

ELEKTRONİK BURUN VE  
TEMEL BİLEŞEN ANALİZİ İLE  
MİKROORGANİZMALARIN SAPTANMASI

Mehmet Erhan ŞAHİN

Yüksek Lisans Tezi

Elektrik-Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı

Haziran-2008

ELEKTRONİK BURUN VE  
TEMEL BİLEŞEN ANALİZİ İLE  
MİKROORGANİZMALARIN SAPTANMASI

Mehmet Erhan ŞAHİN

Dumlupınar Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca  
Elektrik-Elektronik Anabilim Dalında  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hamdi Melih SARAOĞLU

Haziran-2008

**KABUL VE ONAY SAYFASI**

Mehmet Erhan ŞAHİN'in YÜKSEK LİSANS tezi olarak ELEKTRONİK BURUN VE TEMEL BİLEŞEN ANALİZİ İLE MİKROORGANİZMALARIN SAPTANMASI başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

.././2008  
(Sınav tarihi)

Üye : Doç. Dr. Halil Özcan GÜLÇÜR

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hamdi Melih SARAĞLU (Danışman)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Eyüp GÜLBANDILAR

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .././../..... gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. M. Sabri ÖZYURT  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ELEKTRONİK BURUN VE TEMEL BİLEŞEN ANALİZİ İLE MİKROORGANİZMALARIN SAPTANMASI

Mehmet Erhan Şahin

Elektrik-Elektronik Mühendisliği Yüksek Lisans Tezi, 2008

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Hamdi Melih SARAOĞLU

### ÖZET

Dünyada milyonlarca sayıda mikroorganizma bulunmaktadır. Bazı mikroorganizmalar hastalık yapıcı özelliğe sahiptir. Bu nedenle, mikroorganizmaları tespit etmek insan ve hayvan sağlığı bakımından oldukça önemlidir. Günümüzde mikroorganizmalar mikroskop altında yapılan çalışmalarla incelenmektedir. Bazı mikroorganizmaların dış ortama çeşitli kokular yaydıkları bilinmektedir. Bu nedenle mikroorganizmaların (*Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri) yaydıkları kokulardan ayırt edilebileceği hedeflenmiştir.

Bu tez çalışmasında ilk olarak Elektronik Burun içinde bulunan QCM sensörlerin mikroorganizmaların yaydıkları kokulara verdiği cevap araştırılmıştır. Daha sonra, *Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin sınıflandırılması ve ilgili mikroorganizmaların petri kabına ekiminden sonra beş günlük (24, 48, 72, 96 ve 120 saat sonraki) yaşam süreçleri Temel Bileşen Analizi metodu ile incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Candida albicans*, Elektronik Burun, *Escherichia coli*, QCM Sensör *Pseudomonas aeruginosa*, Sınıflandırma, Temel Bileşen Analizi.

## **DETERMINATION OF MICROORGANISMS BY MEANS OF ELECTRONIC NOSE AND PRINCIPLE COMPONENT ANALYSIS**

Mehmet Erhan ŞAHİN

Electrical and Electronics Engineering MSc. Thesis, 2008

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Hamdi Melih SARAOĞLU

### **SUMMARY**

Microorganisms are known to create chemicals with distinct, characteristic odors. It is thus possible to detect and differentiate many microorganisms using “electronic” noses. This may lead to a number of potential applications in medicine, in food industry and in the fight against bio-terrorism. In this study we investigated detection and differentiation of two microorganisms, namely, *Candida albicans* fungus, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* bacterium.

These microorganisms were planted in Petri dishes and data concerning their reaction to QCM sensors in an electronic nose were acquired at 24, 48, 72, 96 and 120 hours of their life. The acquired data was later analyzed using the Principle Components Technique. It was found that these microorganisms can be detected and discriminated using the QCM sensors.

**Key Words:** *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, Classification, Electric Nose, QCM Sensor, Principle Component Analysis

## TEŐEKKÜR

Bu çalışmada benden yardımlarını esirgemeyen baőta danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Hamdi Melih SARAOGĐLU' na, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Ali EBEOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZMEN' e ve katkılarından dolayı diğer bۆlüm ۆđretim elemanlarına, bu çalışma için gerekli QCM sensۆrleri ۆreten TŐBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Malzeme Enstitüsü Sensۆr Grubuna, mikroorganizmaların temininde ekiminde ve koku verilerinin alınmasında yardımcı olan Sۆleyman Demirel ۆniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji personeline ve hiçbir zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen kıymetli aileme sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa</u></b>
ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. ELEKTRONİK BURUN SİSTEMİ.....	3
2.1 Elektronik Burun Uygulama Alanları.....	4
2.2 Elektronik Burun’ da Kullanılan Sensörler.....	5
2.3 Kuvars Mikrobalsans Sensörler (Quartz Crystal Microbalance) (QCM).....	6
3. MİKROORGANİZMALAR.....	9
3.1 Bakteriler.....	9
3.1.1 Bakterilerin Sınıflandırılması.....	9
3.1.1.1 Şekillerine göre.....	9
3.1.1.2 Boyanmalarına göre.....	10
3.1.1.3 Beslenmelerine göre.....	10
3.1.1.4 Solunumlarına göre.....	12
3.2 Mantarlar.....	12
3.2.1 Özellikleri.....	12
3.2.2 Üremeleri.....	13
3.2.3 Önemleri.....	13
3.3 Çalışmalarda Kullanılan Mikroorganizmalar.....	14
3.3.1 Candida albicans.....	14
3.3.2 Escherichia coli.....	15
3.3.2 Pseudomonas aeruginosa.....	17
4. TEMEL BİLEŞEN ANALİZİ .....	20
5. GERÇEKLEŞTİRİLEN ÖLÇÜMLER VE SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ	23

## İÇİNDEKİLER (devam)

	<b><u>Sayfa</u></b>
5.1 Deney Düzenegi.....	23
5.2 Mikroorganizmaların Üretilmesi.....	24
5.3 Deney Protokolü.....	26
5.4 Deney Sonuçlarının Temel Bileşen Analizi Metoduyla İncelenmesi.....	32
5.4.1 Mikroorganizmaların Sınıflandırılması.....	33
5.4.2 Mikroorganizmaların Yaşam Süreçlerinin İncelenmesi.....	37
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	45
EKLER.....	49



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 (a) QCM sensör önden görünüşü	
(b) QCM sensör yandan görünüşü .....	7
2.2 Pizoelektrik kuvars kristal rezonatör eşdeğer devresi.....	8
3.1 <i>Candida albicans</i> mikroskobik görüntüsü.....	14
3.2 Bir <i>Escherichia coli</i> bakteri kümesinin elektron mikroskobunda 10.000 kere büyütülmüş görüntüsü.....	15
3.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakteri kümesinin mikroskobik görüntüsü.....	17
3.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> piyosiyanın görüntüsü.....	18
5.1 Mikroorganizma koku algılama ölçüm düzeneği şematik gösterimi.....	23
5.2 Ölçüm düzeneğinin resmi.....	24
5.3 (a) Öze aracılığı ile azaltma ekim yapılması	
(b) Kanlı agar besiyerinde hemolitik kolonilerin oluşumu.....	25
5.4 Sıvı besiyeri görüntüsü.....	25
5.5 <i>Candida albicans</i> mantarı besiyeri görüntüsü.....	26
5.6 <i>Escherichia coli</i> bakterisi besiyeri görüntüsü.....	26
5.7 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisi besiyeri görüntüsü .....	26
5.8 Bir mikroorganizma ölçümüne ait 3 periyotluk veri örneği.....	27
5.9 (a) Sensör 1.....	28
(b) Sensör 2.....	28
(c) Sensör 3.....	29
(d) Sensör 4.....	29
(e) Sensör 5.....	29
(f) Sensör 6.....	30
(g) Sensör 7.....	30
(h) Sensör 8.....	30
(i) Sensör 9.....	31
9 adet QCM sensörün 3 farklı mikroorganizmaya verdiği frekans cevabı .....	31
5.10 Nem sensörü frekans cevabı.....	31
5.11 Frekans farkının hesaplanması ( $\Delta f$ ).....	32
5.12 Parmak izi karşılaştırması.....	32

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<b><u>Şekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
5.13 24 saat sonraki ölçümlerin TBA sonuçları.....	33
5.14 48 saat sonraki ölçümlerin TBA sonuçları.....	34
5.15 72 saat sonraki ölçümlerin TBA sonuçları.....	35
5.16 96 saat sonraki ölçümlerin TBA sonuçları.....	36
5.17 120 saat sonraki ölçümlerin TBA sonuçları.....	37
5.18 <i>Candida albicans</i> mantarı Temel Bileşen Analizi.....	38
5.19 <i>Candida albicans</i> mantarı TBA sonucu karmaşık kısım genişletilmiş hali .....	39
5.20 <i>Escherichia coli</i> bakterisi Temel Bileşen Analizi.....	40
5.21 <i>Escherichia coli</i> bakterisi TBA sonucu karmaşık kısım genişletilmiş hali .....	40
5.22 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisi Temel Bileşen Analizi.....	41
5.23 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisi TBA sonucu karmaşık kısım genişletilmiş hali ...	42

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<b><u>Çizelge</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1 İnsan burnu ve elektronik burun'un karşılaştırılması.....	4
5.1 Deney protokolü.....	27

## SİMGELER DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
E-Burun	Elektronik Burun
ppm	parts per million (1 milligram/Litre, milyonda 1 birimlik oran.)
ppt	part per trillion (1 nanogram/Litre, trilyonda 1 birimlik oran.)
GC/MS	Gaz Kromatografi ve Kütle Spektrometrisi
PQCMB	Piezoelectric Quartz Crystal Micro Balance Sensörleri
QCM	Quartz Crystal Microbalance
Hz	Hertz
Rh%	Bağıl Nem
°C	(Celsius) santigrat derece
µm	mikrometre
ng	nanogram
nm	nanometre
$A$ (cm <sup>2</sup> )	Algılama yüzey alanı
$C_f$	Kuvars kristalin kütle algılama sabiti
$C_0$	Kuvars yüzeylerindeki elektrotların ve mekanik yapının kapasitesi
$\Delta f$ (Hz)	Frekans değişimi
$\Delta m$ (g)	Kütle değişimi
$C$	Hareketli kısmın mekanik esnekliği
$L$	Kristalin hareketli kısmının ölçüsü
$R$	Sürtünmeler nedeniyle ortamda yok olan mekanik enerji kayıpları
$F_s$	Seri rezonans frekansı
$F_p$	Paralel rezonans frekansı
Å	1 ångström (Å) = $1.0 \times 10^{-10}$ metre = 0.1 nm
RNA	Ribonükleik Asit
TBA	Temel Bileşen Analizi
PCA	Principal Component Analysis (Temel Bileşen Analizi)
YSA	Yapay sinir ağları
<i>C.albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>P.aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

## 1. GİRİŞ

Mikrop terimi, bilim dünyasına ilk defa 1878'de mikropların kendilerine has bir dünyası olduğunu savunan Fransız cerrahı Charles Sédillot tarafından getirilmiştir. Mikroorganizma, mikroskopik (çıplak gözle görülemeyecek kadar küçük olup ancak mikroskop ile görülebilen) organizmaların genel adıdır [1]. Mikroorganizmalar çoğunlukla tek hücreli olsalar da çok hücreli örnekleri de mevcuttur. Mikroorganizmalar, hücresel yapılı olanlar ve hücresel yapıda olmayanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Hücresel yapıda olanlar bakteriler, mantarlar, protistlerdir. Hücresel yapıda olmayanlar ise virüsler, viroidler, prionlardır. Bu çalışmada, *Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri kullanılmıştır.

Bakteriler, tek hücreli prokaryotik mikroorganizmalardır. Büyüklükleri 0,1 – 10 µm arasında değişir. 3500 milyon yıldan daha uzun bir süredir dünyada var oldukları bilinmektedir. Hava, toprak, su ile canlı dokularında yaşarlar ve biyolojik olarak hayatın devam etmesi için çok önemlidirler. Siyanobakteriler (cyanobacteria) fotosentez yapabilirler ve dünyada bilinen ilk yaşam formunu oluşturmuşlardır. Her gün yeni bir bakteri türü keşfedilirken, bilinen bakterilerin sınıflandırılması gittikçe zorlaşmaktadır [2].

Mantarlar (Fungi), çok hücreli ve tek hücreli olabilen ökaryotik canlıları kapsayan bir canlılar alemidir. Halk arasında küf, pas, rastık, maya, mildiyö, şapkalı mantar, kav mantarı, puf mantarı gibi çeşitli isimlerle anılan bütün mantarlar, mantarlar alemi içerisinde incelenirler. Dünyanın her bölgesinde bulunurlar. Fazla nemli yerlerde daha çokturlar. Yeryüzünde 1,5 milyon kadar mantar türü olduğu düşünülmekte ise de günümüzde sadece 69.000 kadar türü tanımlanmıştır. Çoğu insan, mantarların bitki olduğunu düşünmektedir, ancak mantarlar bitki değildir. Çünkü mantarlar kendi besinlerini üretmezler [3,4,5,6].

İnsan sağlığını tehdit eden mikroorganizmalar günümüzde mikrobiyoloji laboratuvarlarında yapılan kan ve idrar tahlilleri sonucu tespit edilmektedir. Kan ve idrar tahlillerinin hastalık tanısına ışık tutmasının yanı sıra koku parametresi de son zamanlarda bilim adamlarının dikkatini çekmiş ve koku ile ilgili pek çok araştırma yapılmaya başlanmıştır [7,8,9,10,11,12].

Koku ile ilgili araştırmalar Elektronik Burunlar kullanılarak yapılmaktadır. Elektronik Burunlar, yapısında kimyasal sensör dizisi bulunduran ve insan burnunun algılayamadığı seviyelerdeki kokular üzerinde hassas ölçüm yapabilen cihazlardır. Hassasiyeti, yapısında bulunan, algılanacak maddeye göre seçilmiş sensör dizisiyle belirlenmektedir. Bir kokuyu

algılayıp, tanımlayabilmenin yanı sıra ölçüm yapılan madde içinde her bir kokudan ne oranda bulunduğunu, bulunan kokuların hangi sınıflara dahil olduğunu ve ne kalitede olduklarını da algılayabilen bu cihazların ömürleri de uzundur [13, 14].

Bu çalışmada, Kuvars Kristal Mikrobalans (QCM) sensör dizisini yapısında barındıran Elektronik Burun ile mikroorganizmaların (*Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri) yaydıkları kokulardan sınıflandırma çalışmaları Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis) metodu yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızın ikinci bölümünde Elektronik Burun sistemi, üçüncü bölümde mikroorganizmalar ve deneyde kullanılan çeşitli bakteri ve mantarların yapıları ve özellikleri, dördüncü bölümde ölçüm sonucu alınan verilerin değerlendirilmesinde kullanılan yöntem ve metot, beşinci bölümde mikroorganizma kokularının ölçüm yöntemi ve değerlendirme sonuçları son bölüm olan altıncı bölümde de sonuç ve öneriler verilmiştir.

## 2. ELEKTRONİK BURUN SİSTEMİ

Endüstrinin birçok kolunda, nitel ve nicel araştırmalarda geniş çaplı uygulama alanlarına sahip olan ve kullanıcıya büyük avantajlar sağlayan elektronik burunlar; koku, buhar ve gaz analizlerinde kullanılmaktadır. Elektronik Burun'la ilgili ilk araştırmalar 1970 yılında İngiltere'de Warwick Üniversitesi'nde başlamıştır Gardner ve Bartlett (1994: 211–220); Schaller (1998, s.305–316); Bu üniversitede başlayan araştırma ve bir burun taklidi makine icadı çalışmaları tüm dünyada devam etmiş ve ‘‘Elektronik Burun’’ terimi literatüre ilk olarak 1990'da girmiştir. İlk örnek sistemler 1993'de, ilk ticari sistemler ise 1994'de piyasaya sürülmüştür [23].

Günümüzde elektronik devreler özellikle de sensör teknolojilerinin gelişimi ve kullanım alanlarının artmasıyla elektronik sensörlerin boyutları küçülmekte ve maliyetleri de düşmektedir. Bu sebeple de Elektronik Burun teknolojisi önem kazanmaktadır. Özellikle gıda, gümrük, askeri ve medikal uygulamalarda kullanımı yaygınlaşmaktadır.

Elektronik Burun' da kullanılan sensör dizisinin çeşitliliğine göre; frekans, direnç, ısı ve kütle değişimi şeklinde veri sinyalleri üretilmekte ve her sensörde bu tepkiler farklı olmaktadır. Bu sensör tepkileri; sensör dizisine, gaz akışı hızına, kokunun kimyasal özelliğine, aktif sensör maddeleriyle kokunun reaksiyonuna, basıncına, ısı, nem gibi fiziksel parametrelere bağlı olmaktadır. Bu tür karmaşık bilgilerin işlenmesi bilgisayar programlama için üst seviyede bir yazılım gerektirmektedir. Bu tür yazılımlar, örneği tanımlaması için güçlü bir algoritmaya dayandırılmaktadır. Yazılım algoritmaları ise; Temel Bileşen Analizi (TBA) [20] ve Yapay Sinir Ağları (YSA) [21,22] gibi yöntemleri içermektedir.

Elektronik Burunlar canlılardaki koku algılama yöntemine benzer bir yöntem kullanılarak tasarlanmaktadır. Canlılardaki koku algılama organı olan burundaki sinir hücrelerinden oluşan koku algılayıcılarının (reseptör) yerini, Elektronik Burun' da kimyasal sensörler, koklama soğanının yerini yapay sinir ağları gibi algoritmalar almaktadır. Bilgisayar da insan beyninin bir benzetimi olarak düşünülebilir ve uyarımları değerlendirmek için hazırlanan bu algoritmalar yoluyla yorumlama yapabilmektedir.

Canlılarda burundan alınan koku, koklama soğanına iletilmekte ve tanıma işlemi beynin koku merkezinde bir eğitim ile öğrenmeye bağlı olarak gerçekteşmektedir. Koku daha önce rastlanmış ve bilinen bir koku ise beyinde tanıma gerçekteşmekte, şayet ilk defa karşılaşılan bir uyarım ise bir ilk olarak beyne tanımlanarak kaydedilmektedir. Uyarım sinyali sonucu bir eylem gerekiyorsa beyinde o eylem kararı verilmektedir [18,24]. Elektronik Burun' da ise koku

molekülleri, her biri değişik kokuları algılayacak şekilde tasarlanmış olan kimyasal sensör dizisine gönderilmekte ve bu sensörlerin çevreden topladıkları sinyaller, elektronik sistemler yoluyla ikili kodlara dönüştürülmekte ve oradan da bilgisayara aktarılmaktadır. Gönderilen bu elektriksel sinyaller belirli örüntü tanıma yöntemleriyle işlenerek koku tanısı gerçekleştirilmektedir. Burada da bir eğitim gerekmektedir ve şayet koku ilk defa verilmişse oluşan sinyal tepkileri bu koku adına kaydedilmekte, ikinci bir koklatmada sistem bu kokuyu tanımaktadır [25].

