedir. P-tipi malzemede ise elektron eksikliğine

(mükemmel bir moleküler kafes yapısı oluşturmak için gerekli olandan daha az elektron) sahip bir maddedir. N-tipi malzemedeki fazla elektronlar ve P-tipi malzemedeki elektron eksikliği ile meydan gelen boşluklar, ısı enerjisini termoelektrik modül boyunca taşınır. Isı akımın aktığı yönde hareket eder. Akımın yönünün değiştirilmesiyle ısının akım yönü değişeceğinden sıcak olan yüzeyde soğuma, soğuk olan yüzeyde de ısınma olacaktır. Şekil 5.1'de şeması verilen termoelektrik modül üzerinden gösterilen yönde DC geçtiğinde bir yüzeyden Peltier ısısı açığa çıkmakta diğer yüzeyden ise ısı emilmektedir. Tek aşamalı termoelektrik akım olayında yüzeyler arasındaki sıcaklık farkı 70°C ye kadar çıkmaktadır. Başka bir deyişle bu 125 Watt lık ısı transfer oranı demektir (yandaki şekle bakınız). Daha büyük sıcaklık farkları için (örneğin 131ºC) malzemeler çok katlı olarak birbirine bağlanabilir. Isı transfer hızını artırmak için ise modüller yan yana bağlanabilir.



Şekil 5.1. Peltier etkisinin ortaya çıkması.

5.1.3 Sıcaklık kontrol yöntemi ve devresi

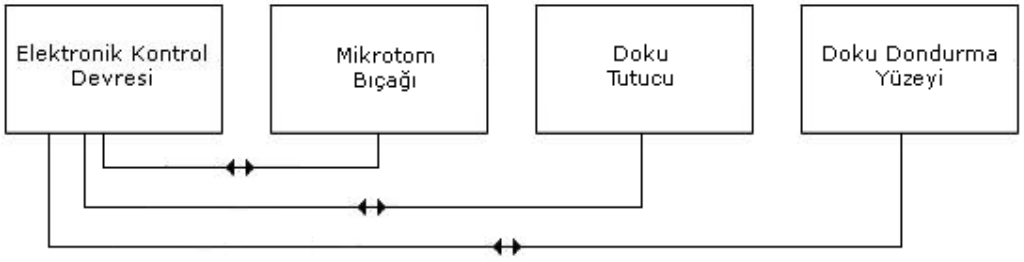
Sıcaklık kontrolde birçok kontrol yöntemleri kullanılmaktadır. İdeal bir kontrol yöntemi, sıcaklığı kontrol edecek bir otomatik kontrol döngüsünde kontrol edici blok yerine yerleştirilecek her hangi bir kontrol cihazı set değeri etrafında

çalışması gereken hassasiyette sistemi kontrol etmelidir (Benjamin 1984). Prosesin gerektirdiği hassasiyette çalışacak, hatayı gereken oranda en aza indirecek çeşitli kontrol formları vardır. Bunlar;

1) Açık kapalı (on-of) kontrol
2) Oransal Kontrol (P)
3) Oransal + Integral kontrol (P+I)
4) Oransal + Türevsel kontrol (P+D)
5) Oransal + Integral + Türevsel kontrol (P + I + D)
6) Zaman – Oransal (time – proportional) kontrol formlarıdır.

Tasarlanıp gerçekleştirilen sistemde bu yöntemlerden oransal kontrol yöntemi kullanılmıştır.

Oransal kontrol, cihaza prosesin talep ettiği enerjiyi sürekli olarak ayar değişkenini ayarlayarak verir (Benjamin 1984). Gereksinim duyulan enerji ile sunulan enerji arasında bir denge vardır. Elektrik enerjisi kullanarak ısıtma yapan bir proseste, oransal kontrol cihazı, elektrik enerjisini prosesisin sıcaklığını set edilen değerde tutabilecek kadar, prosesin gereksinim duyduğu kadar verir (Işık 2002).

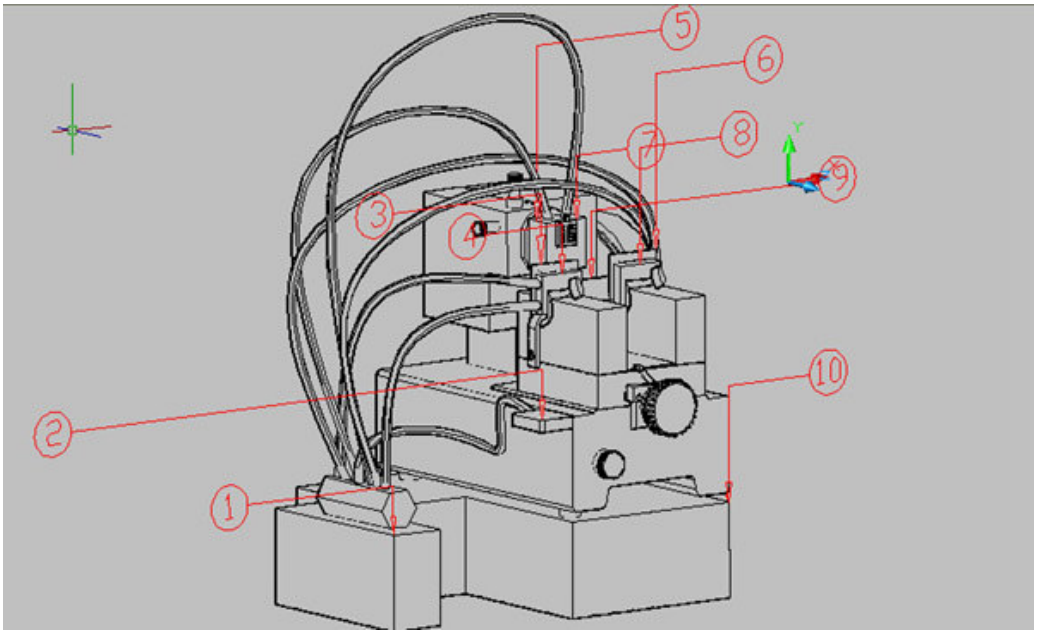


Şekil 5.2. Elektronik sıcaklık kontrol devresinin şematik gösterimi

Bu blok gösterimin ayrıntılı elektronik devresi EK-1' de verilmiştir.

