

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ELEKTRO-OPTİK SİSTEM MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**LAZERLE UYARMALI RAMAN SPEKTROMETRESİ
TASARIMI VE TIP ALANINDA UYGULAMALARININ
GERÇEKLEŞTİRİLMESİ**

MURAT GÜNEŞ

KOCAELİ 2013

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ELEKTRO-OPTİK SİSTEM MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

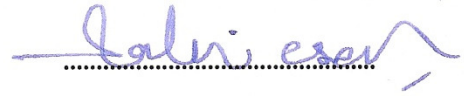
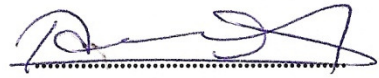
LAZERLE UYARMALI RAMAN SPEKTROMETRESİ
TASARIMI VE TIP ALANINDA UYGULAMALARININ
GERÇEKLEŞTİRİLMESİ

MURAT GÜNEŞ

Prof.Dr. Arif DEMİR*
Danışman, Kocaeli Üniv.

Doç.Dr. Özcan GÜNDOĞDU
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniv.

Prof.Dr. Kadir ESMER
Jüri Üyesi, Marmara Üniv.



Tezin Savunulduğu Tarih: 24.06.2013

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Raman spektroskopisi infrared spektroskopisinin tamamlayıcısı olarak kullanılmaktadır. Esnek saçılmaları belirleyen Raman spektroskopisi, sıvı çözeltilerin spektrumlarını almaya olanak sağlamaktadır. Bu avantajı sayesinde Raman spektroskopisi ile medikal numunelerin birçoğu rahatlıkla incelenebilmektedir. Ayrıca Raman spektroskopisi ile dokuların, vücutta üretilen taşların ve ilaçların incelenmesi de mümkündür.

Bu tez çalışmasında fikirleri ile beni yönlendiren ve destekleyen Prof. Dr. Arif DEMİR'e teşekkür ederim. Raman spektrometresi donanımının bir araya getirilmesi ve kalibrasyonu konusundaki yardımlarından dolayı Uzm. Dr. Erhan AKMAN'a teşekkür ederim. Tez yazımı sırasında verdiği fikirlerden ve desteklerden ötürü Uzm. Dr. Belgin GENÇ ÖZTOPRAK'a teşekkür ederim. Yüksek lisans süresince bana her zaman destek olan ve yardımlarını esirgemeyen, Doç. Dr. Elif KAÇAR'a, Doç. Dr. Ersin KAYHAN'a, Yrd. Doç. Dr. İbrahim SERTÇELİK'e, Yrd. Doç. Dr. Metin BAYRAK'a, Yrd. Doç. Dr. Aylin BAYRAK'a teşekkür ederim.

Her zaman yanımda ve destekçim olan annem Perihan BAYRAK'a, kardeşim Varan GÜNEŞ'e ve oğlum Tunç GÜNEŞ'e teşekkür ederim.

Haziran – 2013

Murat GÜNEŞ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
GİRİŞ	1
1. TEMEL SPEKTROSKOPİ BİLGİLERİ.....	2
1.1. Elektromanyetik Spektrum.....	2
1.2. Atomik Enerji Seviyeleri.....	3
1.3. Moleküler Enerji Seviyeleri	3
1.4. Yayılm ve Soğurum	4
1.5. Raman Spektroskopisi.....	5
1.5.1. Saçılma Teorisi.....	7
1.5.2. Raman Spektroskopi Sistemleri	11
1.5.3. Raman Spektroskopi Tekniğinin Avantajları.....	16
1.5.4. Raman Spektroskopi Uygulamaları	17
1.5.4.1. Literatür Örnekleri	17
1.5.4.2. Cihaz Pazarı ve Uygulama Alanları.....	23
1.5.4.3. Raman Spektroskopi Tekniğinin Farklı Kullanım Alanları ve Biyolojik Uygulamaları.....	25
2. RAMAN SPEKTROMETRESİ TASARIMI.....	28
2.1. Çalışma Prensibi.....	28
2.2. Optik Tasarım.....	30
2.3. Mekanik Tasarım.....	31
2.4. Soğutma Ünitesi Tasarımı	32
2.5. Yazılım	37
3. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	44
3.1. Spektrometre Kalibrasyonu	44
3.2. Raman Ölçümlerinin Kalibrasyonu.....	44
3.3. Tıbbi Uygulamalar	45
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR	51
EKLER.....	54
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER	58
ÖZGEÇMİŞ	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Elektromanyetik spektrum.....	9
Şekil 1.2.	Elektromanyetik ışınma - molekül etkileşimi.....	10
Şekil 1.3.	Atomda 2 enerji seviyesi arasında gerçekleşen işlemler.....	11
Şekil 1.4.	Moleküllere ait enerji düzeyleri ve saçılmalar.....	16
Şekil 1.5.	Stokes ve anti-stokes saçılmaları.....	17
Şekil 1.6.	Doğrusal CO ₂ molekülünün simetrik ve asimetrik gerilme ve eğilme titreşimleri sırasında molekülün çift kutup momentinde (p) ve kutuplanabilmesinde (a) oluşan değişimler.....	18
Şekil 1.7.	Doku analizi için Raman sistemi-Raman mikro-probu.....	20
Şekil 1.8.	Kan analizi için Laboratuvar tipi Raman sistemi şeması.....	21
Şekil 1.9.	Klinik Raman sistemi, bu sistem hızlı veri toplaması, taşınabilirliği ve hastane ortamında çalışabilmesi amacı ile.....	21
Şekil 1.10.	+Pi Floresans mikroskop (S. Hell tasarımı).....	22
Şekil 1.11.	SERS spektroskopisi ile belirlenen immunoserolojik yöntemde protein spektrumu.....	24
Şekil 1.12.	İlaç-DNA etkileşimlerinin SERS ve rezonans Raman spektrumlarının karşılaştırılması.....	25
Şekil 1.13.	Patojen analizi a) üriner sistem bakterileri, b) adenovirüs, rhinovirüs, HIV.....	25
Şekil 1.14.	Farklı bakteri hücrelerinin Raman spektrumları.....	25
Şekil 1.15.	Farelerde Apo-E analizleri.....	26
Şekil 1.16.	Kanser belirleme a) göğüs kanseri, b) kötü huylu tümör, c) sağlıklı doku.....	26
Şekil 1.17.	İlaç tabletlerinde değişik bileşenlerin renk kodlamalı Raman görüntüleri.....	27
Şekil 1.18.	Salisilik asit, Aspirin tableti ve Asetilsalisilik asit Raman spektrumları.....	27
Şekil 1.19.	Hat üzerinde ilaç bileşenlerine ait Raman spektrumları.....	29
Şekil 1.20.	Dünya spektroskopisi pazarı.....	30
Şekil 1.21.	Dünya spektroskopisi pazar hacmi.....	31
Şekil 2.1.	Baki Raman Spektrometre Optikwerks kullanılarak elde edilen Czerny-Turner dizilimi.....	37
Şekil 2.2.	Baki Raman Spektrometre solidworks dış aksam.....	38
Şekil 2.3.	BAKİ Raman spektrometre iç aksam 3B görüntüsü.....	38
Şekil 2.4.	532 nm dalgaboylu Laser Quantum marka lazerin güç stabilite grafiği.....	39
Şekil 2.5.	785 nm dalgaboylu Ocean Optics marka lazerin güç stabilite grafiği.....	40
Şekil 2.6.	TEC yapısı.....	41
Şekil 2.7.	Proteus programında hazırlanan devre simülasyonu.....	42
Şekil 2.8.	Hazırlanan baskı devre şeması.....	42
Şekil 2.9.	RAMAN Spektrometre kontrol yazılımının arayüzü.....	44
Şekil 2.10.	Ayar arayüzü.....	46

Şekil 2.11.	Analiz arayüzü.....	48
Şekil 2.12.	Analiz arayüzü. Smoothlaştırma ve baseline alma işlemlerinin ardından spektrumun görüntüsü.....	49
Şekil 2.13.	Analiz arayüzü. Piklerin otomatik olarak belirlenmesi.....	50
Şekil 3.1.	Toulene ait referans spektrumu.....	52
Şekil 3.2.	Toulene spektrumu 532 nm 100 mW lazer gücünde 323 toplama..	53
Şekil 3.3.	Toulene spektrumu 532 nm 150 mW lazer gücünde 109 toplama..	53
Şekil 3.4.	Aspirin spektrumu 532 nm 200 mW lazer gücünde 45 toplama....	54
Şekil 3.5.	Benzene spektrumu 532 nm 350 mW lazer gücünde 92 toplama...	54
Şekil 3.6.	Metanol spektrumu 532 nm 350 mW lazer gücünde 58 toplama...	55
Şekil 3.7.	Novalgin(Metamizol-Sodyum) spektrumu 532 nm 300 mW lazer gücünde 64 toplama.....	55
Şekil 3.8.	Novaljin(Metamizol-Sodyum)-Altın spektrumu 532 nm 300 mW lazer gücünde 64 toplama.....	56
Şekil 3.9.	Böbrek taşı spektrumu 785 nm 150 mW lazer gücünde 17206 toplama.....	56

LAZERLE UYARMALI RAMAN SPEKTROMETRESİ TASARIMI VE TIP ALANINDA UYGULAMALARININ GERÇEKLEŞTİRİLMESİ

ÖZET

Bu çalışmada Raman spektroskopisinin 532 nm ve 785 nm dalgaboyunda lazer kaynakları kullanılarak gerçekleştirilmesi ve tıbbi alanda uygulamalarının yapılması amaçlanmıştır.

Raman spektrometresinin optik tasarımı yapıldıktan sonra dalgaboylarına ayrıştırılan numuneden saçılmış ışın, CCD dedektör ile algılanmış ve hazırlanan yazılımla işlenmesi sağlanmıştır. Yazılım tamamen Türkçe arayüzlü olup C# programlama dili ile yazılmıştır.

Raman spektrometresinde, diğer spektrometrelerden farklı olarak, CCD dedektörle algılanması gereken saçılmış ışın taban gürültüsünden ayrıştırılamayacak kadar zayıf olduğu için CCD dedektörün kontrollü bir şekilde soğutulması ve ölçüm süresince soğuk kalması sağlanmalıdır. Bu amaçla TEC (Thermo Electric Cooling) ve mikrogenetleyici kullanılarak bir sıcaklık kontrol ünitesi tasarlanmış ve gerçekleştirilmiştir.

Sistemin mekanik aksamının modellenmesi SolidWorks yazılımında yapılmış ve daha sonra mekanik aksam üretilmiştir.

Anahtar kelimeler: Raman Spektroskopisi, Raman Spektroskopisinin Tıbbi Uygulamaları, Spektroskopi.

LASER STIMULATED RAMAN SPECTROMETER DESIGN AND MEDICAL APPLICATIONS

ABSTRACT

In this study, performing of Raman spectroscopy with two different 532 nm and 785 nm wavelength laser sources and medical applications are aimed.

After the optical design of Raman spectrometer has completed, the wavelength separated light, that scattered from the sample, has been caught with CCD detector and processed with the software. The software has a completely Turkish interface and written with C# programming language.

Raman spectrometer, as opposed to other spectrometers, because the scattered light is so weak to capture with the CCD detector and hard to separate from the noise the CCD detector should be cooled in a controlled manner, and it must be kept cold during measurement. For this purpose a temperature controller designed and implemented with TEC (Thermo Electric Cooling) and a microcontroller.

SolidWorks software is used for modelling the mechanical parts of the system and after that mechanical parts have been produced.

Keywords: Raman Spectroscopy, Medical Applications of Raman Spectroscopy, Spectroscopy.

GİRİŞ

Raman spektroskopisi, bir saçılma spektroskopisi yöntemi olup, çoğunlukla infrared spektroskopisinin tamamlayıcı yöntemi olarak kullanılmaktadır. Numunenin monokromatik ışın kaynağıyla uyarılmasıyla moleküllerin rezonans hareketi sonucu saçılan zayıf sinyallerin yakalanmasına ve numunenin moleküler bazda analiz edilmesine dayanır.

Temel Spektroskopi Bilgileri başlıklı birinci bölümde, Raman spektroskopisinin dayandığı teorik temeller incelenmiş ve bugüne kadar yapılmış çalışmalar araştırılarak elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

Raman Spektrometresi Tasarımı başlıklı ikinci bölümde, Raman spektroskopi cihazını oluşturan bileşenler hakkında bilgiler verilmiş ve dneysel yöntem açıklanmıştır.

Bulgular ve Tartışma başlıklı üçüncü bölümde, hayata geçirilen Raman spektroskopi cihazı kullanılarak bazı numunelerden alınan spektrumlar verilmiş ve bu spektrumlar yorumlanmıştır.

Sonuçlar ve önerilen başlıklı son bölümde ise, tez çalışmasından elde edilen bulgular irdelenmiş ve sistemin iyileştirilmesi için bazı önerilerde bulunulmuştur.

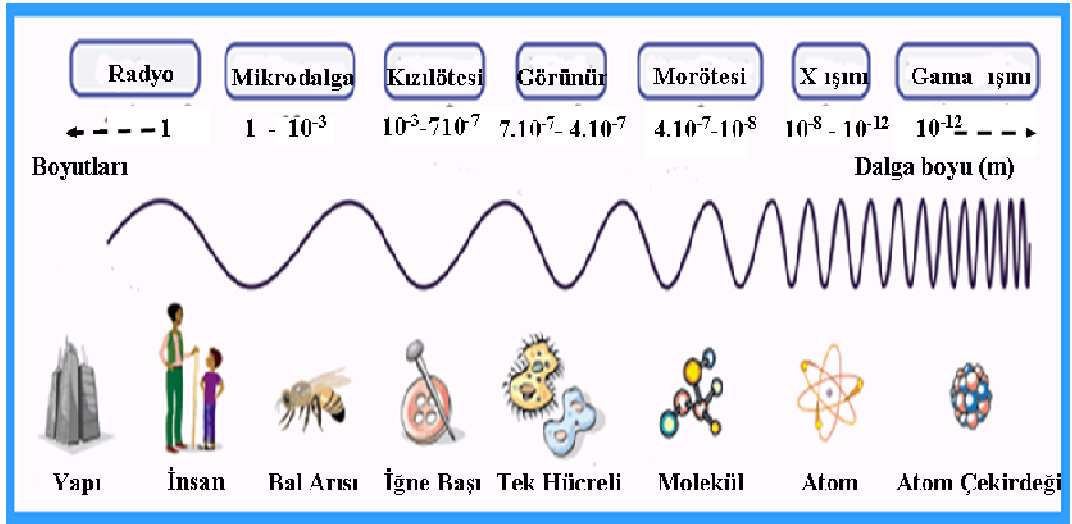
Bu tez çalışmasının amacı bir Raman spektroskopi sistemi tasarlamak, hayata geçirmek ve tıbbi numunelerden, özellikle de ilaçlardan, spektrumlar alarak incelemektir.

1. TEMEL SPEKTROSKOPİ BİLGİLERİ

1.1. Elektromanyetik Spektrum

Bir numunedeki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında soğurulan veya yayılan elektromanyetik ışımının, ölçülmesi ve yorumlanmasına spektroskopi denilmektedir. Atom, molekül veya iyonun elektromanyetik ışımına ile etkileşimi sonucu dönme, titreşim ve elektronik enerji seviyelerinde değişiklikler spektroskopinin temelini oluşturur.

Elektromanyetik ışımaya aralıkları, gözle algılayabildiğimiz görünür ışık ve ısı şeklinde algılayabildiğimiz infrared (kırmızı ötesi) ışınlarıdır; x-ışınları, ultraviyole (mor ötesi), mikrodalga ve radyo ışınları ise diğer bölgeleridir. Analitik amaçlar için önem taşıyan spektrum bölgelerinin dalga boyu ve frekans aralıkları Şekil 1.1'de belirtilmiştir [1].