Elektronik Burun ve insan burnunun karşılaştırılması Çizelge 2.1’ de verilmektedir. Elektronik Burun ile İnsan burnunun birbirlerine göre avantaj ve dezavantajları vardır. İnsan burnu karbon monoksit ve karbondioksit gibi gazları hiç algılamamakta, algıladığı gazlarda ise bir süre sonra koku var olmasına rağmen yorgunluk oluşmakta (bu yorgun olayına fatigue adı verilmekte) ve ortamda halen var olan gazlar algılanamamaktadır. Bunun dışında insan burnu, kişiye bağımlılık (subjectivity) da göstermektedir. Elektronik Burunlar ise objektiftir ve tekrarlanabilen sonuçlar verir. Elektronik Burun’ un hassasiyet insan burnuna göre oldukça yüksek olmakla birlikte, yıllarca aynı işi görebilmekte ve insan burnunun algılayamadığı gazları kullandıkları sensör dizisine bağlı olarak rahatlıkla algılayabilmektedir [25].

**Çizelge 2.1** İnsan burnu ve Elektronik burun’ un karşılaştırılması.

Tanımlayıcı	İnsan Burnu	Elektronik Burun
Algılayıcı	Alicı nöron	Sensör / transduser
Aktiflik	Koku alma genleri	Kaplama
Algılayıcı sayısı	10.000.000 reseptör	6-30 sensör (dizi)
Sinyal işleme modülü	Glomeruli	Mikrodenetleyici
Tanımlama modülü	Beyin	Bilgisayar
Duyarlılık	Ppt	Ppm
Seçicilik	10000~20000 koku	< 50 koku

## 2.1 Elektronik Burun Uygulama Alanları

Elektronik donanım ile kokuyu algılamak çok avantajlı olduğundan dolayı istenen bir durumdur. Bu nedenle, kokuların değerlendirilmesi ve tanımlanması suretiyle ürünlerin kalitesine değer biçmek için ve daha tutarlı sonuçlar elde etmek için Gaz Kromotografi ve Kütle



Spektrometrisi (Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC/MS)) gibi cihazlar kokuların nitelendirilmesi için kullanılmaktadır. Ancak bu yardımcı cihazlar pahalı, taşınması zor, performansları göreceli olarak yavaş olan ve gerçek zamanlı olarak nadiren uygulanabilen yöntemler içermektedir. Bu yüzden geleneksel metotlardan daha hızlı bir yöntem olan gaz sensörlerinden oluşmuş Elektronik Burun kullanımı oldukça önem arz etmektedir [25,26].

Gaz karışımlarındaki bileşenlerin tespitinde [23,27], insan davranışlarını tespit edebilmek ve günlük halsizliklerini tanımlamak için kimyasal maddelerin analiz edilmesinde ve bu hareketleri tanıyabilen devrelerin geliştirilmesinde [28], hedef kokuları ayırt etme çalışmasında ve hedeflenen kokunun dahili olarak tekrar üretilmesinde, kimya alanında alkollerin, ketonların, aromaların, esterlerin ve parfümlerin tahmin edilmesinde, kokudaki dinamik değişimlerin incelenmesinde, koku kaydeden ve üreten koku kaydedicisi çalışmalarında da [21,27,29,30] Elektronik Burun teknolojisinden yararlanılmaktadır.

Gıda, kozmetik ve ilaç sektöründe ise, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kalite kriterlerinin hızlı, ucuz ve objektif yöntemlerle analizi için Elektronik Burun tekniğine dayanan analiz metotları geliştirilmektedir [24].

Kahve kalitesinin belirlenmesi, atık suların analiz çalışmaları [31,32] ve balık, et, sebze, şarap [33], domates ezmesi, süt [34], tahıl çeşitlerinin sınıflandırılması [35], etin tipi, kalitesi ve depolanma zamanı [36] gibi gıda analizleri de Elektronik Burun ile yapılan çalışmalardandır.

Farmakoloji’ de Elektronik Burun, üretim işlemlerini izlemek, depoda ve dağıtılmış alanlarda güvenliği sağlamak için kullanılmaktadır. Uzmanlaşmış sistemler hedeflenen illegal bileşenler ve yan ürünler için nefes ve idrar örnekleri test edilebilmektedir [26].

Tıp alanında koku, hastalık tanısı için asırlardır değerlendirilmektedir. Elektronik bir burun nefesi, teri, idrarı ve dışkıyı analiz etmek için kullanılabilir. Nefes analizinden akut enfeksiyonların hızlı tanısı, hastalık yapıcıların erken saptanması için bakteri kültürlerinin gözlenmesi gibi biraz daha önceliğe sahip alanlar mevcuttur. Nefes analizi ile meme kanserinin teşhisi [17], anestezi gazı seviye tespit uygulamaları [37,38], insan ter kokusunun analizi [15,16], nefes-alkol analizi [39] gibi tıbbi uygulamalarda da kullanılmaktadır.

## **2.2 Elektronik Burun’ da Kullanılan Sensörler**

Bir sensör dizisi birçok kimyasal, elektriksel niceliklere dönüştürerek tanımlayabilmektedir. Sensör dizisinden oluşan bir denetim sistemi, denetlenecek ortamı algılayabilmek için çok farklı yapıda veya aynı tipte farklı algılama özelliklerine sahip

sensörleri içermektedir. Günümüzde algılama için tek bir sensör kullanımının yerine sensör dizileri tercih edilmektedir.

Elektronik Burun için koku sensör dizisi geliştirme çalışmaları 1980' lerin başlarında İngiltere Warwick Üniversitesi' de başlamış ve günümüzde birçok araştırma-geliştirme merkezleri tarafından devam ettirilmektedir [26]. Elektronik Burun' da kullanılan sensör çeşitleri:

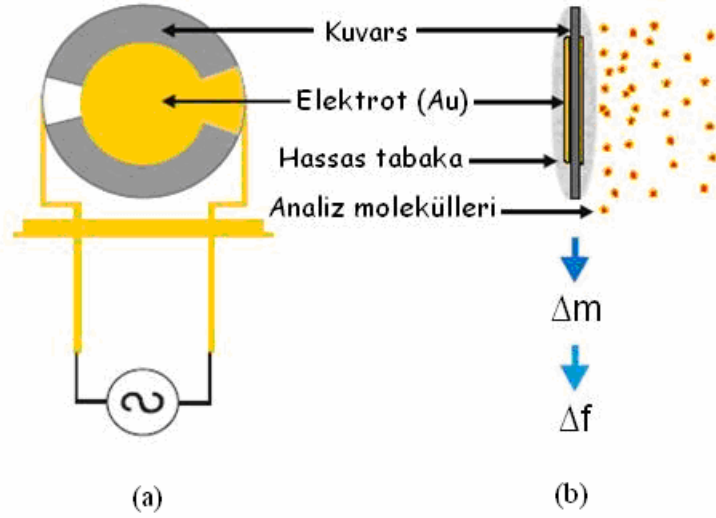
- Yüzey Akustik Dalga Sensörleri (Surface Acoustic Wave Devices) (SAW)
- Metal Oksit Yarı-iletkenleri (Metal Oxide Semiconductors) (MeOX)
- Kuvars Kristal Mikrobalsans Sensörler (Quartz Crystal Microbalance) (QCM)
- Optik Sensörler (Optical Sensors)
- IDT (Inter Digital Transducer)

Genellikle bu sensörlerin tercih edilmesinin sebebi duyarlılık eşiklerinin daha düşük olması ve daha uzun süre kalibrasyona ihtiyaç duyulmamasındandır.

### **2.3 Kuvars Kristal Mikrobalsans Sensörler (Quartz Crystal Microbalance) (QCM)**

Kuvars Kristal Mikrobalsans algılayıcı, kimyasal film tabakası ile kaplanmış elektrotların oluşturduğu kuvars bir rezonatördür. QCM, kullanılan kaplama çeşidine göre değişen nanometrik boşluklara sahiptir. Bu boşluklarla kendi çapından daha küçük olan molekülleri tutabilmektedir. Tutulan molekül miktarına göre QCM' in kütlesi artmaktadır. Değişen kütle ile beraber QCM' in oluşturduğu frekans da değişmektedir. Bu dönüştürücü (transducer)' de 1Hz'lik bir frekans değişimi,  $\text{cm}^2$  de 1 ng' lık soğurulan kütleye karşılık gelmektedir. QCM üzerine kaplanan seçici bir kimyasal ara yüzle istenen gaz algılanabilmektedir. Genellikle moleküllerin boyutu, kaplama boşluklarının boyutuna ne kadar yakın olursa moleküllerin o boşluktan kaçması o kadar güç olacaktır [22,25,37,41].

Şekil 2.1'de bir QCM yapısının önden, yandan görünüşü ve gaz ile etkileşimi görülmektedir.



Şekil 2.1 QCM sensörün a) önden görünüşü b) yandan görünüşü

Gaz moleküllerinin QCM sensör tarafından algılanması ile oluşan  $\Delta m$  kütle değişimleri Sauerbey Eşitliği (2.1) kullanılarak  $\Delta f$  frekans değişimleri olarak hesaplanabilmektedir [19,40].

$$\Delta f = -\frac{C_f \cdot C_0^2}{A} \cdot \Delta m \quad (2.1)$$

Burada:

$A$  : Algılama yüzey alanı ( $\text{cm}^2$ )

$C_f$  : Kuvars kristalin kütle algılama sabiti

$\Delta f$  : Frekans değişimi (Hz)

$\Delta m$  : Kütle değişimi (g)

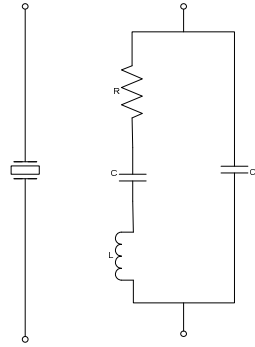
Bu çalışmada kullanılan piezoelektrik kristal, AT kesim, 10 MHz, altın kaplama elektrotlu kuvars kristaldir. Piezoelektrik kristallerin her iki yüzü farklı gaz algılayıcı özellikleri olan phthalocyanine ile kaplanmıştır. QCM sensörler TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Malzeme Enstitüsü Sensör Grubu tarafından üretilmiştir.

Piezoelektrik kristalin yüksek dirence karşılık kapasitif davranış gösteren bir kapasitör, bir motor ve bir jeneratöre eşdeğer olduğu bilinmektedir. QCM rezonatörün elektriksel özelliğinin incelenebilmesi için elektriksel olan bir eşdeğer devre ile temsil edilmesi gerekmektedir. Bu şekilde farklı frekanslar tanımlanarak, bu frekanslar eşdeğer devre ile temsil edilebilir. Piezoelektrik kuvars kristali rezonatörünün eşdeğer devresi Şekil 2.2'de görülmektedir. Şekilde; C hareketli kısmın mekanik esnekliğini, L kristalin hareketli kısmının ölçüsünü, R sürtünmeler nedeniyle ortamda yok olan mekanik enerji kayıplarını

simgelemektedir.  $C_0$  hem kuvars yüzeylerindeki elektrotların hem de mekanik yapının kapasitesini simgelemektedir. Kuvars kristalinin empedansı tamamen rezistif ise rezonans çok düşüktür. Bu durumda rezonant empedansının tamamen rezistif olmasına bağlı olarak iki farklı frekans vardır. Bunlar  $F_s$  ve  $F_p$  sırasıyla seri ve paralel rezonans frekanslarıdır.

$$F_s = \frac{1}{2\pi} \times \frac{1}{\sqrt{LC}} \quad (2.2)$$

$$F_p = \frac{1}{2\pi} \left[ \frac{1}{LC} + \frac{1}{LC_0} + \left( \frac{R}{L} \right)^2 \right]^{1/2} \quad (2.3)$$



**Şekil 2.2** Piezoelektrik kuvars kristal rezonatör eşdeğer devresi

Tipik piezoelektrik kristalin rezonatörleri için aşağıdaki varsayımlar yapılabilir:

$$\frac{1}{LC_0} \gg \left( \frac{R}{L} \right)^2 \quad \text{ve} \quad \frac{C}{C_0} \ll 1 \quad (2.4)$$

$F_p$  yaklaşık olarak aşağıdaki gibi hesaplanabilir:

$$F_p = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}} \left( 1 + \frac{C}{2C_0} \right) = F_s \left( 1 + \frac{C}{2C_0} \right) \quad (2.5)$$

Rezonatörün fiziksel özellikleri nedeniyle  $L$  ve  $C$ 'nin tam değerleri bilinemediği için yukarıdaki basit bağıntı hiçbir nicel analizde kullanılamaz. Eşdeğer elektrik modeli sadece kristal osilatör devrelerinde ve onların çalışma analizlerinde kullanılabilir (John Wiley, Sons, 1994: 181–182).

### 3. MİKROORGANİZMALAR

#### 3.1 Bakteriler

Bakteriler, tek hücreli prokaryotik mikroorganizmalardır. Büyüklükleri 0.1 – 10 µm arasında değişir. 3500 milyon yıldan daha uzun bir süredir dünyada var oldukları bilinmektedir. Hava, toprak, su ile canlı dokularında yaşarlar ve biyolojik olarak hayatın devam etmesi için çok önemlidirler. Siyanobakteriler (cyanobacteria) fotosentez yapabilirler ve dünyada bilinen ilk yaşam formunu oluşturmuşlardır [2]. Bazı bakteri türleri hastalıklara neden olabilirler.

Bakteri kelimesi Yunanca bakterion 'çubuk, kamyş' kökünden gelir. Bunun nedeni bulunan ilk bakteri türlerinin çubuk şeklinde olmalarıdır.

Bakterilerin türlerinin bilimsel isimleri iki kelimedenden oluşur. İlk kelime türün ait olduğu cinsin ismidir. İkinci kelime ise, türünü tanımlar.

Her gün yeni bir bakteri türü keşfedilirken, bilinen bakterilerin sınıflandırılması gittikçe zorlaşmaktadır. Woese tarafından 1977'de yapılan ve 16S RNA dizilimini temel alan sistematığe göre, bakteriler iki gruba ayrılır: Arkeabakteriler (Archaeobacteria) ve Öbakteriler (Eubacteria)'dir. 1990'da gelen yeni yapılanma ile bu grupların adları Arkeler (Archaea) ve Bakteriler (Bacteria) olarak değişmiş, kalan canlılara da Ökaryotlar (Eukaryota) olarak adlandırılmaya devam etmiştir [2].

##### 3.1.1 Bakterilerin sınıflandırılması

Bakteriler, şekilleri, kamçı durumları, beslenmeleri ve boyanmaları gibi çeşitli özelliklerine göre gruplandırılabilirler [2].

##### 3.1.1.1 Şekillerine göre

###### a) Çubuk şeklinde olanlar (Bacillus)

Çubuk biçimdeki bakteriler silindirik veya buna yakın bir görünüme sahip olduklarından boyları enlerinden daha uzundur. Ancak, bu formları cins ve türlere göre değişebileceği gibi, aynı tür mikroorganizma kültürünün çeşitli üreme fazlarında da farklılıklar meydana gelebilir.

### **b) Yuvarlak olanlar (Coccus)**

Bunlar, çomak veya spiral formda olanlara oranla, morfolojik olarak, cins veya tür içinde daha fazla homojenite gösterirler. Koklar, her ne kadar, yuvarlak biçimlerde olmalarına karşın bazı türlerde morfolojik değişikliklere rastlanılmaktadır.

### **c) Spiral olanlar (Spirillum)**

Uzun bir eksen etrafında helezoni tarzda sarılmış bir vücuda sahip, bükülebilir ve uzun eksen etrafında dönerek hareket edebilirler. Uzunluk, sarmal sayısı ve sarmal yüksekliği türler arasında farklar gösterir. Örnek olarak frengi hastalığına neden olan *Treponema pallidum* türünü verebiliriz.

### **d) Virgül şeklinde olanlar (Vibrio)**

Flagella (kamçı) ları ile birlikte virgül şeklini anımsatırlar.

#### **3.1.1.2 Boyanmalarına göre**

Gram boyası ile boyandığında mavi-mor renk veren bakterilere gram (+), kırmızı-turuncu renk veren bakterilere ise gram (-) bakteriler denir. Farklı renklerin ortaya çıkması, hücre çeperinin özelliklerinden kaynaklanır. Gram (+) bakteriler kalın, peptidoglikandan oluşmuş tek katmanlı bir çepere sahipken, gram (-) bakterilerde iki ince katmanlı (İlk tabaka karbonhidrat ve proteinlerden, ikinci tabaka ise yine peptidoglikandan oluşmak üzere) hücre çeperi bulunmaktadır [2].

#### **3.1.1.3 Beslenmelerine göre**

Bazı bakteriler ototrof olup, fotosentez veya kemosentez yaparlar. Çoğunluğu ise heterotrof olup, saprofit veya parazit yaşarlar [2].

### **a) Heterotrof Bakteriler**

- Saprofit Bakteriler:** Bakterilerin çoğunluğunu oluşturur. Besinlerini buldukları ortamlardan hazır sıvılar olarak alırlar. Nemli, ıslak ve çürükler üzerinde yaşarlar. En çok amino asit, glikoz ve vitamin gibi besinleri ortamdaki alırlar. Bu tür bakteriler dış ortama salgıladıkları enzimlerle bitki ve hayvan ölümlerini daha basit organik maddelere parçalayarak onların çürümesini sağlarlar. Böylece hem toprağın humusunu artırır, hem de kendilerine besin sağlarlar. çürütme sonucu çeşitli kokular meydana gelir. Bu yüzden bu olaya kokuşma denir. Bazı saprofit bakteriler, sütün yoğurt ve peynir olarak

mayalanmasını sağlarlar. Saprofitler, dünyada madde devrinin tamamlanmasında önemli rol oynadıklarından hayat için mutlaka gereklidir.

2. **Parazit Bakteriler:** Besinlerini cansız ortamdan değil de üzerinde yaşadıkları canlılardan temin ederler. Çünkü sindirim enzimleri yoktur. Bunların bazıları konak canlıya fazla zarar vermeden yaşayabilirler. Sadece onun besinlerine ortak olurlar. Kalın bağırsağımızdaki *Escherichia coli* bunun en iyi örneğidir. Bazı parazit bakteriler ise konak canlının ölümüne bile sebep olabilen hastalıklara yol açarlar. Bunlara Patojen Bakteriler denir. Patojenler ya toksin çıkararak ya da konak canlının enzim ve besinlerini kullanarak zarar verirler. Toksinler ya dışarı atılır (Ekzotoksin), ya da Bakterinin içinde kalır (Endotoksin). İçinde kalan toksinler bakteriler ölünce zararlı hale geçerler. Ekzotoksinler kadar zararlı değildir. Canlıların patojen bakterilere ve toksinlerine karşı oluşturdukları savunmaya "Bağışıklık" denir. Parazit bakterilerinin üremeleri oldukça hızlıdır.

