T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İNSAN TERİNDEN PH VE LAKTAT ANALİZİ YAPAN AKILLI TELEFON TABANLI TANI SİSTEMİ TASARIMI

Enes ARI

ELEKTRİK ELEKTRONİK MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2020

Dr. Öğr. Üyesi Hasan GÖKTAŞ danışmanlığında Enes ARI'nın hazırladığı "**İnsan terinden ph ve laktat analizi yapan akıllı telefon tabanlı tanı sistemi tasarımı**" konulu bu çalışma 17/06/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Elektrik Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Hasan GÖKTAŞ

Üye : Prof. Dr. Tahir GÜLLÜOĞLU

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ömer IŞIK

Bu Tezin Elektrik Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Doç. Dr. İsmail HİLALİ
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
1. GİRİŞ 1
1.1. Kolorimetrik Analiz İçin Akıllı Telefon 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 2
2.1. Renklerin Ölçülmesi 2
2.2. Dijital Renkli Görüntüleme 3
2.2.1. Görüntü yakalama 4
2.3. Sinyal İşleme 5
2.3.1. Demosaicing ve bit derinliği 6
2.3.2. Beyaz dengesi 7
2.3.3. sRGB renk uzayı 8
2.3.4. Gama düzenlemesi 9
2.3.5. Görüntülerin sıkıştırılması ve dosyaların formatları 10
2.4. Enzim Aktivitesinin Kolorimetrik Analizi 11
2.5. Yapılan Sistemin Tanımı ve Testler 13
3. MATERYAL ve YÖNTEM 15
3.1. PH ve Laktat Numunelerinin Yapılması 17
3.2. Görüntü Yakalamak İçin IOS Kamera Uygulaması 17
3.3. Gri Renk Testi 19
3.3.1. Gama kodlaması 19
3.3.2. Işık kaynağının etkisinin absorbe edilmesi 20
3.4. Laktat ve Ph Aktivitesinin Hesaplanması 21
3.4.1. K değeri yaklaşığı 22
3.4.2. Renklendirmenin gerçekleşme zaman aralığı bulunması 24
3.4.3. Ph ve laktatın renk değişim ilişkileri 24
3.5. Yöntemin Değerlendirilmesi 24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 25
4.1. Gri Renk Testi 25
4.2. Görüntü Merkezinin Bulunması 27
4.3. K Değerinin Anlamlandırılması 27
4.4. Renk Değişimleri Ph ve Laktat Arasındaki İlişkiler 28
4.5. Bit Değerlerinin Skalaya Çevrilmiş Şekilleri 30
4.6. Yöntem Değerlendirme 31
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 32
KAYNAKLAR 33
ÖZGEÇMİŞ 37
EKLER 38

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İNSAN TERİNDEN PH VE LAKTAT ANALİZİNİ YAPAN AKILLI TELEFON TABANLI TANI SİSTEMİ TASARIMI

Enes ARI

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Elektrik Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hasan GÖKTAŞ
Yıl: 2020, Sayfa: 50

Teknolojinin ilerlemesi ile beraber sağlık uygulamaları da geliştirilmeye devam ediyor. Özellikle biyosensör teknolojisi son dönemlerde hızlı bir şekilde yükselmekte ve içyapılarında yüksek teknoloji barındırmaktadırlar. İlerleyen teknoloji ile yüksek hassasiyetli sensörler içeren akıllı telefonlarımız da tıbbi teşhis amaçlı kullanma potansiyeli taşımaktadır. Özellikle esnek ve elastik yapıda biyobelirteç geliştirilmesi bu sistemlerin kullanılabilirliğini arttırmaktadır. Görüntüleme sistemlerinde gerçek zamanlı izleme yapılabmekte ve vucüt fonksiyonları hakkında bilgi vermektedir. Geliştirilen bu sensörler invazif olmayan bir yapıya sahiptirler. Bilim insanları ter analizi için kolorimetrik, elektrokimyasal ve flüoresans yöntemleri geliştirmiştir. Yüksek hassasiyet avantajı sayesinde en popüler yöntem olarak elektrokimyasal yöntem gösterilmektedir. Yapılan bu yüksek lisans tezinde insan terinden numuneler alınarak ve bu numunelerin akıllı telefonlar için kolorimetrik bir ölçümleme yöntemini yapılabilmesi için akıllı bir sistem tasarlanmış ve geliştirilmiştir. Çalışmada kullanılan reaktifler, oluşturduğumuz enzim sistemi ile tepkimeye girip renk değişimi ve bu renk değişiminin süresi hakkında bize bilgi sağlamaktadır. Geliştirilen sistem ile bireylerin vücutlarından atılan terin pH ve laktat yoğunluğu analiz edilmektedir. Sistemimiz bu yöntemi akıllı hale getirmeyi hedeflemiştir. Kullanılan yöntemin akıllı telefon ile yapılabilmesi için aplikasyon geliştirilmiş ve telefona entegre edilmiştir. Bu aplikasyon ile renk, pozlama, ortam ışığı ayarlamaları, görüntü yakalama işlemleri yaptırılmıştır. Alınan görüntülerin analizi için MATLAB ortamında çalışma yapılarak değer hesaplamaları oluşturulmuştur. Çalışmamız kolorimetrik analizlerin sağlık uygulamalarını üzerinde olumlu sonuçlandığını ve kullanılabilirliğini ortaya koymuştur.

ANAHTAR KELİMELER: Laktat, pH, Kolorimetrik, Biyosensör, RGB

ABSTRACT

MSc Thesis

SMARTPHONE BASED DIAGNOSTIC SYSTEM DESIGN THAT MAKES PH AND LACTATE ANALYSIS FROM HUMAN SWEAT

Enes ARI

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Electrical and Electronic Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Hasan GÖKTAŞ
Year: 2020, Page: 50

With the advancement of technology, health practices continue to be developed. In particular, biosensor technology has been increasing rapidly in recent years and they have high technology in their internal structures. Our smartphones, which contain high-sensitivity sensors with advancing technology, also have the potential to use for medical diagnosis. Especially, the development of flexible and elastic biomarkers increases the usability of these systems. Real-time monitoring can be performed in imaging systems and information about body functions can be obtained. These developed sensors have a non-invasive structure. Scientists have developed colorimetric, electrochemical and fluorescence methods for sweat analysis. The electrochemical method is shown as the most popular method thanks to its high sensitivity advantage. In this master's thesis, samples were taken from human sweat and a smart system was designed and developed to make colorimetric measurements of these samples via smart phones. The reagents used in the study react with the enzyme system we created and provide information about the color change and the duration of this color change. The developed system analyzes the pH and lactate density of the sweat that is removed from the bodies of individuals. Our system aims to make this method smart. The application was developed and integrated into the phone so that the method used can be done with a smartphone. With this application, color, exposure, ambient light adjustments and image capture operations were made. For the analysis of the received images, value calculations were created by working in MATLAB environment. Our study has revealed that colorimetric analysis has positive results on health practices and the usability of this method.

KEY WORDS: Lactate, pH, Colorimetric, Biosensor, RGB

TEŞEKKÜR

Tez konusunun seçiminin sağlanmasında, uygulamasında ve çalışmamda yardımlarını esirgemeyen danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Hasan GÖKTAŞ'a, çalışmalarımda yardımcı olan değerli Cihan EFİL'e teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmam boyunca maddi ve manevi her türlü desteği sağlayan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Reflektans ve güç dağılımının renk uyarımı hesaplaması (Madden ve Giorgianni, 2007) 3
Şekil 2.2. Kamera ve renk uyarıcısının tepkisi ve kanallara gelen sinyaller (Madden ve Giorgianna, 2007) 5
Şekil 2.3. Bayer Filtresi - Gri görüntünün renklendirilmesi 6
Şekil 2.4. sRGB renk uzayı alanı 9
Şekil 2.5. Gama kodlamasının düzenlenme grafiği (Mertins, 2007) 10
Şekil 2.6. Enzimin katalize ettiği reaksiyonun zaman süreci (Schnell ve Maini, 1994). 13
Şekil 3.1. Iphone kamera uygulaması yapımının diagramı 18
Şekil 3.2. 0.1 lik artışlarla değişen ölçekleme 19
Şekil 3.3. Sıvı içindeki kabarcıklar ve bu kabarcıkların giderilmesi. 23
Şekil 4.1: pH Bit Değeri 26
Şekil 4.2. Laktat Bit Değeri 26
Şekil 4.3. Görüntü Ortalama 27
Şekil 4.4. Ölçülen Değerler 28
Şekil 4.5. pH Skalası 29
Şekil 4.6. Laktat Skalası 29
Şekil 4.7. Laktat Bit Değerleri 29
Şekil 4.8. pH Bit Değerleri 30
Şekil 4.9. Laktat Gri Renk Kodu 30
Şekil 4.10. pH Gri Renk Kodu 31

1. GİRİŞ

1.1. Kolorimetrik Analiz İçin Akıllı Telefon

Mobil sağlık uygulamaları son yıllarda pazarda sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Bu uygulamaların çoğu harici sensörler ya da kullanıcıların kişisel kullanımı ile girdikleri fiziksel verileri toplar ve analiz ederek sonuçları gösterir.

Kalp atışı (Poh ve ark., 2009), akciğer fonksiyonu (Larson ve ark., 2012), kalori artışı (Aguilar ve ark., 2014), fiziksel aktiviteler (Consolva ve ark., 2008) ve daha fazlası sensörler vasıtası ile takip edilip kullanıcıya sağlığı hakkında bilgi verir.

Yüksek hassasiyete sahip ve sağlıkla ilgili bilgileri kullanıcılara sunacak invazif olmayan biyobelirteçlerin gerçek zamanlı olarak izlenmesi ve takip edilmesi çokça istenmektedir (Yetisen ve ark., 2014). Bu sebeple de akıllı telefonlar sensörleri ile potansiyel olarak tanı aracı amaçlı kullanılabilirler. Kapsamlı laboratuvar ekipmanlarının yerine kullanılabilirler ve hızlı olmaları, kolaylık sağlamaları (Price, 2001) kullanma açısından önem taşımaktadır.

İdrar testi çubukları ve ELISA (Cheng ve ark., 2010) kitleri gibi birçok ürün kişilerin sağlıkları hakkında kolorimetrik analiz yaparak geri bildirim sağlar.

Akıllı telefon kameralarının kolorimetrik analizi doğru yapabilmesi için ortamın ışık ayarlarının kalibrasyonunun sağlanması gerekmektedir. Kameranın sonuçları yüksek kalitede görüntülemesi için optimizasyon çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bu tezin amacı, her bireyden alınan ya da alınabilecek her ter örnekleri için kolorimetrik analiz yaparak ter içeriğinde bulunan ph ve laktat maddelerinin varlığı hakkında bilgi edinmedir.

Elde edilen bu maddelerin varlığı da farklı parametreler ile birleştirilip bireye/bireylere bu değerleri doğrudan sağlayabilecek bir yazılım sistemi tasarlamak hedefler arasındadır.

Bu bilgilerin sağlanabilmesi için farklı ortam ışık değerlerini de içeren kantitatif kolorimetrik analiz gerçekleştirmektir.

Bunun için telefon aplikasyonuna entegre edilesi için görüntü analizlerinin yapılası gerekmektedir. Yapılan görüntü analizlerinden ortamın parlaklığı, ışık değerleri, madde miktar yoğunluklarına bağlı renk değişimleri, renk skalasının gerçek değerleri hesaplanmak istenmekte ve bu çalışmanın yapılabilmesi, hızlı ve stabil sonuç alınabilmesi için de MATLAB ortamında analizler yapılması hedeflenmektedir.

Gerçekleştirilecek bu analizlerin sonucunda ise pH ve laktat değerleri ile ilgili bilgilerin doğruluğu/netliği ile ilgili sağlamlaştırmalar yapılarak son kullanıcı için taşınabilir, kullanılabilir bir sistemin altyapısı tasarlanması planlanmaktadır.

2.1. Renklerin Ölçülmesi

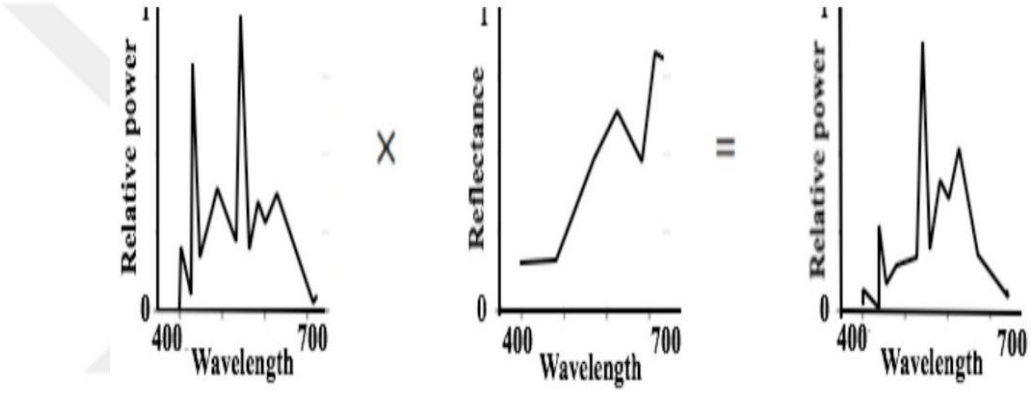
İnsan gözü tarafından algılanabilen yani görünür ışık aralığı dalga boyu 380 ve 800 nm arasında olan dalgadır.

Görünür ışık tarafında yüksek frekanslı ışık dalgaları mor görünürken, düşük frekanslı ışık dalgaları kırmızı görünür. Aradaki frekanslarda ise bu renkler turuncu, sarı, yeşil, mavi, lacivert şeklindedir.