Şekil 1.1. Elektromanyetik spektrum.

Spektroskopik analiz yöntemlerinde örnek üzerine bir uyarıcı tanecik gönderilir ve örneğin bu uyarıcı taneciğe (elektron, nötron, proton, atom, molekül, gibi) tepkisi ölçülür. Spektroskopik yöntemler, Atomik Spektroskopi ve Moleküler Spektroskopi olmak üzere temelde iki gruba ayrılır.

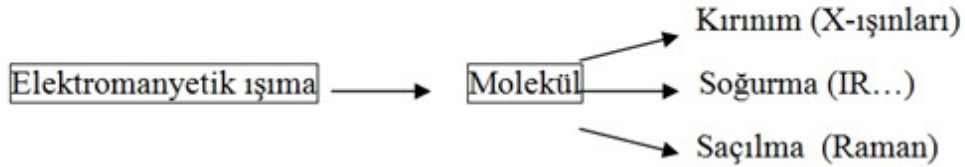
1.2. Atomik Enerji Seviyeleri

Atomik spektrum sadece elektronların bir enerji düzeyinden diğerine geçişlerini içerir. Bu geçişler sırasında soğurulan veya yayılan ışımının enerjisi, atomun potansiyel enerji seviyelerindeki değişimi ile orantılıdır ve $E = h\nu$ eşitliği ile verilir.

1.3. Moleküler Enerji Seviyeleri

Atomik spektrumların keşfi modern spektroskopinin gelişmesini önemli ölçüde hızlandırmıştır. Günümüzde soğurma, yayılım ve saçılma olmak üzere üç temel spektroskopi yöntemi kullanılmaktadır. Soğurma spektroskopisi, kızılötesi ve morötesi spektroskopisini içererek bir malzeme tarafından soğurulan dalgaboyunun incelenmesi ile malzeme hakkında bilgi edinilmesini sağlamaktadır. Floresan ve lazer spektroskopisini içine alan yayılım spektroskopisinde belli bir dalgaboyunda malzemeden yansıyan ışığın miktarı ölçülerek analiz yapılmaktadır. Raman'ın dahil olduğu saçılma spektroskopisi ise yayılım spektroskopisine benzerdir ancak farklı olarak tüm dalgaboyları analiz edilir [2].

Elektromanyetik ışınma molekül ile Şekil 1.2'de görüldüğü gibi üç biçimde etkileşir.



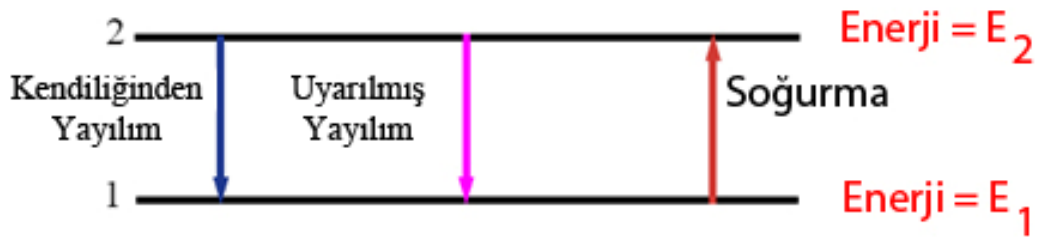
Şekil 1.2. Elektromanyetik ışınma - molekül etkileşimi.

Moleküller üzerlerine düşen elektromanyetik enerjiyi soğururlar, bu arada bağın gerilmesi sonucu atomlar birbirine yaklaşır veya uzaklaşır. Eğer atom sayısı ikiden fazla ise bağlar arasındaki açı değişir. Moleküldeki bağlar, açılar ve kütleler (atomlar) farklı olduğu için her birinin titreşim enerjisi de farklıdır. Daha doğrusu bir moleküldeki gerilme ve bükülme titreşim enerjileri molekül üzerine düşen elektromanyetik ışınların uygun frekansta olanları molekül tarafından soğurulur. Raman spektroskopisi, infrared spektroskopisine ait bir teknik olup maddeye ait moleküler yapı ve nicel analiz hakkında detaylı bilgiler verebilmektedir. Raman

analiz tekniği IR'nın tamamlayıcı analiz yöntemi olup IR'de gözlenmeyen zayıf titreşimler burada gözlenir. [3].

1.4. Yayılım ve Soğurum

Elektronlar atomun enerji seviyeleri arasında alt veya üst enerji seviyelerine doğru hareket ettiğinde foton enerjisi yayar veya soğururlar. Elektron yüksek enerji seviyesinden daha düşük enerji seviyesine düşerse ilk ve son enerji seviyeleri arasındaki enerji farkı kadar enerjiyi foton enerjisi olarak yayar. Alt enerji seviyesinden üst enerji seviyesine hareket edebilmesi için ise 2 enerji seviyesi arasındaki enerji farkı kadar ışık enerjisini soğurması gerekir. Atomda iki enerji seviyesi arasındaki kendiliğinden geçiş, uyarılmış yayılma ve soğurma gibi fiziksel olaylar Şekil 1.3'de görülmektedir.



Şekil 1.3. Atomda 2 enerji seviyesi arasında gerçekleşen işlemler.

$$h\nu_{21} = E_2 - E_1 \quad (1.1)$$

Her atom farklı elektron dizilişine sahiptir, atom tarafından yayılan veya soğurulan fotonun dalgaboyu o elemente özeldir. Bu nedenle, belirli enerji seviyesi arasındaki yayılımlar ve soğurumlar o elemente özgü gerçekleşen fiziksel olaylardır ve o elementin parmak izi gibi adlandırılabilir. Görünür bölge dışında yayılan fotonlar sadece o bölgelere özel olarak tasarlanmış spektrometreler ile belirlenebilir. Elektromanyetik spektrumda yayılan veya soğurulan dalgaboyları belirlenerek analiz edilen numunenin elemental bileşimi belirlenir.

Soğurum spektroskopisi incelenen numunenin bir ışık kaynağı ile aydınlatılması sonrasında kayıp olan elektromanyetik enerjiyi ölçer, bunun sebebi her elementin kendine özgü soğurum frekans bandı bulunmasıdır.

Beer-lambert yasası, ışığın bir madde içindeki geçirilmesi olan T ile soğurulma katsayısı α ve ışığın madde içinde aldığı yol ℓ 'nin çarpımı arasında logaritmik bir ilişki olduğunu ifade eder. Soğurulma katsayısı da, soğuran maddenin molar absorptivitesi ε ile malzeme içindeki absorplayıcı cisimleri konsantrasyonu c 'nin çarpımı, veya absorpsiyon arakesiti σ ile soğurucuların sayısal yoğunluğu N 'nin çarpımıdır.

Sıvılar için bu ilişkiler genelde şöyle yazılır:

$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-\alpha \ell} = 10^{-\varepsilon c \ell} \quad (1.2)$$

gazlar için ise, ve özellikle fizikçiler tarafından, ve spektroskopi ve spektrofotometri sahalarında, bunlar normalde şöyle yazılır:

$$T = \frac{I}{I_0} = e^{-\alpha \ell} = e^{-\alpha N \ell} \quad (1.3)$$

burada I_0 ve I , sırasıyla, gelen ve geçen ışığın şiddetidir (veya güçdür). Tek bir tanecik için ışık soğurma ara kesiti σ ve N , soğuran taneciklerin yoğunluğudur (hacim başına sayısıdır). E-tabanlı logaritma ile 10 tabanlı logaritma kullanımı arasındaki fark tamamen kullanıma bağlıdır, birini öbürüne dönüştürmek için sadece bir sabitle çarpım gerekmektedir [4].

1.5. Raman Spektroskopisi

İnfrared spektroskopinin aksine, Raman spektroskopisi tamamen simetrik molekül titreşimleri konusunda bilgi vermektedir. Ek olarak Raman spektroskopisi sulu çözeltilerde ölçüm alabilme imkanı vermektedir. Bu özellik Raman spektroskopisini biyofiziksel kimya alanında çok değerli hale getirmiştir [3]. Birçok farklı tip Raman spektroskopisi uzun yıllar birçok farklı soruya cevap verebilmek amacıyla infrared tekniğinin tamamlayıcısı olarak birçok farklı alanda kullanılmaktadır [6].

Raman spektroskopisinin doğuşu 20.yy'ın ilk çeyreğinde frekansın değişmesi ile monokromatik ışığın saçılacağı Avusturyalı kuantum fizikçi A. Smekal tarafından teorik olarak öngörüldü [7]. Rayleigh 1871'de, Einstein 1910'da ve farklı

araştırmacılar tarafından ışığın saçılması uzun yıllar çalışıldı, fakat Compton tarafından X-ışını bölgesinde gözlemlenen saçılma dışında dalgaboyunda herhangi bir değişiklik gözlenmediği bildirildi [8]. Raman saçılması ilk olarak 1928 yılında gözlenmiş ve ilk olarak 1930'da birçok farklı molekülün titreşimsel enerji düzeylerinin gözlenmesi ile deneysel olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bilindiği gibi rezonans etkisi deneysel olarak ilk defa 1946 yılında Sorbonne Üniversitesinde Harrant ve Lennuier tarafından gözlendi [8]. Işın büyük bir kısmı olan temel çalışmaları takiben 1930 ve 1950 yılları arasında Raman spektroskopisindeki gelişmeler daha yavaş gelişti. İlerleyen yıllarda, bu olgu fiziksel kimya ve teorik kimya konularında özellikle Sovyetler Birliği'nde geniş ölçüde çalışılmıştır. İlk başlarda spektroskopik incelemeler basit molekülleri kapsamaktadır. Tekniğin biyoanalitik potansiyeli 1970'li yıllarda lazerin tekniğe girişi ile beraber daha çok açığa çıkmıştır [9]. Bunun nedeni lazer çizgisi elektronik bir soğuruma denk geldiğinde rezonans etkisi göstermesidir. Resonans Raman Spektroskopisi'nin analitik bir teknik olarak kabul edilmesi uzun süre almıştır, bunun en önemli nedeni ise başlangıçta pek çok lazer sisteminin ayarlanabilir olmamasından kaynaklanmaktadır. Optimum hassaslık ve seçiciliği etkileyen diğer bir parametre ise uyarma dalgaboyunun seçilmesidir. Ancak geçtiğimiz 20 yıl içerisinde lazer sistemlerinin gelişmesi, yeni nesil monokramotor ve CCD kameraların üretimi ile kullanım alanı git gide arttırılmıştır. Günümüzde Raman spektroskopisi birçok endüstriyel laboratuarda rutin bir şekilde kullanılan yöntem halini almıştır [10].

Raman numunelemesinin basitleştirilmesinde 1970 'lerin başı ve ortalarında Raman mikroprobların kullanılmaya başlanması konfokallık ve floresanın engellenmesine ek avantaj sağlayan gerçek bir yeniliktir [11]. Malzeme problemlerindeki Ramanın geniş kullanımı cihazsal olduğu için 1990'lı yıllarda cihaz boyutları küçülene kadar tekniğin gerçek anlamda kullanımında artış olmamıştır [12]. Bu sistem dalgaboyunda kayma olmayan lazer ışınını engelleyerek Raman sinyalinden ayıran notch filtrelerin, düşük gürültüye sahip CCD detektörlerin ve iyi yazılımlara sahip bilgisayarların kullanılması ile sağlanmıştır. 1990'ların ortalarından itibaren Raman cihaz uygulamaları kullanılan malzemelerde sürekli genişleyen bir etki yarattı. Cihaz üreticileri tüm bu cihazların gerçek hayattaki uygulamaları için daha özel gelişmeler sağlamasına katkıda bulundu. Hassasiyeti, yüksek bilgi içeriği ve tahribatsız doğası

sebebiyle Raman spektrometreleri kimya, biyoloji, jeoloji, maden, adli tıp, farmakoloji ve malzeme bilimi gibi birçok farklı araştırma alanında uygulama bulmaktadır. Endüstriyel olarak kimya, ilaç, kağıt, polimer ve plastik sektöründe kalite kontrol ve süreç takibinde kullanımı arttığı görülmektedir.

1.5.1. Saçılma Teorisi

Bir atomun elektronlarının yüksek enerjili seviyelere uyarılmasında soğurulan veya uyarılmış bir atomun temel düzeye dönüşü sırasında yayılan ışınım enerjileri, elektromanyetik spektrumun ultraviyole veya görünür bölge sınırları içindedir. Moleküler spektrum, elektronik düzeyler arasındaki geçişlere ek olarak dönme ve titreşim enerji düzeyleri arasındaki geçişleride içerir. Bu geçişler sırasında bir molekülün toplam enerjisi;

$$E_{\text{toplam}} = E_{\text{elektronik}} + E_{\text{titreşim}} + E_{\text{dönme}} \quad (1.4)$$

eşitliği ile verilir. Bu nedenle moleküllerin spektrumları atom spektrumlarına oranla daha karmaşıktır.

Raman spektroskopisi, ışığın sadece dalga değil aynı zamanda parçacık özeliği göstermesi özeliğinden ortaya çıkan temeli Planck ve Einstein'ın çalışmalarına dayanan bir spektroskopi yöntemidir. Işığın parçacık olarak ele alınması ve elastik olmayan saçılma yapabilme özelliği teorinin doğuşunu sağlamıştır. Raman spektroskopisi İnfrared spektroskopide olduğu gibi titreşimsel spektroskopinin bir çeşididir, ancak infrared spektroskopide IR band molekülün dipole momentindeki değişimlerden ortaya çıkarken Raman saçılma bandı kutuplanabilirlikteki değişimden ortaya çıkmaktadır.

Genel olarak bir ışık bir malzeme ile etkileşime girdiğinde 3 olası yol vardır.

- 1- Işık malzeme tarafından soğurulabilir,
- 2- Işık malzemedan geçebilir,
- 3- Işık malzemedan saçılabilir.

Raman spektroskopisi monokromatik bir ışık kaynağının elastik olmayan saçılması temeline dayanan bir spektroskopi tekniğidir. Elastik olmayan saçılma monokromatik ışın kaynağındaki fotonların frekanslarının bir malzeme ile etkileşimi sonucunda değişimine denilmektedir. Lazer kaynağından çıkan fotonlar malzeme tarafından soğurulur ve malzeme tarafından tekrar yayılır. Tekrar yayılan fotonların frekansları malzemeye gelen lazer fotonlarının frekansına göre yukarı veya aşağı yönde kayma gösterir. Fotonların frekanslarında meydana gelen bu değişime “Raman Etkisi” denilmektedir. Bu değişim malzemeye ait moleküllerin titreşim, dönme ve diğer düşük frekanslı geçişleri hakkında bilgi sahibi olunmasını sağlar. Raman spektroskopisi katı, sıvı ve gaz örneklerde kullanılabilir.