5.2. Metot

Lecia marka 1512 model döner mikrotom temin edilerek bu cihaz üzerinde öncelikle gerekli düzenlemeler yapılarak deneylerin yapımı için uygun koşullar sağlanmıştır. Şekil 5.3'te tasarlanan sistemin teknik resmi görülmektedir. Bu resim üzerinde açıklanması gerekli yerler numaralandırılmıştır. Bu numaralandırılmış kısımlara kısaca bir göz atalım.



Şekil 5.3. Tasarlanan sistemin teknik resim gösterimi

Tasarlanan sistemde 1 nolu kısım; su çevrim sisteminde borular içinde dolanan ve sistemin soğumasına yardımcı olan suyun soğutulduğu fan kısmıdır. Sistemde dolaşan su termoelektrik modüllerin ısınan kısımlarındaki ısıyı alarak sistemin daha fazla soğuyabilmesini sağlamaktadır. Isınan su borular ve pompa yardımıyla 1 nolu kısma gelmekte buradaki fan yardmıyla soğutularak tekrar depoya gönderilmektedir.

Şekildeki 2 nolu kısım; dokunun ilk olarak getirilip dondurulduğu doku dondurma kabinidir. Bu kısımda çift katlı termoelektrik modül ve bunun soğumasına yardımcı soğutma plakası bulunmaktadır.

Şekildeki 3 nolu kısım; bıçağın sol tarafına yerleştirilmiş olan termoelektrik modüldür. Bıçak bu modül sayesinde soğultulmaktadır.

Şekildeki 4 nolu kısım; 3 nolu kısmın soğumasına yardımcı olan soğutma plakasıdır.

Şekildeki 5 nolu kısım; doku tutucu kısmın arkasındaki soğutma plakasını göstermektedir.

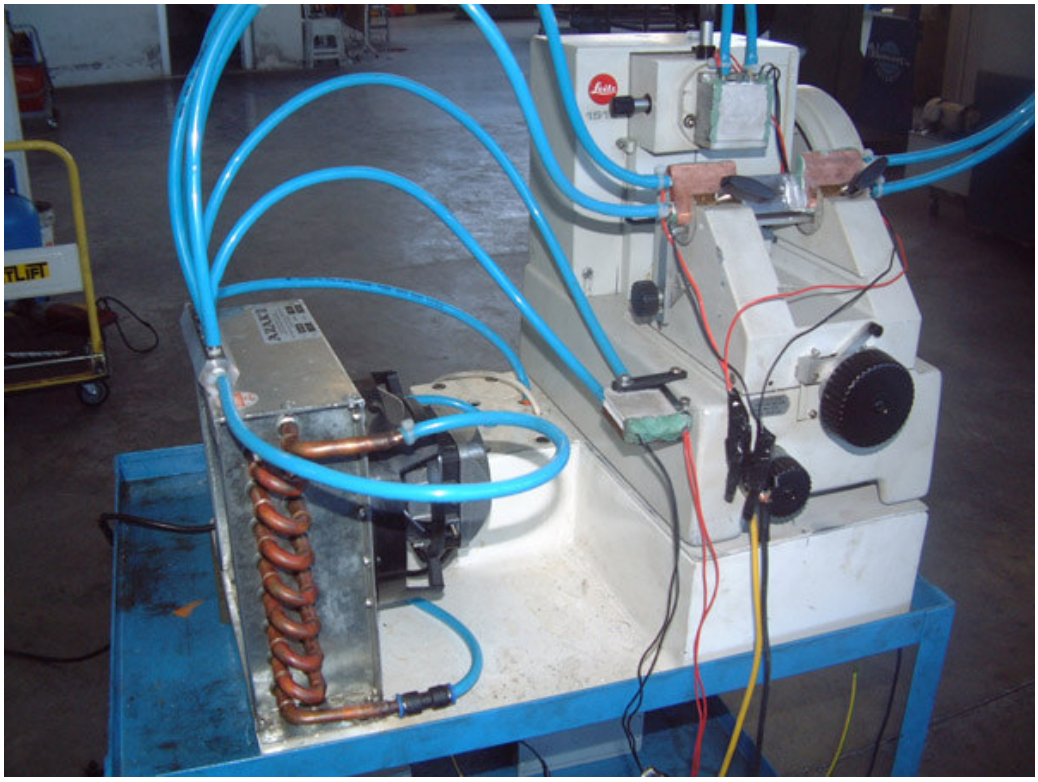
Şekildeki 6 nolu kısım; bıçağın sağ tarafına yerleştirilmiş olan termoelektrik modüldür. Bıçak bu modül yardımıyla soğultulmaktadır.

Şekildeki 7 nolu kısım; doku tutucu kısımdaki termoelektrik modüllerdir. Burada üst üste yerleştirilmiş iki adet termoelektrik modül bulunmaktadır. Bu modüller kesilmek üzere buraya yerleştirilen donmuş dokunun erimemesi ve ısısını muhafaza edebilmesi için yerleştirilmişlerdir.

Şekildeki 8 nolu kısım; 6 nolu kısmın soğumasına yardımcı olan soğutma plakasıdır.

Şekildeki 9 nolu kısım; bu kısım mikrotom bıçağıdır. İki yanına yerleştirilen termoelektrik modüller ve soğutma plakaları sayesinde soğutulmaktadır. Bıçak yeteri derecede soğultmadığı takdirde kesit alınamaz. Donmuş dokudan alınan küçük parçalar, bıçak soğutulamadığı taktirde bıçağa yapışırlar buda istenmeyen bir durumdur.