#### **b) Ototrof Bakteriler**

1. **Fotosentetik Bakteriler (Fotoototroflar):** Sitoplazmalarında serbest klorofil taşırlar. Fotosentezlerinde elektron kaynağı olarak  $H_2O$  yerine  $H_2S$  ve  $H_2$  kullanırlar. Fotosentez yaparlar fakat açığa oksijen çıkmaz.
2. **Kemosentetik Bakteriler (Kemoototroflar):** Bu bakteriler madde döngüsünde özellikle Azot (=Nitrifikasyon) döngüsünde çok önemlidirler. Amonyak, nitrit, nitrat, demir, kükürt gibi inorganik maddeleri oksitleyerek zararsız hale getirirler. Oluşan maddeler ise bitkilerce genellikle Azotlu Tuz (Güherçile) ( $KNO_3$ ,  $NaNO_3$  vb.) olarak kullanılır. Bu oksitleme sonucunda açığa kimyasal enerji çıkar. Bu enerjiyle de  $CO_2$  indirgemesi yaparak besinlerini sentezlerler. Bu besinleri sentezleyebilmek için Işık ve klorofil gerekli değildir. Oksijen kullanılır. Kemosentetik bakteriler en çok azotlu, kükürtlü, demirli maddeleri oksitlerler. Kemosentez sonucu:
  - Bazı zararlı maddeler ortadan kaldırılmış,
  - Bitkilerin alabileceği tuzlar oluşturulmuş,
  - Kimyasal enerji kazanılmış
  - Organik besin sentezlenmiş olmaktadır.

### **3.1.1.4 Solunumlarına göre**

1. **Anaerob Bakteriler:** Bakteriler organik besinleri parçalayarak enerjilerini elde ederken genellikle oksijen kullanmazlar. Bunlar havasız yerlerde de yaşayarak çoğalırlar. (Konservelerde olduğu gibi) Bunlardan bazıları oksijenin olduğu yerde hiç gelişemezler. Örnek: *Clostridium tetani* (Tetanos bakterisi)
2. **Aerob Bakteriler:** Bazı bakteri grupları (*Escherichia coli*, Zatürree ve Yoğurt Bakterisi gibi) ancak oksijenli ortamda yaşayabilir. Bunlarda mitokondri olmadığı için solunum hücre zarının iç kısmındaki kıvrımlarda (mezozom) gerçekleştirilir. Örneğin azot bakterileri.
3. **Geçici Aerob veya Geçici Anaerob Olanlar:** Asıl solunumları oksijensiz olduğu halde kısa süre için aerob olanlara "Geçici Aerob" denir. Normal solunum şekli aerob olanlar ise havasız kalınca fermantasyona başvururlar. Bunlara "Geçici Anaerob" denir.

### **3.2 Mantarlar**

Mantarlar (Fungi), çok hücreli ve tek hücreli olabilen ökaryotik canlıları kapsayan bir canlılar alemi ve şapkalı mantarların tümüne halk arasında verilen genel addır. Latince *Fungi* mantarlar, *Fungus* ise mantar anlamındadır [3].

Dünyanın her yerinde bulunurlar. Fazla nemli yerlerde daha çokturlar. Yeryüzünde 1,5 milyon kadar mantar türü olduğu düşünülmekte ise de günümüzde sadece 69.000 kadar türü tanımlanmıştır [3].

Funguslarla ilgili sistematik çalışmalar 250 yıllık bir geçmişe dayansa da, bazıların özelliikleri yüzyıllardır bilinmektedir. Ekmek hamurunun kabartılmasında, şarap yapımında insanlık tarihinde hep kullanılmışlardır. Yine bazı mantarlar Kuzey Amerika yerlileri ve Çinliler tarafından tıbbi amaçla kullanılmışlardır [3].

#### **3.2.1 Özellikleri**

Mantarlar, ökaryotik, spor üreten, genellikle eşeyli ve eşeysiz çoğalan, heterotrof canlılardır. Mantarlar hayvanlar gibi aktif hareket edemezler ama bitkiler gibi klorofil de taşımazlar, dışarıdan besin alarak beslenirler yani heterotrofturlar. Mantarlar parazitik, çürükçül veya simbiyotik olarak yaşayabilirler. Besinlerini hücre dışında sindirdikten sonra absorpsiyonla hücre içine alırlar. Parazit mantarlar çoğunlukla bitkileri, bazen hayvanları ve insanları hastalandırmak suretiyle enfekte ederler. Saprofit olanlar ise cansız organik maddeler üzerinde yaşarlar. Hücreleri çeperli ve genellikle hareketsizdir. Sporla ürerler.



Hücre çeperleri bazı türlerde selülozdan bazılarında kitinden veya her ikisinden oluşur. Fungus hücrelerinde organel olarak endoplazmik retikulum, 2 ya da daha fazla nükleus, bazılarında golgi aygıtı, mitokondriler ve bunlara ilaveten bazı funguslarda hareket görevi yapan flagellum görülür. Kofulları vardır ve bunların sayıları yaşlandıkça artış gösterir. Yedek besinleri glikojen ve lipid halinde depolarlar.

### 3.2.2 Üremeleri

Mantarlar eşeyli ve eşeysiz olarak çoğalırlar. Her iki durumda da spor oluştururlar. Sporlar "hümenium" adı verilen yapılarda meydana gelir. Eşeyli üremeleri iki haploid hücrenin birleşmesini içerir. Toprağa dökülen sporlar rüzgârla ya da böceklerle çevreye dağılır ve toprakta yıllarca yaşayabilir. Mantarlar nemli ortamlarda gelişirler, bu nedenle yağmurlardan sonra topraktaki sporlar çimlenerek mantarları oluştururlar. Tek hücreli mantarlar ise tomurcuklanarak çoğalabilirler. Suda yaşayanlarda eşeysiz üreme daha hareket organeli ( yani flagellum) bulunan zoosporlar ile olur [3].

### 3.2.3 Önemleri

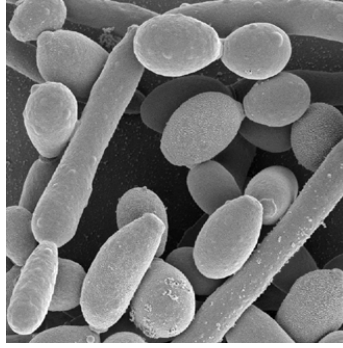
Mantarlar insanlık tarihi açısından büyük öneme sahiptirler. Ekosistemin önemli parçalarıdır. Son 2 milyar yıldır bitki ve hayvansal yapıları çürüttükleri bilinmektedir. Bu yapılardaki elementlerin serbest bırakılmaları mantarlar tarafından sağlanır. Orman ekosistemlerinde CO<sub>2</sub> salınımı gerçekleştirmektedirler. Ayrıca toprağın yapısını bitki gelişimi için uygun hale getirirler. "Mikoriza" denilen ortaklıklar oluşturarak bitkilerin köklerine tutunurlar ve bitki köklerinden karbonhidrat alırlar, bu sırada bitkide mantarın hifleri yardımı ile topraktan su ve suda çözünen tuzları absorblar. Bazı eklembacaklı türlerinde "mycelium" denen yapılar olarak bulunurlar ve selüloz sindirimine yardımcı olurlar [3].

Gerçek mantarlardan olan mayalar, fırıncılık ve fermantasyon endüstrisinin temelini oluştururlar. Alkollü içki endüstrisinin temelini de mantarlar oluşturmaktadır. Bununla beraber, sitrik asidin endüstriyel olarak üretilmesinde ve bazı peynir tiplerinin hazırlanmasında da (rokufor, gorgonzola, kamembert gibi) kullanılırlar. Penisilin gibi birçok yararlı antibiyotiğin, thiamin, biyotin, riboflavin gibi bazı vitaminlerin; ergotamin, kortizon gibi önemli ilaçların kullanılmasında yine mantarlardan yararlanılmaktadır. Amilaz, pektolaz gibi enzimler; gibberellin gibi bazı hormonlar da mantarlardan yararlanılarak üretilmektedir. Ayrıca genetik çalışmalarda kullanılan *Neurospora* cinsi yine bir mantardır [3].

### 3.3 Çalışmalarda Kullanılan Mikroorganizmalar

#### 3.3.1 *Candida albicans*

*Candida albicans*, eşeyli çoğalan, diploit, maya tipi bir mantar türü ve insanlarda oral ve vajinal fırsatçı enfeksiyonların etmenidir. Şekil 3.1'de mikroskopik görüntüsü yer almaktadır. *Candida* cinsine ait 200 tür olmasına karşın *Candida* enfeksiyonlarının %75'inin sorumlusu *Candida albicans*'tır. Türkçe okunuşu kandida albikanstır [42].



Şekil 3.1 *Candida albicans* mikroskopik görüntüsü

Bağışıklığı baskılanmış hastalarda (AIDS, kanser kemoterapisi, organ veya kemik iliği transferi durumlarında) sistemik mantarsal (fungal) enfeksiyonlar (fungemi), hastalık ve ölümün başlıca nedenleri arasındadırlar. Ayrıca bu yünde riski olmayan hastaların hastanede edindikleri enfeksiyonlar ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir [42].

*C. albicans* insan ağızı ve sindirim sistemi içinde yaşayan pek çok organizmadan biridir. Sağlıklı yetişkinlerin %40'ının ağızında, sağlıklı kadınların %20-%25'inin vajinasında varlığı gösterilebilir. *C. albicans* sindirim sistemindeki varlığıyla başka patojen bakterilerin çoğalmasını engeller. Vücudun bağışıklık sistemi ve diğer zararsız bakteriler normal şartlarda *Candida*'yı kontrol altında tutarlar [42].

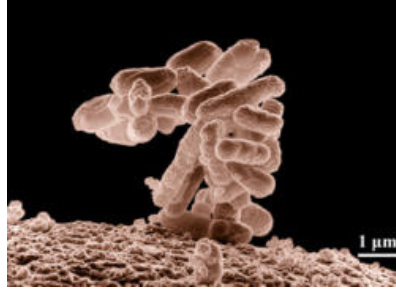
Ancak, diğer bakterilerin sayısı *C. albicans*'a oranla azalır (örneğin antibiyotik kullanımından dolayı), bağışıklık sistemi zayıflamışsa veya mayanın çoğalmasına sağlayan başka şartlar mevcutsa (yüksek şeker, yüksek pH) *C. albicans* zararsız olan tek hücreli biçiminden, çok hücreli, istilacı (invasif), küf gibi iplikçi biçimine dönüşür. *C. albicans* iplikçi bir biçime dönüşmesine ilaveten, konak dokulara bağlanmasını sağlayan adhesinler, dokulara hem imha etmeye hem de onlara daha iyi yapışmayı sağlayan proteazlar, ve vücudun bağışıklık sisteminin tepkisini azaltan faktörler üretir [42].

### a) Sağlığa etkisi

*C. albicans* vücudun diğer çevreye açık ve nemli dokularında (ağız, vajina, bebeklerde alt bezi bölgesi) da aşırı çoğalırsa kandidoza yol açabilir. Kandidoz kanda ve genital yolda da oluşabilir. Ağızda *C. albicans* enfeksiyonuna pamukçuk denir. Bağışıklığı baskılanmış hastalarda (örneğin HIV-pozitif hastalarda) Candida enfeksiyonuna çok sık rastlanır ve bu hastalığın seyri çok daha ciddi olup fungemiye varabilir [42].

### 3.3.2 Escherichia coli

Genelde *E. coli* kısaltması ile veya koli basili olarak bilinen *Escherichia coli* (okunuşu *Eşerikiya koli*), memeli hayvanların kalın bağırsağında yaşayan faydalı bakteri türlerinden biridir. Normalde bağırsakta yaşadığı için, *E. coli* 'nin çevresel sularda varlığı dışkı kirlenmesinin bir belirtisidir [43]. Şekil 3.2'de mikroskobik ortamda görüntüsü yer almaktadır.



**Şekil 3.2** Bir *Escherichia coli* bakteri kümesinin elektron mikroskobunda 10.000 kere büyütülmüş görüntüsü.

*E. coli*, pediyatrist ve bakteriyolog olan Theodore Escherich tarafından bebek dışkılarında keşfedilmiştir ve adını ondan alır; *coli*, "kalın bağırsaktan" demektir. *E. coli*, genel olarak bakteri biyolojisinin anlaşılması amacıyla üzerinde sıkça çalışılmış bir model organizma olmuştur. Canlılar arasında hakkında en fazla şey bilinen organizma olduğu söylenebilir.

*E. coli*, normal bağırsak florasına aittir, biyolojik sınıflandırmada da bağırsaklarda yaşayan bakterilerden oluşan enterik bakteriler ailesinde yer alır. Bakteri çubuk şeklinde olup, boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve 0.1-0.5 µm çapındadır [43].

*E. coli* Gram-negatif bir bakteri olduğundan endospor oluşturmaz, pastörizasyon veya kaynatma ile ölür. Memeli hayvanların bağırsaklarında büyümeye adapte olmuş olduğu için en iyi vücut sıcaklığında çoğalır [43].

**a) Hastalıkta rolü**

Bağırsak florasının normal bir üyesi olan *E. coli* ile konak organizma arasında uyumlu bir ilişki olduğundan bakteri normalde hastalık yapmaz. Ancak, ortama geçmesi halinde ki bu aynı organizmada başka bir organ olabilir (idrar yolu enfeksiyonu ile mesaneye geçmek gibi) veya başka bir konak organizmanın bağırsağı olabilir, *E. coli* bir hastalık etmeni olabilir. Bazı *E. coli* tipleri içinde buldukları hayvan için zararsız olmalarına rağmen insana geçtiklerinde hastalık yapabilirler. Bu hastalıklar arasında başlıca ishalli hastalıklar olmakla beraber idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, peritonit, mastit, septisemi ve gram-negatif pnömoni de sayılabilir. *E. coli* 'nin, tavuk, dana ve başka hayvanlarda da hastalık yapabildiği gösterilmiştir [46]. İshalli hastalıklara idrar yolu enfeksiyonlarına yol açabilir.

**b) Korunma**

Gıdaların yıkanması patojen *E. coli* enfeksiyonun yeme yoluyla yayılmasını engellemenin en etkili yoludur. *E. coli* bulaşmış yiyeceklerin kaynatılması da etkilidir.

**c) Tedavi**

Uygun tedavi, enfeksiyonun nedeni olan *E. coli* tipinin antibiyotik duyarlılığına bağlıdır. *E. coli* enfeksiyonlarını tedavide kullanılacak antibiyotikler arasında amoksisilin, trimetoprim-sulfametoksazole, ciprofloksacin, nitrofurantoin sayılabilir. *E. coli* 'nin neden olduğu her hastalık için her antibiyotik uygun olmayabilir, bu konuda bir doktora danışmak gereklidir [43].

Antibiyotiğe direnç gelişmesi büyüyen bir sorundur. Bunun başlıca nedeni insanlarda antibiyotiklerin gereksiz kullanımınıdır. Geniş spektrumlu beta-laktamaz üreten *E.coli* suşları çeşitli antibiyotiklere dayanıklı bir beta laktamaz enzimi üretirler ve bunların tedavisi çok daha zordur. Çoğu durumda bu suşlara karşı yalnızca iki oral antibiyotik ve damardan alınan sınırlı bir grup antibiyotik etkilidir [43].

**d) Mikrobiyolojide yeri**

Yaygın bir bakteri olmasından dolayı *E. coli* mikrobiyolojide sıkça çalışılmıştır ve moleküler biyolojide bir gereç haline gelmiştir. Yapısı bellidir, hayat bilimlerini çalışan her seviyede öğrenci ve araştırmacı için ideal bir araştırma organizmasıdır.

Bakteriyel konjügasyon, genetik rekombinasyon, operon kavramları ilk *E. coli* 'de keşfedilmiştir, DNA'nın çoğalması, RNA transkripsiyonu, protein sentezi gibi, moleküler biyolojinin pek çok önemli mekanizması, metabolizmanın çoğu ayrıntısı bu organizmada yapılan araştırmalarla anlaşılmıştır. En az on Nobel Ödülü *E. coli* 'de yapılan araştırmalara dayanır.

Laboratuvarda kullanılan standart *E. coli* suşunun adı K12'dir. *E. coli* K12'nin ve O157:H7 serotipli bir suşun genom dizinleri çözülmüştür. K12 genomu yaklaşık 4200 genden oluşmaktadır, O157:H7 genomu ise K12'ninkiden %25 daha büyüktür. K12 suşu hastalık yapan bir faktörler taşımaz ve hatta K12'nin ilk izolasyonundan günümüze geçen yıllar zarfında kapsül yapma yeteneğini kaybederek laboratuvar ortamına uyum sağlamış, artık doğal ortamında (yani insan bağırsağında) başka *E. coli* türleriyle rekabet edemeyecek kadar zayıflamıştır [43].

*E. coli* modern biyoloji mühendisliğinde önemli bir yeri vardır. Araştırmacılar bu bakteriyi büyük miktarda DNA veya protein üretmek amacıyla bir fabrika gibi kullanırlar. Rekombinant DNA teknolojisinin ilk faydalı uygulamalarından biri *E. coli* 'nin manipüle edilerek onun diyabetli hastalar için insülin üretmesini sağlamak olmuştur.

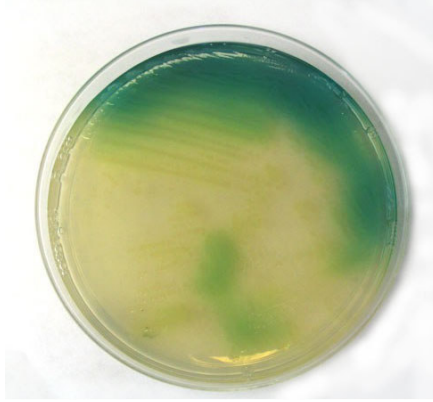
### 3.3.3 *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas*, Yunanca “sahte birim” demektir. Sahte manasına gelen “pseudo” ve birim manasına gelen “monas” kelimelerinden türetilmiştir. Mikrobiyolojinin ilk yıllarında bu isim bütün mikroorganizmaları tanımlamak için kullanılıyordu. *Aeruginosa* ise Latince'de bakır pası manasına gelmektedir [44]. Şekil 3.3'de *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin mikroskop altındaki görüntüsü görünmektedir.



Şekil 3.3 *Pseudomonas aeruginosa* bakteri kümesinin mikroskopik görüntüsü

*Pseudomonas aeruginosa*, çoğu toprak ve suda bulunur. Glikozu oksidasyon yoluyla parçalayan fakat fermantasyon yapmayan bakterilerdir. Ekseriye tek hücreler halinde görünürler, fakat bazen üreme esnasında birkaç hücre bitişik kalarak kısa zincirler teşkil ettikleri görülür. Genç kültürler, üzerinde büyüebildiği ortamlarda genellikle mavi-yeşil bir pigment çıkarır. Kültür yaşlandıkça bu renkler kahverengine döner. Aerobik olmaları nedeni ile gıdaların yüzeyinde hızlı gelişebilmeleri sonucu okside ürünler ve mukoz madde oluştururlar. Kendi gelişmeleri için gerekli gelişme faktörleri ve vitaminleri sentezleme yeteneğindedirler [44].