Raman spektroskopisinde diğer spektroskopi yöntemlerinin tersine saçılan ışık ile ilgilenilir. İki türlü ışık saçılması söz konusudur (Şekil 1.4).

i. Elastik saçılma; bu saçılmada saçılan ışık gelen ışık ile aynı frekanstadır. Bu tür bir saçılma Rayleigh saçılması olarak adlandırılır. Rayleigh saçılması en olası saçılmadır.

ii. Elastik saçılma olayının yanı sıra saçılan ışığın çok az bir kısmı elastik olmayan saçılma olayı ise *Raman saçılması* adını alır. Rayleigh saçılması olayında Raman saçılmasına göre $10^4 - 10^5$ kez daha şiddetli bir saçılmış ışık oluşur. Ancak Rayleigh saçılması tek bir pik verir ve, titreşim geçişleri hakkında bilgi vermez. Raman saçılması sırasında saçılan ışığın enerjisinde molekül ile etkileşen ışığinkine göre oluşan fazlalık veya azlık ışıkla etkileşen molekülün titreşim enerji düzeyleri arasındaki enerji farkları kadardır. Bu nedenle Raman saçılmasının spektroskopik incelenmesi ile moleküllerin titreşim enerji düzeyleri hakkında bilgi edinilebilir.

$$E = E_0 \cos 2\pi\nu_0 t \quad (1.5)$$

$$\mu(\text{or } p) = \alpha E = \alpha E_0 \cos 2\pi\nu_0 t \quad (1.6)$$

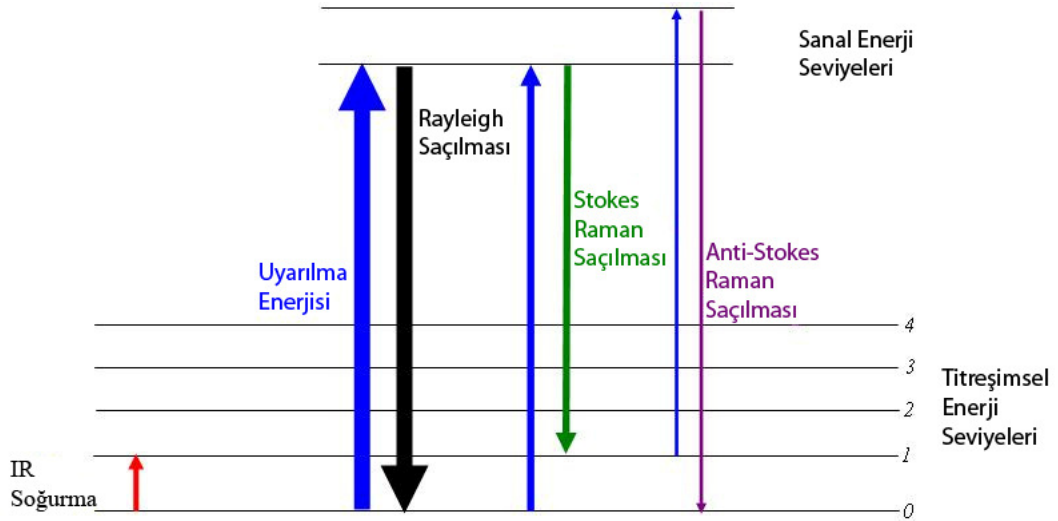
$$I = \frac{16\pi^4}{3c^3} \nu_0^4 \mu_0^2 \quad (1.7)$$

Raman etkisi E elektrik alanı içinde moleküler polarizasyonun belirlediği molekülün deformasyonuna dayanmaktadır (α). Lazer demeti elektrik vektörü E olan salınımlı

bir elektromanyetik dalga olarak kabul edilebilir (1.5). Elektrik alanın malzeme ile etkileşimi ile elektrik alan elektrik dipol momentine neden olur ($P=\alpha E$) ve bu molekülün deformasyonuna neden olur (1.6). Deformasyonun periyodikliğinden dolayı molekül karakterestik bir frekansta titreşime başlar ν_0 . Titreşimin genliği nükleer yer değiştirme olarak adlandırılır. Diğer bir deyişle ν_0 frekanslı monokromatik lazer ışığı molekülleri uyararak salınan dipollere dönüştürür. Raman saçılma şiddeti I ile verilir (1.7).

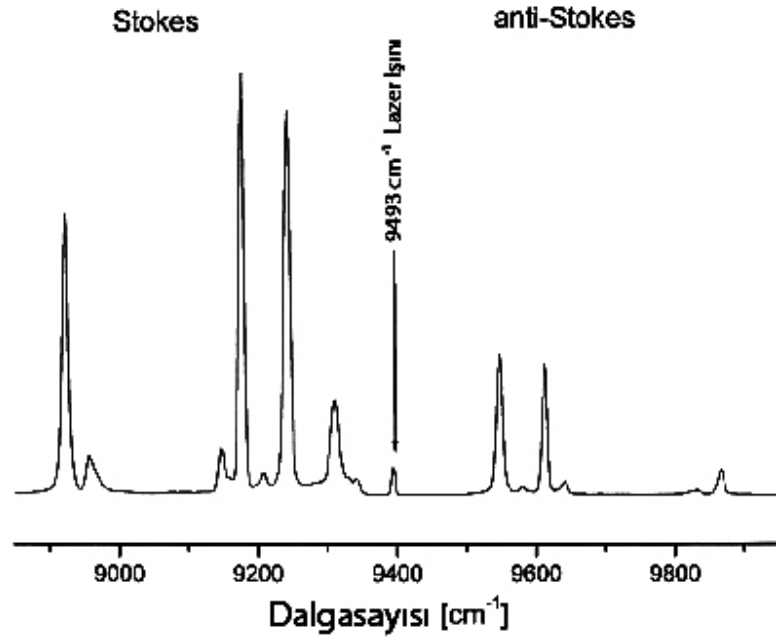
Farklı iki Raman saçılması bulunmaktadır (Şekil 1.4).

- Gelen ışın daha düşük bir frekansta (düşük enerji) saçılmaya uğrarsa Stokes saçılması olarak adlandırılır.
- Gelen ışın daha yüksek bir frekansta (yüksek enerji) saçılmaya uğrarsa anti-stokes saçılması olarak adlandırılır.



Şekil 1.4. Moleküllere ait enerji düzeyleri ve saçılmalar [43].

Normal şartlarda moleküller titreşimlerin çoğu taban enerji düzeyindedir. Bu nedenle anti-stokes saçılmasının olma olasılığı daha düşüktür. Stokes saçılması daha şiddetli olarak meydana gelir. Bu nedenle daha fazla çalışılır. Şekil 1.5.'te Stokes ve Anti-Stokes saçılmaları görülmektedir.



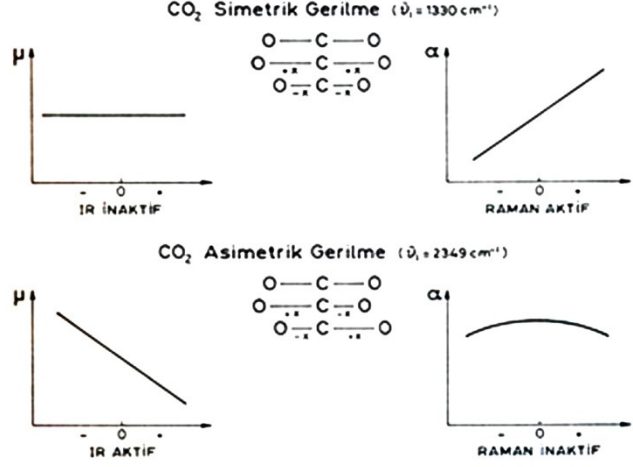
Şekil 1.5. Stokes ve anti-stokes saçılmaları [43].

Gelen fotonların % 99.999'u elastik saçılmaya uğrar. Bu tip sinyaller moleküler karakterizasyon için yarasızdır. Gelen ışığın sadece % 0.001'i elastik olmayan saçılmaya uğrar ve $\nu_0 \pm \nu_m$ frekansında Raman sinyali üretir. Spontane Raman saçılması çok zayıftır bu nedenle baskın Rayleigh saçılmasından ayırt edebilmek için sistemde Notch filtre kullanımı gibi özel önlemler alınması gerekir.

Raman spektrumunun kaynağını anlamak için molekülün gelen ışın ile etkileşimini bilmek gereklidir. Raman saçılmasının olabilmesi için molekülün kutuplanabilir olması gereklidir. Kutuplanabilirlik, bir molekülde gelen ışığın frekansının ne kadar verimle bir çift kutuba neden olduğunun ölçüsü ile tanımlanır.

Bir molekülün bir fotonla Raman türü saçılma etkileşmesine girebilmesi için molekülün titreşimi sırasında etkileştiği fotonun elektrik alanı tarafından periyodik ve fotonun frekansına eşit frekanslı olarak polarlanabilmesi yani periyodik ve geçici bir çift kutup momentinin oluşması gereklidir. Raman hatlarının şiddeti, titreşen molekülün fotonla etkileşirken oluşan polarlanabilme değişim hızının karesi ile orantılıdır. Şekil 1.6.'da doğrusal CO₂ molekülünün simetrik ve asimetric gerilme ve eğilme titreşimleri sırasında molekülün çift kutup momentinde (P) ve kutuplanabilmesinde (α) oluşan değişimler görülmektedir.

Raman saçılmasının şiddeti moleküler kutuplanabilirliğin karesi ile orantılıdır.
= kutuplanabilirlik



Şekil 1.6. Doğrusal CO₂ molekülünün simetrik ve asimetrik gerilme ve eğilme titreşimleri sırasında molekülün çift kutup momentinde (p) ve kutuplanabilmesinde (α) oluşan değişimler [43].

1.5.2. Raman Spektroskopi Sistemleri

Raman spektroskopisi 70 yıldır çalışılmasına rağmen malzeme karakterizasyonu ve kimyasal analizdeki uygulamaları Raman sisteminde kullanılan cihazların gelişmesi ve kalibrasyon teknikleri uygulanması ile genişlemiştir [21]. Düşük gürültülü çok kanallı detektörler, verimli spektrograflar ve fiber optik tekniklerin kullanılması Raman sinyallerini 10⁵ faktörü kadar iyileştirebilmektedir [22]. Raman sinyali floresans ışına tarafından baskılanabilmektedir, bu etki en çok analiz edilen numunedeki düşük yoğunluktan kaynaklanmaktadır. Floresans ışınması Raman ölçümlerinin hassaslığı açısından son derece zararlıdır çünkü bu da lazer uyarımını etkilemektedir.

Raman cihazlarının farklı uygulama alanlarında kullanımı ve yüksek kalitede spektrum elde edebilmek için farklı dalgalarda lazer kaynakları tercih edilmektedir. Bazı sistemlere özel biyomedikal uygulama çeşitleri, işaret gürültü oranı ve veri toplama zamanı optimizasyonu için özel dalgalarda kullanılabilir. Laboratuvar tipi cihazlarda uygulamalar için analitik model ve algoritmalar belirlenebilmektedir. Raman sistemlerinin klinik uygulamalarda kullanılabilmesi için taşınabilir, birkaç saniye içinde fiber optik kablolar ile spektrum toplama özelliğine ve hastane güvenlik klavuzlarına uyan özelliklere sahip olmalıdır. Biyomedikal

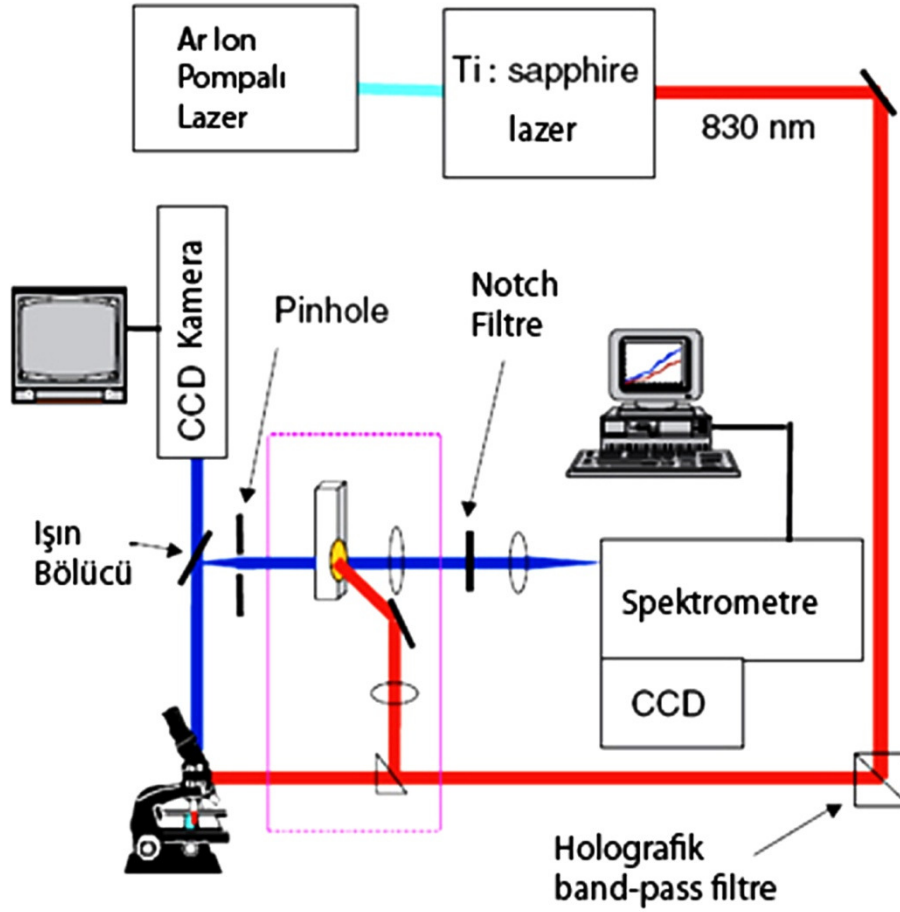
analizlere yönelik pek çok grup (Frank ve grubu 1994, 1995, Mahadevan-Jansen ve grubu 1998a, Shim ve Wilson 1997, Puppels ve grubu 1990))laboratuar temelli Raman sistemleri geliştirmiştir [23]. Hanlon ve grubunun biyomedikal numune analizine yönelik klinik araştırmalar için geliştirdiği Raman sistemleri Şekil 1.7 - Şekil 1.8 - Şekil 1.9’da görülmektedir.

Günümüzde 4 temel Raman spektroskopisi çeşidi bulunmaktadır. Yüzeyi güçlendirilmiş Raman spektroskopisi (SERS), Rezonans Raman Spektroskopisi (RRS), Konfokal Raman mikrospektroskopisi ve Koherent anti-stokes Raman saçılması (CARS) [10]. SERS molekülleri pürüzlü altın veya gümüş yüzeyler üzerinde soğurarak Raman sinyalinin binlerce kat artmasını sağlar [15, 17]. Ayrıca bu teknikte altın ve gümüş kullanılması floresandan kaynaklanan girişimleri kaldırır [15]. Ancak SERS sadece yüklü analitleri analiz edebilir, bu nedenle biyolojik uygulamaları sınırlıdır [16]. RRS’ de SERS’e benzer olarak Raman sinyalini dikkate değer derecede arttırabilir, ama bu işlem molekülün geçiş düzeyine yakın dalgaboyu ile uyarıldığında gerçekleşir. Ancak bazen RRS floresan girişiminden dolayı engellenebilir [17]. Son olarak SERS ve RRS birleştirilerek yüzey gelişmiş rezonans Raman saçılması (SERRS) adı altında bir teknik oluşturulmuştur. Günümüzde SERRS DNA incelemelerinde (bulmada) çok sık kullanılmaktadır [18]. Diğer iki Raman spektroskopisi çeşidi konfokal Raman mikrospektroskopisi ve koherent anti-stokes Raman tüm biyolojik örnekleri analiz edebilmenin yanında floresan girişimini de engellemektedirler. Konfokal Raman spektroskopisi tekniği örneklendirmeyi mikrobeyutlu alanlardan yaptığı için oluşabilecek floresan engellenmektedir [19]. Konfokal Raman spektroskopisi tekniğinin en büyük dezavantajı resim oluşturmak için çok fazla zamana (birkaç saat) ihtiyaı olmasıdır. CARS spektroskopisi tekniğine ise iki lazerin birleşerek yüksek güçlü bir lazer demeti elde edilmesi sayesinde floresan etkisi elenebilmektedir [19].