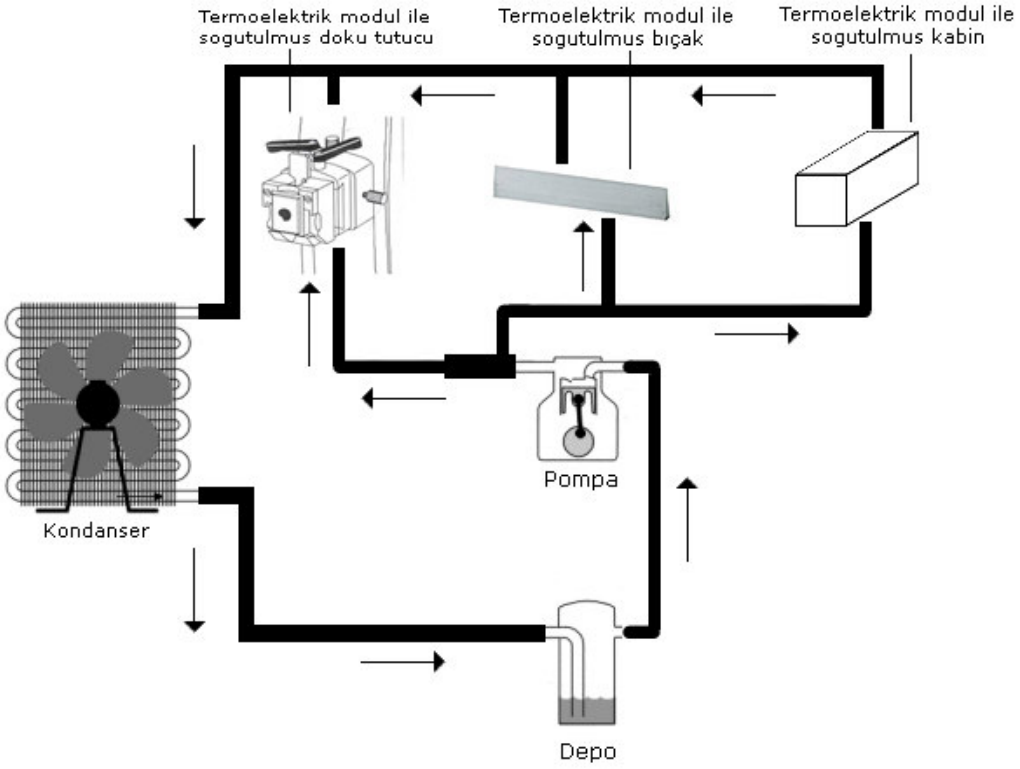
Şekildeki 10 nolu kısım; bu kısımda soğumaya yardımcı olan su depolanmaktadır.



Şekil 5.4. Tasarlanan sistemin görüntüsü

5.2.1. Tasarlanan su çevrim sistemi

Tasarlanan su çevrim sistemi şematik gösterimi şekil 5.2' de verilmiştir. Bölüm 4.3' te termoelektrik modüllerinden yapısından bahsedilmiştir. Hatırlanacağı üzere termoelektrik modülün bir yüzeyi ısınmakta diğer yüzey ise soğumaktadır. Tasarlanan bu sistemde soğutma plakaları termoelektrik modülün ısınan yüzeyine yerleştirilmiştir. Bu sayede su borular yardımıyla soğutma plakalarının içerisinden geçerek termoelektrik modüllerde meydana gelen ısıyı absorbe etmektedir. Böylece soğutulmak istenen kısım termoelektrik modül yardımıyla daha düşük sıcaklıklara indirgenebilmektedir.