**Şekil 3.4** *Pseudomonas aeruginosa* piyosiyanın görüntüsü

Diğer Pseudomonadlar gibi *Pseudomonas aeruginosa* da piyosiyanın (mavi-yeşil) (Bkz. Şekil 3.4), piyorubin (kırmızı-kahverengi) ve flöressein (yeşil-sarı ve flöresan) gibi pigmentler üretir. Flöresseini tüm Pseudomaslar oluşturabilirken; piyosiyanini sadece *Pseudomonas aeruginosa* oluşturabilir. Pseudomonadların pigment üretimlerini arttırmak için *Pseudomonas* agar P-F gibi özel besiyerleri geliştirilmiştir. Hemoglobini tam olarak hemoliz ettiği için kanlı agar besiyerindeki kolonilerin etrafında temiz ve berrak zon (bölge) oluşturur. *Pseudomonas aeruginosa* in-vitro koşullarda, inci beyazı koloni görüntüsü ve üzümü kokusuyla tanınır. Organizmanın kesin tanısı 42 °C de üreme yetisinin ve pigment üretiminin incelenmesiyle konur. Kurumaya dirençlilikleri zayıftır. *Pseudomonas aeruginosa* motorin ve karosen içinde büyüyebilir. Süt içindedeki iyi ürer, sütün pıhtılaşmasında ve çıkardığı pigmentten dolayı yeşil renk almasına neden olur. Bu özelliği sayesinde “hidrokarbon kullanan bakteriler (HUM)” ünvanını kazanmıştır. HUM bakterileri mikrobiyal korozyona sebep olurlar. HUM bakterileri, hidrokarbon bazlı yakıtların üzerinde bazen yanlışlıkla “algae” olarak adlandırılan, koyu yeşil ve jölemsi katmanlar oluştururlar [44].

**a) Biyokimyasal özellikleri**

- Kanlı agarda hemoliz yaparlar. Kanlı agarda üreyen klinik izolatlar sıklıkla beta hemolitiklerdir.
- Jelatin ve koagule plazmayı eriterek parçalarlar.
- Glikozu oksidatif yolla parçalayıp asit yaparlar. Laktaz ve sakkarozu kullanamazlar.
- Oksidaz (+) olmaları ile Enterebacteriaceae familyası üyelerinden ayrılırlar.
- Asetamini deamine ederek amonyak oluştururlar.
- Nişastayı etkilemezler.
- Katalaz ve sitrat reaksiyonları (+) tir.
- Indol ve Hidrojensülfür oluşturmazlarL-arjinin dihidrolaz oluştururken, lisin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilaz oluşturmazlar.
- Metil kırmızısı ve Voges-Proskauer (-)'tir.
- Nitratı nitrite redükte ederler.
- KCN'ye dirençlidirler.
- P.a, P.fluorescens den ayrı olarak metilen mavisini ve prontosilin rengini giderir.

**b) Patojenliği**

*P. aeruginosa* özellikle, bağışıklık yetersizliği olan hastalarda solunum ve idrar yollarının, yanıkların ve açık yaraların fırsatçı patojenidir aynı zamanda kanda da enfeksiyonlar yapabilir. Nozokomial (hastane kaynaklı) enfeksiyonların onda biri *P. aeruginosa* sebebiyledir. Kistik fibroz hastaları *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına özellikle yatkındırlar. *P. aeruginosa* kirli küvet ve jakuziler gibi su kalitesinin düşük olduğu durumlarda maruz kalındığında dermatite sebep olabilir [44].

**c) Duyarlılıkları**

*P. aeruginosa* piperacillin, imipenem, tobramycin, ciprofloxacin gibi antibiyotiklerle tedavi edilebilir. Penisilin ve diğer Beta Laktam antibiyotiklerine karşı doğal olarak dayanıklıdır [44].

#### 4. TEMEL BİLEŞEN ANALİZİ

Çok değişkenli istatistiksel analizde (n) tane bireye (nesne) ilişkin (p) tane değişken (özellik) incelenmektedir. Bu özelliklerden birçoğunun birbiriyle ilişkili (bağımlı) ve değişken sayısının (p) çok büyük olması, çeşitli değerlendirmeler yapılmasını güçleştirmektedir. Böyle durumlarda başvurulan tekniklerden en önemlisi; Temel Bileşen Analizidir (Principal Component Analysis). Genel olarak değişkenler arasındaki bağımlılık yapısının yok edilmesi veya boyut indirgeme amacıyla kullanılan bu teknik başlı başına bir analiz olduğu gibi başka analizler için veri hazırlama tekniği olarak da kullanılmaktadır [45].

Temel Bileşen Analizi bir değişkenler setinin varyans-kovaryans yapısını, bu değişkenlerin doğrusal birleşimleri vasıtasıyla açıklayarak, boyut indirgenmesi ve yorumlanmasını sağlayan, çok değişkenli bir istatistik yöntemidir. Yöntemde karşılıklı bağımlılık yapısı gösteren, ölçüm sayısı (n) olan (p) adet değişken; doğrusal, ortogonal ve birbirinden bağımsız olma özelliklerini taşıyan k tane yeni değişkene dönüştürülmektedir.

(n) tane birime ait (p) özellik ölçüldüğünde toplam değişkenlik (varyans), (p) adet değişkenin tümü tarafından açıklanmaktadır. Toplam değişkenliğin önemli bir kısmı (k) bileşen tarafından açıklanabilir. Bu durumda, (k) adet bileşen gerçek (p) adet değişkeni temsil edebilmektedir. Böylece (n) ölçümdeki (p) değişken, önemli bir bilgi (varyans) kaybı olmadan, (n) ölçümdeki, (p) (k) değişkene indirgenmektedir. Söz konusu (k) adet yeni değişken, gerçek değişkenlerin bazı kısıtlamalara bağlı kalınarak oluşturulmuş çeşitli doğrusal birleşimleridir.

Temel Bileşen Analizi ile ulaşılmaması istenilen ilk sonuç;  $X_1, X_2, \dots, X_p$  gibi (p) tane değişkeni, önemli bir bilgi kaybına neden olmaksızın, bu değişkenleri temsil edebilen daha az sayıda değişkene indirgemektir. Daha sonra indirgenmiş yeni değişkenler ile çalışmanın amacı doğrultusunda çeşitli sonuçlara ulaşılabilmektedir.

$X_1, X_2, \dots, X_p$  vektörlerinin standartlaştırılmış hali olan  $Z_1, Z_2, \dots, Z_p$  vektörlerinin (p) tane doğrusal birleşimi, ya da temel bileşeni;

$$Y_1 = (a_1)_t \quad Z = a_{11} Z_1 + a_{21} Z_2 + \dots + a_{p1} Z_p \quad (4.1)$$

$$Y_2 = (a_2)_t \quad Z = a_{12} Z_1 + a_{22} Z_2 + \dots + a_{p2} Z_p \quad (4.2)$$

... ..

... ..

$$Y_p = (a_p)_t \quad Z = a_{1p} Z_1 + a_{2p} Z_2 + \dots + a_{pp} Z_p \quad (4.3)$$



Burada;  $Z_1, Z_2, \dots, Z_p$  'ler standartlaştırılmış veri matrisinin satır vektörleri ((p) değişkene ait (p) tane satır vektör),  $Y_1, Y_2, \dots, Y_p$  'ler temel bileşenler,  $a_{ij}$  ler ise her bir temel bileşenin hangi değişkenle, hangi oranda ilişkilendirildiğini gösteren sabit sayılardır.  $a_{ij}$  sabit sayıları temel bileşen yükleridir. Temel bileşen yükleri, temel bileşenlerin değişkenlere varyans katkısını gösteren ağırlıklardır ve temel bileşenleri, değişkenlerin hangi ağırlıklarla tanımladıklarını göstermektedir. Temel bileşenler ortogonal seçileceğinden,  $a_{ij}$  ağırlıkları değişkenler ile temel bileşenler arasındaki korelasyon katsayısıyla orantılıdır.  $a_{ij} = (i)$ 'inci değişkenin (j)'inci temel bileşendeki ağırlığıdır.

Temel bileşenlerin varyansları ve kovaryansları;

$$\text{Var}(Y_i) = \text{Var}((a_i)tZ) = (a_i)tS a_i = (a_i)tR a_i \quad (4.4)$$

$$\text{Cov}(Y_i, Y_k) = (a_i)tS a_k = (a_i)tR a_k \quad \text{dır.} \quad (4.5)$$

4.4 Eşitliğindeki (S), standartlaştırılmış veri matrisinin kovaryans matrisi, 4.5 Eşitliğindeki (R) standartlaştırılmış veri matrisinin korelasyon matrisidir. Standartlaştırılmış veri matrisi kullanıldığından  $(R) = (S)$  'dir.

$Y_1, Y_2, \dots, Y_p$  temel bileşenleri, orijinal değişkenlerin birbirinden bağımsız ve varyansları toplam sistem varyansını mümkün olabilecek en fazla bir biçimde açıklayan doğrusal birleşimleri olacak şekilde seçilecektir.

Bunun için izlenecek yol; birinci temel bileşen ( $Y_1$ ), toplam varyansa katkısı maksimum olacak şekilde  $Z_1, Z_2, \dots, Z_p$  'lerin doğrusal birleşimleri olarak belirlenmektedir. İkinci temel bileşen ( $Y_2$ ), birinci temel bileşenden bağımsız olarak, birinci temel bileşenin açıkladığı varyanstan sonra geriye kalan toplam varyansa katkısı maksimum olacak şekilde, benzer şekilde üçüncü ve daha sonraki temel bileşenler her birinin toplam varyansa katkısı maksimum olacak şekilde ve birbirinden bağımsız olarak aşağıda gösterildiği gibi saptanmaktadır.

Toplam varyansa katkısı en fazla olan birinci temel bileşen,

$$Y_1 = a_{11}Z_1 + a_{21}Z_2 + \dots + a_{p1}Z_p \quad \text{doğrusal birleşimidir.}$$

$\text{MaxVar}(Y_1) = (a_1)t R a_1$  eşitliğinden  $a_1$  vektörü birinci temel bileşenin varyansını maksimum yapacak şekilde belirlenmektedir. Ancak,  $a_1$  vektörü herhangi bir sabit sayı ile çarpılarak, değişkenlik hiçbir kısıtlamaya bağlı kalmaksızın artırılabilir. Bundan dolayı  $a_i$  vektörlerinin birim uzunlukta  $((a_i)t.a_i = 1)$  seçilmesi uygun olacaktır. Bu şekilde seçilen;

- Birinci temel bileşen,  $\max \text{Var}((a_1)tZ)$  ve  $(a_1)t.a_1 = 1$  şartlarını sağlayan  $(a_1)tZ$  doğrusal birleşimidir.
- İkinci temel bileşen,  $\max \text{Var}((a_2)tZ)$  ile  $(a_2)t.a_2 = 1$  ve  $\text{Cov}((a_1)tZ, (a_2)tZ) = \text{Cov}(Y_1, Y_2) = 0$  şartlarını sağlayan  $(a_2)tZ$  doğrusal birleşimidir.
- (i) inci temel bileşen,  $\max \text{Var}((a_i)tZ)$ ,  $(a_i)t.a_i = 1$  ve  $k < i$  için  $\text{Cov}(Y_i, Y_k) = 0$  şartlarını sağlayan  $(a_i)tZ$  doğrusal birleşimidir.

Amaç, değişkenlerin doğrusal birleşimlerinin oluşmasını sağlayan  $a_{ij}$  ( $i=1,2,\dots,(p)$ ;  $j=1,2,\dots,(p)$ ) katsayılarını, belirtilen şartlara bağlı kalarak tespit etmektir.

Teorik kısmı açıklanan temel bileşenler analizi, kısaca özetlenecek olursa;

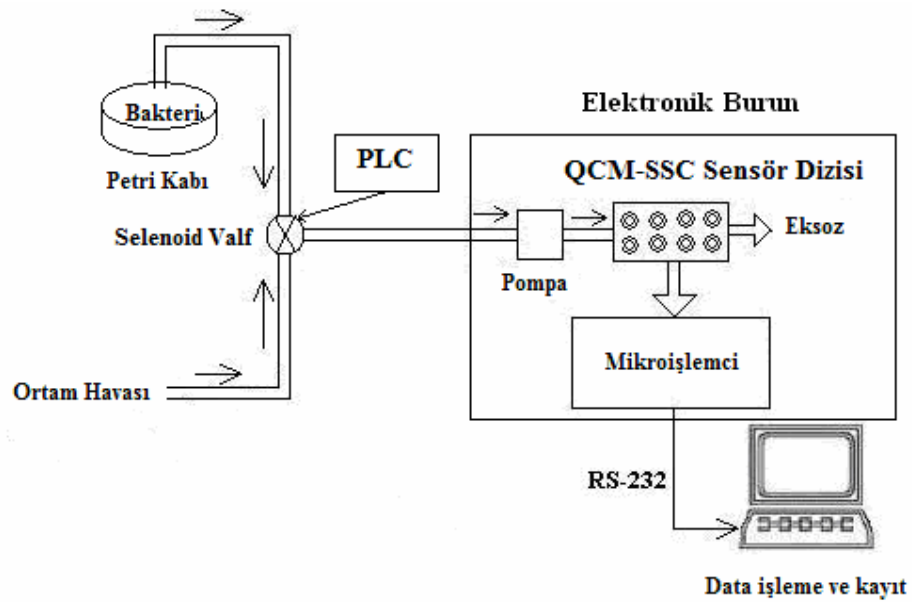
- (n) ölçümdeki (p) değişkene ait veri matrisi standartlaştırılır,
- Standartlaştırılmış veri matrisinin korelasyon matrisi bulunur,
- Korelasyon matrisinin öz değerleri ve standartlaştırılmış öz vektörleri hesaplanır,
- Öz değerlerden temel bileşenlerin toplam varyansı açıklama oranları elde edilir,
- Her bir öz vektörün transpozesi ile standartlaştırılmış veri matrisinin transpozesi çarpılarak temel bileşen değerleri bulunur.

## 5. GERÇEKLEŞTİRİLEN ÖLÇÜMLER VE SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

*Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin kokularını algılayabilmek ve bunları sınıflandırabilmek için ilk olarak deney düzeneği hazırlanmıştır. Deney düzeneğinin oluşturulmasından sonra verilerin alınması ve bilgisayara kaydedilmesi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler Temel Bileşen Analiz metodu kullanılarak değerlendirilmiştir.

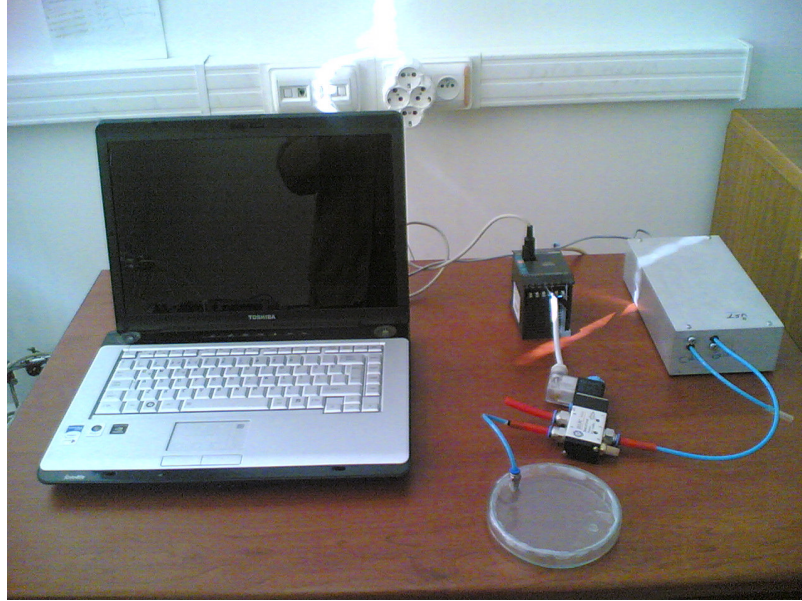
### 5.1 Deney Düzeneği

*Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin yaydıkları kokulardan sınıflandırılması için gerçekleştirilen ölçüm düzeneği Şekil 5.1'de görülmektedir.



**Şekil 5.1** Mikroorganizma koku algılama ölçüm düzeneği şematik gösterimi

Ölçüm düzeneği; petri kabı, PLC (Fatek FBS-10MA), selenoid valf, Elektronik Burun ve bir bilgisayardan oluşmaktadır. PLC kontrollü çalışan selenoid valf 3'er dakika aralıklarla açıp kapatmaktadır. Bu şekilde, hava ve mikroorganizma kokusunun elektronik buruna uygulanması otomatik olarak kontrol edilmektedir. Şekil 5.2 'de ise mikroorganizmaların kokularından sınıflandırılması için oluşturulan ölçüm düzeneğinin görüntüsü verilmektedir.



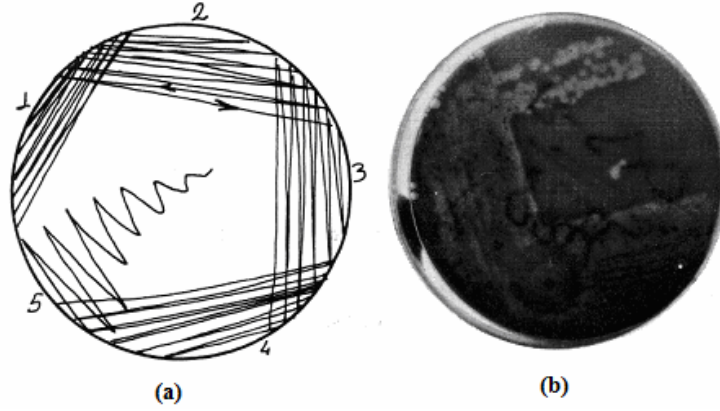
Şekil 5.2 Ölçüm düzeneğinin resmi

## 5. 2 Mikroorganizmaların Üretilmesi

Mikroorganizmaların uygun çevre koşulları sağlanarak çoğaltılmaları işlemine üretme denir. Mikroorganizmaların üretilmeleri için gerekli maddeleri içeren hazırlanmış ortamlar besiyeri olarak adlandırılır. Besiyerleri, mikroorganizmaların üretilmelerini dışında, benzerlerinden ayırt edilebilmelerinde ve özelliklerinin belirlenmelerinde kullanılmaktadır [49].

Her bakterinin üreyebildiği bir minimum bir de maksimum ısı derecesi bulunmakla birlikte, en iyi üreyebildiği optimal ısı derecesi vardır. Isı değişikliğinden en çok bakteriyel enzimler etkilenir. Bakteriler üreyebildikleri ısılarına göre üç gruba ayrılırlar. Bu grupta daha çok su ve toprakta yaşayabilen saprofit bakteriler yer alır. Genellikle  $-8^{\circ}$  ile  $15^{\circ}\text{C}$  arasında üreyebilirler. İnsanlarda ve hayvanlarda hastalık yapan bakterilerin büyük bir kısmı bu grupta yer alır ve  $20^{\circ}$  ile  $45^{\circ}\text{C}$  arasındaki ısılarda üreyebilirler. Bu bakteriler vücut ısısı olan  $37^{\circ}\text{C}$ 'de üretilirler [50].

Ekim teknikleri besiyerinin katı, sıvı oluşuna göre farklılık göstermektedir. Sıvı bir ortama ekim, bir öze dolusu ya da bir eküvyon ile tüpün kenarından yapılır. Katı besiyerlerine ekim tüp ya da bir petri kutusunda olabilir. Tüpe, iğne öze ile petri kutusuna öze ile ekim yapılır. Petri kutusunda besiyerinin bir kenarına sürülen klinik örnek Şekil 5.3' de görüldüğü gibi öze ile azaltma ekimi biçiminde yayılır [48].



**Şekil 5.3** (a)Öze aracılığı ile azaltma ekimi yapılması

(b) Kanlı agar besiyerinde hemolitik kolonilerin oluşumu

Kullanılan katı üreme ortamlarının amacı koloni oluşmasını sağlamaktır. Ekimi, takiben genellikle kullanılan inkubasyon ısısı  $37^{\circ}\text{C}$ 'de olup, etüvde 18–24 saat sonra üreme beklenmelidir [47].