Renk kavramı insan algısına bağlı olmadan ışığın fiziksel özelliklerine ait bir kavramdır. Referans ve standart olarak alacağımız ve özelleştireceğimiz sistemimizde RGB diye adlandırdığımız kırmızı, yeşil ve mavi renklerini alacağız.

Aldığımız bu renkler ve birleşimlerinden oluşan renk skalası da sayısal olarak nm boyutunda ölçümlenmiştir (Madden ve Giorgianni, 2007).

Görüntüler renk yoğunluklarını ve parlaklıkları hakkında bilgi sağlayacaktır. (Rebaza, 2012).



Şekil 2.1. Reflektans ve güç dağılımının renk uyarımı hesaplaması (Madden ve Giorgianni, 2007)

2.2. Dijital Renkli Görüntüleme

Dijital renkli görüntüleme sistemin temelini oluşturmaktadır. Fiziksel dünyada insanın gözle görebildiği renk aralığının dijital ortama aktarılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla RGB sistemler üzerinden görülebilir renk aralığı yoğunluklarına ve yansıttıkları değerlere göre dijital olarak karakterize edilmek durumundadır.

2.2.1. Görüntü yakalama

Dijital renkli görüntülemenin arkasında bulunan teknik Thomas Young'un sunduğu trikromatik renk teorisine dayanmaktadır. Gözün uzun, orta ve kısa dalga boyunu ayırt eden üç tip fotoreseptörden oluştuğunu iddia emiştir.

Yapılan deneylerde üç ana rengin karıştırılması ile renklerin çoğaltılabileceği gösterilmiştir (Ohta ve Robertson, 2006).

Çoğu akıllı telefon kamerası CMOS sensörlerini kullanır (Frederick, 2013). Kullanılan bu CMOS sensörleri ne kadar gelişmiş ise sonuçlar o kadar doğruluk göstermektedir. Çünkü fotoğraf detektörleri algılanan foton sayısına orantılı olarak bir sinyal üretir.

Kullanılan fotoğraf detektörlerinde bulunan filtreler sadece ilgili olan fotonlarla etkileşime geçerler. Genel olarak kullanılan filtre modeli Bayer modelidir.

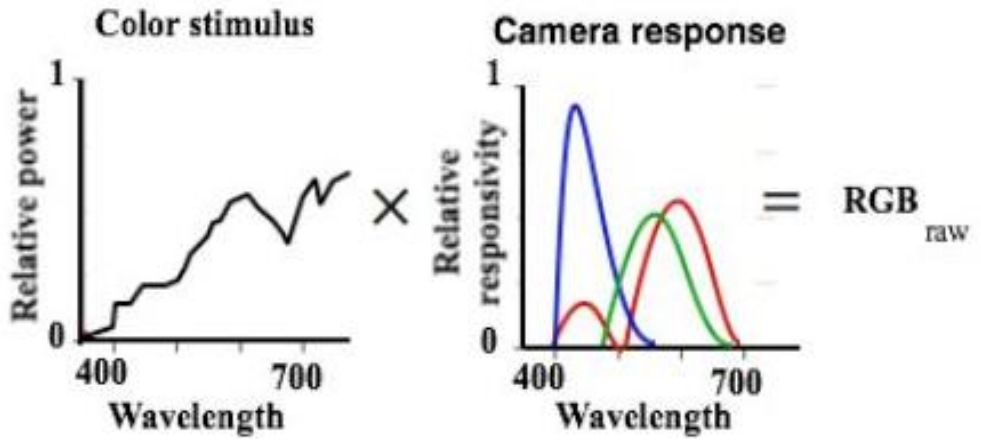
Bu modelde yeşil filtre fazla kullanılmaktadır. Bunun sebebi ise insan gözünü taklit etme prensibine dayanmaktadır. Görüntü sensörünün spektral duyarlılığı yeşil ışığa karşı hassastır (Madden ve Giorgianni, 2007). Matematiksel olarak ifade edilmiş şekli aşağıdadır.

$$R = k \sum_{\lambda} S(\lambda) R(\lambda) r(\lambda) \tag{2.1}$$

$$G = k \sum_{\lambda} S(\lambda) R(\lambda) g(\lambda) \tag{2.2}$$

$$B = k \sum_{\lambda} S(\lambda) R(\lambda) b(\lambda) \tag{2.3}$$

R, G, B işlenmemiş sinyaller. $S(\lambda)$ ışık kaynağının spektral dağılımı, $r(\lambda) - R(\lambda)$ nin yansımasıdır, $g(\lambda)$ ve $b(\lambda)$ görüntü sensörünün spektral duyarlılığıdır. k normalizasyon için kullanılır(Madden ve Giorgianni, 2007).



Şekil 2.2. Kamera ve renk uyarıcısının tepkisi ve kanallara gelen sinyaller (Madden ve Giorgianna, 2007)

2.3. Sinyal İşleme

Sinyal işleme donanım özellikleri açısından önemli bir yer tutmaktadır. Gelişmiş bir donanım ile daha net görüntüler yakalayıp analiz etmek daha kolay ve sağlıklı olacaktır.

Odaklanma, pozlama, beyaz dengesi, sıkıştırma teknikleri bu sürecin parçalarıdır. Her pikselin piksel değerini belirleyen R, G, B değerleri mevcuttur.

Bununla birlikte bu sinyaller birkaç sinyal işleme basamağından geçerler. Kaydedilen formatlarda piksel değerleri değişiklik göstermektedir.

Ham görüntü dosyası ile jpeg formatında kaydedilen piksellerin değerleri aynı olmamaktadır. Sinyal işleme genel olarak iki bölüme ayrılır.

Giriş sinyalinin işlenmesi ve çıkış sinyalinin işlenmesi (Madden ve Giorgianni, 2007).

Giriş sinyali, saf sinyalin RGB'ye dönüşünü, çıkış sinyali ise RGB değerlerinin durumlarını inceler.

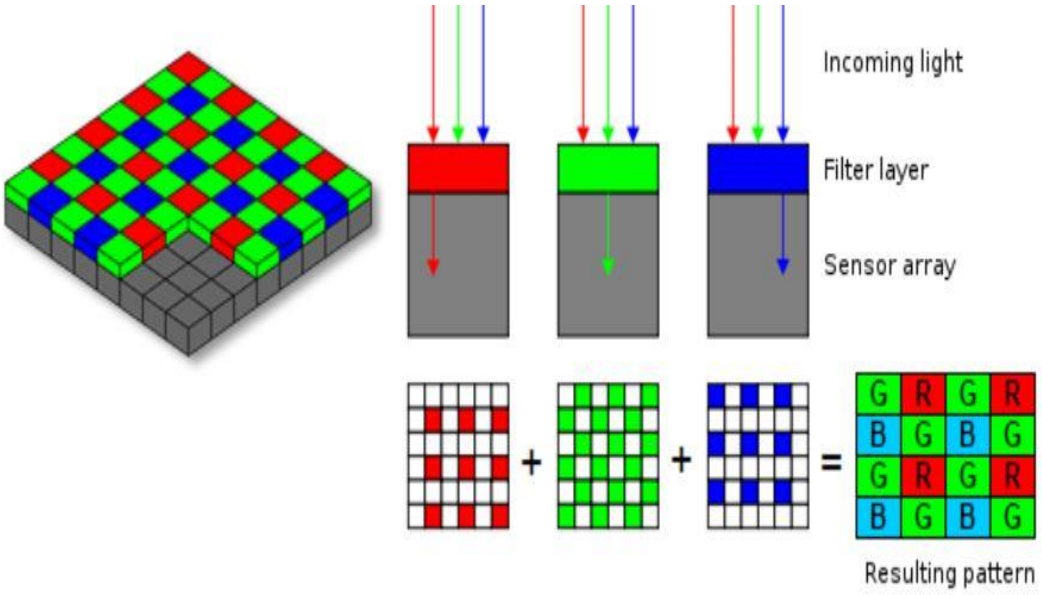
2.3.1. Demosaicing ve bit derinliği

Demosaicing, Bayer filtresinin renk kanallarını bir araya getirerek pikselleri inceleme sürecidir.

Her pikselin R, G ve B değeri bulunmaktadır. Renk yakalama hücrelerinin eksikliği nedeniyle renklerin hesaplanması gerekmektedir. Bunun da interpolasyon denilen karışık algoritma ile hesaplanması da gerekmektedir.

Sistemde üretilen görüntünün her pikselinde ne kadar renk olduğunun bilgisini belirten sistem bit derinliği olarak ifade edilir.

Piksel başına düşen bilgi bit değerleri sistemin renk kullanılabilirliği hakkında bilgi taşımaktadır. Yani bu değerlerin fazla olması sistemin o kadar fazla renk kullanabileceği anlamına gelmektedir. Piksellerin ihtimaller dâhilinde iki değeri vardır siyah ve beyaz. Sekiz (8) biti olan, RGB görüntüsünün her kanalı için, 2^8 256 değeri vardır. Bu değerde görüntümüzün 16 milyon renk skalası/değeri olduğu anlamına gelmektedir. Sistemde böylelikle 24 bite kadar görüntü oluşturulabilir.



Şekil 2.3. Bayer Filtresi - Gri görüntünün renklendirilmesi

2.3.2. Beyaz dengesi

Görsellerin oluşturulması için optimum gerekli olan şarlar vardır. Bu görüntüler normal şartlarda olmadığı zaman sonuçlar hakkında bilgi karışıklığı yaşanmakta ve net bilgi elde edilememektedir. Çekilen görüntüler olması gerektiğinden farklı tonlarda olduğu zaman beyaz dengesi denilen bir görüntü ayarının ayarlanmasını gerektiren bir durum oluşmaktadır. Bu durum doğası gereği her zaman oluşabilmektedir.

Beyaz dengesine bakacak olursak eğer, beyaz tonları mavi ya da kırmızı renklere kayabilmektedir. Bu da çalıştığımız sistemin beyaz dengesinin hatalı çalıştığı ya da çalışmadığı anlamına gelmektedir.

Doğal ışık kaynaklarına baktığımız vakit, güneş ışığı bize en doğal görünümü sağlayan ışık kaynağıdır, bunun haricindeki ışık kaynakları ise farklı renk sıcaklıklarına sahip olduklarından dolayı renk değişiklikleri meydana gelmektedir.

Beyaz dengesi nötrleme işlemidir, bir ortamda algılanan renk tonlarını verilen komutlar ile beraber nötrlemeye çalışır.

Örnek olarak renklerin tonu maviye kaymaya başlamışsa sistemin ayarlanan beyaz dengesini nötrlemek için skalaya turuncu renk eklenir. Benzer bir durum da floresan lambalar için de bulunmaktadır.

Floresan lambalar yeşil renk tonlarına kaymaya neden olurlar. Bu durumun da dengesini sağlamak için ortama magenta adlı renk katılır. Böylece sistemin normale dönmesi sağlanır.

2.3.3. sRGB renk uzayı

Renklerin üçlü ya da dörtlü sayısal değerlerle tanımlanmasında kullanılan soyut matematiksel modele renk modeli, renk modellerinde renk bileşenlerinin nasıl yorumlanacağı kesin kesin kurallara bağlandıktan sonra elde edilen renk kümesine renk uzayı denir.

sRGB, standart RGB renk uzayıdır. Üretilen görüntülerin tüm kullanıcılar tarafından aynı şekilde görülmesini sağlar. Standartlaştırılmış hali IEC 61966-2-1: 1999'da belirtilmiştir.

Gama fonksiyon denklemleri aşağıda tanımlanmıştır.

$$R = R_S \,.\, 12{,}92 \tag{2.4}$$

$$G = G_S \,.\, 12{,}92 \tag{2.5}$$

$$B = B_S \,.\, 12{,}92 \tag{2.6}$$

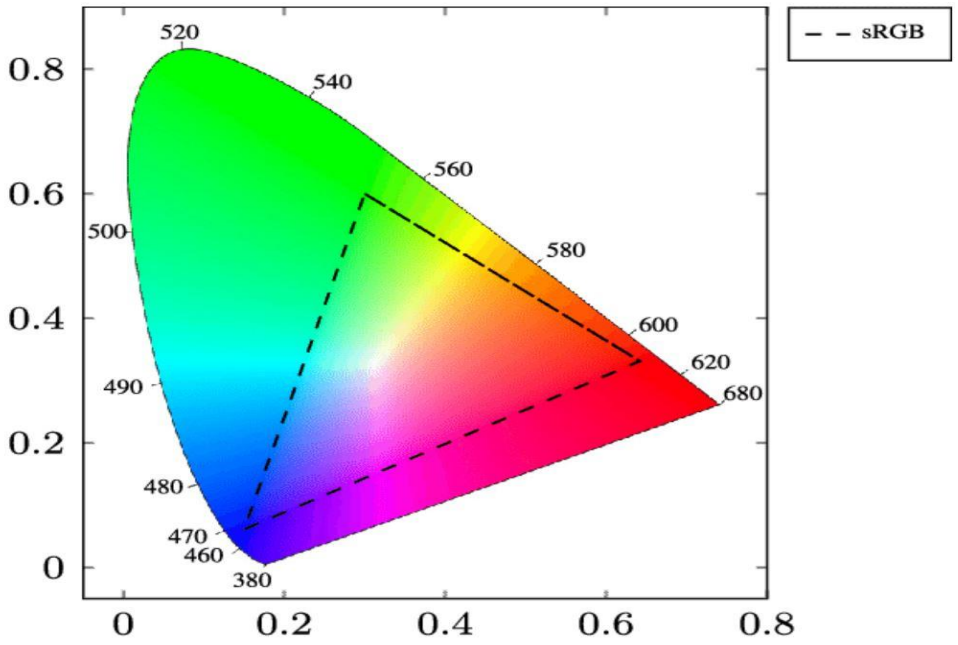
Eğer R_S , G_S ve B_S 0.0031308 den küçük veya eşitse

$$R = 1{,}055 \,.\, (R_S)^{1/2.4} - 0{,}055 \tag{2.7}$$

$$G = 1{,}055 \,.\, (G_S)^{1/2.4} - 0{,}055 \tag{2.8}$$

$$B = 1{,}055 \,.\, (B_S)^{1/2.4} - 0{,}055 \tag{2.9}$$

0.0031308 den büyük ise.