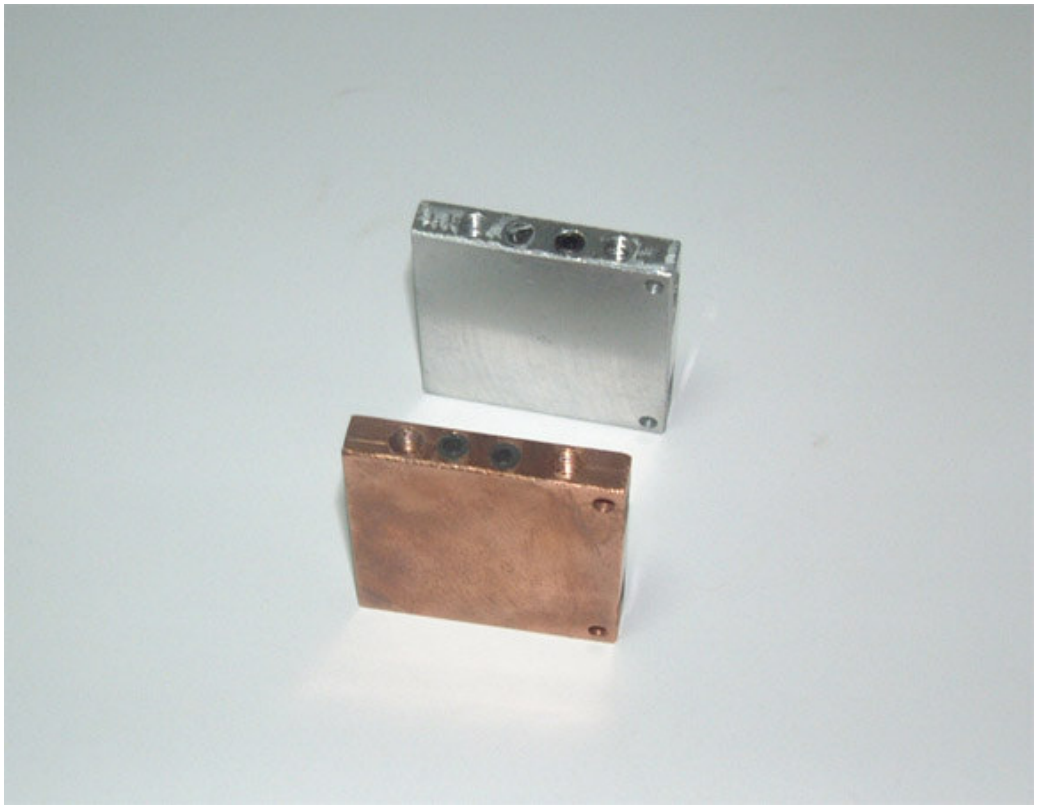


Şekil 5.5. Tasarlanan su çevrim sisteminin şematik gösterimi

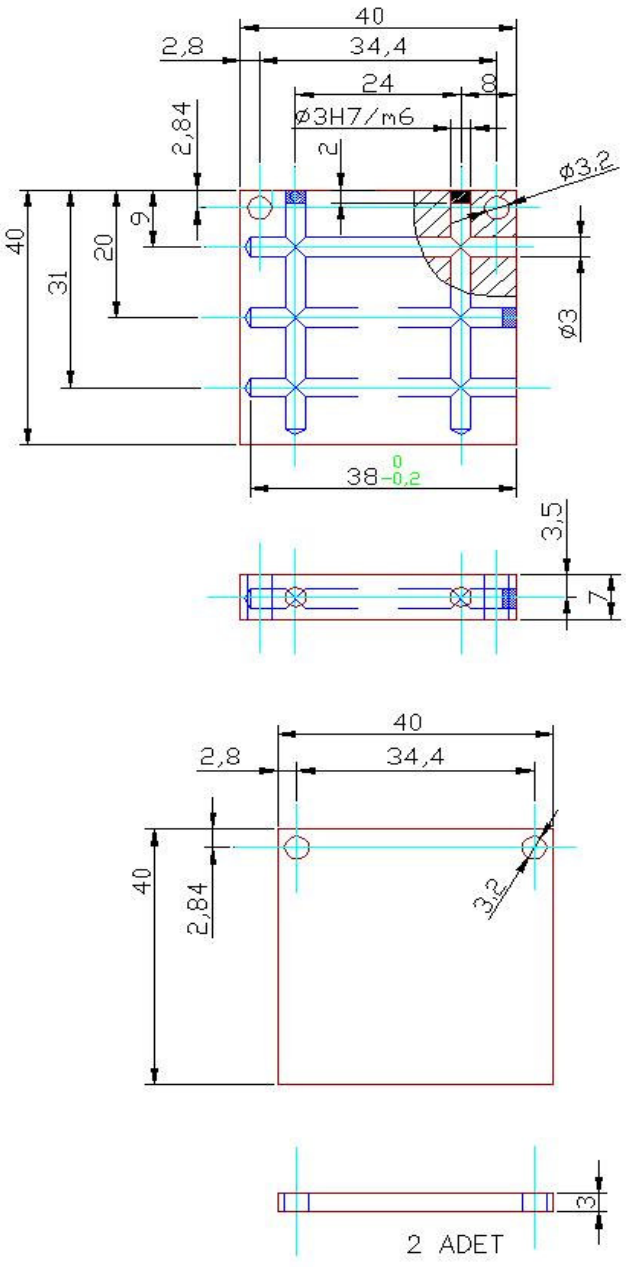
5.2.2. Tasarlanan soğutma plakası

Tasarlanan bu plaka doku tutucuya, mikrotom bıçağına ve doku dondurma yüzeyine yerleştirilen termoelektrik modülün ısınan kısımlarına monte edilmiştir. Bu plakalar içerisinden su geçmektedir. Depodan çıkan su önce pompaya oradan da doku tutucuya, bıçağa ve doku dondurma yüzeyine monte edilen soğutma plakalarına ulaşmaktadır. Orada soğutmaya yardımcı olarak ısınan su kondanserde tekrar soğutularak depoya gönderilir.

Bu plaka C.N.C tezgâhında tasarlanarak alüminyum ve bakır maddesinden imal edilmiştir. Genellikle sistemde bakır olanlar kullanılmıştır. Ayrıca çıkışlarına boru eklenmiştir. Boyutları ve görüntüsü şekil 5.4' te verilmiştir.



Şekil 5.6. Tasarlanan soğutma plakaları

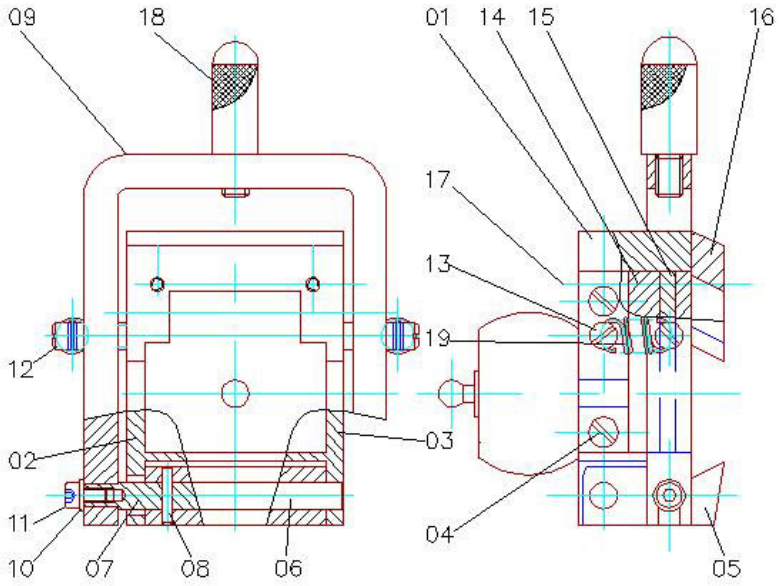


Şekil 5.7. Tasarlanan soğutma plakasının şeması

5.2.3 Tasarlanan doku tutucu

Standart mikrotomlardaki doku tutucular çelikten yapılmışlardır. Parafin bloğun doku tutucuya sığacağı şekilde tasarlanırlar. Yaklaşık olarak standart doku tutucuların ebatı 50x55 mm civarındadır.

Kendi tasarımımız olan doku tutucunun şekli şekil 5.7.' de verilmiştir. Bu tasarımda ana madde olarak plastik kullanılmıştır. Plastik kullanılmasındaki amaç ısının doku tutucu ile mikrotom gövdesi arasında yalıtımı sağlamaktır.Ayrıca bu mikrotomda parafin blok kullanılmayacağı için, doku tutucunun uç kısmı oraya küçük bir demir plaka sığacak şekilde tasarlanmıştır.



Şekil 5.8. Tasarlanan doku tutucunun şematik gösterimi



Şekil 5.9. Tasarlanan doku tutucu

5.2.4. Tasarlanan doku dondurma yüzeyi

Bu yüzeyin tasarlanma amacı dokunun kesmeye hazır hale gelinceye kadar soğutulmasıdır. Bu amaçla öncelikle bu yüzeyin alt kısmına termoelektrik modül eklenmiştir. Ayrıca bu modülün ısınan yüzeyine soğutma plakası monte edilmiştir. Bu plakalar içerisinden su geçmektedir. Bu su geçişi sayesinde termoelektrik modül daha fazla soğutma yapabilmektedir.