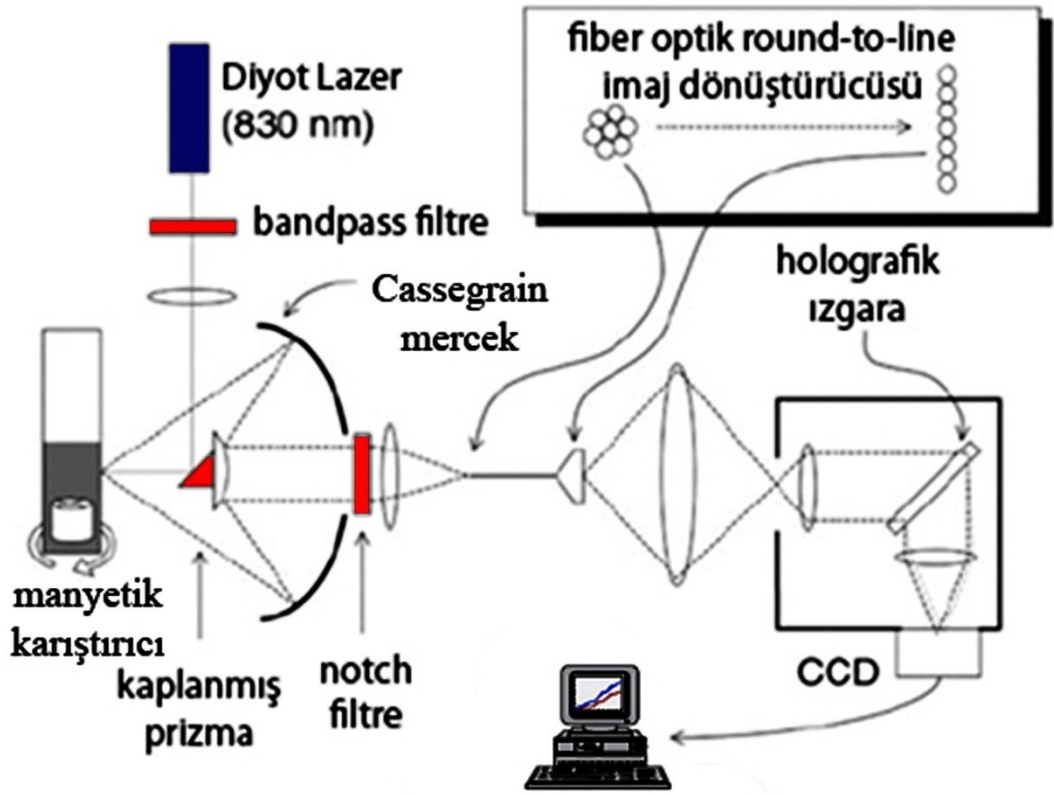
SERS uygulamaları arasında cam boncuk, inci, porselen, toprak kap, tekstil, seramik, duvar ve kaya boyamalarını içeren tablolar, freskler, ortaçağ minyatürleri, geçici baskılar, hint heykelleri, korozyona uğramış ürünler ve fosil kemikleri bulunmaktadır [20]. Hassasiyeti, yüksek bilgi içeriği ve tahribatsız doğası sebebiyle Raman spektrometreleri kimya, biyoloji, jeoloji, maden, adli tıp, farmakoloji ve malzeme bilimi gibi birçok farklı araştırma alanında uygulama bulmaktadır. Endüstriyel olarak

kimya, ilaç, kağıt, polimer ve plastik sektöründe kalite kontrol ve süreç takibinde kullanımı arttığı görülmektedir.

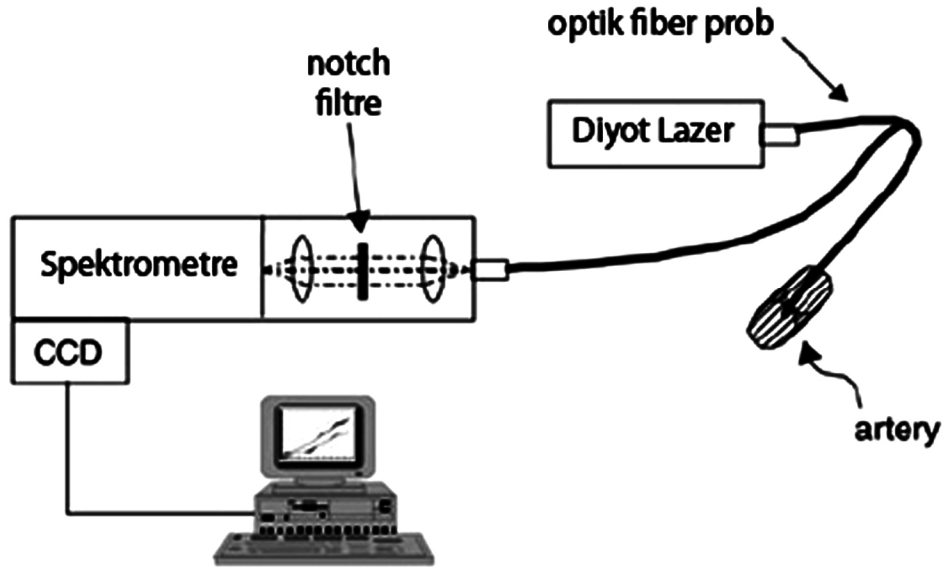
Bu tez çalışmasında konfokal Raman spektrometresi yapılması planlanmaktadır. Prototipi tamamlanan Raman spektrometresi ile titreşimsel izotop etkisi, Raman polarizasyon deneyi ve rezonans Raman deneyleri yapılabilecektir. Prototip spektrometrenin kompakt bir yapı haline getirilerek Raman spektroskopisinin önemli konularını incelemek amacı ile açık sistem olarak fizik bölümlerinin ileri fizik ve kimya bölümlerinin fiziksel ve analitik kimya öğrenci laboratuvarlarında da kullanılması planlanmaktadır.



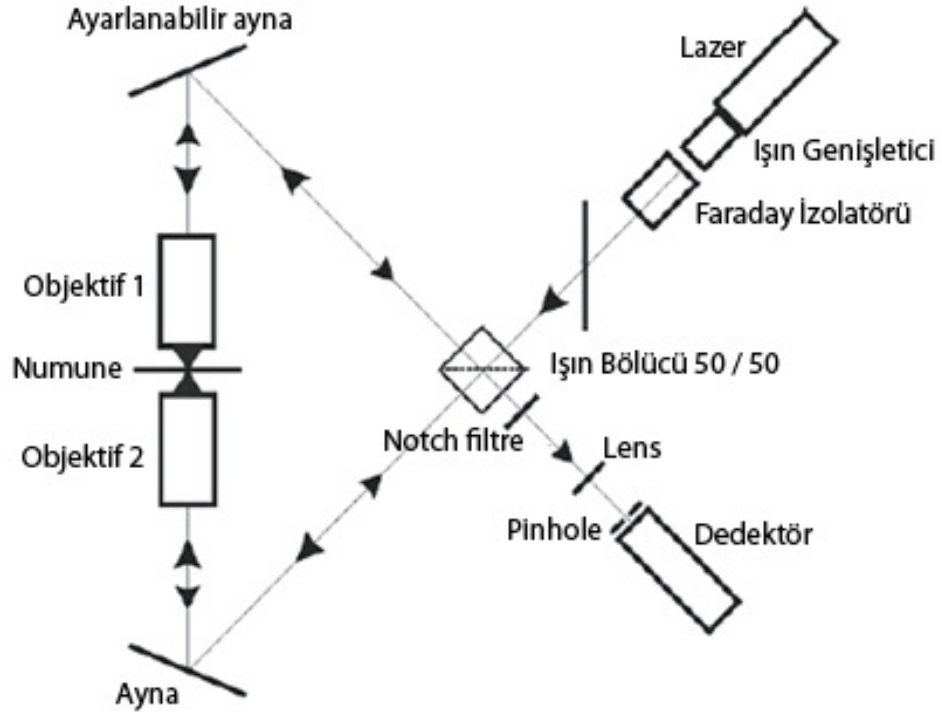
Şekil 1.7. Doku analizi için Raman sistemi-Raman mikro-probu [23].



Şekil 1.8. Kan analizi için Laboratuvar tipi Raman sistemi şeması [23].



Şekil 1.9. Klinik Raman sistemi, bu sistem hızlı veri toplaması, taşınabilirliği ve hastane ortamında çalışabilmesi amacı ile [23].



Şekil 1.10. +Pi Floresans mikroskop (S. Hell tasarımı) [24].

Farklı firmalar tarafından çok sayıda konfokal Raman spektroskopi sistemi üretilmiştir. Verimlilik, spektral çözünürlük, kompaktlık ve tasarım gibi parametreler bu sistemlerin geliştirilmesi için önemli parametrelerdir [25]. Üretilen Raman sistemleri farklı uygulamalarda kullanılmaktadır. Biyomedikal alanda, ilaç analizi, tanı ve görüntüleme cihazı olarak, floresan işaretleyicilerin belirlenmesinde kullanılmaktadır [26].

Mars gezegeninde 2012 yılında ilk analizlerini gerçekleştiren Raman-LIBS sistemi ile Mars yüzeyinden organik ve mineral analiz sonuçları elde edilmektedir. Sistemde sağlam ve küçük boyutta metrelerce uzaktan ölçüm alabilen spektrometre kullanılmıştır, atımlı bir lazer kullanılmış ve kazanç toplamı modunda analiz gerçekleştirilmiştir.

Laboratuvar tipi ve ticari Raman spektroskopi sistemlerini incelediğimizde, biyomedikal analize yönelik konfokal Raman spektrometre tasarımıımızda; numuneyi uyarma kaynağı olarak 532 nm dalgaboyunda lazer, Raman saçılmasının uyarılması ve toplanması için optikler (odaklama ve toplama mercekleri, dikroik ayna, pinhole, mikroskop objektifi, filtre), spektrometre ve CCD detektör

kullanılacaktır. Uyarma dalga boyu ve yayılım gücü uyarma kaynağı olan lazere bağlı temel özelliklerdir. Raman spektroskopisi ve mikroskopisinde yaşayan hücreleri ısı zararından korumak için numune üstüne uygulanacak dalga boyu ve gücü sınırlanır. Numunenin zarar görmesini ve floresan ışımayı engelleyecek uygun bağlı uyarma enerjisi bulunmalıdır. Raman sistemlerinde arkadan aydınlatmalı CCD detektörlerde 750 nm'den büyük dalga boylarında problem oluşmaktadır, bu etkiye etalon etkisi adı verilmektedir. Detektör spektroskopi amaçlı kullanıldığında, pikseller dikey olarak kullanılırsa etalon etkisi ortadan kalkmaktadır. Kompakt ve çok kanallı CCD spektrometrenin avantajını alması için Raman spektrumundan milyon defa daha şiddetli olan lazer uyarma dalga boyundaki saçılan ışık belirlenen Raman spektrumundan çıkarılmalıdır. Uyarma dalga boyundaki sinyal Notch filtre kullanılarak engellenmektedir. Raman spektroskopi sistemlerinin klinik uygulamalarda kullanılabilmesi için düşük güçte lazer uyarması kullanılarak yüksek kalitede spektral verilerin hızlı toplanması gerekmektedir. Bu nedenle CCD detektör kullanımı Raman sistemlerinin klinik uygulamalarda kullanımı için en uygun detektör tipi olduğu belirlenmiştir.

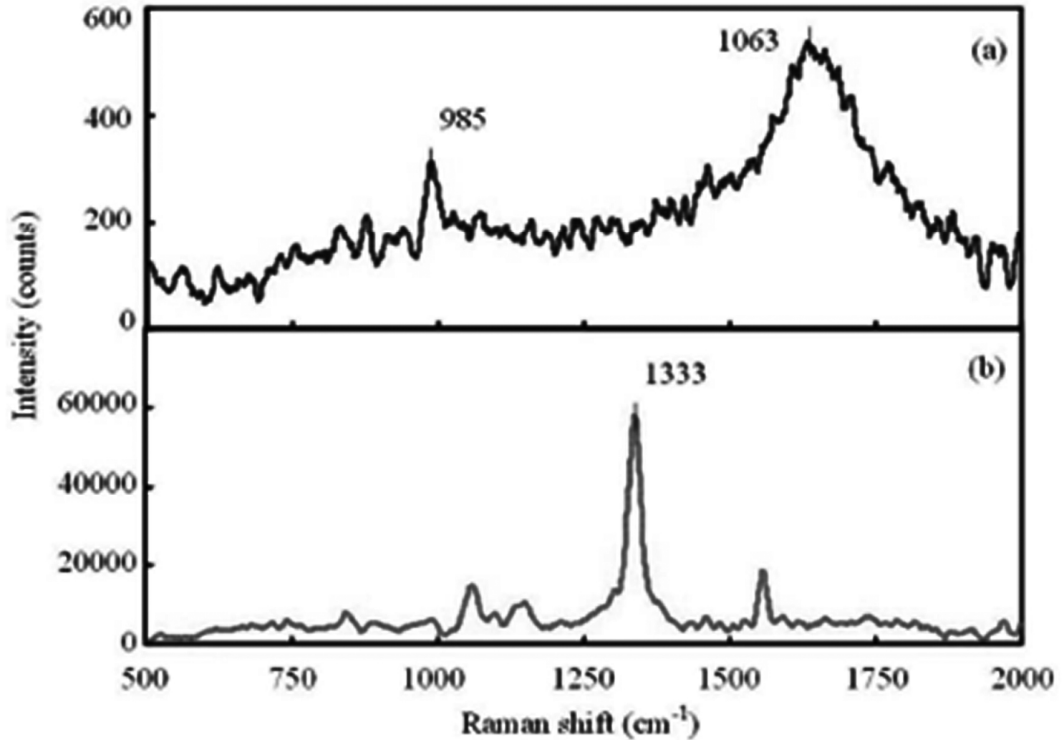
1.5.3. Raman Spektroskopi Tekniğinin Avantajları

Raman spektroskopi sistemlerinde numune hazırlama gerekliliği yok denecek kadar azdır. Bu teknik, film, toz, jel, buhar, çözelti ve sıvılarda uygulanabilmektedir. Güvenilir sonuçlar elde etmek için objektif merceğinin yağa daldırılması gibi bazı teknikler kullanılabilir [27]. Diğer önemli genel hazırlama işlemi numunenin temizlenmesidir. Diğer bir deyişle, katı numuneler için çöp-toz gibi kirlilikler yüzeyden temizlenmelidir. Eğer temizlenmez ise Raman spektrumları atom veya moleküllerin yerine fotonlar ve kirli parçacıklar arasındaki etkileşimin neden olduğu Tyndall saçılması denen gürültüyü içermektedir [28]. Sıvı veya çözelti tipi numunede analiz yapılacak ise kirlilikler tabandaki gürültüyü azaltacak şekilde iyi bir filtre kullanılarak temizlenmelidir [29].