Şekil 2.4. sRGB renk uzayı alanı

2.3.4. Gama düzenlemesi

Gama, bir cihazın görüntülerini görselleştirebilmek içinde çeşitli prensipler barındıran çalışma metodu olarak tanımlanan bir tabirdir.

İdeal hale getirilen bir durumda cihaza/cihazlara verilen giriş geriliminin ekran çıktısının üretmesi gereken ışık yoğunluğunun uygulanan bu gerilimle eşit olması gerekmektedir. Ancak cihaza/cihazlara giren ve çıkan oran farkına bakıldığı zaman lineer olması beklenene/gereken grafikten farklı olarak logaritmik bir grafik oluşur.

Bu grafiğin orijinal haline gelebilmesi için bu sinyallerin dengelenmesi gerekmektedir. Bu dengeleme değerine ise bahsettiğimiz gibi gama denir. Dijital resimlerin kaydedilmesi sırasında resim ışığı 256 basamakta kaydedilir. Maksimum aydınlığa 255, minimum aydınlığa 0 karşılık gelir. Ekranlar renkleri elektronlar tarafından uyarılan ve bu uyarım sonucunda aydınlanan fosforlarla gösterir. Fosforun aydınlanma eğilimi doğrusal değildir.

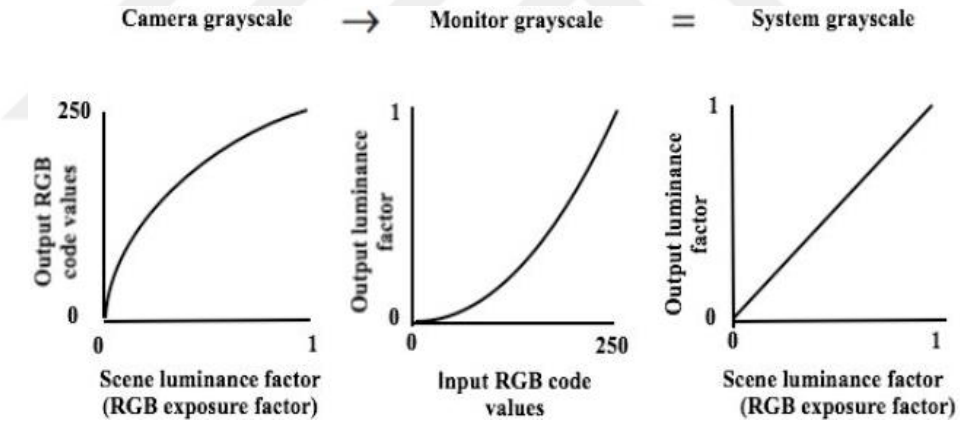
Piksel değerlerinin ekrandaki gerçek aydınlıktan sapan faktörü hesaba katılmalıdır. Bu değere gama değeri denir. Gama girdi ve çıktı arasındaki ilişkinin matematiksel ifadesidir. Gama kod çözümleme denklemi aşağıda gösterilmiştir.

$$Y = k\left(\frac{RGB}{RGB_{max}}\right)^{y} + Y_0 \tag{2.10}$$

k normalize edici bir faktördür. RGB_{max} bit derinliği tarafından belirlenen maksimum RGB değeridir. y gama değeridir. Y_0 ofset değeridir(Madden ve Giorgianni, 2007).

Gama kodlama denklemi aşağıda gösterilmiştir(Mertins, 2007).

$$RGB = RGB_{max}\left(\frac{Y - Y_0}{k}\right)^{1/y} \tag{2.11}$$



Şekil 2.5. Gama kodlamasının düzenlenme grafiği (Mertins, 2007)

2.3.5. Görüntülerin sıkıştırılması ve dosyaların formatları

Bir fotoğrafın ya da resmin dosya formatı dosyanın nasıl kaydedildiğini ve düzenlendiğini gösterir. Sıkıştırılan dosyalarda verilerin kaybı oluşabiliyor.

Herhangi bir kayıp olmadan sıkıştırılma olayına kayıpsız sıkıştırma denir. Bunlara örnek olarak png formatı kayıpsız sıkıştırma formatı örneğidir.

Tıbbi ve bilimsel çalışmaların görüntüle boyutları çok yüksek olup aşırı sıkıştırma formatına girileceği ve yararlı verilerin kayıpları yaşanacağı için bu çalışmalarda sıkıştırma önerilmemektedir.

Dijital görüntülerin sıkıştırılması ve kayıpların ortadan kaldırılması için standartlaştırılmış olan format jpeg formatıdır (Schnell ve Maini, 1994).

JPEG formatında niceleme matrisi yeniden ölçekleme yapar, böylece daha az bit kullanarak gerekli saklama alanı oluşturur.

Yeni bir katsayı oluşturulur. y yeniden ölçeklendirme katsayı matrisidir. q yeni niceleme matrisi. Son sıkıştırma işlemi yapılırken sayılar matrise girer ve bitler halinde depolanır.

Kayıpsız bir yöntem olan bu yöntem Huffman kodlaması olarak yapılır (Burtis ve ark., 2006).

$$Y_q = round\left(\frac{y_{kl}}{q_{kl}}\right) \tag{2.12}$$

2.4. Enzim Aktivitesinin Kolorimetrik Analizi

Kolorimetri yöntemleri, renkli çözeltilerin ışığı absorplaması esasına dayanır. Test cihazlarının, UV absorbsiyonlarının ölçülebilmesi için veya bir belirteç tarafından gerçekleşen reaksiyon sonucunda oluşan ve açığa çıkan renkli bir maddenin, insanın görebileceği yani görünür alanda spektral olarak belirlenmesi temeline dayanır.

Gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda oluşan tepkimler renklerine ve buna bağlı olarak değişkenlik gösteren şiddetlerine göre hücre sayısı olaylarını yansıtmaktadırlar.

Bu tip test yöntemine kolorimetrik test denir (Johannes ve ark., 2006). Bu tip analiz yönteminde anorganik, organik ve biyokimyasal maddelerin kalitatif ve kantitatif analizi gerçekleştirilmek için bu yöntem kullanılır.

Lambert-Beer yasasında bulunan eşitliğe göre, moleküllerin monokromatik ışınların soğurulmasına dayanır. Ana bileşenlere dahil olarak da spektrofotometrede ışıkları/ışınları toplamak, yansıtmak, odaklamak, demetlere bölmek ve bu örnek üzerine belirli/uygun bir şiddette göndermek amacıyla bileşen olarak kırılıkmlar için mercekler, ışık ayarlamaları için ışık bölücüleri, kırılmalar için aynalar ile birlikte giriş ve çıkış aralıkları bulunmaktadır.

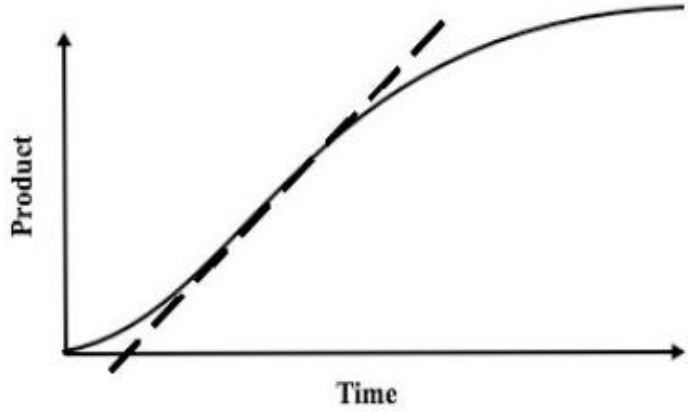
Lambert-Beer yasası deklemi:

$$A = -log\frac{I}{I_0} = \epsilon \,.\, c \,.\, d \tag{2.13}$$

I ışığın çözeltiler içerisinde kat ettiği yol-(cm), c-çözeltinin konsantrasyonu-(mol/L), ϵ mola cinsinden yazılmakta ve absorpsiyon katsayısı (l/mol/cm) olarak belirtilmekdtedir.

Enzim katalizörlü bir reaksiyonun reaksiyon hızı, enzim konsantresi ile orantılıdır. Kimyasallar karıştırıldığı zaman reaksiyonun hızı konsantre durumuna göre farklılık gösterecektir.

Enzim reaksiyon süresi (Allain ve ark., 1973) yeterli doygunluğa ulaşıncaya kadar hızlı bir şekilde devam edip reaksiyon tamamlanınca sabit bir hızla enzim reaksiyonunu devam ettirecektir. Ölçüm için otomatikleştirilmiş sistemlerde reaksiyon hızının açıklanma süresi ortamdaki enzim yoğunluğuna bağlı olduğundan dolayı tahmin etmeyi zorlaştırır (Bais ve Philcox, 1994).



Şekil 2.6. Enzimin katalize ettiği reaksiyonun zaman süreci (Schnell ve Maini, 1994).

Kolorimetrik yöntemler aşağıdaki özellikleri yansıtmaktadır:

- Protein içerikleri
- RNA, DNA içerikleri veya DNA sentezi
- Lizozom ve Golgi cisimi aktivitesi
- Enzim aktivitesi
- Apoptozis
- Üreme
- Turbidometri
- Hücre proliferasyonu, büyüme eğrisi

Gibi birçok özellik için kolorimetrik ölçümler gerçekleştirilmektedir.

2.5. Yapılan Sistemin Tanımı ve Testler

Enzimlere bakıldığı vakit, kullanıldıkları biyolojik malzemelerde çok düşük yoğunluklarda bulunduklarından dolayı enzimlerin aktiviteleri hakkında bilgi edinmesi gerektiği için aktivitelerinin ölçülmesi tercih edilmektedir.

Enzimlerin aktivitelerinin ölçülebilmesi ile ilgili yöntemlerde genellikle aktivitesinde değişiklik gösterdiği maddlerin yoğunluklarına bakılır.

Burada, enzimlerin fotometrik olarak artmış ürün yoğunluğuna, azalmış substrat veya koenzim yoğunluğuna ya da değişime uğramış koenzim yoğunluğundaki artışlar ölçülerek gerekli sonuçlar elde edilir.

Laboratuvarda enzimlerin girmiş oldukları tepkimeler sonucu aktivitelerinin ölçülebilmesi bulundukları ortamda fazla miktarda bulunması gereken substrat ve koenzimin varlığında, yani sıfır derece kinetikle gerçekleşmektedir. NADH laboratuvar ortamlarında en sıklıkla ölçülen koenzimlerden biridir. NADH koenziminin, ölçümler sonucuna bakıldığında 340 nm de maksimum absorbans yaptığı görülmüştür.

Biyokimyasal yükseltgenme ve indirgenme olaylarında enzimler ile reaksiyona/tepkimeye sokulan etkileşimlerde NAD+ ve NADH'ın değişime uğrama dönüşümü ile gözlemlenebilir. Yaptığımız çalışmada bulunan sistem bu temel üzerine kurulmuş ve enzimatik testler gerçekleştirilerek spektro ölçümleri yapılmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Yapacağımız çalışmamızda kolorimetrik analiz yöntemi esas alınarak yola çıkılmıştır. Kullancağımız yöntem UV spektroskopi ile ortama koyduğumuz ve aktif ettiğimiz solüsyonların girmiş olduğu reaksiyonlardan ölçümleyeceğimiz spektro değerlerinin tekrar aynı reaksiyonları, geliştirdiğimiz akıllı sistem ile karşılaştırılması temeline dayanmaktadır.

NADH+ tepkimesine bakıldığı vakit 340 nm'de maksimum seviyede absorbans yaptığı bilinmektedir fakat NAD önceki tepkime gibi bu dalga boyunda absorbans yapamaz.

Bu iki madde ortak olarak 260 nm dalga boyunda, her iki koenziminde yükseltgenen ve indirgenen formları ile ışıkları absorplarken 340 nm dalga boyunda ise piridin nükleotidin yapısındaki bu koenzimlerin, sadece indirgenmiş şekilleri ışığı absorbe etmektedirler. Absorbans değişikliklerini formülüze etmek gerekebilmektedir. Bu nedele bir formül kullanılmaktadır. Kullanılan formül internasyonal üniteye çevirir. Bunun için aşağıdaki formül kullanılır.

$$U/L = \mu mol/dk/L = \Delta A/\min * Vt * 10\text{^}6\ (\mu mol/mol)\ /\epsilon * Vs * l \qquad (3.1)$$

ΔA/min tepkimenin dakikadaki absorbans değişiklilerini, Vt toplam reaksiyonun hacmini, Vs örnek hacmi, ϵ ekstinksiyon katsayısı.

Kullanılan yöntemlerden UV spektroskopisi yöntemi, utlraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopi, yollanan bir ışın demetinin üzerinden geçtiği bir örnekten geçtikten veya o örneğin yüzeyinden yansıtıldıktan sonraki azalmaların ölçülmesi yöntemidir.

Işığın şiddetinin azalmasındaki durum absorplamanın değerinin arttığının göstergesidir.

Örneğin derişimi/yoğunluğu belirli bir örneğin durumuna bakmak istiyorsak o örneğin dalga boyundaki absorpsiyonuna bakmak yeterli olacaktır. UV-Vis spektroskopisi çok fazla kullanılan yöntemlerden bir diğeridir.

Bu yönte de genellikle çözeltilerdeki molekülleri veya inorganik yapıda bulunan iyon ve karmaşık yapıdaki maddelerin ölçümü için kullanılır. Birçok molekül, daha öncede bahsetmiş olduğumuz UV veya Vis dalgaboylarını absorplar. Temele bakıldığı zaman farklı moleküller farklı dalga boylarını absorplamaktadırlar.