Maşa üzerine yerleştirilen doku parçası doku dondurma yüzeyinin üzerine yerleştirilir. Burada kesmeye hazır hale gelen doku parçası buradan hızla alınarak doku tutucuya yerleştirilir.

5.2.5 Kondanser, pompa ve borular

Bu sistemin tasarlanmasının sebebi soğutmaya yardımcı olmasıdır. Depo kısmında tutulan su pompa 3 mm çapındaki borulardan geçerek pompa yardımıyla

soğutulan kısımlara iletilir. Buralarda oluşan ısıyı alan su kondansere iletilir burada fan yardımıyla tekrar soğutularak depoya gönderilir.

5.2.6 Deneyde kullanılan ölçü aleti K/J termometre

Sıcaklık ölçümlerinde sıcaklık sensörü olarak K tipi termokupul ve K/J tipi termokupullarla ölçüm yapabilen termometre kullanılmıştır. K/J termometrenin teknik özellikleri çizelge 5.2'de verilmiştir.

Çizelge 5.2. K/J Termometre teknik özellikleri

Cihaz Türü	CHY 503 K/J Termometre
Fiziksel Özellikler	192mm x 91mm x 52.5mm
Ağırlık	365 g.
Ortam Şartları	-20 ^{o}C ile +60 ^{o}C arasında sıcaklıklarda
Çalışma Ortam Sıcaklığı	0 ^{o}C ile +50 ^{o}C arasında
Çalışma Aralığı	Sürekli
Besleme Voltajı	9 V Pil
Termokupul Giriş Tipleri	59mm
Kararlılık	0.1 ^{o}C veya 0.2 ^{o}F
Doğruluk	± (0.3 ^{o}C) – 50 ^{o}C ile 1370 ^{o}C arasında
Okuma Sıklığı	Saniyede 1 okuma
Gösterge	4 ½ dijit LCD gösterge

6.GERÇEKLEŞTİRİLEN SİSTEMİN PERFORMANS ANALİZİ

Deneyler Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, patoloji ana bilim dalı, patoloji laboratuarında yapılmıştır.

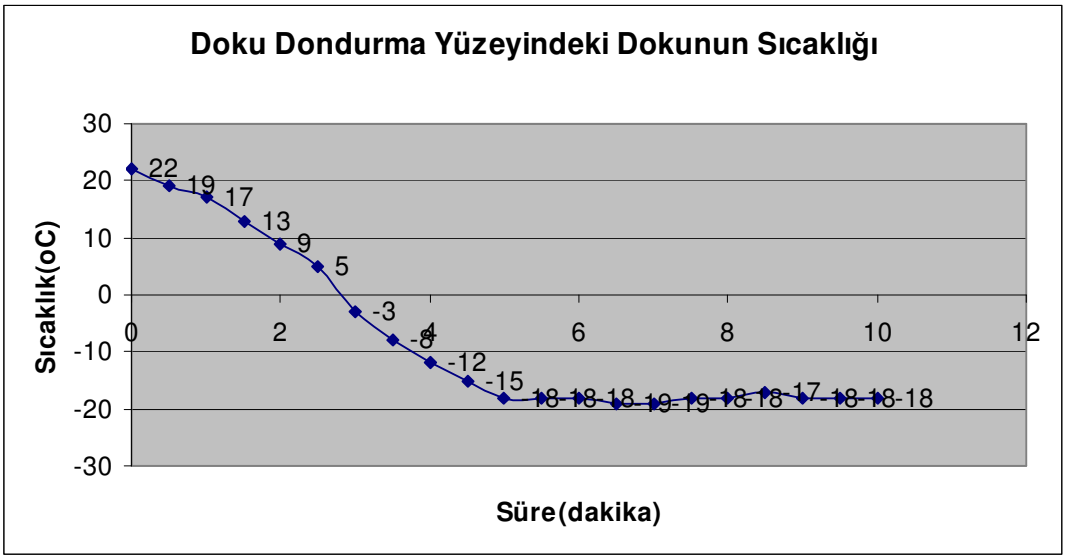
Deneyin yapılışı; kesit alınmak istenen doku parçası öncelikle doku dondurma yüzeyinde katı hale gelinceye kadar bekletilmektedir. Çünkü yumuşak dokudan kesit almak mümkün değildir. Bu işlem sırasında bir taraftan da bıçak ve doku tutucu soğutulmaktadır. Doku tutucuya aktarılan doku bir anda çözülmesin diye böyle bir gereksinim doğmuştur. Benzer sebepten dolayı kesme işleminde yani doku bıçağa temas ettiğinde yine erime, çözülme ya da yapışma olmaması için bıçakta soğutulmaktadır. Mikrotomdan kesilmek istenen kalınlık ayarlanır. Mikrotomun yan kısmında bulunan kol yardımıyla doku tutucu kafa yukarı aşağı hareket eder. Her harekette doku tutucu kafa mikrotom bıçağına biraz daha yaklaşır. Daha sonra kesit alma işlemi sırasıyla gerçekleştirilir.

Çizelge 6.1'de bu deneyden elde edilen veriler gösterilmektedir.