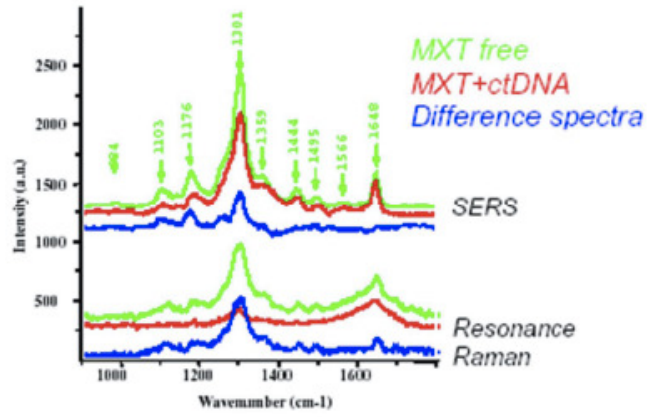
1.5.4. Raman Spektroskopi Uygulamaları

1.5.4.1. Literatür Örnekleri

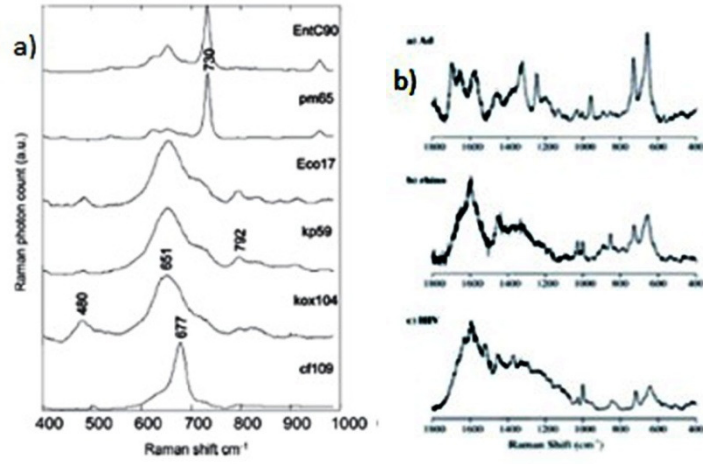
Son 20 yıl içerisinde lazer sistemlerinin gelişmesi ve yeni nesil spektrograf ve CCD kameraların üretimi ile Raman spektrometrelerin kullanım alanı artmıştır. Günümüzde Raman spektroskopisi birçok endüstriyel laboratuarda rutin bir şekilde kullanılmaktadır [10]. Hassasiyeti, yüksek bilgi içeriği ve tahribatsız özelliği sebebiyle Raman spektroskopisi kimya, biyoloji, jeoloji, ilaç sanayi ve malzeme bilimi gibi birçok farklı alanda uygulama bulmaktadır. Tıbbi uygulama alanları arasında biyomoleküllerin karakterizasyonu (Şekil 1.11), ilaç DNA etkileşimleri (Şekil 1.12), patojenlerin analizi (tek hücreliler ve viral analizler) (Şekil 1.13), bakteri hücrelerinin analizi (Şekil 1.14), biyolojik doku analizleri (Şekil 1.15), kanser belirleme (Şekil 1.16), ilaçlardaki bileşik dağılımının belirlenmesi (Şekil 1.17 - Şekil 1.18 [30-37].



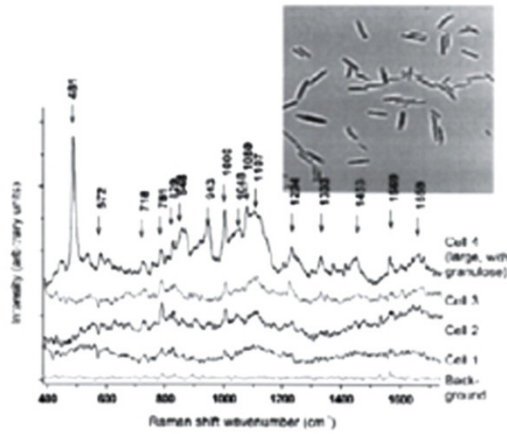
Şekil 1.11. SERS spektroskopisi ile belirlenen immunoserolojik yöntemde protein spektrumu [30].



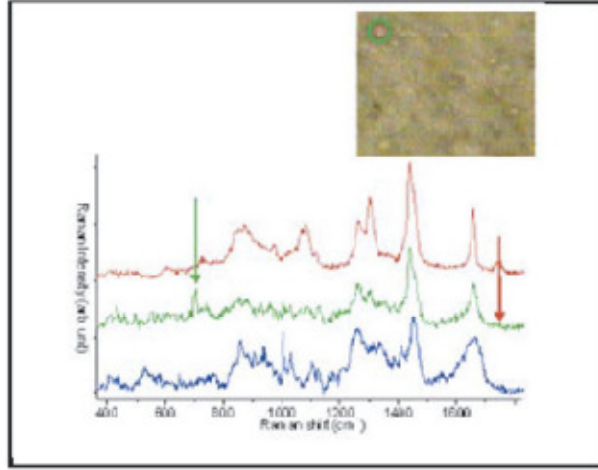
Şekil 1.12. İlaç-DNA etkileşimlerinin SERS ve rezonans Raman spektrumlarının karşılaştırılması[31].



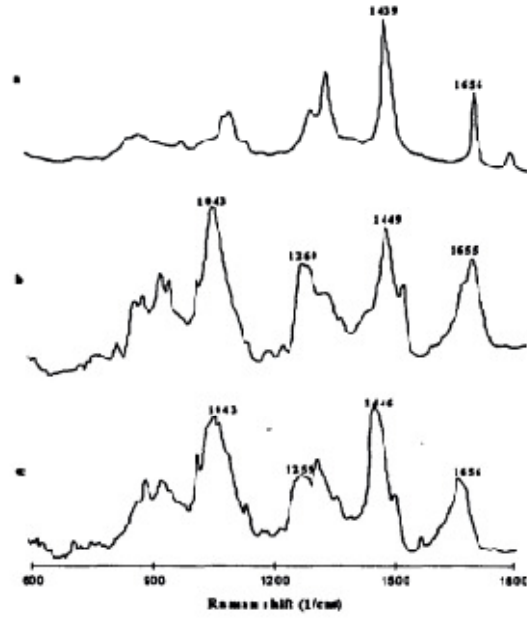
Şekil 1.13. Patojen analizi a) üriner sistem bakterileri, b) adenovirüs, rhinovirüs, HIV [32].



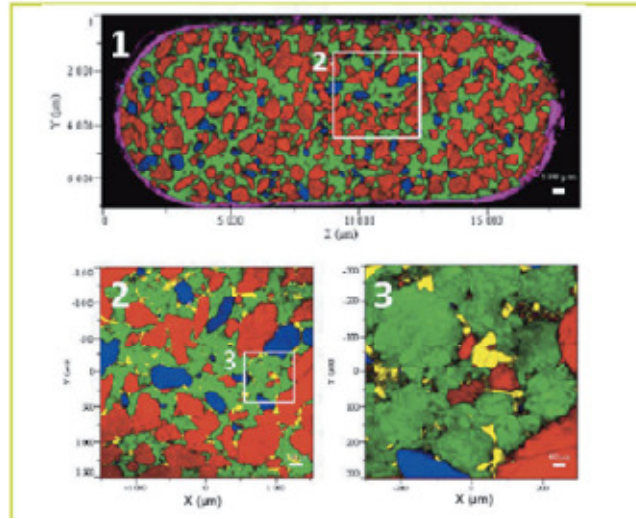
Şekil 1.14. Farklı bakteri hücrelerinin Raman spektrumları [33].



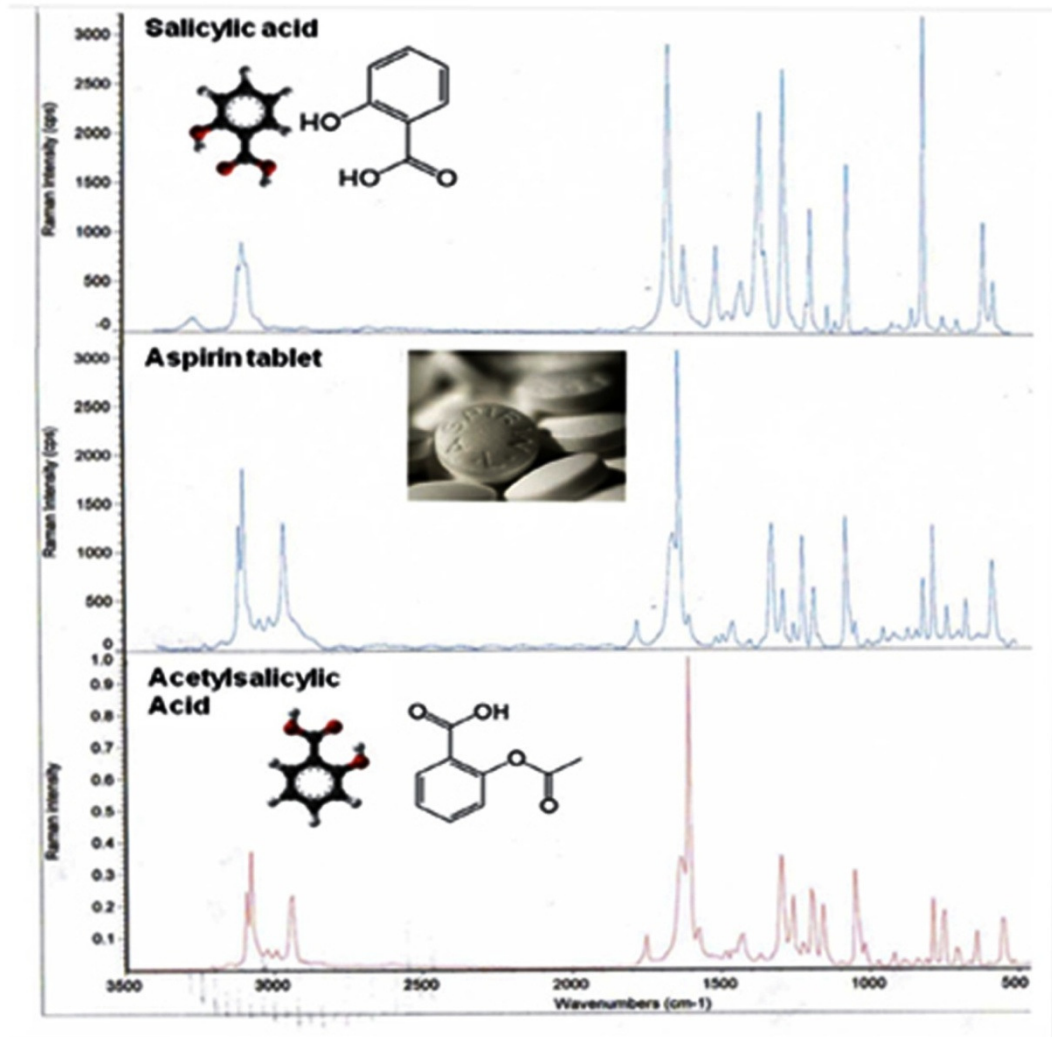
Şekil 1.15. Farelerde Apo-E analizleri [31].



Şekil 1.16. Kanser belirleme a) göğüs kanseri, b) kötü huylu tümör, c) sağlıklı doku [34].



Şekil 1.17. İlaç tabletlerinde değişik bileşenlerin renk kodlamalı Raman görüntüleri [31].



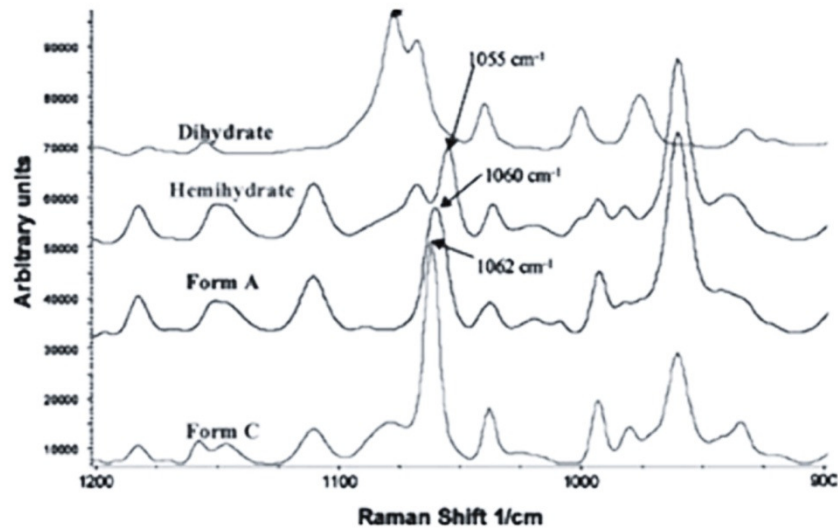
Şekil 1.18. Salisilik asit, Aspirin tableti ve Asetilsalisilik asit Raman spektrumları [43].

Birçok laboratuarda, kızılötesi ve Raman spektroskopisi tekniği tamamlayıcı teknik olarak kullanılmaktadır, çünkü her yöntem belirli bir numunenin farklı yönlerini incelemektedir. Kızılötesi titreşimsel spektrometreler fonksiyonel gruplara ve yüksek polar bağlara hassas iken, Raman temel yapılara (backbone structure) ve simetrik bağlara karşı hassastır. Ek olarak Raman farklı birçok avantaj sunmaktadır [38]. Minimum veya sıfır örnek hazırlığı, direkt olarak cam kap içinde örneklendirme, ve tahribatsız analiz imkanı Raman spektroskopisinin sağlık alanında biyomedikal uygulamalarında artış olmasına katkıda bulunmaktadır. Günümüz ilaç endüstrisinde orijinal ilaçlardan daha ucuz eş değer ilaçların geliştirilmesi gerçekleşmektedir, eşdeğer ilacın daha çok tercih edilmesinin nedeni ilaç üreticilerine araştırma ve geliştirme süreçlerinde karşılaşılan risk ve masraflardan kurtarmasıdır. Sonuç olarak, bu işlem ilaç şirketlerinin ilaç geliştirme ve üretim süreçlerini azaltmaktadır.

Titreşimsel spektroskopi teknikleri arasında bulunan Raman ve FTIR spektroskopi ilaç uygulamaları için öncelikli metotlardır [39]. Çoğu organik molekül nitel ve nicel analize olanak sağlayan açık ve iyi çözünmüş titreşim bantları ortaya çıkarır. Bu özellik, pek çok dozaj şekli bulunan ilaç yapım uygulamaları için temel bir gereksinimdir [40]. Raman spektroskopisi çok küçük miktarda malzemeden analizi gerçekleştirebildiği için hasarsız analiz teknikleri sınıfına girmektedir. Mikroskopik cihaz tekniklerinin birleştirilmesi ile Raman spektroskopisi nanogram ölçeğinde çalışmaya olanak tanımaktadır. Üstelik Raman spektroskopisi pahalı ve zaman alan kapalı ölçüm tekniklerinin aksine çok hızlı bir analiz tekniğidir. Bu özellik, gerçek zamanlı işlem görüntüleme analiz uygulamalarında önemli bir avantajdır.