Yapılan çalışmalarda gerçekleştirilen soğurma spekturumu, molekülllerin yapısını gösteren birçok soğurma bantlarından oluşmaktadır.

Bunların çalışma ilkesine bakacak olursak, sistemde bulunan molekülerin soğurma spektroskopisi 160nm ve 780nm dalga boyları arasında bulunan ışığın b ışınının yoluna sahip olan bir hücredeki çözeltinin geçirgenliği olan (T) veya soğurmasının (A) ölçümüne dayanır.

Bu soğurma daha çok, moleküllerde bulunan bağ elektronlarının uyarılmasından kaynaklanmaktadır. Bunun sonucu olarak moleküler absorpsiyon/soğurma spektroskopisi bir molekülde bulunan fonksiyonel grupların tanımlanması için ve aynı zamanda bu fonksiyonel grupları taşıyan bileşiklerin miktarlarının ölçümünde nicel tayinler için kullanılmaktadır.

Yöntem geliştirme süreci üç aşamaya ayrıldı. İlk adımda görüntüler için veri toplama amaçlı bir iphone uygulaması yapılmıştır. İkinci adımda ise iphone uygulaması ve MATLAB kullanılarak reaksiyonun özellikleri karakterize edilmiştir. Geliştirilen son adımda ise görüntü yakalama, görüntü işleme ve pH, laktat hesaplaması için yöntem geliştirilmiştir.

3.1. Ph ve Laktat Numunelerinin Yapılması

Metod geliştirilirken pH ve Laktat düzeylerinin spektral düzeyleri ölçümleneceği için bireylerden alınan ter örnekleri universal pH indicator solution ve Lactate assay kit kullanılarak reaksiyon aktif hale getirilip spektrofotometrik ölçümlemesi yapılmıştır.

Bununla bereber numunelerin aktivitelerinin görüntülenmesi için NAD – NADH dönüşümün 340 nm de ölçümlenmesi yapılmıştır.

3.2. Görüntü Yakalamak İçin IOS Kamera Uygulaması

Iphone kamera uygulaması swift programlama dilinde yazılmıştır. Kullanılan kamera iphone 6s plus telefon kamerası olup uygulama ios 8 için geliştirilmiştir.

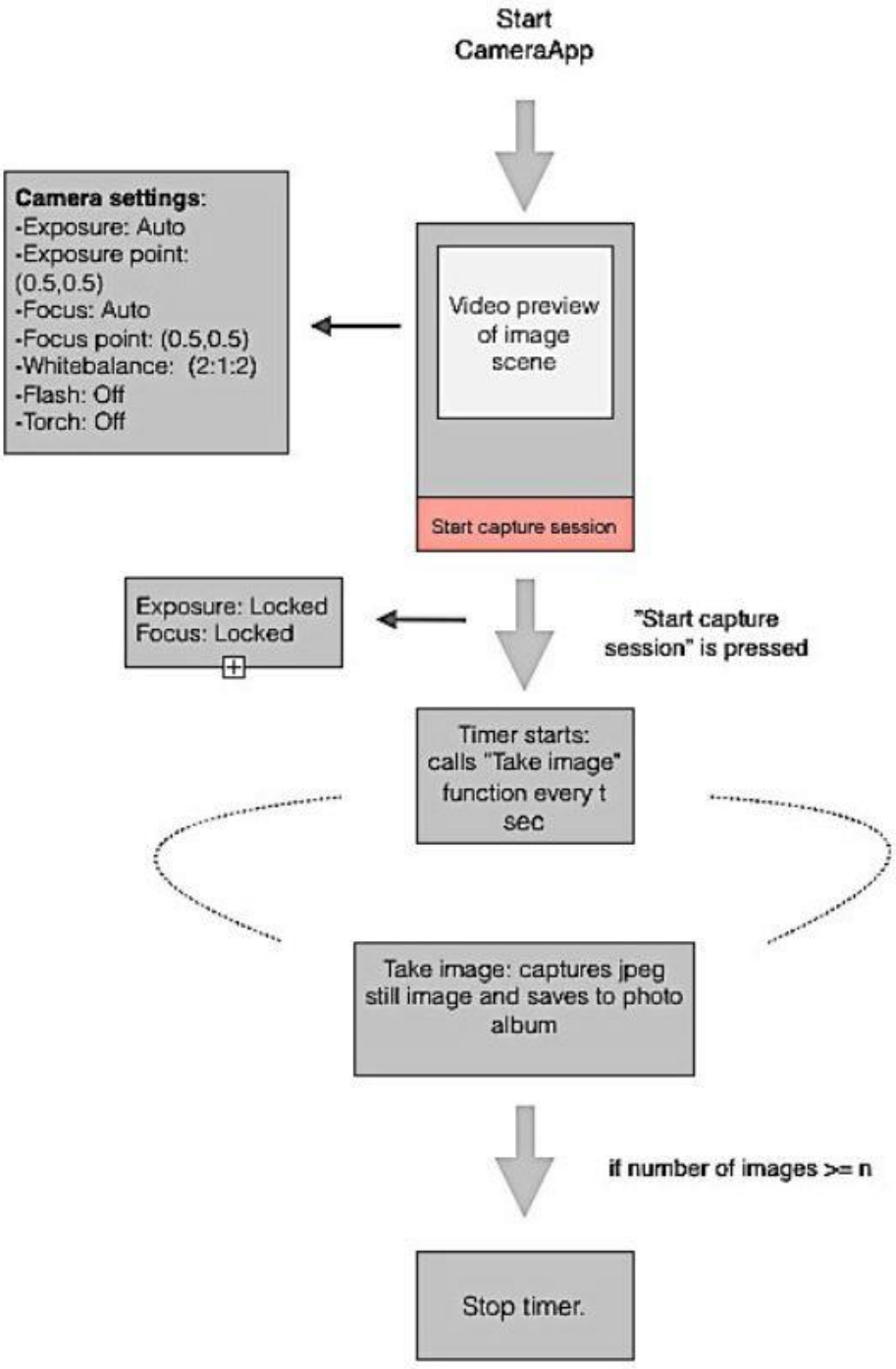
Uygulama, odak ve pozlama modları içermektedir.

Telefon sürekli olarak otomatik pozlama ve otomatik odaklama seçeneğinde ayarlanmalıdır. Uygulama çalıştırıldığı zaman kameranın odak noktası gözükür ve kameranın hangi noktayı baz aldığı belirlenir.

Açılan uygulama ekranında ‘görüntüyü yakala’ butonu bulunmaktadır. Butona basıldığı anda sürekli odaklama ve pozlama durumu seçilir. Yansımayı önlemek için flaş ve led kapatılmıştır.

Fotoğrafın netleme ve pozlama noktası fotoğrfın ortası olarak ayarlanır. (0,5 0,5) Beyaz dengesi 2:1:2 olarak ayarlanmıştır. Alınan görüntülerin sayısı ve zaman aralığı manuel olarak ayarlanmıştır. Yapılan ayarlardan sonra kamera ile bir dizi görüntü elde edilmiştir.

Bu görüntüler jpeg ve png olarak kaydedilmiştir. Yapılan çalışmanın kodları Şekil 3.1. de belirtilmiştir.



Şekil 3.1. Iphone kamera uygulaması yapımının diagramı

3.3. Gri Renk Testi

0-255 arasında değişen grinin farklı tonlarının kullanıldığı renk modudur. 11 adet gri renk kartelası oluşturulmuştur.

Bunun MATLAB ortamında 11 matris tanımlanarak çözümlenmesi planlanmıştır. 0.1 lik artışlar ile birlikte 0 (siyah) ile 1(tam beyaz) değer verilmiştir.



Şekil 3.2. 0.1 lik artışlarla değişen ölçekleme

3.3.1. Gama kodlaması

İlk önce gama kodlamanın etkisi test edildi. Her gri parçanın görüntülendiğine inanılıyordu. Sabit ışık altında ve yapılan kamera ayarları ile kameradan gelen ham sinyal için gri yoğunluğu ayarlandı.

Ham sinyalin görüntüsünün sıkıştırılması sırasında gama kodlama uygulandı. Telefon uygulaması ile ilk olarak doğru pozlama ve doğru odağı bulabilmek için boş bir ışık başlatıldı.

Görüntü yakalama butonuna basılarak kameranın odaklandığı ve yakaladığı yer belirlendi. Art arda 11 görüntü alacak şekilde 30 saniyelik aralıklarla ekim modu başlatıldı.

Görüntüler ilk etapta jpeg, ikinci etapta png dosyaları olarak kaydedildi. Görüntüler daha sonra MATALB komutları tarafından analiz edildi. 11 jpeg ve 11 png görüntülerinin her biri matrislere ayrıldı.

Gama kod çözme fonksiyonları ayrı ayrı her bir matrise uygulandı. Png görüntüleri için gama değeri 0.4545 olarak belirtildi.

Aşağıda piksel değerleri ve kodları çözülmemiş piksel değerleri formülü verilmiştir.

$$Normalize = \frac{R + G + B}{255 * 3} \tag{3.2}$$

Her görüntü için ortalama piksel değeri hesaplar. Gama kodlama yapılan grafikler arasında doğrusallık karşılaştırılmaları yapılmıştır.

3.3.2. Işık kaynağının etkisinin absorbe edilmesi

Yapılan çalışmada ışık ayarlarının yapılması ve bu ayarlara göre de yoğunluk farklılıklarının analiz edilmesi gerektiği gerçeği doğuyor. Yapılan hesaplamalar ile yoğunluk farklılıkları hesaplandı ve çizimi oluşturuldu.

Hipoteze göre reaksiyona giren maddeler belirli bir ışığı emer ve geri kalanını yansıtır. Yansıtılan ışığın miktarı ışığın durumuna ve ortama konulan reaktiflerin miktarlarına bağlıdır.

Ortamda iki adat madde olduğunu (n1 ve n2), belirli ışık ayarında her madde gelen ışığın yüzde x'ini yansıtır.

Maddelerden yansıyan ışıklar x.n1 ve x.n2 ile orantılı olmalıdırlar. Gri tonlamaların ortalama piksel değerleride de I1 ve I2 ile orantılıdır. Formüle bakacak olursak eğer:

$$\frac{x.(n_1 - n_2)}{x.n_1} = \frac{(n_1 - n_2)}{n_1} \sim \frac{(I_1 - I_2)}{I_1} \tag{3.3}$$

Çekimlerin standart yükseklikten yapılması için bir düzenek oluşturuldu ve görüntüler arasında anlamlı bir fark olmadığı için görüntüler jpeg formatında işlendi.

Işık ayarlaması olarak laboratuvar ortamı seçildi ve ışık kutusunun içinde çekimler yapıldı. Hesaplamalar MATLAB ortamında 'grey_scale_evaluation.m ve compute_relative_mean.m' ile yapılıp piksel değerleri ayarlanmıştır.

Ortalama standart sapma denklemi:

$$average\ standat\ deviation = \ sqrt{\left(\frac{(s_1^2 + s_2^2 + s_3^2 + \cdots s_n^2)}{\mathrm{n}}\right)} \qquad (3.4)$$

3.4. Laktat ve Ph Aktivitesinin Hesaplanması

Yapılan çalışma Lambert-Beer yasasının geçerliliği üzerine kurulmuştur. Lambert-Beer yasasında numune çözeltisi kalınlığı çok önemlidir. Bu çözelti kalınlığı soğurma miktarı ile ilgili bilgi taşımaktadır. Yani çözelti kalınlığı fazla ise soğurma miktarı o kalınlıkla doğru orantılı olarak artış göstereceğini, numunenin çözeltisinin derişikliği veya kalınlığı ise soğurma miktarının o kadar fazla olacağını ve eğer aynı dalga boylarında soğurma yapan iki farklı molekül varsa bu soğurma yapan moleküllerden sadece biri daha fazla soğurum yapar.

Kullanılan bazı moleküller belirli dalga boylarında diğer moleküllere göre daha iyi soğurma yapabilirler, faktörlerini bir bütün haline getirip denklem oluşturmuştur.

Bunlar, konsantrasyon(c), numune kalınlığı(ışık yol uzunluğu) ve soğurma kapasitesidir.

Yasanın kendisi sınırlayıcıdır çünkü yüksek derişikliklerde ve elektrolit varlıklarında birbirine komşu durumunda olan moleküllerin, elektrostatik etkileşimleri ile birlikte enerjilerinin düzeyleri arasında bu etkileşimlerden dolayı bozulmalar açığa çıkmaktadır.

Yapılan bu çalışmada gri tonlama testi yapılarak renkli alanların yoğunluğunun ortalamasının alınabileceği ve RID hesaplanarak ışık etkisinin azaltılabileceği gösterildi.

Konsantrasyon fonksiyonu denklem 3.5'deki gibidir.

$$RID\big(c(t,pH)\big) = \frac{I_0 \; - \; I(\mathrm{c(t,-pH)}}{I_0} \tag{3.5}$$

$I\big(c(t,pH/laktate)\big)$ Ortalama piksel değeri. c litre başına mikro mol cinsinden hesaplanır. $c(t,pH/laktate)$ t zaman cinsinden konsantrasyonu mikro/litre cinsinden hesaplar. Konsantrasyonun dakikadaki değişimi denklem 3.6'daki gibidir.

$$\frac{1}{k}.\frac{\partial RID}{\partial t} = \frac{dc}{dRID}.\frac{\partial RID}{\partial t} = \frac{\partial c}{\partial t} = ph, lactate_{sample} \tag{3.6}$$

3.4.1. K değeri yaklaşığı

k değeri için solüsyonların konsantre değerlerinden alınan görüntüler ve RID(c) sonucunda tahmini bir değer oluşturuldu.