Bu çalışmada kullanılan mikroorganizmalar tekrarlanan ölçümlerde aynı tür olmasını sağlamak açısından ilk önce sıvı besi yerine ekilmiştir (Bkz. Şekil 5.4). Daha sonraki ekimlerde kullanabilmek için özel dondurucularda  $-40^{\circ}\text{C}$ 'de dondurularak ürememeleri sağlanmıştır.



**Şekil 5.4** Sıvı besiyeri görüntüsü

Mikroorganizmalar Mueller Hinton Agar (MHA) katı besi yerine ekim yapılmıştır. Şekil 5.5'de *Candida albicans* mantarı, Şekil 5.6'de *Escherichia coli* bakterisi ve Şekil 5.7'de *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi ekim yapıldıktan sonra  $37^{\circ}\text{C}$ 'de ki etüvde 24 saat beklendikten sonra üretilmesi sonucu görüntüleri yer almaktadır.



Şekil 5.5 *Candida albicans* mantarı besiyeri görüntüsü



Şekil 5.6 *Escherichia coli* bakterisi besiyeri görüntüsü



Şekil 5.7 *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi besiyeri görüntüsü

### 5.3 Deney Protokolü

*Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Mueller Hinton Agar (MHA) katı besi yeri kullanılarak ekim yapılmıştır. Ekilen mikroorganizmalar etüvde 37 °C de üremeleri sağlanmıştır. Üç farklı mikroorganizma türünden petri kabına beşer tane ekilerek her gün birer tane etüvden alınarak ekimden 24, 48, 72, 96 ve

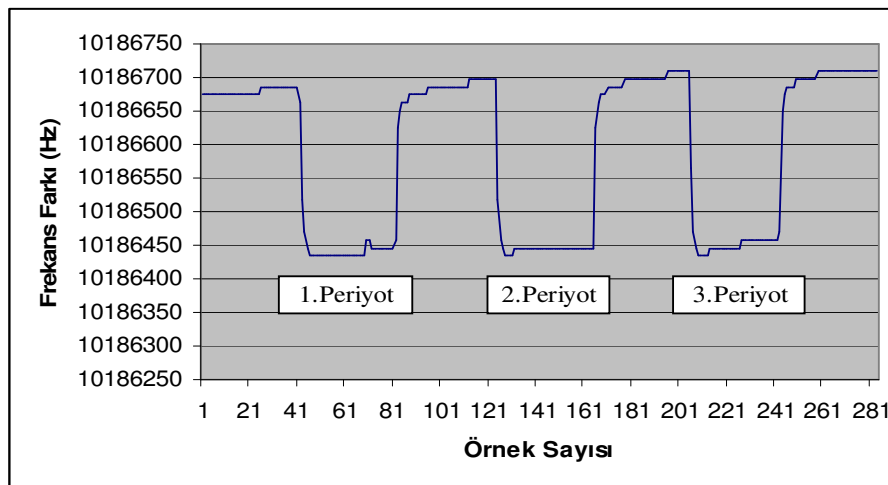
120 saat sonra olmak üzere 5 gün ölçüm yapılmıştır. Dolayısıyla beş günde 15 ölçüm gerçekleştirilmiştir. Hassasiyeti artırabilmek için ölçümler beş hafta boyunca beşer defa tekrarlanmıştır. Deney protokolü Çizelge 5.1’de gösterilmiştir.

**Çizelge 5.1** Deney protokolü

Bakteri	Pzrts	Salı	Çrmb	Prşmb	Cuma	Cmrts	Pazar	Pzrts	Salı
C1,E1,P1	X	X	X	X	X				
C1,E1,P1		X	X	X	X	X			
C1,E1,P1			X	X	X	X	X		
C1,E1,P1				X	X	X	X	X	
C1,E1,P1					X	X	X	X	X

(C1: *Candida albicans*, E1: *Escherichia coli* P1: *Pseudomonas aeruginosa*)

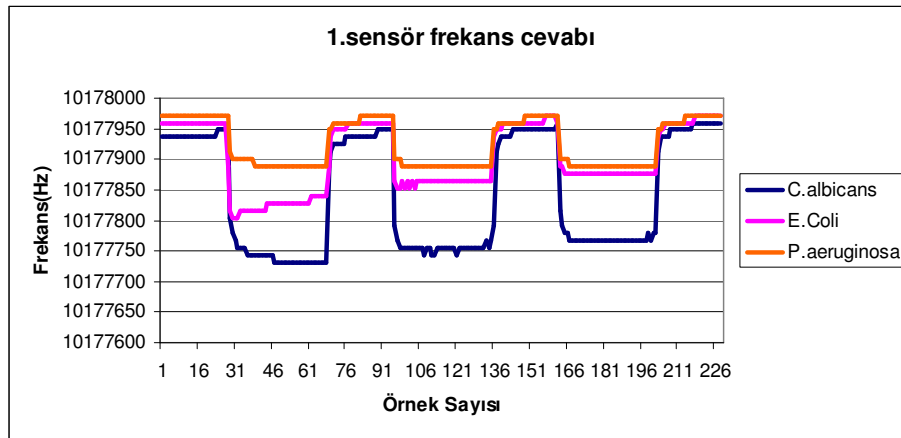
Günde 3 ölçüm ve her ölçümde 3 veri (Bkz. Şekil 5.8) alınmak üzere haftada 15 ölçüm ve yapılarak 45 veri elde edilmiştir. Ölçümler 5 hafta sürdüğü göz önüne alınırsa bu çalışma için toplam 225 veri elde edilmiştir. Şekil 5.8 de bir mikroorganizmaya ait QCM Sensör örnek tepkisi görülmektedir.



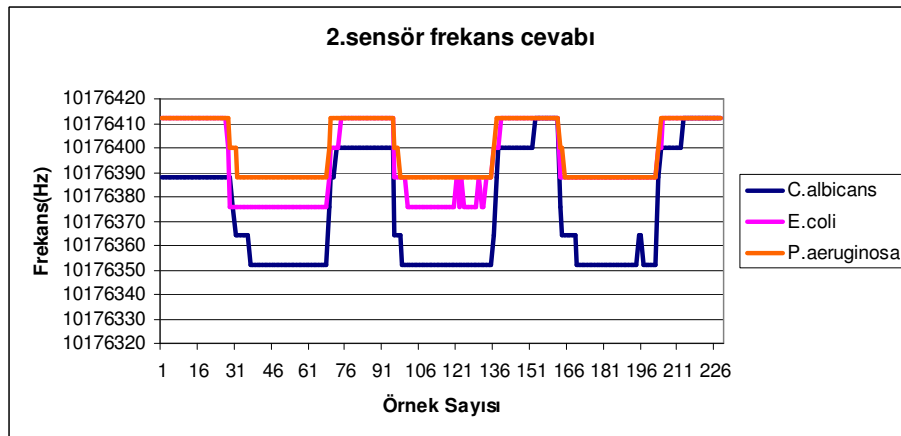
**Şekil 5.8** Bir mikroorganizma ölçümüne ait 3 periyotluk veri örneği

Mikroorganizmaların kokuları elektronik burun'a uygulanmadan önce, QCM sensörlerin base-line'a oturmasını sağlamak için 3 dakika süreyle ortam havası uygulayarak temizlenmesi sağlanmıştır. Sensörler temizlendikten sonra mikroorganizma kokusu 3 dakika boyunca ölçüm sistemine uygulanmıştır. Ölçüm 3 kez tekrarlanarak her ölçümde üç veri alınmıştır. Kullanmış olduğumuz elektronik burun PC programı 5 saniyede bir örnekleme yapmaktadır. Her bir ölçüm toplam 21 dakika sürmektedir.

Ölçümler sonucu elektronik burun içindeki 9 adet QCM sensör tarafından elde edilen frekans tepkileri bilgisayara kaydedilmiştir. Şekil 5.9'de sensörlerin frekans cevapları görülmektedir.

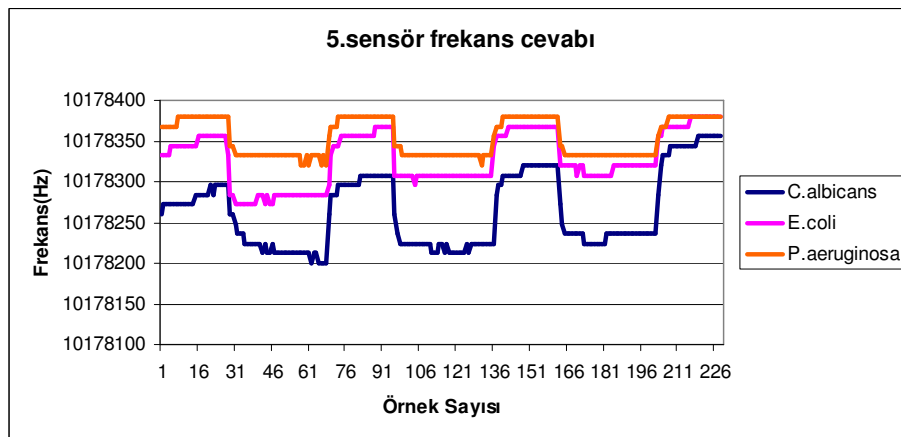
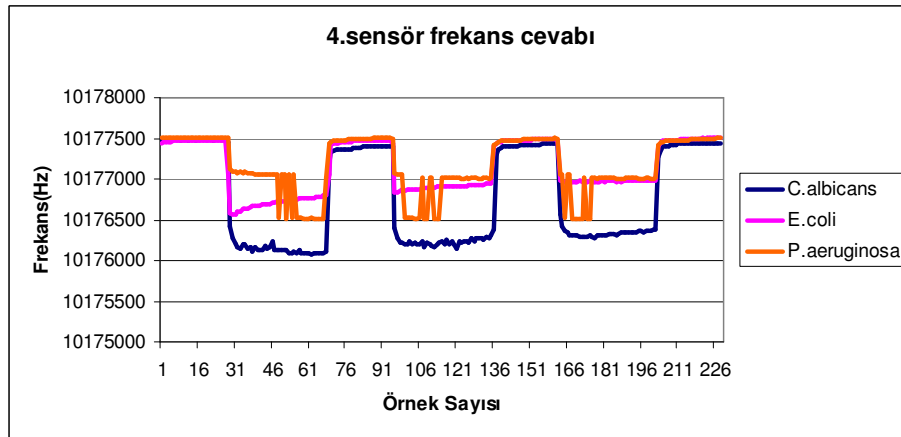
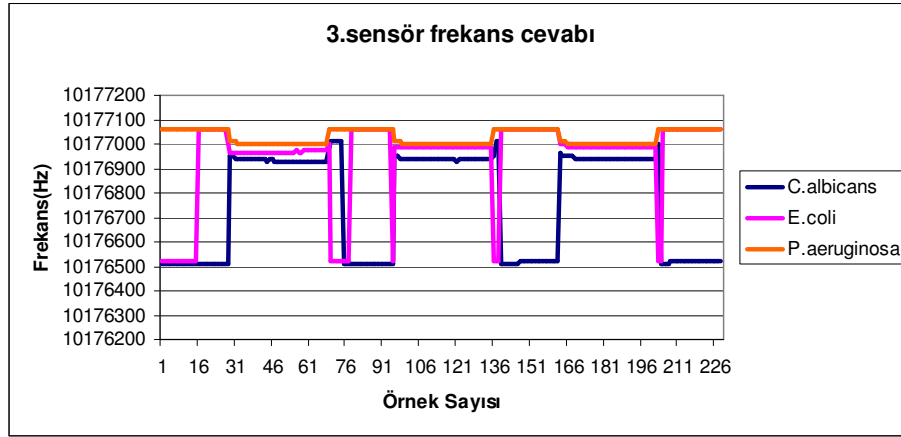


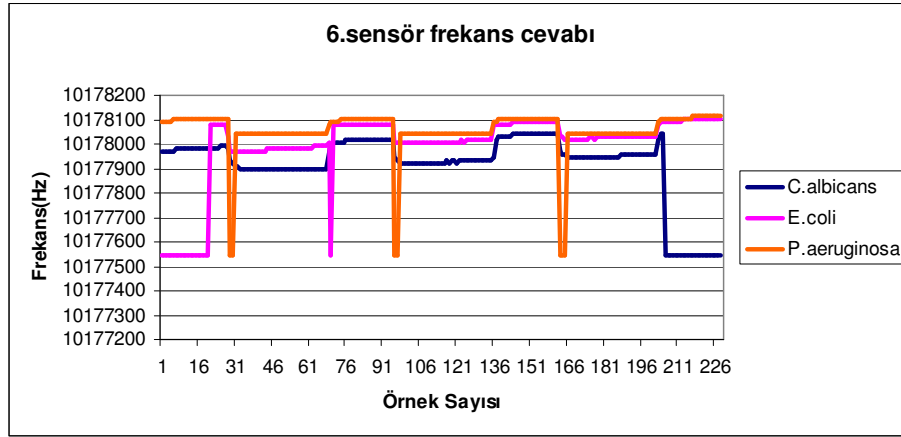
(a)



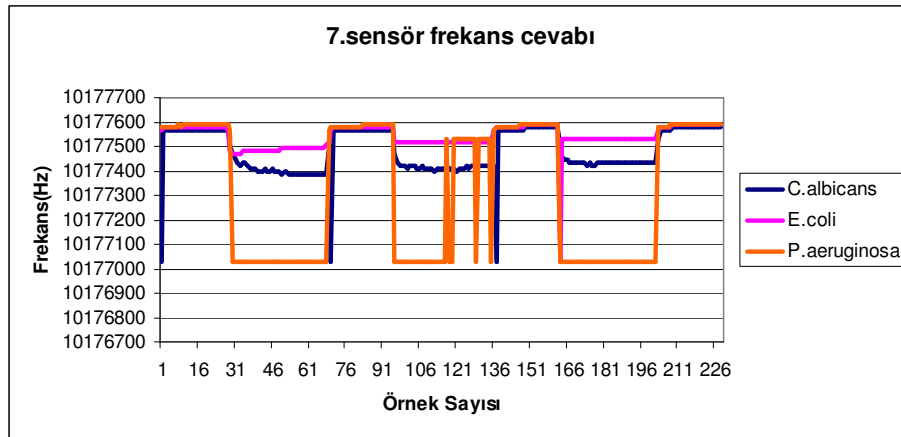
(b)



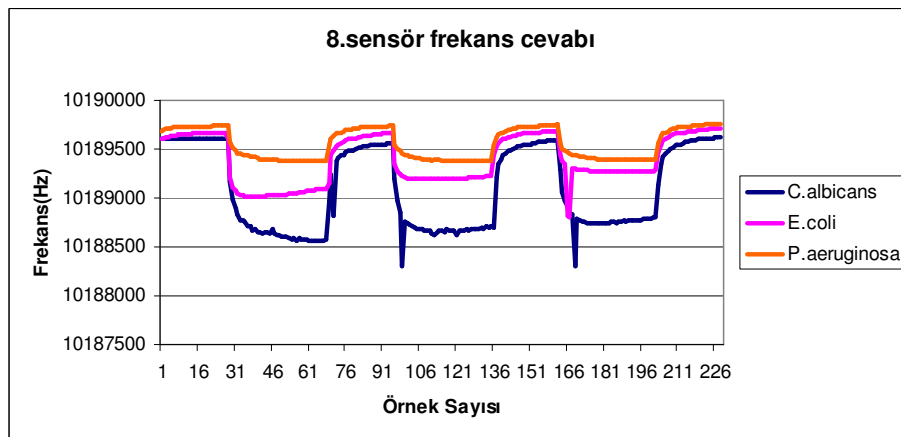




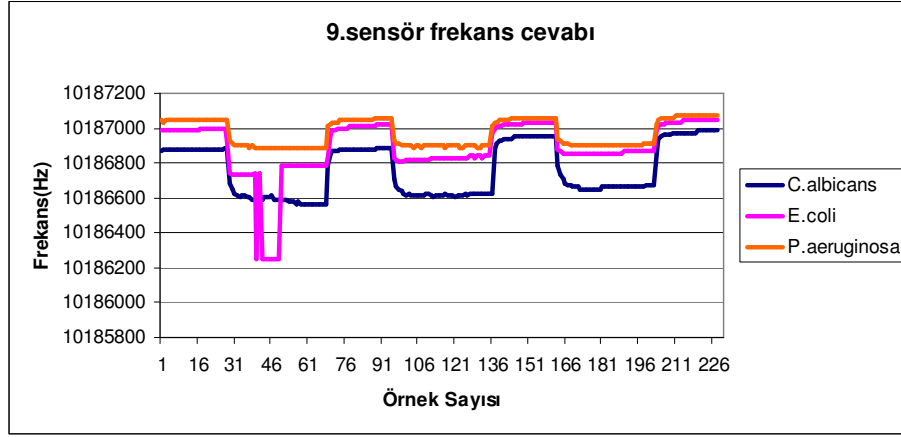
(f)



(g)



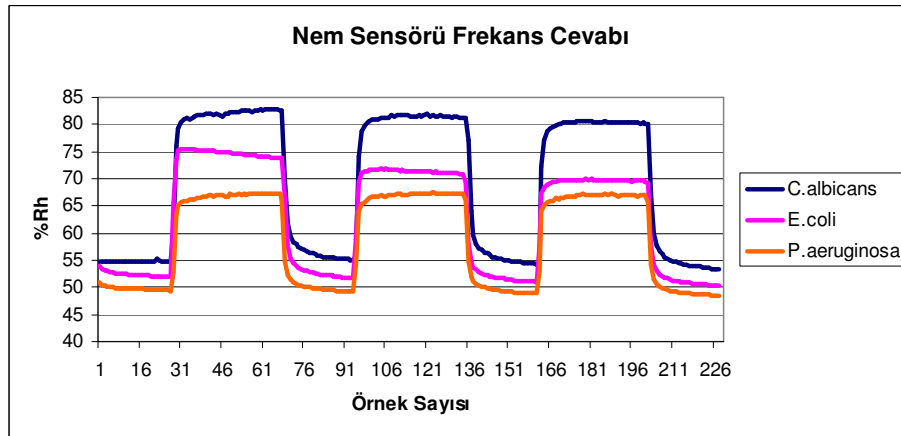
(h)



(i)

**Şekil 5.9** 9 adet QCM sensörün 3 farklı mikroorganizmaya verdiği frekans cevabı

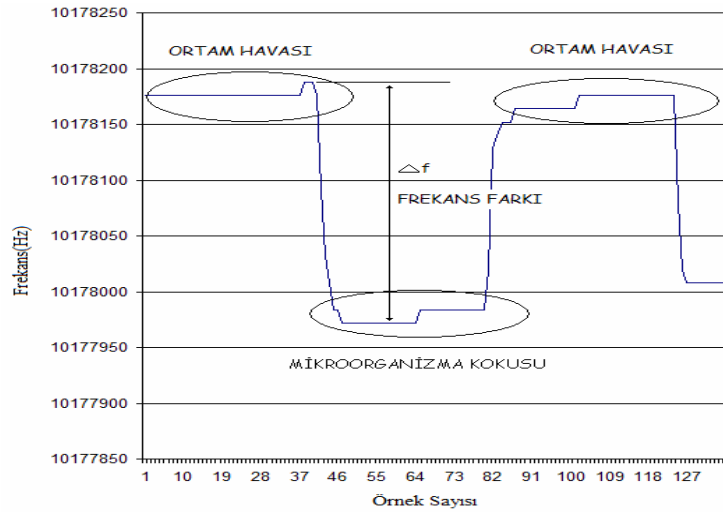
Kaydedilen veriler incelendiğinde sensör cevaplarının farklı olduğu görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen tüm veriler göz önüne alındığında aynı mikroorganizmaya ait sensör cevaplarının farklı değerlere sahip olması nem değerinin her ölçümde farklı değerlere sahip olmasından kaynaklanmıştır (Bkz. Şekil 5.10). Bu nedenle, söz konusu mikroorganizmaların sınıflandırılması için nem parametresinin de kullanılması gerekliliği görülmüştür.