Çizelge 6.1. Deney sırasında alınan veriler

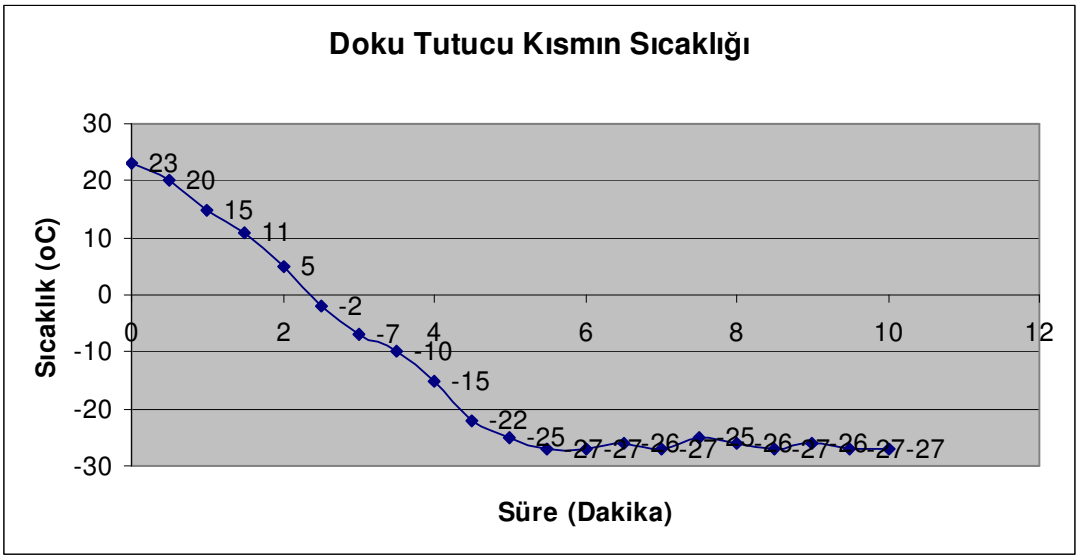
Süre (dakika)	**Doku Dondurma Yüzeyindeki Doku Sıcaklığı** (^oC)	**Doku Tutucu Kısmın Sıcaklığı** (^oC)	**Bıçağın Sıcaklığı** (^oC)
0	22	23	21
0.5	19	20	19
1	17	15	18
1,5	13	11	15
2	9	5	12
2,5	5	-2	7
3	-3	-7	-1
3,5	-8	-10	-6
4	-12	-15	-10
4,5	-15	-22	-13
5	-18	-25	-17
5,5	-18	-27	-20
6	-18	-27	-22
6,5	-19	-27	-22
7	-19	-26	-23
7,5	-18	-27	-22
8	-18	-25	-21
8,5	-17	-26	-22
9	-18	-27	-23
9,5	-18	-27	-23
10	-18	-27	-23

İlk deneyimizdeki verileri doku dondurma yüzeyindeki bir doku üzerinden elde ettik. Buradan elde ettiğimiz deney sonuçları ve eğrileri EK-2'de görülmektedir.



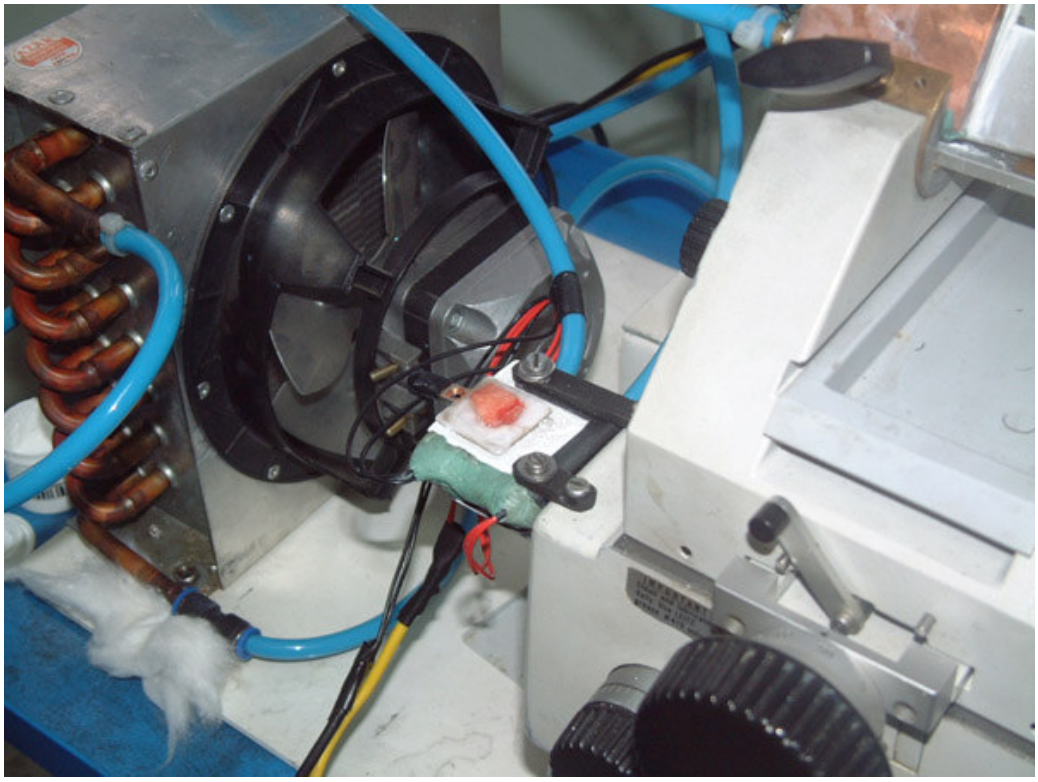
Şekil 6.1 Doku dondurma yüzeyindeki dokunun deney eğrileri.

Şekil 6.1' de doku dondurma yüzeyindeki deney sonuçlarına göre çizilmiş deney eğrileri görülmektedir. İlk sıcaklığı 22 ^{o}C olan doku yaklaşık 6 dakika içerisinde -18 ^{o}C'ye ulaştığı ve kesime hazır hale geldiği görülmektedir. Kesime hazır hale gelen doku parçası maşa yardımıyla doku dondurma yüzeyinden alınarak hızla doku tutucuya aktarılmıştır.