Böylece tepkimeye giren solüsyonumuz belirli bir süre sonra koyulaşacak ve kamera sensörünün pozlama aralığında çıkacaktır.

Bu durumda sensör piksel değeri veremeyecektir. Fakat k değeri durumundan dolayı son alınan anlamlı verinin piksel değerleri sistem tarafından bilinmektedir.

Yapılan tahlillerde kullanılan küvetlerde alınan örneklerin reaksiyona girmesi için universal pH indicator solition ve D-lactate assey kit kullanılmış ve renk değerlendirilmesi için analiz çalışmaları yapılmıştır.

Küvetlerde bulunan sıvıların buharlaşmasını engellemek için görüntüler ışık odasında çekilmiş ve buharlaşma oranı azaltılmıştır.

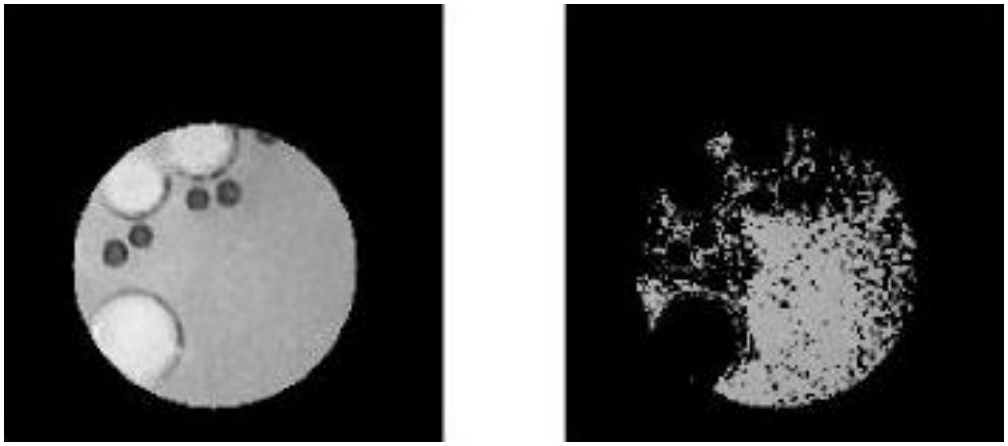
Tahliller üzerindeki renk değişimi kimyasallarımızın girdiği tepkimeden dolayı yoğunlaştığının kanıtıdır.

Küvetlerde bulunan sıvıların görüntü analizi yapılırken sıvı içinde oksijen olduğundan dolayı baloncuklar şeklinde görüntülere yansımıştır. Bunu sistemden kaldırmak için MATLAB ortamında program geliştirilmiş ve görüntüden baloncuklar kaldırılmıştır.

Burada yapılan olay renkli görüntülerin piksellerinin rengini değiştirmek ve gri tonlamaya dönüştürülmesini sağlamaktır. Bu olay gama kodu prensibi ile yapılmıştır.

Görüntüsü alınan küvetlerin merkezlerinin belirlenebilmesi için ‘Circular Hough Transform’ kullanılmıştır. Sistem küvetin merkezini belirleyip görüntüyü alıp ve geri kalan pikselleri sıfıra ayarlar.

Elde edilen görüntü küvetin yani reaksiyonun olduğu görüntüdür. Bu görüntülere RID uygulaması yapılarak sıvı içindeki kabarcıklar elemine edilip ham görüntü ortaya çıkarılır.



Şekil 3.3. Sıvı içindeki kabarcıklar ve bu kabarcıkların giderilmesi.

3.4.2. Renklendirmenin gerçekleşme zaman aralığı bulunması

Spektral olarak ölçümün sabit bir renk üzerinden ölçülebilmesinin ortamın konsantrasyonu ile doğrudan bir bağlantı kurulamayacağını göstermiştir.

Zaman aralığı için aplikasyon üzerinden her görüntü çekimi için 15 saniye süren bir aralık belirlenmiş ve 25 görüntü alınmış toplamda ise 4.15 dakika süre harcanmıştır.

Kameranın aldığı ilk görüntü referans noktası kabul edilip odaklama yapıldıktan sonra tüm çekimler aynı noktadan yapılmıştır. Farklı değerlere sahip örnekler üzerinde yapılan çalışmalar için küvetler hazırlanmıştır.

3.4.3. Ph ve laktatın renk değişim ilişkileri

Açıklanan deney modelinde renk değişim oranı $\partial RID/\partial t$ olarak gösterilmiştir. Ve süre olarak da 3 ila 3.5 dakika arasında pH ve laktat seviyeleri için ölçüm süresi belirlenmiştir.

3.5. Yöntemin Değerlendirilmesi

Çalışması yapılan yöntemle alınan görüntülerin karşılaştırılması yapılmıştır. İlk görüntü referans olarak kabul edilip üstüne görüntü işleme yapılmıştır.

Görüntüler üçüncü dakikadan sonra alınmaya başlanıp 3.15, 3.30, 3.45 dakikalarda görüntü oluşturulmuştur. Alınan görüntülerde RID hesaplaması yapılıp renk geliştirme oranı $\partial RID/\partial t$ ile doğru orantı göstermiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Yapılan çalışmalarda gri renk testi dönüşümleri, renk değişimleri, ph ve laktat değişimleri ile ilgili bilgiler aşağıda yer almaktadır.

Çalışmada oda şartları, sıcaklık değerleri, ışık şiddetleri, görüntüleme mekanizması, görüntü sabitleyici, fotoğraf odası sonuçların değişlik göstermesine sebep olmaktadır.

Odaklanma ve kamera hassasiyeti ile beraber kullanılan malzemelerin reaksiyona girmemesi gerekmemektedir. Reaksiyona giren malzemeler sonuç değişikliğine sebep olmaktadır.

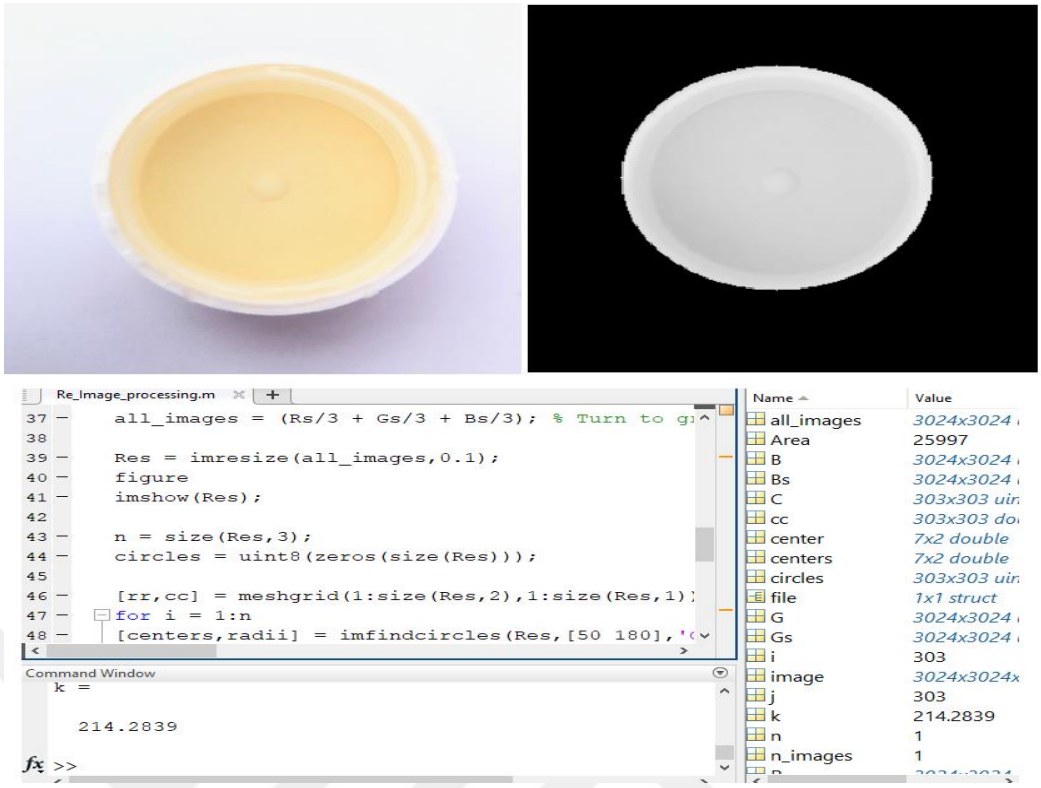
Bu çalışmalar normal şartlar altında gerçekleştirilmiş olup ışık alan ortamda fotoğraflar çekilip değerlendirme yapılmıştır.

Çalışmada 25'er örnek alınmış olup, toplamda 50 örnek görüntü üzerinde görüntüleme yapılmıştır.

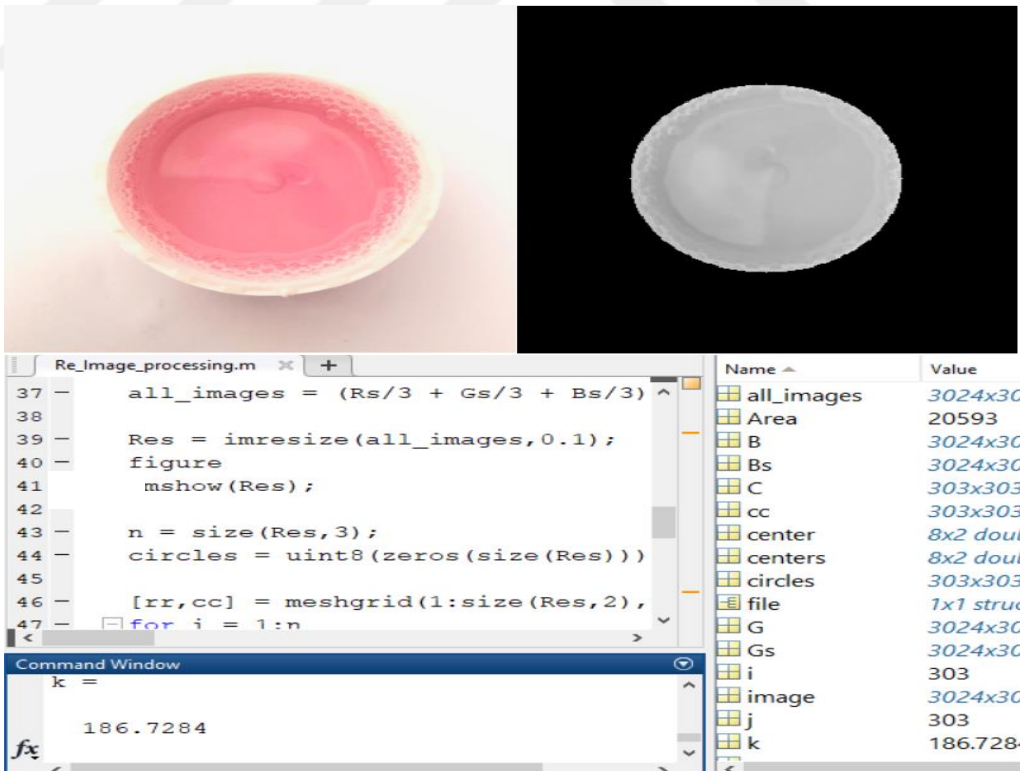
4.1. Gri Renk Testi

Gri renk testinde çekilen fotoğraflar, tasarlanmış olan yazılım üzerinde değerlendirmeye alınarak 0-255 arası bir renk skalasına tabi tutulmaktadır. Sonrasında bu değerlerin anlamlandırılabilmesi için 0.1 lik artışlar ile birlikte 0-1 arasında beyaz renkten siyah renge doğru değerler almaktadır.

Laktat ve ph örneklerinden alınan görüntülerin sistem üzerinde işlenmiş ve bit değeri çıkarılmış görüntüleri Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de yer almaktadır.



Şekil 4.1: pH Bit Değeri



Şekil 4.2. Laktat Bit Değeri

4.2. Görüntü Merkezinin Bulunması

Çalışmada solüsyonların bulunduğu küvetlerin merkezlerinin bulunması büyük önem taşımaktadır. Bu sebepten dolayı sistemimizin altına konan küvetin merkezinin hesaplanması için de matlab kullanılmış olup Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Görüntü Ortalama

4.3. K Değerinin Anlamlandırılması

Alınan örneklerden sonra işlenen ham görüntü üzerinde görüntü işleme gerçekleştirilip siyah beyaz aralığı için bit aralığı değerleri bulunmuştur.

Bu değerler toplam 50 defa örneklenmiş ve 50 örnek için bit değerleri çıkarılmıştır.

Bulunan bit değerlerinin 0-1 değer aralığına sahip renk kartelasındaki yerleri tayin edilmiş olup örneklerin değerleri reelize edilmiştir.

Anlamlandırılan değerler Şekil 4.4'de yer almaktadır.

Örnek Sayıları	pH Bit Değerleri	Laktat Bit Değerleri	pH Gri renk Kodu Değerleri	Laktat Gri Renk Kodu Değerleri
1	212,73	176,26	0,83	0,69
2	213,12	179,78	0,83	0,7
3	213,16	183,48	0,83	0,71
4	213,13	184,45	0,84	0,72
5	213,39	184,35	0,83	0,72
6	213,47	179,18	0,83	0,69
7	214,08	176,21	0,83	0,68
8	213,86	179,47	0,83	0,7
9	213,66	184,19	0,83	0,72
10	214,38	186,46	0,83	0,72
11	214,28	183,73	0,83	0,71
12	213,72	190,65	0,83	0,74
13	213,97	184,37	0,83	0,72
14	214,8	192,59	0,83	0,75
15	214,59	185,74	0,83	0,72
16	214,56	186,97	0,83	0,73
17	214,81	192,78	0,84	0,75
18	214,38	199,9	0,83	0,78
19	215,04	192,33	0,84	0,75
20	215,33	194,48	0,84	0,76
21	215,54	194,28	0,84	0,76
22	216,18	189,17	0,84	0,75
23	215,72	189,78	0,84	0,74
24	216,29	189,81	0,84	0,74
25	216,08	199,42	0,84	0,77

Şekil 4.4. Ölçülen Değerler

4.4. Renk Değişimleri Ph ve Laktat Arasındaki İlişkiler

Terden ölçülmesi planlan ph ve laktat maddeleri için renk değişim skala aralığı Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da gösterilmektedir. Bulunması gereken aralık ve renk değişimleri miktarları ve değerleri ile ifade edilmektedir.