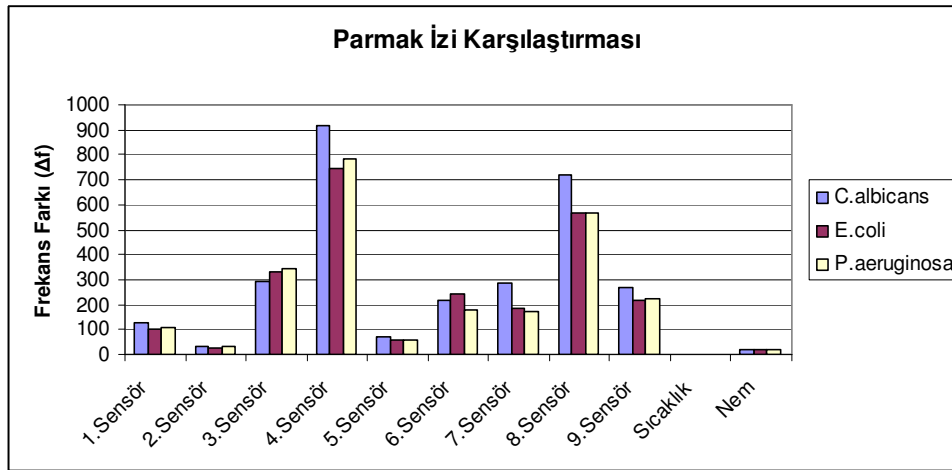
**Şekil 5.10** Nem sensörü frekans cevabı

Elde edilen frekans cevaplarından yararlanılarak kokularını incelediğimiz üç farklı mikroorganizmanın kokuları ve ortam havası arasındaki frekans farkı (Maksimum ve minimum frekans değerleri arasındaki fark) Şekil 5.11’de görüldüğü üzere bulunmuştur. Bu şekilde tüm

deney verilerinin frekans farkı çıkarılmıştır. *C.albicans* mantarının *E.coli* ve *P.aeruginosa* bakterilerinin ayrı ayrı frekans farkı ortalamaları bulunarak da Şekil 5.12'de olduğu gibi mikroorganizmalara ait parmak izleri (Finger Map) çıkarılmış ve üç mikroorganizmaya ait grafiksel karşılaştırmaları aynı grafikte gösterilmiştir. Parmak izi çıkarmak için kullanılan veriler Ek1'de (*C.albicans* mantarının *E.coli* ve *P.aeruginosa* bakterilerinin elektronik burun yardımıyla algılanan koku frekans farkları) verilmiştir.



Şekil 5.11 Frekans farkının hesaplanması ( $\Delta f$ )



Şekil 5.12 Parmak izi karşılaştırılması

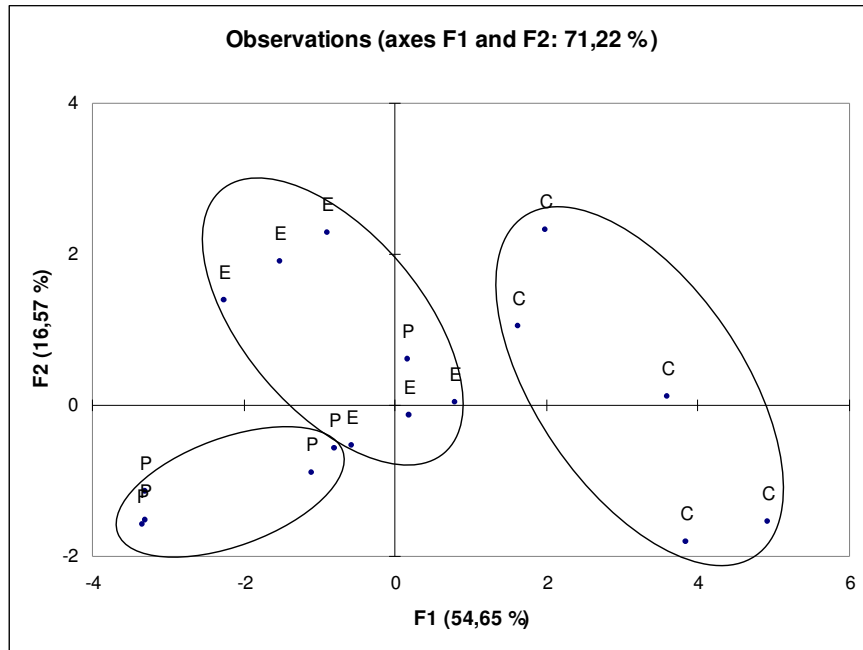
#### 5.4 Deneysel Sonuçlarının Temel Bileşen Analizi Metoduyla İncelenmesi

Temel Bileşen Analizi (TBA) çalışmaları için XLSTAT 2008 paket programı kullanılmıştır. Amaç, *Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*

bakterileri ile sensör cevapları arasında bir ilişki veya bir sınıflandırma bulabilmektir. Sensör 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, nem ve sıcaklık değerleri sırayla çeşitli olası durumlar için (sensör 1, 2 ve nem daha sonra sensör 1, 2, 3 ve sıcaklık daha sonra diğer olası girişler) programa verilmiştir. TBA Pearsan, Correlation, Spearman, Kandell ve Polychonic tipleri denenmiş, sonuç olarak Pearson TBA tipine karar kılınmıştır. Çünkü diğer TBA tiplerinde anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Biplot tipi olarak da “Correlation biplot / Coefficient = n/p” seçilmiştir. Diğer olası durumlarda sistem değerlendirme hatası vermiştir.

#### 5.4.1 Mikroorganizmaların Sınıflandırılması

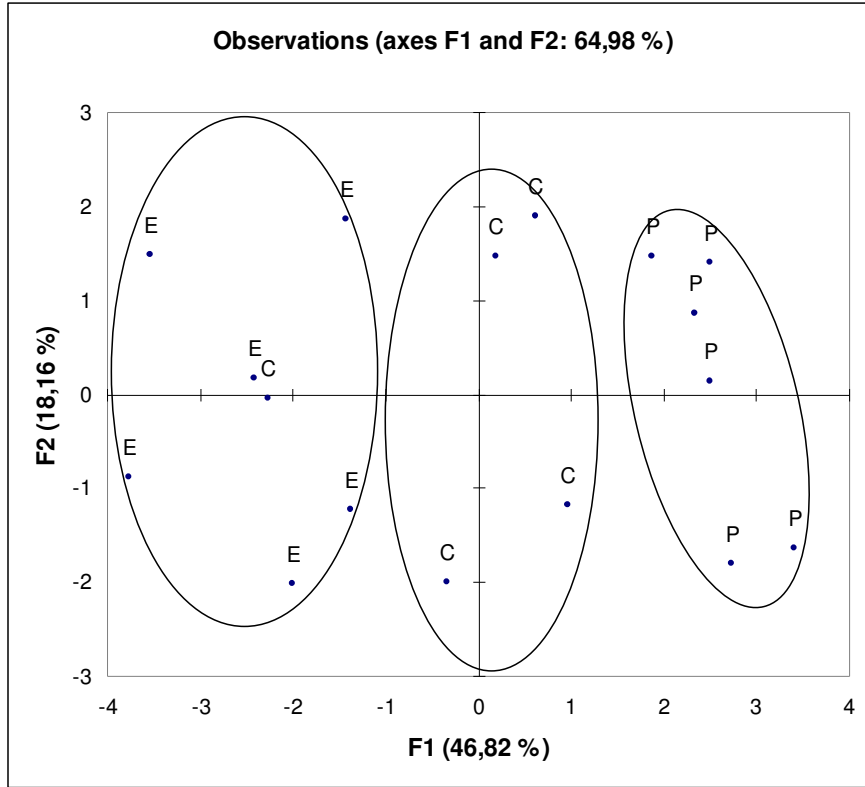
Bu çalışmada, mikroorganizmaların kokularından sınıflandırılmasının mümkün olup olmadığı incelenmiştir. Bu amaçla *Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomanas aeruginosa* bakterilerinin ölçüm verilerinin frekans farkları kullanılarak TBA metodu ile değerlendirilmiştir. TBA için giriş olarak sensör 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, nem ve sıcaklık değerlerinin frekans farkları kullanılmıştır, gözlem eksenleri ise sensör 1 ve 2'dir. Mikroorganizmaları 24, 48, 72, 96, 120 saat sonraki ölçüm sonuçlarına göre günlük inceleyecek olursak, Şekil 5.13' de ekimden 24 saat sonra alınan verilerinin TBA metoduyla incelenmesi sonucu oluşan grafik dağılımı yer almaktadır. Görüldüğü üzere aynı tür mikroorganizmaların bir bölgede toplanmıştır.



(C: *Candida albicans*, E: *Escherichia coli*, P: *Pseudomanas aeruginosa*)

Şekil 5.13 24 saat sonraki ölçümlerin TBA sonuçları

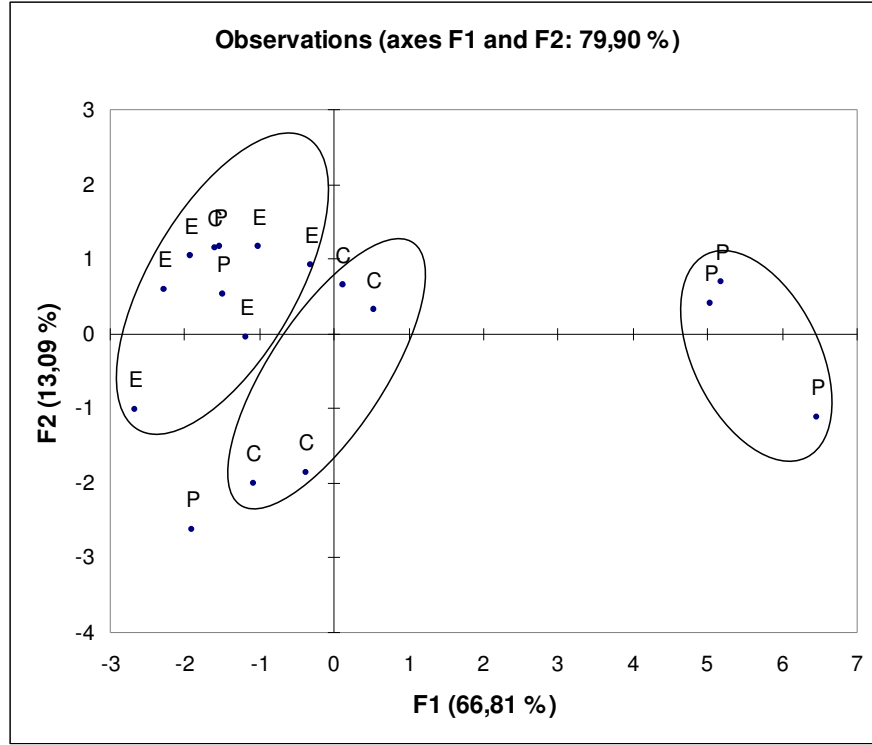
Şekil 5.14 'de mikroorganizmaların ekiminden 48 saat sonra etüvden çıkarılarak kokularının elektronik burun yardımıyla algılanması sonucu elde edilen veriler kullanılarak TBA sonucu oluşan grafik dağılımı yer almaktadır. Grafikte de görüldüğü üzere aynı tür mikroorganizmalar bir bölgede toplanmıştır.



(C: *Candida albicans*, E: *Escherichia coli*, P: *Pseudomonas aeruginosa*)

Şekil 5.14 48 saat sonraki ölçümlerin TBA sonuçları

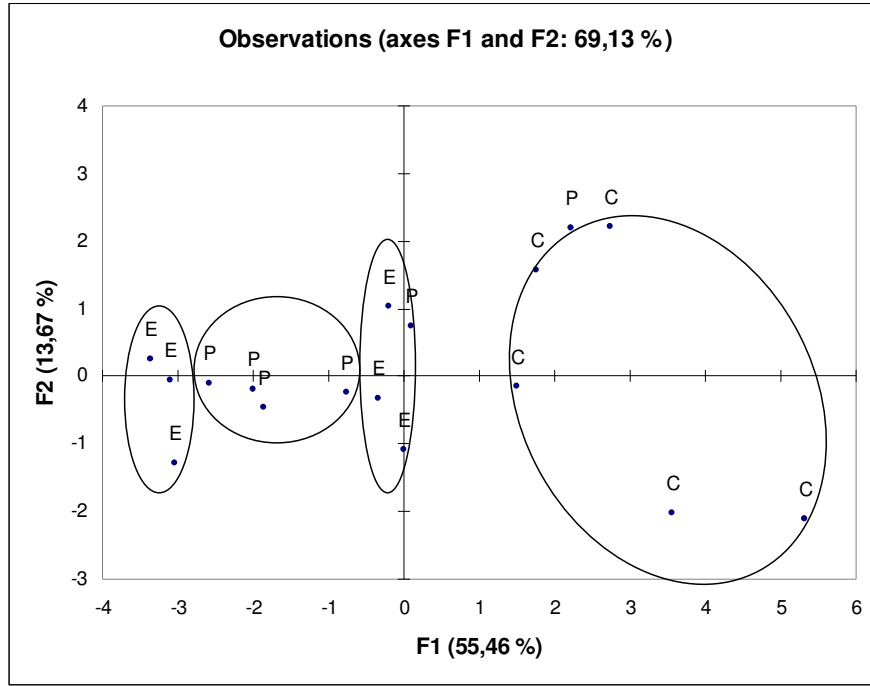
Şekil 5.15 'de mikroorganizmaların ekiminden 72 saat sonra etüvden çıkarılarak kokularının elektronik burun yardımıyla algılanması sonucu elde edilen veriler kullanılarak TBA sonucu oluşan grafik dağılımı yer almaktadır. Görüldüğü üzere aynı tür mikroorganizmalar bir bölgede toplanmıştır. Ancak bazı mikroorganizma verilerinin bir kısmının farklı bölgede yer almasının sebebi gün geçtikçe üremenin artmasıdır.



(C: *Candida albicans*, E: *Escherichia coli*, P: *Pseudomonas aeruginosa*)

**Şekil 5.15** 72 saat sonraki ölçümlerin TBA sonuçları

Şekil 5.16 'de mikrororganizmaların ekiminden 96 saat sonra etüvden çıkarılarak kokularının elektronik burun yardımıyla algılanması sonucu elde edilen veriler kullanılarak TBA sonucu oluşan grafik dağılımı yer almaktadır. Görüldüğü üzere aynı tür mikroorganizmalar bir bölgede toplanmıştır.

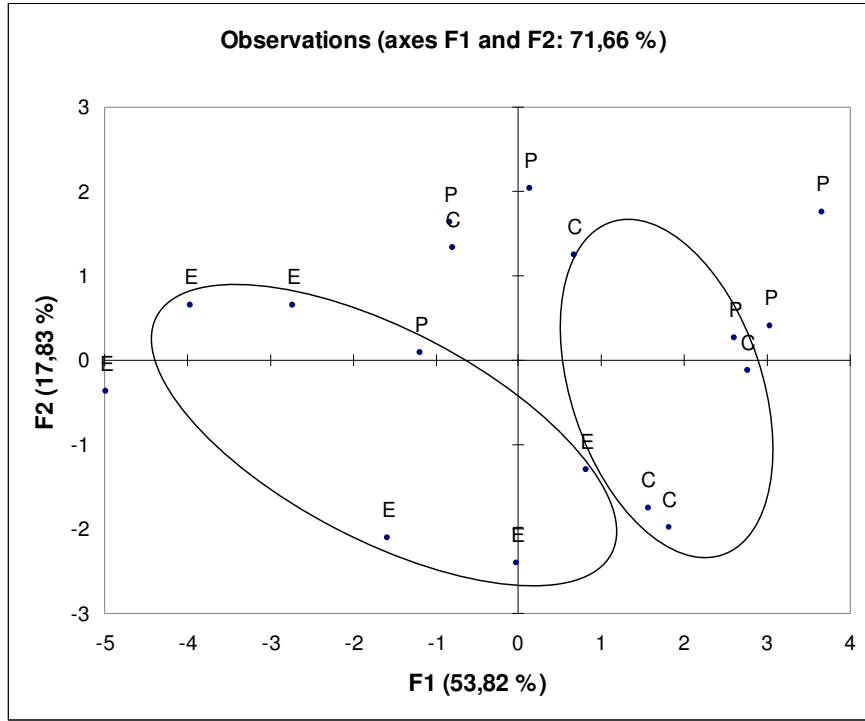


(C: *Candida albicans*, E: *Escherichia coli*, P: *Pseudomonas aeruginosa*)

**Şekil 5.16** 96 saat sonraki ölçümlerin TBA sonuçları

Şekil 5.17 'de mikroorganizmaların ekiminden 120 saat sonra etüvden çıkarılarak kokularının elektronik burun yardımıyla algılanması sonucu elde edilen veriler kullanılarak TBA sonucu oluşan grafik dağılımı yer almaktadır. Görüldüğü üzere aynı tür mikroorganizmalar farklı bölgelerde yer almaktadır.





(C: *Candida albicans*, E: *Escherichia coli*, P: *Pseudomonas aeruginosa*)

Şekil 5.17 120 saat sonraki ölçümlerin TBA sonuçları

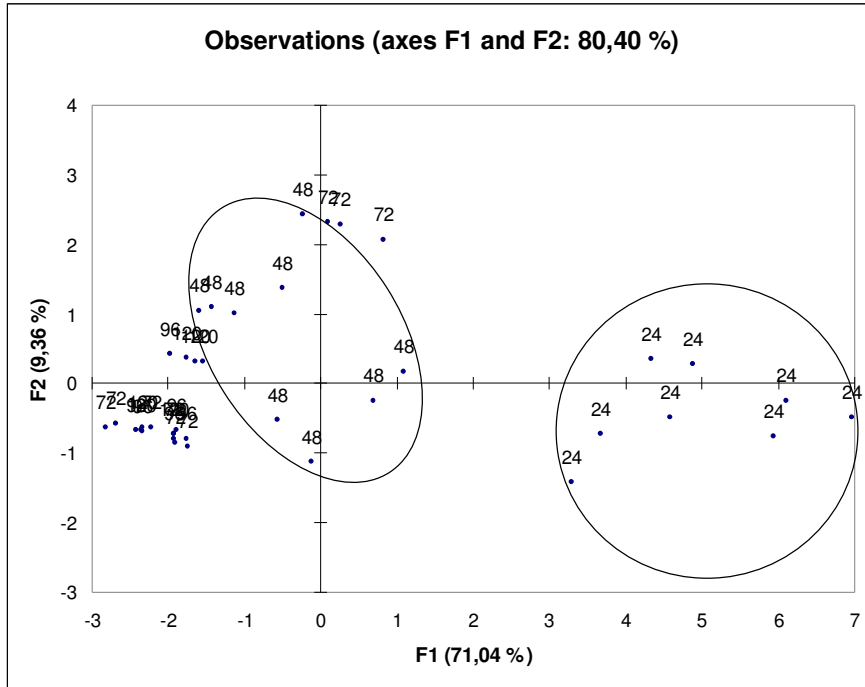
TBA analiz sonuçlarına göre mikroorganizmaların kokularından sınıflandırılabilceği tespit edilmiştir. Ancak mikroorganizmalar gün geçtikçe koloni sayısının artması sebebiyle petri kabında üreme alanı kalmamaktadır. Bu sebepten dolayı belli bir süre sonra üremenin olmamasından koku yoğunluğu azalmaktadır. Mikroorganizmaları sınıflandırmak için Şekil 5.14'de de görüldüğü gibi ekimden 48 saat sonra koku analizi yapılması daha sağlıklı cevap vermektedir.