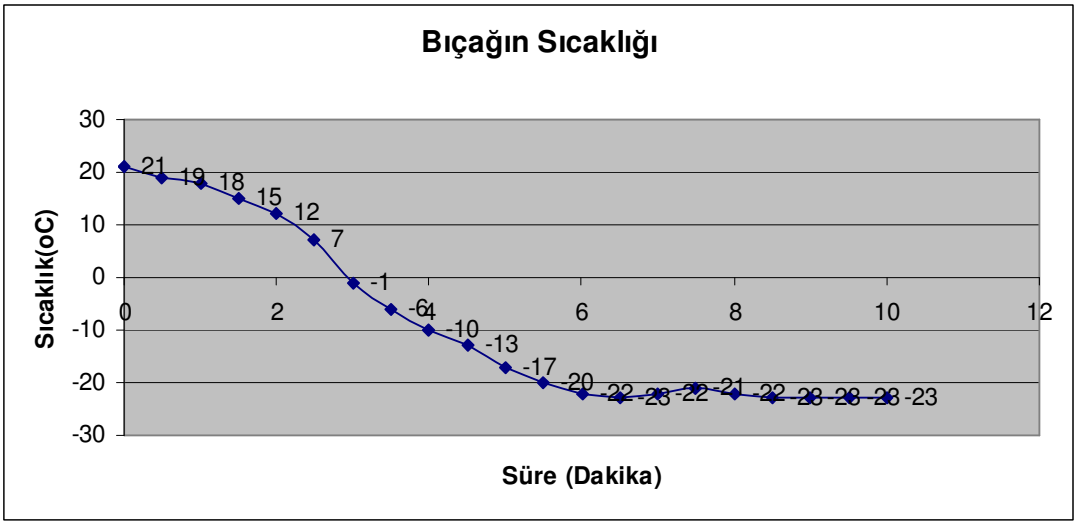


Şekil 6.2. Doku tutucuya yerleştirilen doku parçası deney eğrileri

Şekil 6.2' de Mikrotomun doku tutucu kısmının sıcaklık - zaman eğrisi görülmektedir. Buradan elde ettiğimiz deney sonuçları ve eğrileri EK-3'te görülmektedir. Doku dondurma yüzeyinden maşa yardımıyla alınan doku, hızla doku tutucuya yerleştirilmelidir. İlk sıcaklığı 23 ^{o}C olan doku tutucu grafikte de görüldüğü üzere yaklaşık 6 dakikada -27 ^{o}C ye ulaştığı görülmektedir. Doku tutucunun sıcaklığı doku dondurma yüzeyindeki sıcaklıktan yüksek olması takdirde, doku tutucu kısma yerleştirilen dokuda erime meydana gelecek bu da kesme işlemini zorlaştıracak hatta imkânsız hale getirecektir.

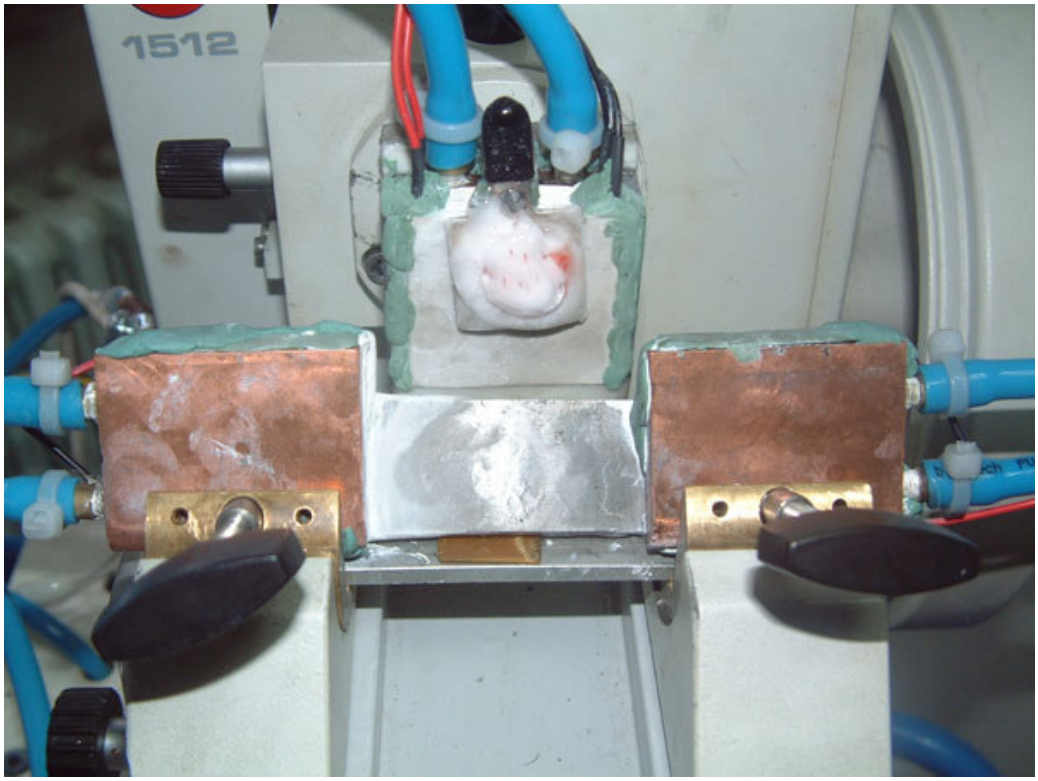


Şekil 6.3 Doku dondurma yüzeyine yerleştirilen doku



Şekil 6.4 Mikrotom bıçak yüzeyinin deney eğrileri.

Şekil 6.4' te Mikrotom bıçağının sıcaklık-zaman eğrileri görülmektedir. Buradan elde ettiğimiz deney sonuçları ve eğrileri EK-4'te görülmektedir. İlk sıcaklığı 21 ^{o}C olan bıçak yaklaşık 6 dakika içerisinde -22 ^{o}C ye ulaşmaktadır.



Şekil 6.5 Doku tutucu kısma yerleştirilmiş kesilmeye hazır doku

Tespit işlemi yapılmamış doku doku dondurucu kısımda -18 ^{o}C ye getirilerek dondurulduu. Buradaki donmuş doku hızla maşa yardımıyla alınarak doku tutuca kısma yerleştirildi. Bu kısmın sıcaklığı yaklaşık -27 ^{o}C dir. -23 ^{o}C deki bıçak yardımıyla 5-20 mikronluk kesitler hazırlanarak soğutulmuş bıçak üzerinden lam üzerine yerleştirildi.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mikrotomlar histopatolojik inceleme yapmak üzere dokulardan ya da organlardan kesitler almaya yarayan cihazlardır. Bu çalışmada mikrotom çeşitleri, cryotomlar, kesit alma yöntemleri ve termoelektrik etkiler konuları genel olarak incelenmiştir. Dokulardan parafinleme metodu ile kesit alma yerine, hızlı bir şekilde dondurularak kesit almaya hazır hale getirilmesi ve kesitler alınmasını sağlayan sistem tasarlanmıştır. Daha sonra tasarlanan bu sistemin performans analizleri yapılmıştır.

Mikrotomu kullanacak kişilerin ihtiyacı, kullanım kolaylığı, zamandan tasarruf ve yapılan performans analizleri dikkate alındığında sistemin iyi bir performans sergilediği görülmüştür.