Bu renk değerlerine ulaşması ortamın sıcaklığına, terin sıcaklığına ve kullanılan ekipmanların reaksiyona girip girmeme durumuna göre değişmektedir.

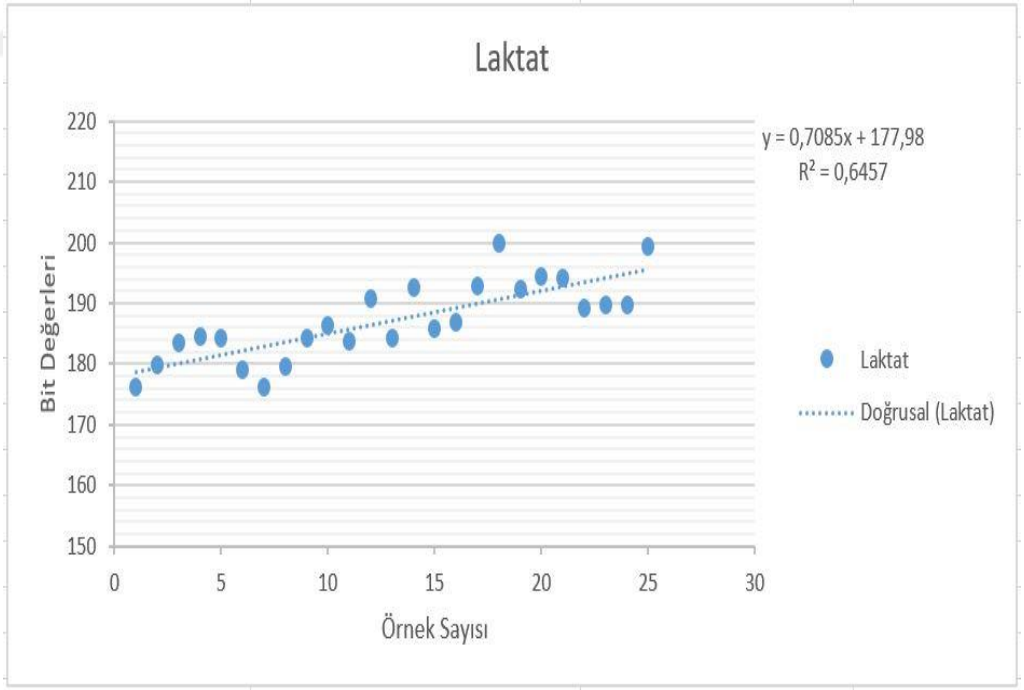


Şekil 4.5. pH Skalası

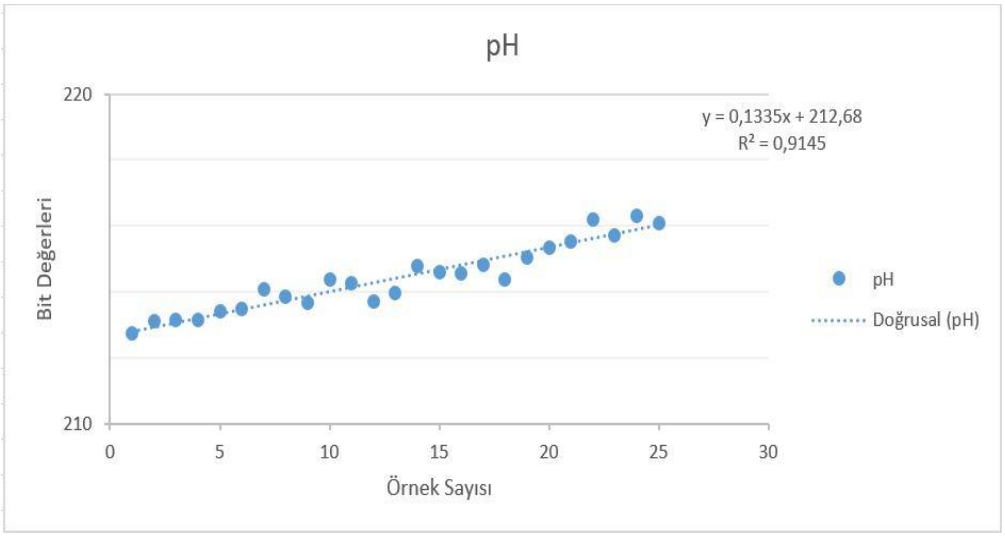


Şekil 4.6. Laktat Skalası

Geliştirilen sistem ile birlikte terde bulunan ve ölçülmesi planlanan laktat ve ph için kullanılan solüsyonlar ile aktif edilen sistemin ph ve laktat ile ilgili çıktıları aşağıda bulunan şekillerden Şekil 4.7'de laktat ve Şekil 4.8'de ph değişimleri, sistem yoğunluğuna bağlı olarak da değişiklik gösteren renk değişimleri ise Şekil 4.9'da laktat ve Şekil 4.10 da ph değişimleri gösterilmektedir.



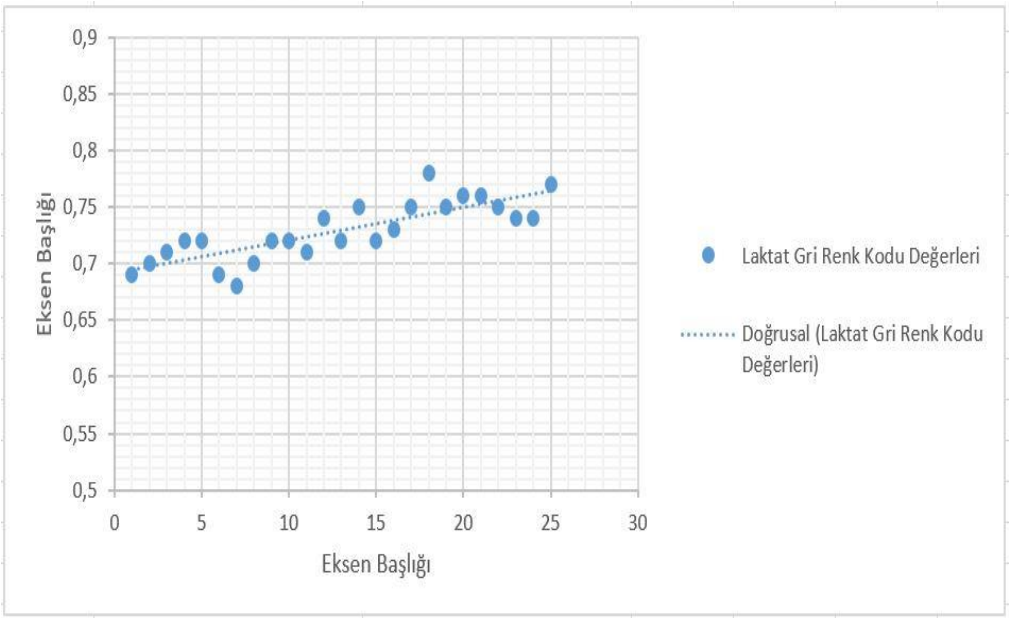
Şekil 4.7. Laktat Bit Değerleri



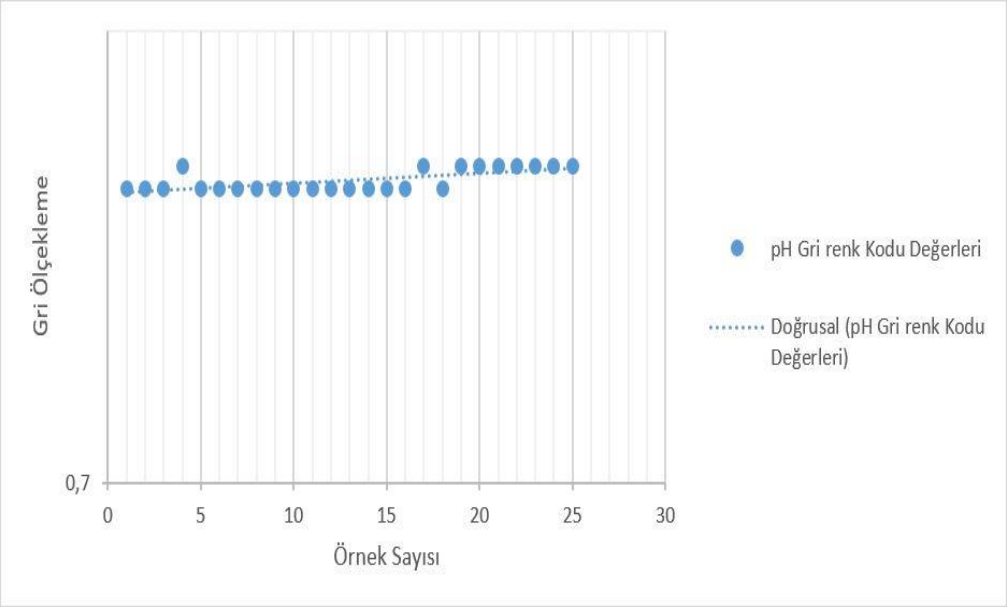
Şekil 4.8. pH Bit Değerleri

4.5. Bit Değerlerinin Skalaya Çevrilmiş Şekilleri

Sistemin çıktı olarak verdiği bit değerleri gir renk skalasında 0-1 aralığı için işlenmiş olup bu durum laktat ve ph için ayrı ayrı olarak şekillerde belirtilmişlerdir.



Şekil 4.9. Laktat Gri Renk Kodu



Şekil 4.10. pH Gri Renk Kodu

4.6. Yöntem Değerlendirme

Çalışması yapılan ve geliştirilen sistem taşınabilir ve rahat kullanılabilir ve ölçüm yapılabilir bir sistemin mümkünlüğü ile ilgili bir fikir edinme durumunu sunmaktadır.

Kullanılan solüsyonların aktivasyon süreleri ve ter miktarları direk olarak doğru orantı gösterimi için iki ana temel olmamakla beraber sistem için kullanılan solüsyon havuzlarının da reaksiyona girip asit düzeyinin bozulmaması da çok önem arz etmektedir.

Bir diğer önemli etken ise fotoğraf çekecek olan cihazın sabit tutulması ve odak noktasının belirlenmesi gerekmektedir. Ortamın ışığı sürekli olarak değişiklik göstermemesi de ayrıca önem taşımaktadır.

Alınan görüntüler ve çıktılarına bakıldığı vakit ve teknolojinin de sürekli olarak ilerlemesi ile birlikte kullanılan cihazların ve malzemelerin hassasiyetlerinin artması ile beraber sonuçlar daha olumlu olmaktadır.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Akıllı telefon kamerası ile RGB okuma yapıp, geliştirilen yazılım üzerinden görüntü analizlerinden pH ve laktat değerleri olumlu sonuçlar vermiştir.

Laktat değerine baktığımız vakit kullanılan reaktif türü, ter yoğunlu, tepkime süresinin uzunluğu ve ortam özelliklerinden dolayı %100 doğru sonuç vermemiştir.

Bunun nedenleri arasında fotoğraf çözünürlükleri, renk değişiklikleri, kamera pozlamaları, küvetlerin kimyasal reaksiyona girmesi gibi baş etkenler net sonuç alınmasını engellemiştir.

Ortaya çıkarılan sistem ile birlikte ölçülen parametrelerin arttırılması ve ölçülen parametrelerin reelize edilmesi de bu sistem ve sağlık durumları için çok ayrı ayrı bir önem taşımaktadır.

Genele bakıldığı zaman yapılan bu çalışmada sonuçlar doğru oranlara yakın düzeyde olup, tasarlanan sistemin daha stabil hale getirilmesi durumunda taşınabilir akıllı ölçüm cihazlarının gündelik hayatta kullanılmasının çok da uzak olmadığını belirtmek isteriz.

KAYNAKLAR

AGUILAR, M., SEDENO, J. M., MORENO, G., MEDINA, X., COLLADO, R. C., and RUBIO, F. S., 2014. Use of mobile phones as a tool for weight loss: a systematic review. Journal of Telemedicine and Telecare, 20(6): 339-349.

ALLAIN, C.C., HENSON, C. P., NADEL, M. K., KNOBLESDORFF, A. J., 1973. Rapid single-step kinetic colourimetric assay for lactate dehydrogenase in serum. Clin Chem, 19(2): 223-227.

BAIS, R., and PHILCOX, M., 1994. Approved recommendation on ifcc methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. 8. Ifcc method for lactate dehydrogenase. Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 32(8): 639-643.

BANDODKAR, A., and WANG, J., 2014. Non-invasive wearable electrochemical sensors: A review. Trends Biotechnol, 32(7): 363–371

BURTIS, C. A., ASHWOOD., and BRUNS, D. E., 2006. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier Health Sciences, USA, 2239s.

BARIYA, M., NYEIN H. Y. Y., and JAVEY, A., 2018. Wearable sweat sensors. Nat. Electron, 1: 160–171.

CHEN, Y., LU, S., ZHANG, S., LI, Y., QU, Z., CHEN, Y., LU, B., WANG, X., and FENG, X., 2017. Skin-like biosensor system via electrochemical channels for noninvasive blood glucose monitoring. Sci. Adv, 3(12): 1-7.