#### 5.4.2 Mikroorganizmaların Yaşam Süreçlerinin İncelenmesi

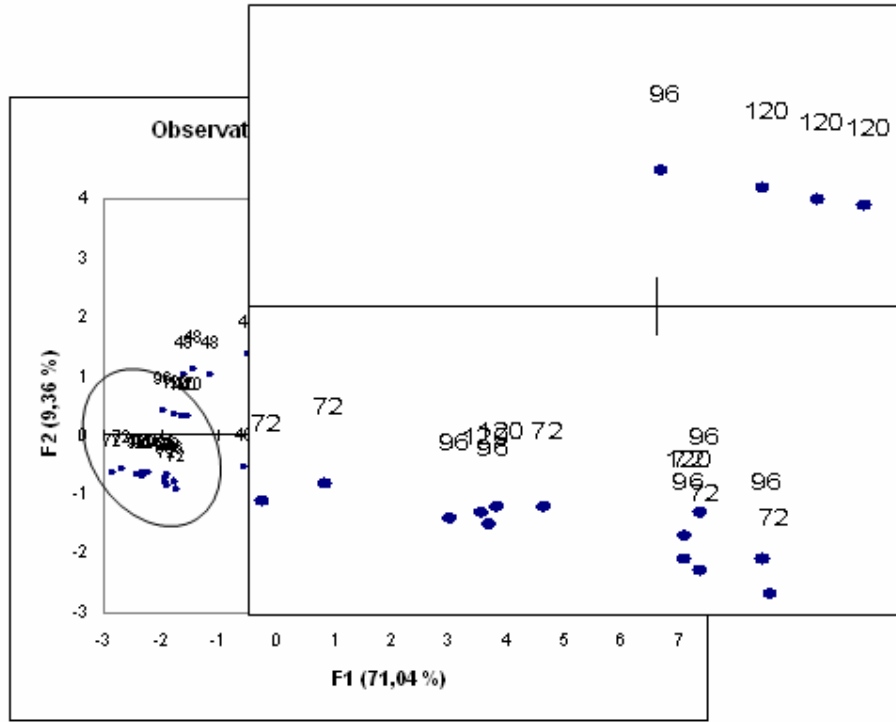
Bu çalışmada mikroorganizmaları sınıflandırmanın yanı sıra *Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin 5 günlük (24, 48, 72, 96 ve 120 saatlik) ölçümler sonucundaki analiz sonuçları incelenmiştir.

*Candida albicans* mantarı TBA analizi için giriş olarak sensör 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, nem ve sıcaklık değerlerini kullanılmıştır, gözlem eksenleri ise sensör 1 ve 2'dir. Buna göre Şekil 5.18' da görüldüğü gibi bir sonuç elde edilmiştir. Şekil 5.18' daki TBA sonucuna göre 24 ve 48 saat sonraki kokular elektronik burun tarafından ayırt edilebiliyorken, 72, 96, 120 saat

sonraki veriler ise karışık bir şekilde konumlanmış durumdadır. Şekil 5.19 'de karışık bölgenin büyütülmüş hali görülmektedir. Şekil 5.19 karışık verilerin tekrar TBA analizi ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen grafikdir. Dolayısıyla 24, 48 saatlik yaşam süreci belirgin iken diğer zamanlarda belirginlik görülmemektedir. Bunun nedeni; koloni gelişiminin 48 saatten sonra durması nedeniyle üretilen kokunun sabit kalmasıdır.

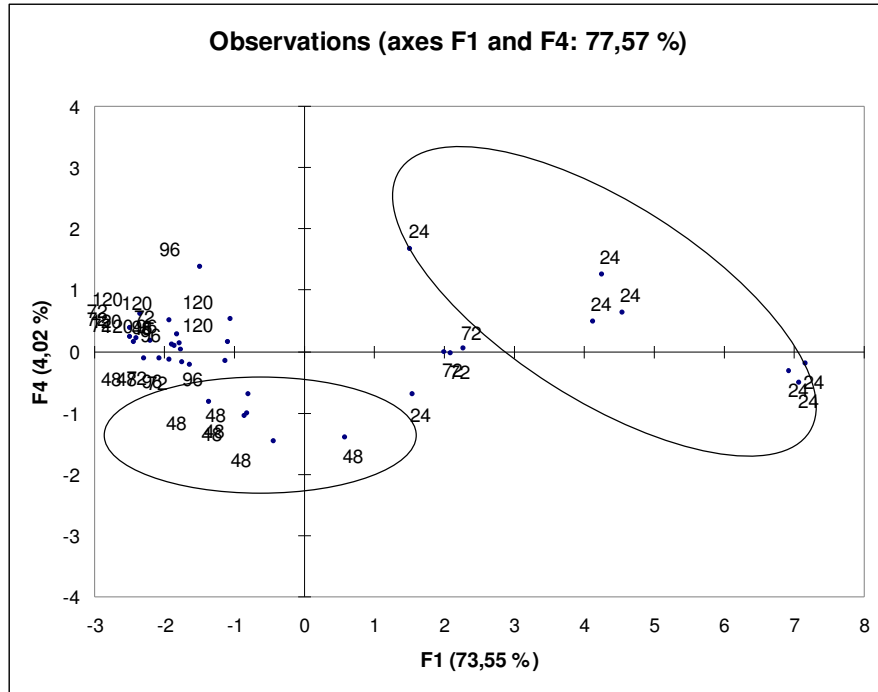


Şekil 5.18 *Candida albicans* mantarı Temel Bileşen Analizi

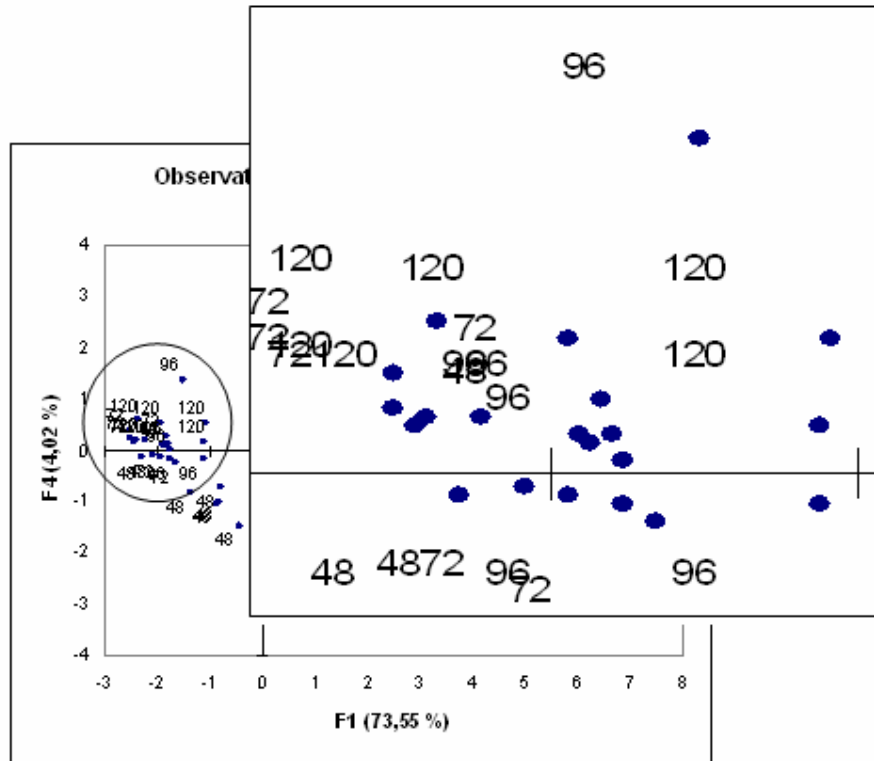


Şekil 5.19 *Candida albicans* mantarı TBA sonucu karmaşık kısım büyütülmüş hali

*Escherichia coli* bakterisi TBA analizi için giriş olarak sensör 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, nem ve sıcaklık değerleri kullanılmıştır. Gözlem eksenleri ise sensör 1 ve 4'dir. Buna göre Şekil 5.20' de görüldüğü gibi bir sonuç elde edilmiştir. Şekil 5.20' deki TBA sonucuna göre 24 ve 48 saat sonraki kokular ayırt edilebiliyorken; 48 saat sonraki koku verilerinin bazıları 72, 96, 120 saat sonraki veriler ise karışık bir şekilde konumlanmış durumdadır. Şekil 5.21 'de karışık bölgenin büyütülmüş hali görülmektedir. Şekil 5.21 karışık verilerin tekrar TBA analizi ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen grafikdir. Dolayısıyla 24 saatlik ve kısmen 48 saatlik yaşam süreci belirgin iken diğer zamanlarda belirginlik görülmemektedir. Bunun nedeni; koloni gelişiminin 48 saatten sonra durması nedeniyle üretilen kokunun sabit kalmasıdır.

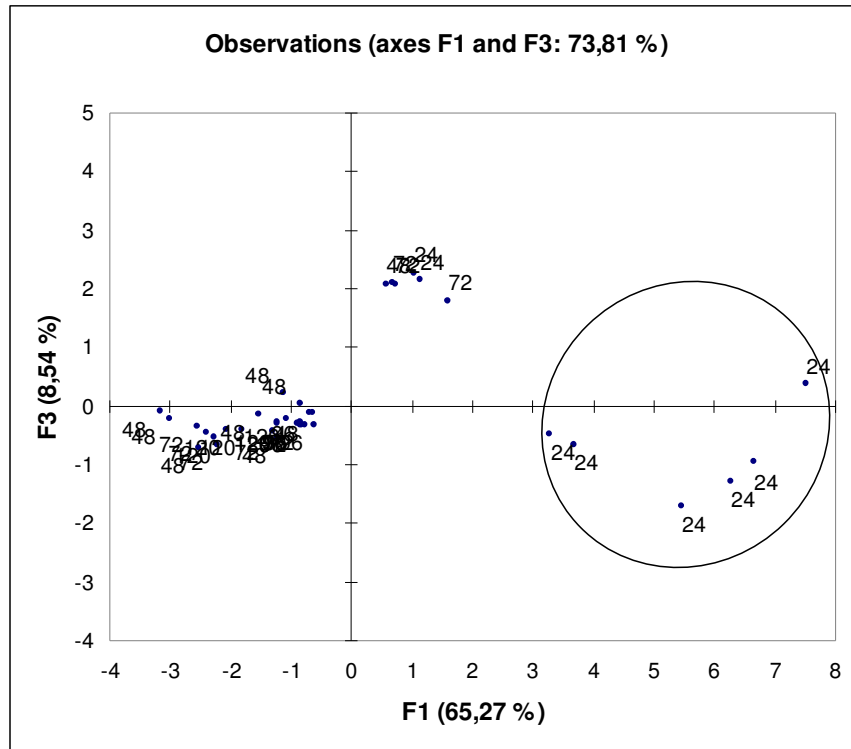


Şekil 5.20 *Escherichia coli* bakterilerinin Temel Bileşen Analizi

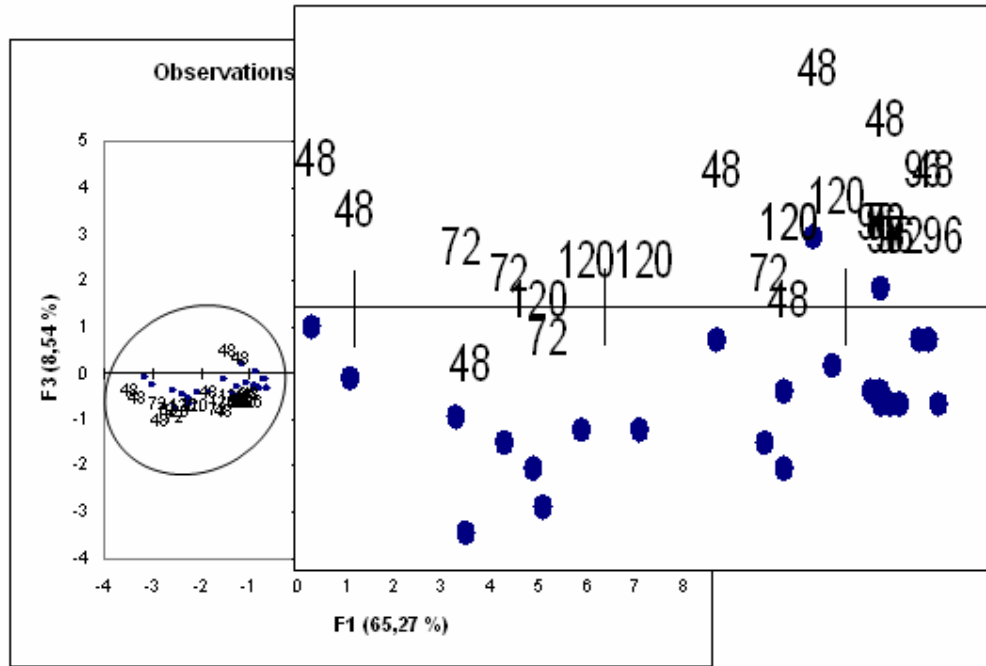


Şekil 5.21 *Escherichia coli* bakterilerinin TBA sonucu karmaşık kısım geniş hali

*Pseudomonas aeruginosa* bakterisi TBA analizi için ise giriş olarak sensör 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, nem ve sıcaklık değerlerini kullanılmıştır, gözlem eksenleri ise sensör 1 ve 3'dir. Buna göre Şekil 5.22' de görüldüğü gibi bir sonuç elde edilmiştir. Şekil 5.22' deki TBA sonucuna göre 24 saat sonraki kokular ayırt edilebiliyorken; 48, 72, 96, 120 saat sonraki veriler ise karışık bir şekilde konumlanmış durumdadır. Şekil 5.23 'de karışık bölgenin büyütülmüş hali görülmektedir. Şekil 5.23 karışık verilerin tekrar TBA analizi ile değerlendirilmesi sonucu elde edilen grafikdir. Dolayısıyla 24 saatlik yaşam süreci belirgin iken diğer zamanlarda belirginlik görülmemektedir. Bunun nedeni; koloni gelişiminin 24 saatten sonra durması nedeniyle üretilen kokunun sabit kalmasıdır.



Şekil 5.22 *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi Temel Bileşen Analizi



Şekil 5.23 *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi TBA sonucu karmaşık kısım geniş hali

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bazı mikroorganizmalar hastalık yapıcı özelliğe sahiptir. Bu nedenle, mikroorganizmaları tespit etmek insan ve hayvan sağlığı bakımından oldukça önemlidir. Günümüzde mikroorganizmalar mikroskop altında yapılan çalışmalarla sınıflandırılmaktadır. Bu çalışmada, *Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin kokularından ayırt edilemeyeceği hedeflenmiştir. Bu kapsamda, öncelikle QCM sensörlerin mikroorganizmaların yaydıkları kokulara verdiği cevap araştırılmıştır. Her bir mikroorganizmanın  $\Delta f$  frekans cevapları kullanılarak parmak izleri çıkarılmış ve mikroorganizmaların kokularından ayırt edilebileceği görülmüştür.

Bu çalışma kapsamında ilk olarak *Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin sınıflandırılması; ikinci olarak da ilgili mikroorganizmaların besi yerine ekiminden sonra beş günlük (24, 48, 72, 96 ve 120 saat sonraki) yaşam süreçlerinin incelenmesi çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Mikroorganizmaların (*Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri) ekiminden 24, 48, 72, 96 ve 120 saat sonraki ürettikleri kokularından sınıflandırma çalışmaları Temel Bileşen Analizi Metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Farklı giriş parametreleri için TBA modelleri denenmiş ve bunlardan en iyi sonuç veren giriş parametreleri tespit edilmiştir. Bu giriş parametreleri kullanılarak oluşturulan TBA sonuçları değerlendirilmiştir. Gözlem eksenleri olarak sensör 1 ve 2'nin kullanıldığı incelemede elde edilen sonuçlara göre; mikroorganizmaların besi yerine ekiminden 48, 72, 96 ve 120 saat sonra alınan koku verilerinden kısmi sınıflandırma yapılabilirken, en iyi sınıflandırma ekimden 24 saat sonra alınan koku verilerinden elde edilmiştir.

Mikroorganizmaların (*Candida albicans* mantarı, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri) yaşam süreçlerinin incelenmesi çalışmasında ise her üç mikroorganizmaya ilişkin elde edilen koku parametreleri TBA metodu ile beş günlük (besi yerine ekiminden 24, 48, 72, 96 ve 120 saat sonraki) gelişim süreçleri incelenmiştir. Bu çalışma neticesinde; *Candida albicans* mantarı ve *Escherichia coli* bakterilerinin koloni gelişimi 24 ve 48 saat sonraki zaman dilimlerinde ayırt edilebilirken, *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin koloni gelişiminin sadece 24 saat sonraki zaman diliminde net bir şekilde ayırt edilebildiği görülmüştür. Bunun nedeni; mikroorganizmaların koloni gelişiminin besi yerine ekiminden 48 saatten sonra durması nedeniyle ürettikleri kokunun sabit kalmasından kaynaklanmaktadır.

Sonraki alışmalar için öneri olarak;

1. Mikroorganizmaların günlük ölümlerde koloni sayısının değişip değişmediği mikroskop altında incelenip buna bağlı olarak koku yoğunluğunda değişim olup olmadığı kontrol edilebilir.
2. Koloni gelişimi için ilk 24 saat kritik zaman dilimi olduğundan sonraki çalışmalarda 6, 12, 18, 24 saat ayrıntılı zaman dilimleri kullanılarak mikroorganizma gelişimi incelenebilir.
3. Farklı mikroorganizmaları deneyerek daha hassas ölümler alarak tam anlamıyla sınıflandırma işlemi gerçekleştirilebilir.