Karmaşık çok fazlı katı ve sıvılarda Raman spektroskopisi ile malzemenin pek çok özelliği incelenebilmektedir. Titreşim spektroskopisinin kuvvet alanındaki küçük değişikliklere karşı çok hassas olduğu Auer tarafından bildirildi [41]. Raman spektroskopisinde Kristal formları tartışılmadığı için bu etki oluşmamaktadır. Bu özelliği, aynı yerde çeşitli katı formlar halinde farklı maddelerin dahil edildiği katı numune olan ilaçların analizinde Raman tekniğini çekici hale getirmektedir. Raman analizleri çevrimdışı analizlerdeki numuneleme ve zorluklar ihmal edildiğinde homojen olmayan ortamlarda da gerçekleştirilebilir. NIR teknikleri Raman spektroskopisi ile karşılaştırıldığında çok önemli bir dezavantajları olduğu

görülmektedir, NIR spektrumlarının içerdiği çok sayıda ve karmaşık bilgi ancak çok değişkenli kalibrasyon teknikleri ile analiz edilebilmektedir. Bu nedenle, NIR tekniğinde kalibrasyon ve analiz güvenilir sonuçlar oluşturmak için kapsamlı deneyler yapılmasını gerektirmektedir. Raman spektrumları ise daha az karmaşık ve yüksek çözünürlüklü spektrumlara sahiptir ve kemometrik analiz yapma zorunluluğu taşımamaktadır. Raman spektrumlarındaki pik yüksekliği ve pik oranlarına göre analizler gerçekleştirilebilmektedir. Teknik özelliklerinden dolayı, Raman ölçümlerinde analiz edilen bazı sonuçların doğruluğu standart analitik tekniklerden çok daha iyidir. De Beer ve grubu sulu MPA konsantrasyonlarında HPLC ölçümlerinde standart ölçümlerin Raman ölçümlerinden daha az güvenilir olduğunu bildirdi, bunun nedeni ise doğru yoğunluk ve hacimde homojen numune hazırlamaktaki zorluklardan kaynaklandığını açıkladı [44]. Lehto ve çalışma grubu ise ilaç numunelerindeki amorf bileşenlerin karakterizasyonu için 7 farklı (XRPD, DSC, SS-DSC, IMC, SC, GMS, Raman) analitik metodu karşılaştırdığı çalışmayı gerçekleştirdi [45]. Bu çalışmanın sonucunda Ramanın diğer metodlar ile çok uyumlu sonuçlar verdiği ve en hızlı ölçüm alınabilen teknik olduğunu bildirdi. İlaç üretim süreçlerinde karşılaşılan soğutma çözeltisi, anti-çözücü katkısı ve tuz çıkarma işlemleri Raman spektroskopisinin hat üzerinde kullanımını engellemektedir, çünkü bu işlemler kontrol edilemediği için belirli bir Raman analiz modeli oluşturulamamaktadır. Hat üzerinde ilaç bileşenlerinden alınmış Raman spektrumları Şekil 1.19’de görülmektedir [46].

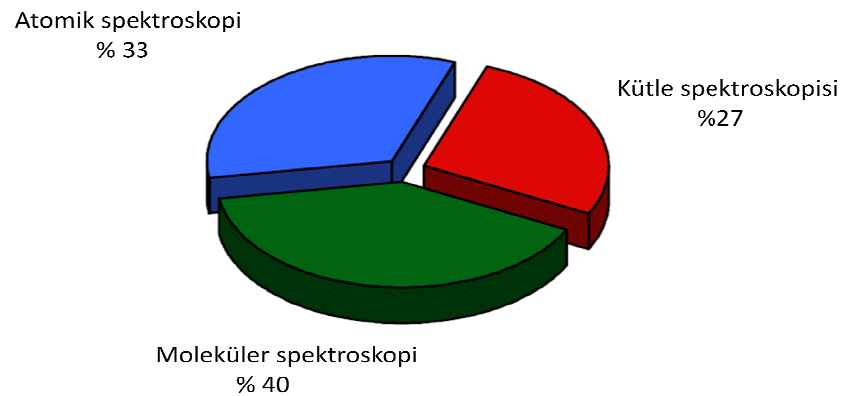


Şekil 1.19. Hat üzerinde ilaç bileşenlerine ait Raman spektrumları [46].

İlaç bileşenleri pek çok çözücüye karşı zayıf çözünürdür, özellikle sıvı fazda düşük konsantrasyon sergiler, bu nedenle Bu ölçümün nicel kalibrasyonu düşük, geniş ve birbiri üstüne geçmiş bandlara sahiptir, buradan hat üzerindeki analizlerin düşük hassasiyette ve gürültülü spektrumlara sahip olduğu görülmektedir. Raman spektroskopisinin hat üzerindeki uygulamalarındaki diğer bir sakınca ise yüksek şiddette kullanılan lazer ışınlarının numuneye zarar vermesinden kaynaklanmaktadır. Johansson ve grubu gerçekleştirdiği çalışmada pelet haline getirilmiş vanillin, stearic acid, ibuprofen, theophylline monohydrate numunelerinde 0.7 – 1.5 W lazer gücü uygulandığında Raman ısıtma etkisi olduğunu ısıtmanın numuneye ve çalışma koşullarına göre farklılık gösterdiği sonucunu bildirdi [41].

1.5.4.2. Cihaz Pazarı ve Uygulama

Spektroskopik analiz cihazları birçok farklı alanda kullanılan oldukça büyük bir pazara sahip bir sektörde yapılan araştırmalara göre spektroskopik yöntemlerin büyük çoğunluğunu Raman spektrometrelerinde içinde bulunduğu moleküler spektroskopi oluşturmaktadır. Pazar anlamında 2008 sonuna kadar yapılan incelemelerde satış rakamlarında doğrusal bir artış olduğu görülmektedir. Ülkemizde henüz bu alanda yeterli Ar-Ge çalışmasının oluşmaması ve ticari olarak bu alanda çalışan firmalar yok denecek kadar az olduğu için gerekli cihazların tedarigi yurt dışından sağlanmaktadır. Dünya spektroskopi pazarı Şekil 1.20'de ve dünya spektroskopi pazar hacmi Şekil 1.21'de görülmektedir.



Şekil 1.20. Dünya spektroskopi pazarı [47].



Şekil 1.21. Dünya spektroskopi pazar hacmi [47].

Günümüzde Raman spektroskopisi birçok endüstriyel laboratuvarında rutin bir şekilde kullanılan yöntem haline almıştır [10]. Hassasiyeti, yüksek bilgi içeriği ve tahribatsız doğası sebebiyle Raman kimya, biyoloji, jeoloji, farmakoloji, ilaç sanayi ve malzeme bilimi gibi birçok farklı alanda uygulama bulmaktadır. Birçok laboratuvarında, infrared ve Raman spektroskopisi teknikleri tamamlayıcı olarak kullanılır, çünkü her yöntem belirli bir numunenin farklı yönlerine bakar. Infrared fonksiyonel gruplara ve yüksek polar bağlara hassas iken, Raman temel yapılara (backbone structure) ve simetrik bağlara karşı hassastır. Ek olarak Raman farklı birçok avantaj sunmaktadır [38].

Raman spektroskopisi numunenin titreşimsel modlarını problayan (sondalayan) monokromatik lazer ışığını kullanır, bu teknikte güçlü Rayleigh saçılması filtrelenir ve elastik olmayan zayıf saçılma ölçülür. Raman spektroskopisi, çok az veya numune hazırlığı gerektirmeyen ve numuneye zarar vermeyen kullanışlı bir tekniktir. Toz, fiber, sıvı ve gaz numunelerin analizi için kullanışlıdır [42]. İlaçların belirlenmesi ve pazara girişi arasında geçen süre çok uzun ve bu sürecin tüm aşamaları için gerekli maliyetler oldukça yüksektir. Bu sürecin herhangi bir aşamasını kısaltabilecek teknolojilere ihtiyaç duyulmaktadır. Raman hastalık sürecini sürecin başında moleküler düzeyde anlamadaki yetenekleri araştırılıyor. Ama aynı zamanda ilaç geliştirmenin her adımda malzeme karakterizasyonunun kullanımı da araştırılıyor. Jobin Yvon marka LabRam modelinde x,y ve z kontrollü büyük bir motorize kontrol sistemi kullanılmıştır ve otomatik kristal yerleşimi ve spektral toplama için cihaz yazılımı modifiye edilmiştir. Kristal kimliği yazılımı optik görüntülerin iz tanımlama

bilgilerini içermektedir, bu veriler İngiltere’de ilaç üreticisi bir firma ile işbirliği çerçevesinde geliştirilmiştir.

- Minimum veya sıfır örnek hazırlığı,
- Direkt olarak cam kap içinde örneklendirme,
- Tahribatsız analiz
- Minimum su girişi
- CO₂ ve H₂O gibi atmosferik molüküllerden girişim içermez.

1.5.4.3. Raman Spektroskopi Tekniğinin Farklı Kullanım Alanları ve Biyolojik Uygulamaları

1. Arkeolojik Alanda Kullanımı
 - Müzelerde kullanımı (Tahribatsız Pigment Analizi)
 - Tarihi Eserlerin Arkeolojik İncelemesi
 - Duvar Boyamalarının Mikro – Raman Pigment Analizi
2. Nano Malzemelerde Kullanımı
 - Karbon nano tüplerin incelenmesi
 - İnce polimer filmler üzerine yapılmış holografik gratinglerin incelenmesi
 - Grafitin Raman ile incelenmesi
3. Biyolojide Kullanımı
 - İnsan cildinin Raman ile incelenmesi
 - Canlı lenfositin SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy) analizi
 - Bakteri hücrelerinin Raman analizi
 - Buğday çekirdeklerinin Raman haritalaması
 - Hücrelerarası görüntüleme için SERS.
4. İlaçlarda Kullanımı
 - İlaçların Raman analizi ve karakterizasyonu
 - İlaçlarda çokbiçimlilik
 - İlaçların etken maddelerinin analizi
 - Tıbbi tuzların incelenmesi
5. Karbon Analizi

- Elementel karbonun teknolojik açıdan önemli formlarının(allotroplarının) incelenmesi
 - Sert karbon filmlerin incelenmesi
 - Karbon nano tüplerin incelenmesi
 - Renkli elmasların incelenmesi
 - Grafitin incelenmesi
6. Polimerlerin Raman ile İncelenmesi
 - Sanayi uygulamalarında kullanılan polimerlerin Raman ile incelenmesi
 - Polimerlerin fiziksel ve kimyasal yapılarının incelenmesi
 7. Reaksiyonların görüntülenmesi
 8. Korozyonun Raman incelemesi
 9. Yarıiletkenlerin Raman ile incelenmesi
 10. Adli incelemeler
 - Uyuşturucuların tahribatsız incelenmesi
 - Patlayıcı maddelerin analizi
 11. Katı hal malzemelerin analizi
 12. Jeolojik kullanımı
 - Jeolojik kayaçların vb. Raman ile analizi
 13. TERS(Tip Enhanced Raman Scattering)
 14. Camın Raman ile Analizi

2. RAMAN SPEKTROMETRESİ TASARIMI

2.1. Çalışma Prensibi

Raman spektroskopisi monokromatik bir ışık kaynağının inelastik saçılması temeline dayanan bir spektroskopi tekniğidir. İnelastik saçılma monokromatik ışın kaynağındaki fotonların frekanslarının bir malzeme ile etkileşimi sonucunda değişimine denilmektedir. Lazer kaynağından çıkan fotonlar malzeme tarafından soğurulur ve malzeme tarafından tekrar yayınlanır. Tekrar yayınlanan fotonların frekansları malzemeye gelen lazer fotonlarının frekansına göre yukarı veya aşağı yönde kayma gösterir. Fotonların frekanslarında meydana gelen bu değişime “Raman Etkisi” denilmektedir. Bu değişim malzemeye ait moleküllerin titreşim, dönme ve diğer düşük frekanslı geçişleri hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlar. Raman spektroskopisi katı, sıvı ve gaz örneklerde kullanılabilir.

Notch filtre, ayarlanabilir filtre, lazer durdurma diyaframı, çift veya üçlü spektroskopik sistemler Rayleigh saçılmasının azaltmak ve yüksek kaliteli Raman spektrumları almak için kullanılır.

Bir Raman spektrometresi genelde 4 temel bileşenden oluşur:

- 1- Uyarma kaynağı (Lazer)
- 2- Örnek ışıqlandırma sistemi ve ışık toplama optikleri
- 3- Dalgaboyu seçici (filtre veya spektrometre)
- 4- Dedektör (fotodiyot dizini, CCD kamera veya Fotoçoğaltıcı tüp)

Genelde örneği uyarmak için UV, VIS veya NIR bölgesinde ışıma veren lazerler kullanılır. Saçılan ışık mercek sistemleri ile toplanarak girişimi önlemek için bir filtre veya spektrometreden geçirilerek örneğe ait Raman spektrumu elde edilir. Raman spektrometre yapımında üzerinde çalışılması gereken asıl zorluk zayıf olan Raman saçılmasını şiddetli Rayleigh saçılmasından ayırt edebilmektir. Daha kesin olarak, aslında burada asıl sorun Rayleigh saçılmasının kendisi değildir. Asıl sorun Rayleigh

saçılmasından ortaya çıkan güçlü optik gürültülerin (kaçak ışık) lazer dalgaboyuna çok yakın olan yararlı Raman sinyalinin şiddetinin çok çok üzerine çıkmasıdır. Çoğu durumda bu sorun optik gürültülerin şiddetli olduğu spectral aralığı keserek ortadan kaldırılır. Bu işlem için spectral genişlikleri lazer dalgaboyundan $\pm 80-120 \text{ cm}^{-1}$ değişen notch filtre olarak adlandırılan girişim filtreleri kullanılır. Bu yöntem optik gürültüleri yok etmek için kullanışlıdır, ancak düşük frekanstaki Raman modlarının detekte edilmesini engeller.

Spektrometrelerde ortaya çıkan optik gürültü temelde ızgaralarda oluşan dispersiyona dayandığı için ızgaraların kalitesi çok önem taşımaktadır. Raman spektrometrelerde ruled ızgaralara göre daha az üretim hatası olan holografik ızgaralar kullanılır. Birden fazla spektrometre gibi çoklu dispersiyon kademeleri kullanmak optik gürültüyü azaltmanın bir başka yoludur. İki veya 3 kademeli spektrometre ile oluşturulmuş sistemlerde çok düşük frekanslarda dahi Raman aktif modları detekte etmek mümkün olabilmektedir.

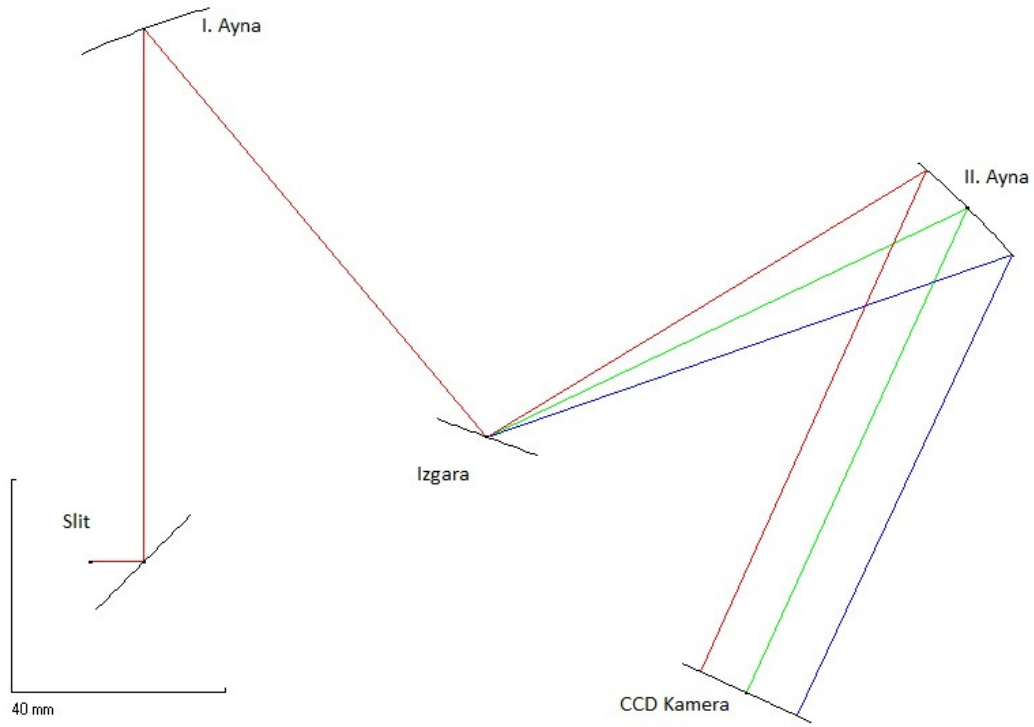
İlk zamanlarda Raman sistemlerinde foton sayıcı photomultiplier tüpler gibi tek nokta detektörler kullanılmaktaydı. Bu uygulamalarda oldukça uzun bir zaman gereksinimine neden oluyordu. Günümüzde Raman sistemlerinde fotodiyod dizinleri veya CCD kameralar kullanılmaktadır. Özellikle, CCD kameraların hassasiyeti ve performansı her geçen gün daha iyiye gitmektedir.