CHENG, C.-M., MARTINEZ, A. W., GONG, J., MACE, C. R., PHILLIPS, T. S., CARRILHO, E., MIRICA, K., and WHITESIDES, G, M., 2010. Paper-Based ELISA. Angewandte Chemie International Edition, 49(28): 4771-4774.

CHOI, S., LEE, H., GHAFFARI, R., HYEON, T., and KIM, D, H., 2016. Recent advances in flexible and stretchable bio-electronic devices integrated with nanomaterials. Adv. Mater, 28(22): 4203–4218.

CONSOLVO S., KLANSJA, P., McDONALD, D. W., AVRAHAMI, D., FROEHLICH, J., LeGRAND, L., LIBBY, R., MOSHER, K., and LANDAY, J. A., 2008. Flowers or a robot army encouraging awareness & activity with personal, mobile displays. Proceedings of the 10th international conference on Ubiquitous computing, 21-24 September, Seul, s.54-63.

FREDERICK S., 2013. Idiot's Guides. Digital Photography, 1:100-125.

IMANI, S., BANDODKAR, A. J., MOHAN, A. M., KUMAR, R., YU, S., WANG J., and MERCIER, P. P., 2016. A wearable chemical-electrophysiological hybrid biosensing system for real-time health and fitness monitoring. Nat. Commun, 23(7):11650.

JIN, Z. H., LIU, Y. L., CHEN, J. J., CAI, S. L., XU, J. Q., and HUANG, W. H., 2017. Conductive polymer-coated carbon nanotubes to construct stretchable and transparent electrochemical sensors. Anal. Chem, 89(3): 2032–2038.

JOHANNES, T.W., WOODYER, R., and ZHAO, H., 2006. High-throughput Screening Methods Developed for Oxidoreductases, in Enzyme Assays. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 1: 77-93.

KIM, J., KUMAR, R., BANDODKAR, A. J., and WANG, J., 2016. Advanced materials for printed wearable electrochemical devices A review. Adv. Electron. Mater, 3(1): 1600260.

KIM, J. P., XIE, Z., CREER, M., LIU, Z., and YANG, J., 2017. Citrate-based fluorescent materials for low-cost chloride sensing in the diagnosis of cystic fibrosis. Chem. Sci, 8(1): 550-558.

KOH, A., KANG, D., XUE, Y., LEE, S., PIELAK, R., KIM, J., HWANG, T., MIN, S., BANKS, A., BASTIEN, P., MANCO, M. C., WANG, L., AMMANN, K. R., JANG, K., WON, P., HAN, S., GHAFFARI, R., PAIK, U., SLEPİAN, M. J., BALOOCH, G., HUANG, Y., and ROGERS, J. A., 2016. A soft, wearable microfluidic device for the capture, storage, and colorimetric sensing of sweat. Sci. Trans. Med, 8(1): 1-13.

LARSON E.C., GOEL, M., BORIELLO, G., HELTSHE, S., ROSENFELD, M., and PATEL, S. N., 2012. SpiroSmart: using a microphone to measure lung function on a mobile phone. Proceedings of the 2012 ACM Conference on Ubiquitous Computing, 5 September, New York, s.280-289.

LIU, Y., PHARR, M., and SALVATORE, G. A., 2017. Lab-on-skin: A review of flexible and stretchable electronics for wearable health monitoring. ACS Nano, 10(11): 9614–9635.

LIU, Y. L., QIN, Y., JIN, Z. H., HU, X. B., CHEN, M. M., LIU, R., AMATORE, C., and HUANG, W. H., 2017. A stretchable electrochemical sensor for inducing and monitoring cell mechanotransduction in real time. Angew. Chem. Int. Ed, 56(32): 9454–9458.

MADDEN, T.E. and GIORGIANNI, E.J., 2007. Measuring Colour, in Digital Colour Management. John Wiley & Sons, 4(1): 3-133.

MERTINS, A., 2007. Image Compression, in Handbook of Computer Networks. John Wiley & Sons, 3(1): 212-226.

OHTA, N., and ROBERTSON, A. R., 2006. Colour Vision and Colour Specification Systems, in Colourimetry. John Wiley & Sons, 14(1): 39-62.

POH, M.-Z., KIM, K., GOESSLING, A. D., NICHOLAS, C. S., and PICARD, R. w., 2009. Heartphones: Sensor earphones and mobile application for non-obtrusive health monitoring. International Symposium on Wearable Computers, 25 September, Cambridge, s153-154

PRICE, C.P., 2001. Point of care testing. BMJ, 322(7297):1285-1288.

PUHRICH, D. L., 1995. Enzyme kinetics: From diastase to multi enzyme systems. Chemistry & Biology, 2(7): 449-450.

REBAZA, J., 2012. Image Compression, in A First Course in Applied Mathematics. John Wiley & Sons, 222(2): 235-275.

SONNER, Z., WILDER, E., HEIKENFELD, J., KASTING, G., BEYETTE, F., SWAILE, D., SHERMAN, F., JOYCE, J., HAGEN, J., KELLEY, N., and NAIK, R., 2015. The microfluidics of the eccrine sweat gland, including biomarker partitioning, transport, and biosensing implications. Biomicrofluidics, 9(3): 31-60.

SCHNELL, S., MAINI, P. K., 2000. Enzyme kinetics at high enzyme concentration. Bulletin of Mathematical Biology, 62(3): 483-499.

WANG, X., LIU Z., and ZHANG, T., 2017. Flexible sensing electronics for wearable/attachable health monitoring. Small, 13(25): 2-19.

XUAN, X., YOON, H. S., and PARK, J. Y., 2018. A wearable electrochemical glucose sensor based on simple and low-cost fabrication supported micro-patterned reduced graphene oxide nanocomposite electrode on flexible substrate. Biosens. Bioelectron,109: 75–82.

YANG, Y., and GAO, W., 2019. Wearable and flexible electronics for continuous molecular monitoring. Chem. Soc. Rev, 48: 1465–1491.

YETISEN, A.K., HURTADO, J. L. M., MELENDREZ, A. G., VASCONCELLOS, F. C., and LOWE, C. R., 2014. A smartphone algorithm with inter-phone repeatability for the analysis of colourimetric tests. Sensors and Actuators B: Chemical, 196: 156-160.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Enes ARI
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Doğum Yeri ve Tarihi : Batman, 10.04.1992
e-Mail : eenesari@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Gazi Anadolu Lisesi, BATMAN	2010
Üniversite	:	İstanbul Üniversitesi Elektrik Elektronik Mühendisliği,	2016
Yüksek Lisans	:	Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Elektrik Elektronik Mühendisliği Ana Bilim Dalı	2020

TEKNİK BİLGİLER

Bilgisayar ve Yazılım Bilgileri
Bilgisayar destekli çizim programları
C, C++, Python, ARM, Swift Programlama Dilleri
Sayısal Mantık Tasarımı(Verilog, VHDL, FPGA)
Biyosinyallerin Analizlenmesi ve İşlenmesi

Elektrik Elektronik Bilgileri
Baskı Devre Kartı Tasarımı (PCB)
Gömülü Sistem Tasarımı
Analog ve Dijital Sistemler
Endüstriyel PLC Uygulaması

Medikal Sistemler Bilgileri
Medikal Görüntü İşleme
Biyosinyal İşleme
Biyomedikal Sistem Tasarımı

YAYINLAR

ARI, E., ve ALAN, N., 2020. İnsan Terinden Glikoz, ph, Laktat, Klorür Analizi Yapan Deri Üstüne Yapıştırılabilen Akıllı Bant. Icontech Uluslararası Pozitif Bilimlerde Yenilikçi Araştırmalar Sempozyumu. 1 Mayıs 2020, Bursa, s.17-18. (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır)

EKLER

EK 1

```
import UIKit
import AVFoundation
import CoreMedia
import CoreVideo
import QuartzCore
import ImageIO
class ViewController: UIViewController {
var session = AVCaptureSession()
var stillImageOutput = AVCaptureStillImageOutput()
var captureConnection: AVCaptureConnection!
var captureDevice: AVCaptureDevice!
var timer = NSTimer()
var imageCounter = 0
var imageView: UIImageView!
var cameraView: UIView!
weak var HLcircleView: UIImageView!
weak var LDHcircleView: UIImageView!
override func viewDidLoad() {
super.viewDidLoad()
session.sessionPreset = AVCaptureSessionPresetPhoto
var error: NSError
captureDevice = AVCaptureDevice.defaultDeviceWithMediaType(AVMediaTypeVideo)
var deviceInput: AVCaptureDeviceInput! = AVCaptureDeviceInput.
deviceInputWithDevice(captureDevice, error: &error) as
AVCaptureDeviceInput
if session.canAddInput(deviceInput){
session.addInput(deviceInput)
}
else{
println("unable")
}
var captureVideoPreview = AVCaptureVideoPreviewLayer(session: session)
captureVideoPreview.videoGravity = AVLayerVideoGravityResizeAspectFill
```

```
var rootlayer = cameraView.layer
rootlayer.masksToBounds = Dogru
var frame = cameraView.frame
captureVideoPreview.frame = framee
rootlayer.insertSublayer(captureVideoPreview, atIndex: 0)
session.startRunning()
LDHcircleView.layer.cornerRadius = LDHcircleView.frame.size.width / 2
LDHcircleView.layer.borderColor = UIColor(white: 1, alpha: 1).CGColor
LDHcircleView.layer.borderWidth = 1
HLcircleView.layer.cornerRadius = HLcircleView.frame.size.width / 2
HLcircleView.layer.borderColor = UIColor(white: 1, alpha: 1).CGColor
HLcircleView.layer.borderWidth = 1
if captureDevice.lockForConfiguration(&error){
captureDevice.focusMode = .ContinuousAutoFocus
captureDevice.exposureMode = .ContinuousAutoExposure
var RGB = AVCaptureWhiteBalanceGains(redGain: 2.0, greenGain: 1.0, blueGain: 2.0)
captureDevice.setWhiteBalanceModeLockedWithDeviceWhiteBalanceGains(RGB, completion-
Handler: { (time) in println("whitebalance set") } )
captureDevice.flashMode = .Off
captureDevice.torchMode = .Off
}
else{
println("could not lock device")
}}
@IBAction func Startcapturesession(sender: AnyObject) {
captureDevice.focusMode = .Locked
captureDevice.exposureMode = .Locked
println("exposure value: \(captureDevice.exposureDuration.value)")
println("exposure timescale: \(captureDevice.exposureDuration.timescale)")
println("ISO: \(captureDevice.ISO)")
println("current focus point \(captureDevice.focusPointOfInterest)")
println("current exposure point \(captureDevice.exposurePointOfInterest)")
println("f number: \(captureDevice.lensAperture)")
var gains = captureDevice.deviceWhiteBalanceGains
println("redGain: \(gains.redGain), greenGain: \(gains.greenGain), blueGain:
\(gains.blueGain)")
var outputSettings = [AVVideoCodecJPEG: kCMVideoCodecType_JPEG]
stillImageOutput.outputSettings = outputSettings
if session.canAddOutput(stillImageOutput){
```

```
session.addOutput(stillImageOutput)
}
else{
println("unable to add output")
}
connectionLoop: for connection in stillImageOutput.connections as [AVCaptureConnection]{
for port in connection.inputPorts as [AVCaptureInputPort]{
if port.mediaType == AVMediaTypeVideo{
captureConnection = connection
break connectionLoop
}
else {
println("connection not found")
}}}
timer = NSTimer.scheduledTimerWithTimeInterval(15, target: self, selector: Selector("
Takeimage"), userInfo: nil, repeats: true)
}
func Takeimage(){
imageCounter++
var error: NSError?
stillImageOutput.captureStillImage
AsynchronouslyFromConnection
captureConnection, completionHandler:
{(imagedataSampleBuffer, error ) in
if (imagedataSampleBuffer != nil) {
let imageData = AVCaptureStillImageOutput.
jpegStillImageNSDataRepresentation(imagedataSampleBuffer)
var image = UIImage(data:imageData)
self.imageView.image = image
UIImageWriteToSavedPhotosAlbum(image, nil, nil, nil)}})
if imageCounter >= 15{
timer.invalidate()
captureDevice.unlockForConfiguration()
imageCounter = 0
}}
override func didReceiveMemoryWarning() {
super.didReceiveMemoryWarning()
}
        }
```