## KAYNAKLAR DİZİNİ

- [1] <http://tr.wikipedia.org/wiki/Mikroorganizma>
- [2] <http://tr.wikipedia.org/wiki/Bakteri>
- [3] <http://tr.wikipedia.org/wiki/Mantar>
- [4] <http://biology.sebat.edu.kg/tr/MANTARLAR/webler/web1.htm>
- [5] <http://www.geocities.com/mdigrak/Mikoloji.htm>
- [6] A. Usame Tamer, Mikolojiye Giriş
- [7] Ryabtsev, S.V., Shaposhnick, A.V., Lukin, A.N., Domashevskaya, E.P., 1999, “Application of semiconductor gas sensors of medical diagnostics”, Sensors and Actuators B 59, 26-29
- [8] Fend, R., Bessant, C., Williams, A., J., Woodman, A.C., 12 December 2003, “Monitoring haemodialysis using electronic nose and chemometrics”, Biosens and Bioelectronics, 19 1581-1590.
- [9] Natale, C.D., Mantini, A., Macagnano, A., Antuzzi, D., Paolesse, R., D’Amico, A., “Electronic nose analysis of urine samples containing blood”, Physiol. Meas. 20 377–384 (1999)
- [10] Natale, C.D., Macagnano, A., Paolesse, R., Tarizzo, E., Mantini, A., D’Amico, A., “Human skin odor analysis by means of electronic nose”, Sensors and Actuators B 65 (2000) 216-219
- [11] Natale, C.D., Paolesse, R., D’Arcangelo, G., Comandini, P., Pennazza, G., Martinelli, E., Rullo, S., Roscioni, M.C., Roscioni, C., Finazzi-Agrò, A., D’Amico, A., “Identification of schizophrenic patients by examination of body odor using gas chromatography-mass spectrometry and a crossselective gas sensor array”, Med Sci Monit, 11(8, CR366-375 (2005)
- [12] Katzman, D.E., April.19.2005, “Breath test analyzer”, United States Patent RE38,728
- [13] Abe, S., and Hosoya, T., 1934, Proc. World Hydrogen Energy Conf., Sth, Toronto, 1984, Vol. 4, p. 1393.
- [14] Tekbıyık P., Qcm-Ssc Sensör Dizisi İle Tıbbi Uygulamalar İçin Tanı Sisteminin Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ocak–2007
- [15] Natale, C.D., Macagnano, A., Paolesse, R., Tarizzo, E., Mantini, A., D’Amico, A., 2000, “Human Skin Odor Analysis by Means of Electronic Nose”, Sensors and Actuators B 65, 216-219.
- [16] Natale, C.D., Paolesse, R., D’Arcangelo, G., Comandini, P., Pennazza, G., Martinelli, E., Rullo, S., Roscioni, M.C., Roscioni, C., Finazzi-Agrò, A., D’Amico, A., 2005, “Identification of Schizophrenic Patients by Examination of Body Odor Using Gas

Chromatography-Mass Spectrometry and a Crossselective Gas Sensor Array”, *Med Sci Monit*, 118, CR366-375.

- [17] Phillips, M., April.1.2003, “Breath Test for Dedection of Various Diseases”, United States Patent 6,540,691.
- [18] Tsung, T.T., Schmitt, V.O., Lucas, Q., and ISZ. S., September/October 2001, “Electronic Noses and Electronic Tongues”, *Labplus International*, 16-19.
- [19] Saraoğlu, H. M., Ebeoğlu, M. A., Özmen, A., Çakmak, N., Tekbıyık, P., 25-27 Mayıs 2006, “Nefes Kokusundan Diyabet Tanısı için QCM Tabanlı Sistem Tasarımı”, *Biyomut’06- Biyomedikal Mühendisliği Ulusal Toplantısı, Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul*.
- [20] Sasaki, I., Tsuchiya, H., Nishioka, M., Sadakata, M., Okubo, T., 2002, “Gas Sensing with Zeolite-Coated Quartz Crystal Microbalances-Principal Component Analysis Approach”, *Sensors and Actuators, B* 86, 26-33.
- [21] Nakatomo, T., Hiramatsu, H., 2002, “Study of Odor Recorder for Dynamical Change of Odor Using QCM Sensors and Neural Network”, *Sensors and Actuators, B* 85, 263-269.
- [22] Özmen, A., Ebeoğlu, M.A., Tekce F., Taşaltın, C., Öztürk, Z.Z., “Finding the Composition of Gas Mixtures by a Phthalocyanine Coated QCM Sensor Array and an Artificial Neural Network”, *Sensors and Actuators B, Vol:115, Issue:1* pp: 450-454.
- [23] Schmiedeskamp, M., Mart 2001, “Plenty to Sniff At”, *Scientific American Magazine*.
- [24] Pardo, M., Niederjaufner, G., Comini, E., Faglia, G., Sberveglieri, G., 1999, “Use an Electronic Nose to Classify Different Types of Italian Cheeses”, *Proceedings Of The 5Th International Symposium an Oflaction and the Electronic Nose, Technomic Publishing Company Inc.*, 43-50.
- [25] Öztürk, Z. Z., Haziran 2005, “Yeni Bir Bilim Dalı: Koku Ölçümü?”, *Gyte E-bülten Sayı 9*.
- [26] Nagle, H. T., Schiffman, S. S., Gutierrez-Osuna, R., September 1998, “The How and Why of Electronic Noses”, *IEEE Spectrum, Volume 35, Number 9*, pp. 22-34.
- [27] Yamanaka, T., Matsumoto, R., Nakamoto, T., 2003, “Odor Recorder for Multi-Component Odor Sensing Two-Lewel Quantization Method”, *Sensors and Actuators B* 89, 120-125.
- [28] Oyabu, T., Okada, A., Manninen, O., Lee, D-D., 30 May 2003, “Proposition of a Survey Device with Odor Sensors for an Enderly Person”, *Sensor and Actuators, B* 96 239-244.
- [29] Yamanaka, T., Matsumoto, R., Nakamoto, T., August 2003, “Fundamental Study of Odor Recorder for Multicomponent Odor Using Recipe Exploration Method Based on Singular Value Decomposition”, *IEEE Sensors Journal, Vol. 3, NO. 4*.

- [30] Yamanaka, T., Yoshikawa, K., Nakamoto, T., 2004, "Improvement of Odor-recorder Capability for Recording Dynamical Change in Odor", *Sensors and Actuators B* 99, 367–372.
- [31] Singh, S., Hines, L., Gardner, J.W., 1996, "Fuzzy Neural Computing of Coffee and Tainted Water Data from an Electronicnose", *Sensors And Actuators*, B30, 185-190.
- [32] Goschnick, J., Koronezi, I., Frietsch, M., Kiselev, I., 2005, "Water Pollution Recognition with the Electronic Nose Kamina", *Sensors and Actuators B* 106, 182–186.
- [33] Di Natale, C., Macagnano, A., Davide, F., D'Amico, A., Paolesse, R., Boschi, T., Faccio, M., Feri, G., 1997, "An Electronic Nose for Food Analysis", *Sensors and Actuators B* 44, 521-526.
- [34] Di Natale, C., Macagnano, A., Paolesse, R., Mantini, A., Tarizzo, E., D'Amico, A., Sinesio, F., Bucarelli, F. M., Moneta, E., Quaglia, G. B., 1998, "Electronic Nose and Sensorial Analysis: Comparison of Performances in Selected Cases", *Sensors and Actuators B* 50, 246–252.
- [35] Borjesson, T., Eklov, T., Jonsson, A., Sundgren, H., Schnurer, J., 1996, "Electronic Nose for Odor Classification of Grains", *Cereal Chem.*, 73(4):457-461.
- [36] Winqvist, F., Hornsten, E. G., Sundgren, H., Lundstrom, I., 1993, "Performance of an Electronic Nose for Quality Estimation of Ground Meat", *Meas. Sci. Technol.* 4, 1493-1500, printed in the UK.
- [37] Saraoğlu, H. M., Ebeoğlu, M., A., Özmen, A., Edin, B., 25-27 Mayıs 2005, "Sevoflurane Anestesi Gazının Phthalocyanine-QCM Duyarga ile Algılanması", *Biyomut'05 Biyomedikal Mühendisliği Ulusal Toplantısı, Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul.*
- [38] Saraoğlu, H.M., Özmen, A., Ebeoğlu, M.A., Edin, B., 25-27 Mayıs 2006, "Sevoflurane Anestesi Seviyesinin Elektronik Burun Kullanılarak Belirlenmesi", *Biyomut'06- Biyomedikal Mühendisliği Ulusal Toplantısı, Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul.*
- [39] Paulsson, N. J. P., Winqvist, F., 1999, "Analysis of Breath Alcohol with a Multisensor Array: Instrumental Setup, Characterization and Evaluation", *Forensic Science International*, 105 95-114.
- [40] Saraoğlu, H. M., Ebeoğlu, M. A., Özmen A., Çakmak, N., Tekbıyık, P., 26-28 Nisan 2006, "Hastalıkların Tanısı için Kuvartz Kristal Sensör Dizisi ile Nefes Analizi", *GAP V. Mühendislik Kongresi, El Ruha Oteli, Şanlıurfa.*
- [41] O'Sullivan, C.K., Guilbault, G. G., 1999, "Review Commercial Quartz Crystal Microbalances-theory and Applications," *Biosens and Bioelectronics*, 14, 663-670.
- [42] [http://tr.wikipedia.org/wiki/Candida\\_albicans](http://tr.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans)
- [43] [http://tr.wikipedia.org/wiki/Escherichia\\_coli](http://tr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli)

- [44] [http://tr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas aeruginosa](http://tr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa)
- [45] Tatlıdil,H., “Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistiksel Analiz”, Ankara,1996
- [46] Tekbıyık, P., 2007, “Qcm-Ssc Gaz Sensör Dizisi Kullanarak Tıbbi Uygulamalar İçin Tanı Sistemi Tasarımı”, Elektrik-Elektronik Mühendisliği Yüksek Lisans Tezi.
- [47] Bauer, J.D., Clinical Laboratory Methods, C.V. Mosby Company, St. Louis, Toronto, London, 1982
- [48] Bilghan, H., Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 1989.
- [49] Çetin, E.T., Genel ve Pratik Mikrobiyoloji, Sermet Matbaası, İstanbul, 1973.
- [50] Murray, R., Drew, W.L., Kobayashi, G.S., Thompson, J.H., Medical Microbiology, Wolfe Medical Publications Ltd., 1990.

## EKLER

Ek 1. Parmak İzi için kullanılan sensör verileri frekans farkları.

Bakteri	Sıcaklık	Nem	1. Sensör	2. Sensör	3. Sensör	4. Sensör	5. Sensör	6. Sensör	7. Sensör	8. Sensör	9. Sensör
CANDIDA	0,3	28,1	216	36	440	1416	96	96	536	1044	324
	0,4	27,6	216	48	500	1296	108	120	536	1268	324
	0,8	27,7	192	60	500	1164	132	500	548	1328	360
	0,1	19,6	156	48	72	828	84	84	572	872	240
	0,2	19,6	144	48	72	780	84	96	96	872	216
	0,2	19,2	132	36	500	732	72	84	84	884	216
	0,1	15,4	72	24	476	432	36	48	36	536	132
	0,1	13,8	72	24	500	396	36	48	36	228	120
	0,1	13,7	60	12	548	336	36	48	36	536	108
	0,1	16,8	84	12	60	536	48	48	36	252	132
	0	17,4	72	12	536	536	48	48	36	548	120
	0,1	16,9	72	24	536	536	48	60	48	560	132
	0,1	14,5	72	24	488	396	36	48	36	536	132
	0,1	14,9	72	24	500	420	36	48	36	500	120
	0,2	15,7	72	24	488	432	48	60	36	536	132
	0,4	27,7	300	84	108	2052	168	240	1064	1632	456
	0,4	24,8	264	72	108	2288	144	228	1052	1428	468
	0,7	25,3	252	72	108	1788	156	240	612	1392	468
	0,1	17,6	108	24	60	624	72	572	572	396	180
	0,2	16,7	108	36	500	564	60	584	572	384	156
	0,3	16,4	84	36	500	956	60	60	572	348	156
	0,2	16,8	72	24	488	500	36	48	48	536	120
	0,1	17,9	72	24	536	500	48	48	48	536	132
	0,2	17,9	72	24	548	500	48	60	36	536	132
	0,2	15,7	84	12	500	944	48	60	48	288	144
	0,2	15,2	84	24	500	944	48	48	48	276	132
	0,2	14,6	72	24	500	408	36	48	24	264	120
	0,1	15,6	84	24	60	528	48	60	48	312	144
	0,2	15,2	72	24	48	920	36	48	48	300	144
	0,3	14,8	72	24	48	456	48	60	48	288	132
	0,4	25,2	228	60	96	1536	108	168	216	1128	396
	0,5	24,8	216	60	96	1428	120	536	192	1292	704
	0,6	25,4	216	60	96	1392	120	536	180	1316	396
	0,2	18	72	12	500	968	36	548	24	288	144
	0,1	19,2	84	12	500	968	48	572	36	324	144
	0,1	19,6	84	24	488	980	48	572	36	336	156
	0,2	20,1	120	36	60	720	60	560	572	932	192
	0,2	17,1	108	24	48	744	48	560	572	848	168
	0,3	18,3	96	24	60	660	48	572	572	884	168
	0,2	23,8	192	36	84	1212	84	108	584	840	288
0,1	23,9	192	48	96	1308	108	120	584	780	740	
0,3	22,7	168	36	84	1340	96	584	584	848	752	

Bakteri	Sıcaklık	Nem	1. Sensör	2. Sensör	3. Sensör	4. Sensör	5. Sensör	6. Sensör	7. Sensör	8. Sensör	9. Sensör
E.COLİ	0,5	23,5	156	36	536	912	84	536	108	660	752
	0,4	22,1	120	36	536	684	84	536	84	576	240
	0,6	20,5	108	24	536	564	72	84	560	908	204
	0,1	17,1	120	24	500	684	72	560	572	372	192
	0,2	14,6	84	24	500	932	48	572	36	312	156
	0,1	14,3	72	24	500	944	48	36	36	288	144
	0,1	12,2	48	12	488	312	24	36	24	536	108
	0,1	12,3	48	12	548	324	36	48	24	500	108
	0,1	11,9	48	12	536	300	36	36	24	500	108
	0,3	15	60	12	48	348	36	48	24	204	120
	0	14,6	48	24	48	536	36	36	24	204	120
	0,1	14,7	60	24	548	536	36	48	24	572	108
	0,1	13	60	12	536	336	36	48	36	548	120
	0,1	12,2	60	12	548	300	36	48	24	536	96
	0,2	12,2	60	12	548	300	24	36	24	536	96
	0,5	20,9	192	60	96	1176	108	144	168	1268	384
	0,5	21,1	180	60	84	1128	108	500	168	1232	384
	0,5	21	168	48	84	1056	96	536	572	804	360
	0,1	13	72	24	476	372	36	36	36	252	132
	0,1	12,6	60	24	488	360	36	36	36	228	108
	0,2	13,4	60	24	500	372	48	60	36	240	120
	0,2	15	60	12	536	536	24	48	36	560	120
	0,1	16,3	60	12	536	536	48	60	36	536	132
	0,1	14,9	60	12	548	536	36	48	36	536	120
	0,1	14,2	72	24	500	384	36	48	36	500	132
	0,2	13,9	60	24	488	408	36	48	36	252	120
	0,3	14,9	72	24	476	956	36	48	36	264	120
	0,1	15,1	72	12	36	944	36	60	36	312	144
	0,2	14,3	72	12	36	932	36	48	36	288	132
	0,3	13,9	60	12	500	396	36	48	36	252	132
	0,4	26,9	276	84	120	1704	156	228	324	1320	492
	0,5	26,7	264	72	120	1668	156	548	312	1260	492
	0,6	27,3	264	72	120	1584	156	560	276	1212	492
	0,1	18,6	84	24	488	1004	48	48	36	336	156
	0,2	18,3	72	24	500	1004	48	48	36	312	144
	0,1	18,5	84	24	476	1004	48	60	36	300	144
	0,2	19,8	132	36	72	804	60	584	572	908	216
	0,3	19,4	120	36	60	816	72	584	572	516	204
	0,3	19,9	120	36	72	780	60	596	572	528	204
	0,2	20	132	36	60	816	60	596	596	920	240
0,3	19,1	120	36	60	756	60	596	584	860	216	
0,3	19,4	120	36	60	744	72	60	584	528	228	
0,3	22,2	180	36	84	1260	72	584	596	708	764	
0,3	18,4	108	24	72	708	60	596	60	492	192	
0,3	18,9	120	24	60	768	60	608	60	504	216	

Bakteri	Sıcaklık	Nem	1. Sensör	2. Sensör	3. Sensör	4. Sensör	5. Sensör	6. Sensör	7. Sensör	8. Sensör	9. Sensör
PSEUDOMANAS	0,3	18	84	24	60	1004	60	560	560	372	156
	0,3	18,3	84	24	60	992	60	560	560	372	168
	0,4	18,7	84	24	60	992	48	572	560	372	168
	0,1	15,7	84	24	488	516	48	572	36	348	156
	0,1	15,5	84	24	500	944	48	36	36	324	144
	0,3	15,9	84	24	476	504	60	48	36	324	156
	0,3	13,4	60	12	488	372	24	36	36	536	120
	0,1	13,3	60	12	548	384	36	48	36	536	108
	0,1	13,2	60	24	536	336	36	36	36	536	108
	0,2	19	96	24	60	504	48	60	48	348	180
	0,1	19,1	84	36	548	536	60	60	36	560	156
	0,1	19,1	84	36	548	536	60	72	36	560	168
	0,1	15,7	72	24	536	444	36	48	36	560	168
	0,1	14,6	72	24	536	384	36	48	36	536	132
	0,2	13,4	72	12	536	372	36	48	36	536	108
	0,4	20,7	180	60	84	1020	96	536	132	792	324
	0,3	20,4	168	60	84	984	96	536	132	732	336
	0,6	21,6	180	48	84	1400	96	548	132	848	788
	0	12	48	12	488	312	36	36	36	500	108
	0,1	12,2	48	12	500	336	36	48	36	192	108
	0,3	12,1	48	12	500	312	24	48	24	500	108
	0,3	24,5	156	36	536	816	72	96	584	528	252
	0,1	23,2	132	36	536	720	72	84	572	500	216
	0,1	21,5	120	36	536	1016	72	84	584	536	204
	0,1	17,3	96	24	476	980	48	60	36	536	192
	0,2	17,9	96	36	476	968	48	60	36	384	168
	0,2	17,4	96	24	476	956	48	72	36	372	180
	0,1	16,3	84	24	464	968	48	72	48	500	168
	0,2	15,8	84	24	500	944	48	72	36	324	156
	0,2	15,8	84	24	500	956	48	60	36	324	156
	0,3	26,3	252	84	120	1964	144	192	216	1116	492
	0,4	26,3	252	84	108	1392	144	572	572	1388	480
	0,5	27,3	252	84	500	1416	144	204	216	1092	492
	0,1	21,6	108	36	464	1004	60	60	584	536	216
	0,1	19,8	96	24	500	1004	48	72	36	372	180
	0,2	19	84	24	488	1016	60	72	48	348	180
	0,2	16,6	96	24	48	564	48	60	48	396	180
	0,2	16,3	84	24	48	516	60	60	48	360	168
	0,3	16,7	72	24	500	516	48	60	48	360	168
	0,2	18,4	120	24	60	684	60	72	48	944	216
0,3	17,6	96	24	60	648	60	72	48	884	204	
0,4	17,9	96	24	60	624	48	84	48	920	204	
0,3	22,3	168	36	84	1068	84	608	596	708	800	
0,3	20,2	132	36	72	804	72	608	596	872	240	