Bu tezin gerçekleştirme aşamasında aşağıda belirtilen çalışmalar uygulanmıştır:

1. Genel spektroskopi ve Raman spektroskopi konuları ile ilgili literatür araştırması ve bilgi alt yapısının oluşturulması, teorik çalışmalar ve optik modelleme.
2. Sistemde kullanılacak lazer, spektrometre, mikroskop, hareket sistemleri ve optik sarf malzeme özelliklerinin belirlenmesi.
3. Teorik çalışmalardan elde edilecek bilgiler ışığında sistemde kullanılacak spektrometrenin üretimi ve gerekli yazılımın gerçekleştirilmesi.
4. Sistemin mekanik aksamının bilgisayar ortamında modellenmesi ve gerekli mekanik aksamın üretimi.
5. Sistemin optik masa üzerinde oluşturulması, deneysel ve iyileştirme çalışmalarının gerçekleştirilmesi

2.2. Optik Tasarım

Çalışmanın ilk adımı olarak bilgisayar ortamında optik paket programları kullanılarak UV/VIS bölgesinde ölçüm yapabilecek optik aksamın modellenmesi yapılmıştır. Optikwerks programı, en uygun Czerny-Turner dizilimini bulmak için; ızgara tipi, slit genişliği, aynaların odak uzunluğu ve çapları gibi optik elemanların seçiminde kullanılmıştır. Tasarlanan Raman spektrometresinin şematik gösterimi Şekil 2.1 'de görülmektedir.



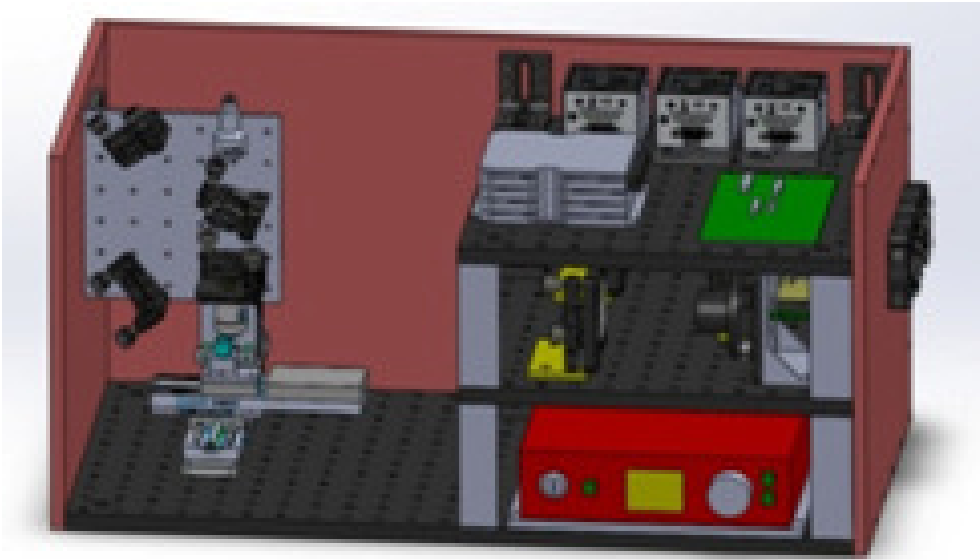
Şekil 2.1. Baki Raman Spektrometre Optikwerks kullanılarak elde edilen Czerny-Turner dizilimi.

2.3. Mekanik Tasarım

Optik masa üzerinde kurulan Raman spektrometre sistemine ait sistem iyileştirmeleri gerçekleştirilmiş, sistemin paketlenerek kompakt bir yapı kazanması için çalışmalar yapılmıştır. Sistemin son haline ait BAKİ Raman Spektrometre sistemine ait 3 boyutlu dış görüntüsü Şekil 2.2, iç aksamının ayrıntılarına ait 3 boyutlu görüntü Şekil 2.3'de görülmektedir.



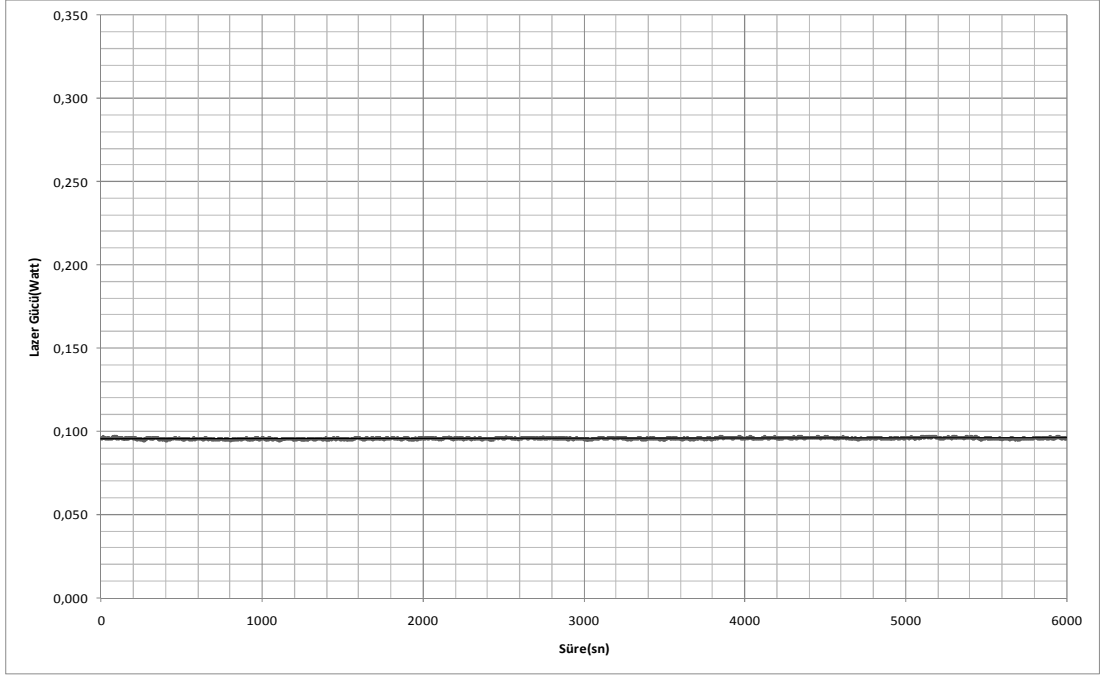
Şekil 2.2. Baki Raman Spektrometre solidworks dış aksam.



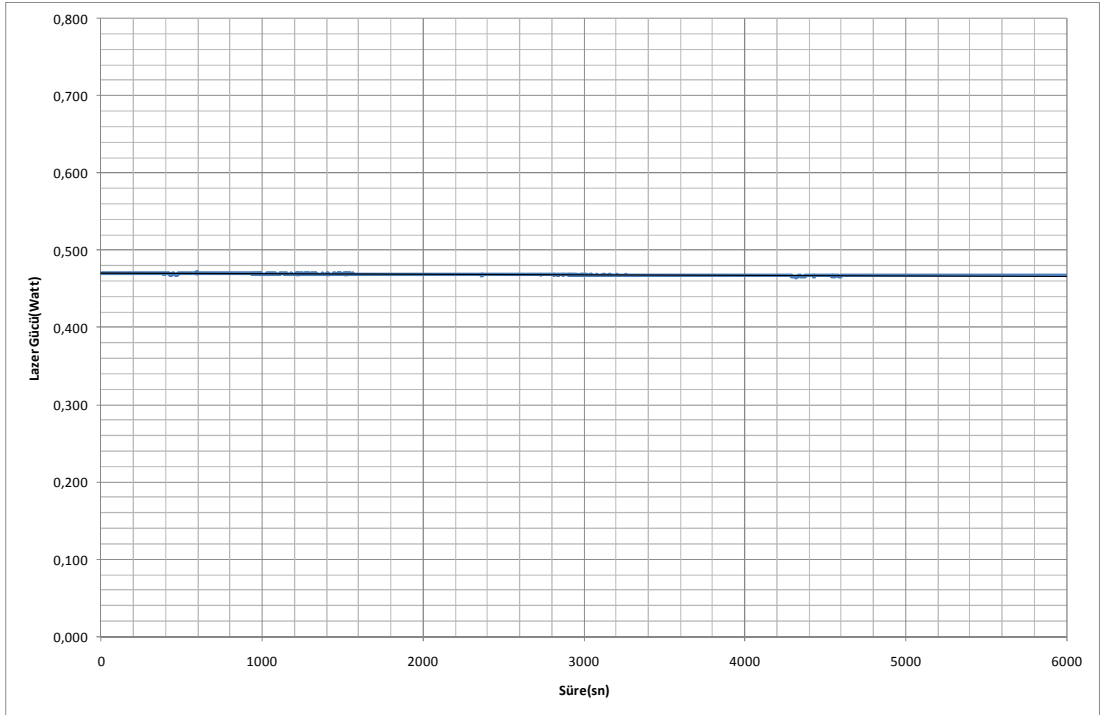
Şekil 2.3. BAKİ Raman spektrometre iç aksam 3B görüntüsü.

2.4. Soğutma Ünitesi Tasarımı

Molekülleri uyarmak için Laser Quantum Firması'nın Ventus model 532 nm dalgaboyuna sahip lazeri ve Ocean Optics Firması'nın 785 nm dalgaboyuna sahip lazeri kullanılmıştır, bu lazerlere ait güç stabilitesini gösteren grafikler Şekil 2.4 ve Şekil 2.5'te görülmektedir.



Şekil 2.4. 532 nm dalgaboylu Laser Quantum marka lazerin güç stabilite grafiği.



Şekil 2.5. 785 nm dalgaboylu Ocean Optics marka lazerin güç stabilite grafiği.

Raman Spektrometre tasarımındaki en büyük handicap; moleküler titreşimler sonucu saçılan elektromanyetik ışımının çok zayıf olması ve çoğu kez taban gürültüsünden ayrıştırılamamasıdır. Bu nedenle görünür bölgede kullanılan diğer spektrometrelerin

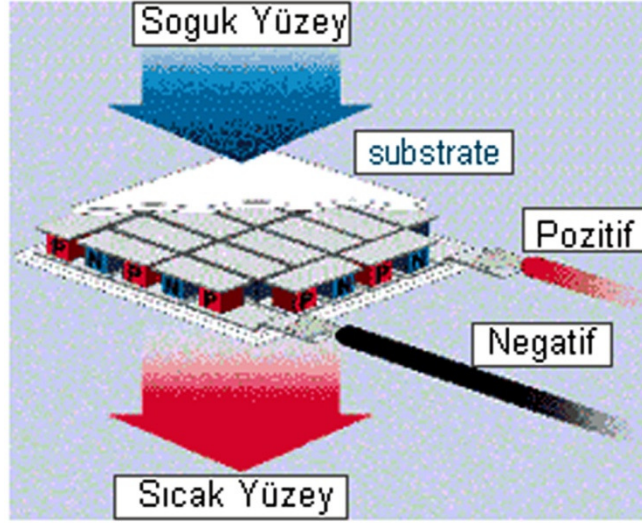
kullanım özellikleri dışında Raman Spektrometresi'ne bazı iyileştirmeler yapılması gerekmektedir. Raman sinyallerini iyileştirmek için gerçekleştirilen iyileştirmelerin başında detektör sistemin soğutulması gelmektedir, soğutmanın yanı sıra ortam sıcaklığını kontrol edebilmek deneylerin de kontrollü gerçekleştirilebilmesine olanak vermektedir. Elektromanyetik ışınmayı yakalamak için kullanılan CCD kameranın 0 C° ve altına soğutulması ile taban gürültüsü azaltılmış olur ve bu sayede Raman sinyalleri daha belirgin hale gelir.

Raman spektrometre sisteminde kullanılan CCD, bakır malzemeden hazırlanan bir çerçeve (housing) içerisine yerleştirilmiştir. Bu sayede bakır çerçeve soğutulduğunda CCD'nin her yeri eşit oranda soğutulacak ve belli bir süre soğuk kalması sağlanabilecektir. Bakır çerçeveyi soğutmak için 25 x 25 mm ebatında bir termo-elektrik soğutucu TEC (ThermoElectric Cooling) kullanılmıştır.

Peltier 12 volt elektrik ile çalışan bir tarafı çok soğuk olup diğer tarafı aşırı sıcak olan elektronik alettir. Taşınabilir buzdolaplarında, otomobil soğutucularında ve bilgisayar soğutma sistemlerinde kullanılır. Peltierin aynı zamanda diğer bir özeliği de iki yüzeyi arasındaki sıcaklık farkından dolayı elektrik enerjisi üretmesidir. Bu enerjinin miktarı yüzey alanının genişliğine ve kullanılan madde cinsine göre değişiklik göstermektedir. Ortalama 40x40x3.9 mm ölçülerinde bir peltier iki yüzeyi arasında sıcaklık farkı 80 derece olduğu bir ortamda yaklaşık 1,5V ve 0,2A değerlerinde bir enerji vermektedir. İki yüzey arasındaki sıcaklık farkı arttıkça ürettiği enerji de artacaktır.

Peltier, P ve N uçlarının seri bağlanmasıyla oluşan ve içinden doğru akım geçtiğinde "Peltier efekti" diye bilinen fiziksel bir etki ortaya çıkaran elemandır. Bu etki ile malzemenin bir yüzü ısınırken diğer yüzü soğur (Şekil 2.6)[17].

TEC'e verilen elektrik akımı TEC'in bir yüzeyinin soğumasını sağlarken; diğer yüzeyinin de aynı oranda ısınmasını sağlamaktadır. Dolayısıyla ortaya çıkan sıcaklığın ortamdaki uzaklaştırılması gerekmektedir.



Şekil 2.6. TEC yapısı.

CCD'nin içerisine yerleştirildiği bakır çerçevenin bir kenarına TEC termal pasta ile yapıştırılıp üzerine alüminyum soğutucu monte edilmiştir. Alüminyum soğutucunun üzerine de bir fan monte edilmiş ve TEC'in ısınan yüzeyinden açığa çıkan sıcaklığın ortamdaki uzaklaştırılması sağlanmıştır.

TEC kullanımı için MCU kontrollü (bu sistemde MCU olarak PIC16F877 kullanılmıştır) bir elektronik devre tasarlanmış ve gerçekleştirilmiştir. Bu devre TEC'in soğuk yüzeyini kontrol ederek belli bir dereceye düştüğünde (bu eşik değeri devre üzerinden butonlar yardımıyla girilebilmektedir) TEC'e giden akımı kesmekte ve sıcaklık eşik değerinin üzerine çıktığında da tekrar TEC'e akım gönderilmesini sağlamaktadır. Bu devrenin Proteus programı kullanılarak hazırlanan simülasyonu ve baskı devresi Şekil 2.7 ve Şekil 2.8'de görülmektedir.

transistör housingi içerisine yerleştirilmiş olarak temin edilebilmektedir. Bu sensörün en büyük avantajları ucuz fiyatı ve selsiyus (santigrad) derecesine kalibre olarak gelmesidir. Sensörün +Vs, GND ve Vout olmak üzere üç bacağı bulunmaktadır. Bunlardan +Vs bacağına pozitif voltaj GND bacağına da toprak (ya da negatif sıcaklıklar da ölçülecekse negatif voltaj) uygulanmaktadır. Vout bacağından ise sensörün ortamdaki algıladığı sıcaklık değeri mV cinsinden analog sinyal olarak okunabilmektedir. Sensördeki her 10 mV'luk değişim 1⁰C'ye karşılık gelmektedir.