Sistemde dokunun hızlı dondurulması için doku dondurma yüzeyi tasarlanmıştır. Bu kabinin içerisine termoelektrik modül yerleştirilmiştir. Benzer şekilde mikrotom bıçağı ve doku tutucu kısımlarda termoelektrik modül yardımıyla soğutulmuştur.

Doku dondurma yüzeyindeki, bıçaktaki ve doku tutucunun sıcaklıklarının belli bir seviyede tutulabilmesi amacıyla hepsi için ayrı birer ısı kontrol devresi tasarlanmıştır.

Tasarlanan sistemde kullanılan soğutma sistemine yardımcı olması ve sıcaklığın istenilen seviyede tutulabilmesi amacıyla kondanser ve pompa yardımıyla tüm soğutulan kısımlarda su dolaşımı sağlanmıştır. Bu su dolaşımı sayesinde sistemin istenin sıcaklıkta tutulması kolaylaşmıştır.

Patoloji laboratuarlarında kullanılan ve parafin metodu ile çalışan mikrotomlar, parafinleme işleminin uzun sürmesinden dolayı acil sonuç gerektiren durumlar için elverişli değildirler. Acil sonuç gerektiren durumlar için tasarlanmış olan cryotomlar ise mikrotomlara oranla hem çok pahalı hem de büyüklüklerinden dolayı hareket kısıtlılıkları vardır. Tasarlanan bu sistem tüm bu olumsuzlukları ortadan kaldırmaktadır. Yine bu sistem hem acil sonuç gerektiren durumlarda kullanılabilmekte hem de hareket kolaylığı sayesinde istenilen yere cryotoma oranla çok daha kolay taşınabilmektedir.

Günümüzde bir cryotom 50.000 YTL civarındadır, bir döner mikrotom 20.000 YTL ancak bu tez çalışmasında tasarlanan ve prototipi gerçekleştirilen bu cihaz 10.000 YTL'ye mal edilmektedir.

Günümüzde patoloji laboratuarlarında bulunan ve parafin metodu kullanarak çalışan birçok mikrotom bu tez çalışmasında anlatılan yöntem sayesinde daha verimli kullanılabilir ve çok az bir maliyetle bu cihazlara cryotom özelliği kazandırılabilir. Böylece patoloji laboratuarlarında eski model ya da atıl vaziyette bulunan birçok mikrotoma cryotom özelliği kazandırılabilir dolayısı ile ülke ekonomisine milyonlarca Yeni Türk Lirası katkı sağlanabilir.

8. KAYNAKLAR

Akay, M.T. 2000. Genel Histoloji Hücre ve Dokular. Palme Yayın Dağıtım. İstanbul.

Bancroft, John. D. 1977. The Theory and Practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone, London.

Benjamin, C.K., 1984. Automatic Control Systems, Prentice – Hall Inc., U.S.A

Boylestad R., Louis N. 2000. Elektronik Elemanlar ve Devre Teorisi Milli Eğitim Basımevi, İstanbul.

Canda, M.Ş. 1986. Patolojiye Giriş Hatipoğlu Yayınevi, İstanbul.

http://chem.ch.huji.ac.il/~eugeniik/history/seebeck.html (Nisan 2006)

Cireli, E.1976. Genel Histoloji Hücre ve Dokular, Ege Üniversitesi, İzmir.

Culling, C.F.A., Allison, R.T., Barr, W.T. 1985. Cellular Pathology Technique, Butterworths & Co. L.t.d., London

Rowe, D.M 1995. CRC Handbook of Thermoelectrics, London.

http://www.electracool.com (Mart 2006)

Ellis, R.C. 1994. Laboratory Histopathology: A Complete Reference, Churchill Livingstone, London.

Erbengi, T. 1994. Histoloji Atlası**,** Beta Basım Yayın Dağıtım, İstanbul.

G. Jeffrey Snyder, James R. Lim, Chen-Kuo Huang, and Jean-Pierre Fleurial, 2003. Thermoelectric microdevice fabricated by a MEMS-like electrochemical process, California.

Holland, J. 2001. Cutting It Fine- Microtomes from the Collection, Antiques in New South Wales, Sydney.

http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/hframe.html (Nisan 2006)

Işık H., 2002. Mikrodenetleyicili, Sıcaklık Kontrollu AMGK Sisteminin Tasarımı, Gerçekleştirilmesi ve Termoelektrik Sistemlere Uygulanması, Gazi Üniversitesi Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Ankara

Instruction Manuel V 2.0 of Leica RM 2125, 2003. Leica Microsystem Nussloch GmbH, Nussloch, Germany

http://www.its.caltech.edu/~jsnyder/thermoelectrics/science_page.htm (Nisan 2006)

J. J. Sharp, H. J. Goldsmid, George Nolas, Julian Goldsmid. 2001.

J.R. Lim, G.J. Snyder, C.-K. Huang, J.A. Herman, M.A. Ryan and J.-P. Fleurial, 2002. Thermoelectric Microdevice Fabrication Process and Evaluation at the Jet PropulsionLaboratory (JPL). p. 535. Twentyfirst International Conference on Thermoelectrics, California.

Ozban, N. 1994. Mikropreparasyon Yöntemleri, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.

http://www.polarpowerinc.com/products/refrigerator/ref-tech-overview.htm (Nisan 2006)

Soylu, R., 1996. Histoloji Laboratuvarı Özel Histoloji Mikroskopi Çalışmaları , Uygulama Kılavuzu, Selçuk Üniversitesi, Konya.

Terry M. Tritt ,G. Mahan, M. G.Kanatzidis, G. S. Nolas , D. Mandrus. 2001. Thermoelectric Materials 2000: The Next Generation Materials for Small-Scale Refrigeration and Power Generation Vol 626. Material Research Society. California

Terry M. Tritt, G.Mahan, H.B. Lyon, M.G. Kanatzidis. 1997. Thermoelectric Materials-New Directions & Approaches, California.

Türköz, M.S. 1998. Temel Elektronik, Birsen Yayınevi, İstanbul.

http://www.websitea.com/mai/teca/ (Nisan 2006)

Yağımlı, M., Akar, M. 2001. Elektro Teknik-II, Beta Yayınevi, İstanbul.