EK 2

```
%read image files from directories.
jpg_file = dir('directory name/*.jpg');
png_file = dir('directory name/*.png');
n_jpg_images = length(jpg_file);
n_png_images = length(png_file);
%preallocate array for R G and B values from a smaller part of each image, the number %of images and image size is assumed to be the same.
jpg_image = imread(jpg_file(1).name);
Rjpg = zeros(817,877,n_jpg_images);
Gjpg = zeros(size(Rjpg));
Bjpg = zeros(size(Rjpg));
Rpng = zeros(size(Rjpg));
Gpng = zeros(size(Rjpg));
Bpng = zeros(size(Rjpg));
for n = 1:n_jpg_images %assumed same number of jpg as png images
jpg_images = imread(jpg_file(n).name);
png_images = imread(png_file(n).name);
Rjpg(:,:,n) = jpg_images(892:1708,580:1456,1);
Gjpg(:,:,n) = jpg_images(892:1708,580:1456,2);
Bjpg(:,:,n) = jpg_images(892:1708,580:1456,3);
Rpng(:,:,n) = png_images(580:1456,892:1708,1)';
Gpng(:,:,n) = png_images(580:1456,892:1708,2)';
Bpng(:,:,n) = png_images(580:1456,892:1708,3)';
end
% make gray scale images and normalize to intensity range 0-1.
Rjpg = Rjpg/255;
Gjpg = Gjpg/255;
Bjpg = Bjpg/255;
Rpng = Rpng/255;
Gpng = Gpng/255;
Bpng = Bpng/255;
all_jpg_images_no_gammaDecoding = (Rjpg + Gjpg + Bjpg)/3;
all_png_images_no_gammaDecoding = (Rpng + Gpng + Bpng)/3;
% gamma decoding.
[Rjpg,Gjpg,Bjpg] = sRGBgammaDecode(Rjpg,Gjpg,Bjpg);
[Rpng,Gpng,Bpng] = PNGgammaDecode(Rpng,Gpng,Bpng);
all_jpg_images_gammaDecoded = (Rjpg + Gjpg + Bjpg)/3;
```

```
all_png_images_gammaDecoded = (Rpng + Gpng + Bpng)/3;
% compute mean pixel intensity value
pixel_mean_jpg_no_gammaDecode =
sum(sum(all_jpg_images_no_gammaDecoding,2))/(size(Rjpg,1)*size(Rjpg,2));
pixel_mean_png_no_gammaDecode =
sum(sum(all_png_images_no_gammaDecoding,2))/(size(Rjpg,1)*size(Rjpg,2));
pixel_mean_jpg_gammaDecoded =
sum(sum(all_jpg_images_gammaDecoded,2))/(size(Rjpg,1)*size(Rjpg,2));
pixel_mean_png_gammaDecoded =
sum(sum(all_png_images_gammaDecoded,2))/(size(Rjpg,1)*size(Rjpg,2));
pixel_mean_jpg_gammaDecoded = pixel_mean_jpg_gammaDecoded(:)';
pixel_mean_png_gammaDecoded = pixel_mean_png_gammaDecoded(:)';
% compute intensity change as fraction of the lightest patch.
[relative_mean_jpg] = compute_relative_mean(pixel_mean_jpg_gammaDecoded);
%make plots
x = 0:0.1:1;
y_jpg_no_gammaDecode = pixel_mean_jpg_no_gammaDecode(:);
plot(x,y_jpg_no_gammaDecode,'kx')
axis([0 1 0 1])
title('JPEG without gamma decoding')
xlabel('’Actual gray value')
ylabel('Mean pixel value')
figure
y_png_no_gammaDecode = pixel_mean_png_no_gammaDecode(:);
plot(x,y_png_no_gammaDecode,'kx')
axis([0 1 0 1])
title('PNG without gamma decoding')
xlabel('’Actual gray value')
ylabel('Mean pixel value')
figure
y_jpg_gammaDecoded = pixel_mean_jpg_gammaDecoded(:)';
plot(x,y_jpg_gammaDecoded,'kx');
axis([0 1 0 1])
title('JPEG with gamma decoding')
xlabel('’Actual gray value')
ylabel('Mean pixel value')
figure
y_png_gammaDecoded = pixel_mean_png_gammaDecoded(:)';
plot(x,y_png_gammaDecoded,'kx')
```

```
axis([0 1 0 1])
title('PNG with gamma decoding')
xlabel('Actual gray value')
ylabel('Mean pixel value')
figure
function[R,G,B] = sRGBgammaDecode(Rs,Gs,Bs)
% Function sRGBgammaDecode calculates the decoded RGB values from RGB values that have %
been encoded according to the sRGB color space specification.
% Calling sequence:
% [R,G,B] = sRGBgammaDecode(Rs,Gs,Bs)
% Variables:
% (Rs,Gs,Bs) - - matrixes with gamma encoded R, G and B values normalized to the %
range 0-1.
% [R,G,B] — - matrixes with gamma decoded R, G and B values normalized to the
% range 0-1.
limit = 0.0031308*12.92;
R = (Rs <= limit).*(Rs/12.92);
R = R + ((Rs > limit).*((Rs + 0.055)/1.055).^2.4);
G = (Gs <= limit).*(Gs/12.92);
G = G + ((Gs > limit).*((Gs + 0.055)/1.055).^2.4);
B = (Bs <= limit).*(Bs/12.92);
B = B + ((Bs > limit).*((Bs + 0.055)/1.055).^2.4);
end
function[Rnew,Gnew,Bnew] = PNGgammaDecode(R,G,B)
% Function PNGgammaDecode calculates the decoded RGB values from RGB values that have %
been encoded by a gamma value of 0.4545.
% Calling sequence:
% [Rnew,Gnew,Bnew] = PNGgammaDecode(R,G,B)
% Variables:
% (R,G,B) - - matrixes with gamma encoded R, G and B values normalized %
to the range 0-1.
% [Rnew,Gnew,Bnew] — - matrixes with gamma decoded R, G and B values normalized
% to the range 0-1.
%
Rnew = R.^(1/0.4545);
Gnew = G.^(1/0.4545);
Bnew = B.^(1/0.4545);
end
function[relativeJPG] = compute_relative_mean(mean_JPG)
```

```
% Function compute_relative_mean calculates the difference in mean pixel intensity %
between the images as compared to the first one as a fraction of the mean pixel %
intensity of the first image.
%
% Calling sequence:
% [relativeJPG] = compute_relative_mean(mean_JPG)
%
% Variables:
% (mean_JPG) - - Array with mean pixel intensity values from a series of gray %
scale images, the second dimension represent the number of %
images in the series.
% [relativeJPG] - - Array with the fractional difference in mean pixel intensity as %
compared to the first image.
%
n = size(mean_JPG,2);
relativeJPG = zeros(1,n);
for i = 1:n
relativeJPG(i) = mean_JPG(i);
relativeJPG(i) = (mean_JPG(1) - mean_JPG(i))/mean_JPG(1);
end
end
```

EK 3

```
% Script file: Image_processing.m
% Purpose: This program reads jpg images of hilda Neo cards, where the first image must %
show the well when empty. The empty well is to be used as reference point when %
computing relative intensity difference (RID). The images are gamma decoded and
% turned from true color to gray scale. A smaller region around the well area is %
segmented out for faster image processing. The well is segmented out from each image. %
The RID can be computed from all well pixels (RID1.m) or well pixels with bubbles and %
beds removed (RID2.m). The RID is plotted for images taken at the time points 3.0, %
3.25, 3.5 after start of color reaction.
clc
clear all
close all
file = dir('directory name/*.jpg');
n_images = length(file);
R = zeros(2448,3264,n_images);
G = zeros(size(R));
B = zeros(size(R));
for n = 1:n_images
image = imread(file(n).name);
R(:,:,n) = image(:,:,1);
G(:,:,n) = image(:,:,2);
B(:,:,n) = image(:,:,3);
end
% normalization
R = R/255;
G = G/255;
B = B/255;
[Rs,Gs,Bs] = sRGBgammaDecode(R,G,B); %gamma decoding, see sRGB specification
all_images = (Rs + Gs + Bs)/3; % Turn to gray scale, pixel range [0,1].
LD = all_images(970:1140,1170:1340,:);% Segment out a smaller part of image
around the well %region
circlesLD = segmentcircles(LD); % segment well pixels
y = RID1(circlesLD); % Compute RID for all well pixels (comment for use of RID2 %
instead).
% y = RID2(circlesLD); Uncomment for computation of RID with removed bubbles and beds.
x = [3.0,3.25,3.5];
plot(x,y,'kx')
```

```
title('Light setting nr')
ylabel('Relative intensity difference (RID)')
xlabel('t [min]')
function[circles] = segmentcircles(images)
% Function segmentcircles segments out the reaction well from images of the hilda Neo
% card. Pixels not included in the well area are sett to zero.
%
% Calling sequence:
% [circles] = segmentcircles(images)
%
% Variables:
% (images) - - Matrix with gray scale images of hilda Neo cards. The images do
% not have to include the whole card as long as the whole well area is %
included. The third dimension of the matrix is the number of
% images.
% [circles] - - Matrix with segmented reaction well pixels, remaining pixels are set
% to zero.
%
n = size(images,3);
circles = zeros(size(images));
radiusrange = [40,80]; %[rmin,rmax]
[rr,cc] = meshgrid(1:size(images,2),1:size(images,1));
for i = 1:n
[center,radii]=imfindcircles(images(:,:,i),radiusrange,'ObjectPolarity','dark',
'Sensitivity',0.99);
center = round(center);
radii = round(radii);
C = sqrt((cc-center(1,2)).^2 + (rr-center(1,1)).^2) <= (radii(1)-5); %The outermost
pixels of the circular area are excluded to avoid inclusion of non well pixels.
circles(:,:,i) = images(:,:,i).*C;
imshow(circles(:,:,i)) % The new images are displayed to make sure the right areas
were chosen.
figure
end
end
function[RID] = RID1(images)
% Function RID1 takes as input gray scale images of the reaction well at different time %
points of the color reaction. The first image must show an empty well to be used as %
reference point. Pixels outside the well should have the value zero.
```

```
The mean of all %
well pixels is found whereby the relative intensity difference (RID) is computed from %
the mean values.
% Calling sequence:
% [y] = RID1(images)
%
% Variables:
% (images) - - Matrix with gray scale images of the hilda Neo card reaction well %
area. All pixels except well pixels must have the value zero. The %
third dimension of the matrix is the number of images.
% [RID] - - Array containing RIDs.
%
RID = zeros(1,size(images,3)-1);
n = size(images,3);
image_mean = zeros(1,size(images,3));
% compute mean of empty well = reference point
well1_pixels = images(:,:,1) ~= 0;
n1_pixels = sum(sum(well1_pixels));
circle1 = images(:,:,1); %all pixels outside well == 0
image_mean(1) = sum(sum(circle1,2))/n1_pixels;
image_mean(1)
% Repeat for remaining images and compute RIDs.
for i = 2:n
well_pixels = images(:,:,i) ~= 0;
n_pixels = sum(sum(well_pixels));
circle = images(:,:,i);
image_mean(i) = sum(sum(circle,2))/n_pixels;
fractional_change = (image_mean(1) - image_mean(i))/image_mean(1);
RID(i-1) = fractional_change;
end
image_mean %display well mean
end
function[RID] = RID2(images)
% Function RID2 takes as input gray scale images of the reaction well at different time %
points of the color reaction. The first image must show an empty well to be used as %
reference point. Pixels outside the well should have the value zero. Bubbles and beds %
are assumed to have pixel values deviating from the most common pixel values. These %
pixels are removed by first finding the median of all well pixels.
```

```
Thereafter pixels % are saved only if their value deviates less than ten shades from the median, %
other pixels are set to zero. The relative intensity differences (RIDs) are computed %
from the mean of the remaining well pixels.
%
% Calling sequence:
% [y] = RID1(images)
%
% Variables:
% (images) - - Matrix with gray scale images of the hilda Neo card reaction well %
area. All pixels except well pixels must have the value zero. The %
third dimension of the matrix is the number of images.
% [RID] - - Array containing RIDs.
%
y = zeros(size(images,1),size(images,2));
n = size(images,3);
well_means = zeros(1,size(images,3));
RID = zeros(1,(size(images,3)-1));
% Remove beds from first image (empty well) = reference point.
circle1 = images(:,:,1);
nonzeropixels = images(:,:,1) ~= 0;
nonzeropixels = circle1(nonzeropixels);
m1 = median(nonzeropixels(:));
well1_pixels = ((circle1 > (m1-(1/256*10))) & (circle1 < (m1 + (1/256*10)))); % Find pixels
that deviate less than ten shades from median.
chem1_pixels = y+well1_pixels.*circle1;
imshow(chem1_pixels); % Show image after removal of beds.
figure
n1_pixels = sum(sum(well1_pixels,2));
well_means(1) = sum(sum(chem1_pixels,2))/n1_pixels;
% Repeat for remaining images and compute RIDs.
for i = 2:n
circle = images(:,:,i);
nonzeropixels = images(:,:,i) ~= 0;
nonzeropixels = circle(nonzeropixels);
m = median(nonzeropixels(:));
well_pixels = ((circle > (m - (1/256*10))) & (circle < (m + (1/256*10))));
chem_pixels = y+well_pixels.*circle;
imshow(chem_pixels);
figuree
```

```
n_pixels = sum(sum(well_pixels,2));
well_means(i) = sum(sum(chem_pixels,2))/n_pixels;
RID(i-1) = (well_means(1)-well_means(i))/well_means(1);
end
well_means % display well mean
end
```

EK 4

```
file = dir('*.jpg');
n_images = length(file);
R = uint8(zeros(3024,3024,n_images));
G = uint8(zeros(size(R)));
B = uint8(zeros(size(R)));
Rs = uint8(zeros(size(R)));
Gs = uint8(zeros(size(R)));
Bs = uint8(zeros(size(R)));
for n = 1:n_images
image = imread(file (n).name);
R(:,:,n) = image(:,:,1);
G(:,:,n) = image(:,:,2);
B(:,:,n) = image(:,:,3);
Rs(:,:,n) = imadjust(R(:,:,n),[],[],0.8);
Gs(:,:,n) = imadjust(G(:,:,n),[],[],0.8);
Bs(:,:,n) = imadjust(B(:,:,n),[],[],0.8); end
all_images = (Rs/3 + Gs/3 + Bs/3); % Turn to gray scale, pixel range [0,1].
Res = imresize(all_images,0.1);
figure
imshow(Res); n = size(Res,3);
circles = uint8(zeros(size(Res)));
[rr,cc] = meshgrid(1:size(Res,2),1:size(Res,1));
for i = 1:n
[centers,radii] = imfindcircles(Res,[50 180],'ObjectPolarity','dark','Sensitivity',0.99);
center = round(centers); radii = round(radii);
C = uint8(sqrt((cc-center(1,2)).^2 + (rr-center(1,1)).^2) <= (radii(1)-5)); % The outermost pixels of the circular area are excluded to
avoid inclusion of non well pixels.
circles(:,:,i) = Res (:,:,i).*C;
imshow(circles(:,:,i)) % The new images are displayed to make sure the right areaswere chosen.
%viscircles(centers, radii,'EdgeColor','b');
end
Area=0;
for i = 1:303
    for j= 1:303
        if C(i,j)> 0
            Area=Area+1;
        end
    end
end
k=sum (sum(circles))/Area
```