LM35 sıcaklık sensörü CCD için yapılan bakır çerçevenin üzerine termal pasta ile tutturulmuş ve bakır çerçevenin sıcaklığını okumak için kullanılmıştır. LM35 sıcaklık sensörünün ürettiği analog sinyali okuyup işleme görevi PIC16F877 isimli MCU'ya aittir. Bu MCU, MicroChip firması tarafından üretilen PIC serisi mikro kontrolcülerden bir tanesidir. Üzerinde 40 adet pini bulunan PIC16F877'nin toplam 8 adet analog giriş pini mevcuttur ve içerisinde 10 bitlik analog-dijital dönüştürücü (ADC – Analog Digital Converter) mevcuttur. Bu sayede analog giriş pinlerinden gelen analog sinyalleri digital sinyale çevirebilmekte ve işleyebilmektedir. Proteus tasarımından da görüleceği üzere LM35 sıcaklık sensörünün Vout pini PIC16F877 kontrolcüsünün 2 numaralı pinine yani AN0 (birinci analog giriş pini) pinine bağlanmıştır. PIC16F877 kontrolcüsünün giriş çıkış pinlerini kontrol için CCS C dili ile bir kontrol yazılımı hazırlanmıştır. Bu yazılım derlenerek HEX koda dönüştürüldükten sonra bilgisayardan PIC16F877'nin içerisine PIC Programlama Kartı yardımı ile yazılmıştır.

PIC16F877'nin C portunun tüm pinleri giriş olarak setlenmiş, C0 ve C1 pinlerine birer push buton bağlanmıştır. Bu butonlar eşik değerinin artırılıp azaltılması için kullanılmıştır. PIC16F877'nin B portunun tamamı (B0-B7) çıkış olarak setlenmiş ve 2x18 karakter LCD bu porta bağlanmıştır. LCD ekran üzerinde LM35'ten mV olarak gelen ve CCS C ile yazılan program ile ⁰C'ye dönüştürülen sıcaklık değeri ve kullanıcı tarafından butonlar yardımıyla belirlenen eşik değeri yazmaktadır.

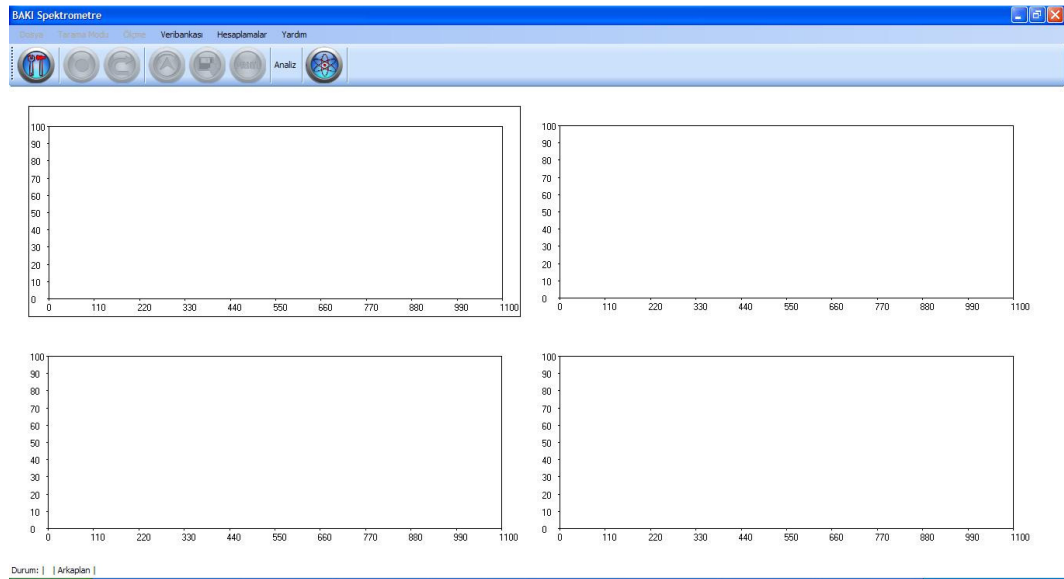
CCS C ile yazılan programın kaynak kodları EKLER bölümünde verilmiştir.

Yazılımda kullanıcının butonlar ile belirlediği eşik değerinin LM35 sıcaklık sensöründen gelen değerle karşılaştırması yapılmaktadır. Eğer sensörden gelen sıcaklık değeri belirlenen eşik değerinden daha büyükse bu durumda PIC16F877'nin

D portunun tüm pinleri lojik 1 yapılmaktadır, diğer bir deyişle D portunun tüm pinlerine +5V gerilim gönderilmektedir. Burada TEC'e gönderilen akımı kontrol etmek için 5V'luk bir röle kullanılmıştır. D portunun D0 pinine bağlanan röle buradan +5V gerilimi aldığı zaman açık konuma geçmekte ve üzerinden TEC'e gönderilen akımı geçirmektedir. D portunun tüm pinleri lojik 0 olduğunda yani LM35'ten okunan sıcaklık değeri eşik değerinden küçük olunca (diğer bir deyişle bakır housing istenen sıcaklığa soğutulduğunda) röle kapalı konuma geçmekte ve TEC'e giden akımı üzerinden geçirmemektedir.

2.5. Yazılım

RAMAN Spektrometrenin Windows ortamında kontrol edilebilmesi için C# programlama dili kullanılarak hazırlanan yazılımın arayüz görüntüsü Şekil 2.9'daki gibidir.



Şekil 2.9. RAMAN Spektrometre kontrol yazılımının arayüzü.

RAMAN Spektrometresinde kullanılan Toshiba TCD1304 CCD sensör AVANTES AS5216 isimli kontrol kartı ile kontrol edilmektedir. AVANTES firmasının ürettiği bu kart, CCD'den gelen analog sinyalleri alarak dijitale çevirmekte ve uygun komutlar aracılığı ile USB yoluyla bilgisayara göndermektedir. Kontrol kartının Windows ile iletişimini sağlayan bir DLL (Dynamic Link Library) dosyası firma tarafından sağlanmaktadır. AS5216.dll isimli bu kütüphane dosyası C# ile hazırlanan programa Platform Invocation(PInvoke) yöntemi ile dahil edilmiştir. Bunun için C#

programlama dilinde DllImport isimli attribute kullanılmıştır. AS5216.dll dosyasının sahip olduğu tüm fonksiyonlar DllImport attribut'u ile hazırlanan yazılıma "kamera.cs" isimli sınıf içerisinde tanımlanarak dahil edilmiştir. Yazılımın ilgili yerlerinden daha sonra CCD kontrolü için bu fonksiyonlar çağırılmıştır.

Yazılım AS5216.dll kütüphanesinin kamera kontrol fonksiyonlarını kullanarak öce USB ile sisteme bağlı kameraları taramaktadır. Ardından bulunan kameralar listelenip kullanıcının hangi kamerayı kullanacağını seçmesini ve bu kameraya bağlanmasını sağlamaktadır. Kameraya bağlantı kurulmasının hemen ardından CCD kontrol kartının ROM'unda saklanan ayar bilgileri okunmaktadır. Bu ayar bilgileri; Integration Time, Smoothing, Trigger tipi gibi ayar bilgileridir. Kullanıcı bu ayarlardan istediğini değiştirip kaydet butonuna basarak bu bilgilerin kontrol kartının ROM'una yazılmasını ve yazılımı bir daha açtığıında aynı ayarların korunmasını sağlayabilmektedir. Ayarlarla ilgili arayüz Şekil 2.10'da görülmektedir.

The screenshot shows the 'Ayarlar' (Settings) window. It contains several sections for configuring the camera and measurement parameters. The 'Ölçüm Ayarları' (Measurement Settings) section includes fields for 'Başlangıç Pikseli' (0), 'Bitiş Pikseli' (2047), 'Integration Süresi [ms]' (100), 'Integration Gecikmesi [ns]' (0), 'Ortalama Sayısı' (1), 'Doğunluk Tespiti' (0), and 'Ölçüm Sayısı (-1 sınırsız)' (-1). The 'Kontrol Ayarları' (Control Settings) section includes 'Tarama başına flash sayısı' (0), 'Lazer gecikmesi [ns]' (0), 'Lazer genişliği [ns]' (10000), 'Lazer dalgaboyu' (785), and 'RAM'e yazılan spektrum' (0). The 'Trigger Ayarları' (Trigger Settings) section has checkboxes for 'Donanım', 'Yazılım', 'Harici', 'Senkronize', 'Köşe', and 'Seviye'. The 'Karanlık Düzeltme Ayarları' (Darkness Correction Settings) section has an 'İzin Ver' checkbox and a percentage field set to 100%. The 'Yumuşatma Ayarları' (Smoothing Settings) section has 'Model' and 'Piksel Sayısı' fields. The 'Seçilen Spektrometreye Ait Bilgiler' (Selected Spectrometer Information) section has fields for 'Dedektör', 'Piksel Sayısı', 'AS5216 FPGA Versiyonu', 'AS5216 FW Versiyonu', 'AS5216 DLL', and 'CCD Sıcaklığı', along with a 'Yenile' button. The 'Spektrum Çiz' (Draw Spectrum) section has checkboxes for 'Spektrum Çiz' and 'Yüksek Kaliteli Grafik (-performans)'. The 'Toplamalı Spektrum' (Total Spectrum) section has checkboxes for 'Toplama' and 'Özel Toplama', and a 'Gürültü Eşiği' (Noise Threshold) field set to 0.2. At the bottom, there are two large buttons: 'Ayarları EEPROM'dan Oku' and 'Ayarları EEPROM'a Yaz'.

Şekil 2.10. Ayar arayüzü.

Ayarlama işlemleri bittikten sonra kullanıcının karşısına dört tane spektrum penceresi çıkmaktadır. Bunlar sırasıyla; Background (Arkaplan), Reference (Referans), Sample (Örnek) ve Measurement (Ölçüm) pencereleridir. RAMAN

Spektrumunda taban (arkaplan) gürültüsünün spektrumdan doğru bir şekilde çıkartılması oldukça önemlidir. Bu yüzden ilk pencere olan Arkaplan penceresinde kullanıcı öncelikle, her numune için bir sefer olmak üzere, Arkaplan gürültüsünü kaydetmelidir. Bu işlemin ardından Örnek penceresinde alınacak her ölçümden Arkaplan gürültüsü yazılım tarafından otomatik olarak çıkartılacaktır.

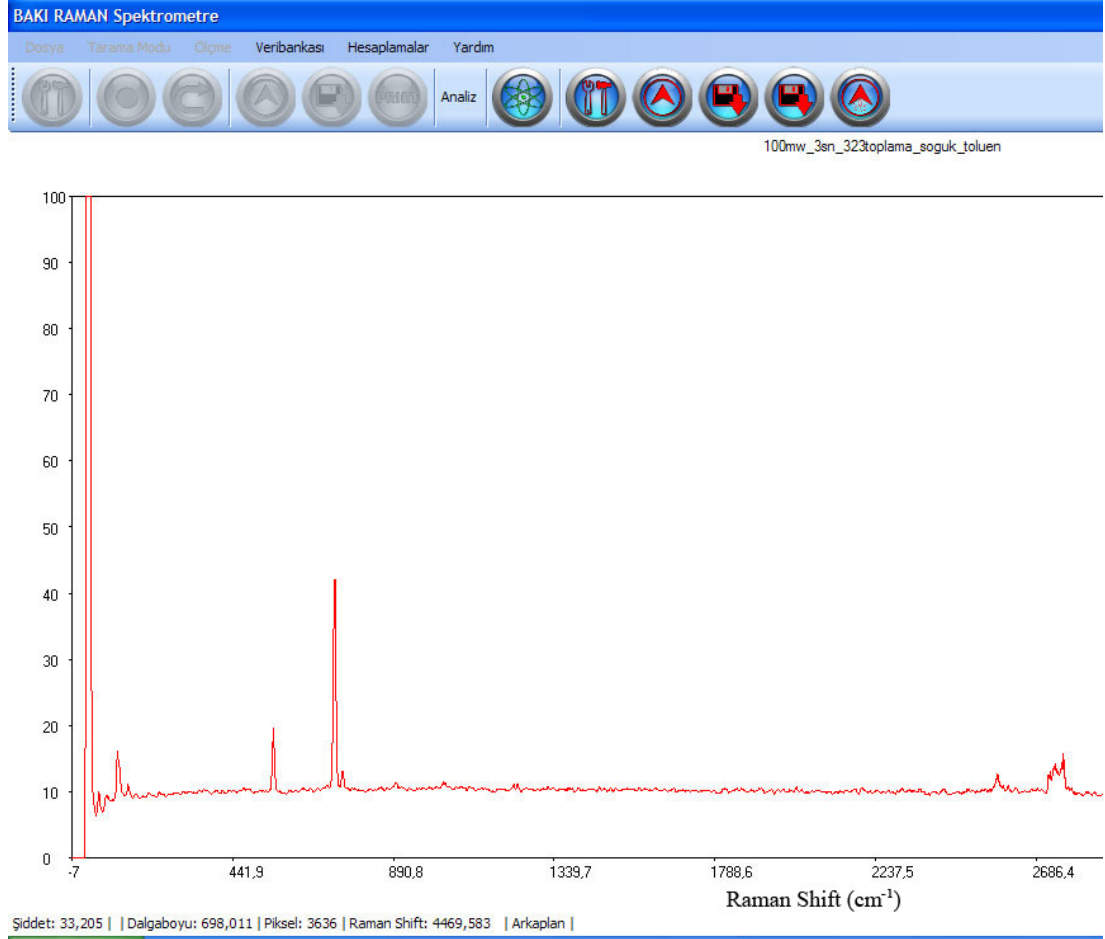
Kullanıcı spektrumunu almak istediği numunesini cihazın numune tutucu kısmına yerleştirdikten sonra numunenin lazer ışını tarafından uyarılması ile ortaya çıkan RAMAN pikleri ortaya çıkacaktır. Ancak burada dikkat edilmesi gereken nokta, RAMAN piklerinin oldukça zayıf olmasından dolayı, mutlaka belirli bir sayıda pikin üst üste toplanmasıdır. Toplama işlemi yazılım tarafından otomatik olarak yapılmakta ve alınan her yeni spektrum bir öncekinin üzerine eklenmeden önce arkaplan gürültüsü çıkartılmaktadır. Bu sayede zayıf olan RAMAN pikleri kolaylıkla arkaplan gürültüsünden ayrılabilir kadar büyümektedir.

Çizilen spektrumun X-Ekseni RAMAN Shift (kayması), Y-Ekseni ise Lümen cinsinden şiddeti göstermektedir. X-Ekseninin RAMAN Shifti doğru şekilde gösterebilmesi için kalibrasyon yapılması gerekmektedir. Yazılımın kalibrasyonu için görünür bölgede bilinen pikler veren Hg-Ar kalibrasyon lambası kullanılmıştır. Bu lambadan alınan spektrumların kameranın hangi pikseline denk geldiği yazılımdan okunduktan sonra, pikseli dalgaboyuna dönüştürmek için bir fonksiyon çıkartılmıştır. Daha sonra dalgaboyu değerleri de $(10^8 / 5320 \text{ (veya } 7850)) - (10^8 / \text{ dalgaboyu})$ formülü kullanılarak RAMAN kaymasına çevrilmiştir. Burada dalgaboyu birimi Angstrom'dur.

Alınan spektrumlar daha sonra analiz etmek üzere saklanabilmektedir. Yazılımın analiz bölümünde de kaydedilen bu spektrumların veribankasında kayıtlı piklerle karşılaştırması yapılarak hangi moleküle ait olabileceği konusunda yorumda bulunulabilmektedir. Bu karşılaştırmayı, yazılımın analiz kısmı otomatik olarak yapmaktadır.

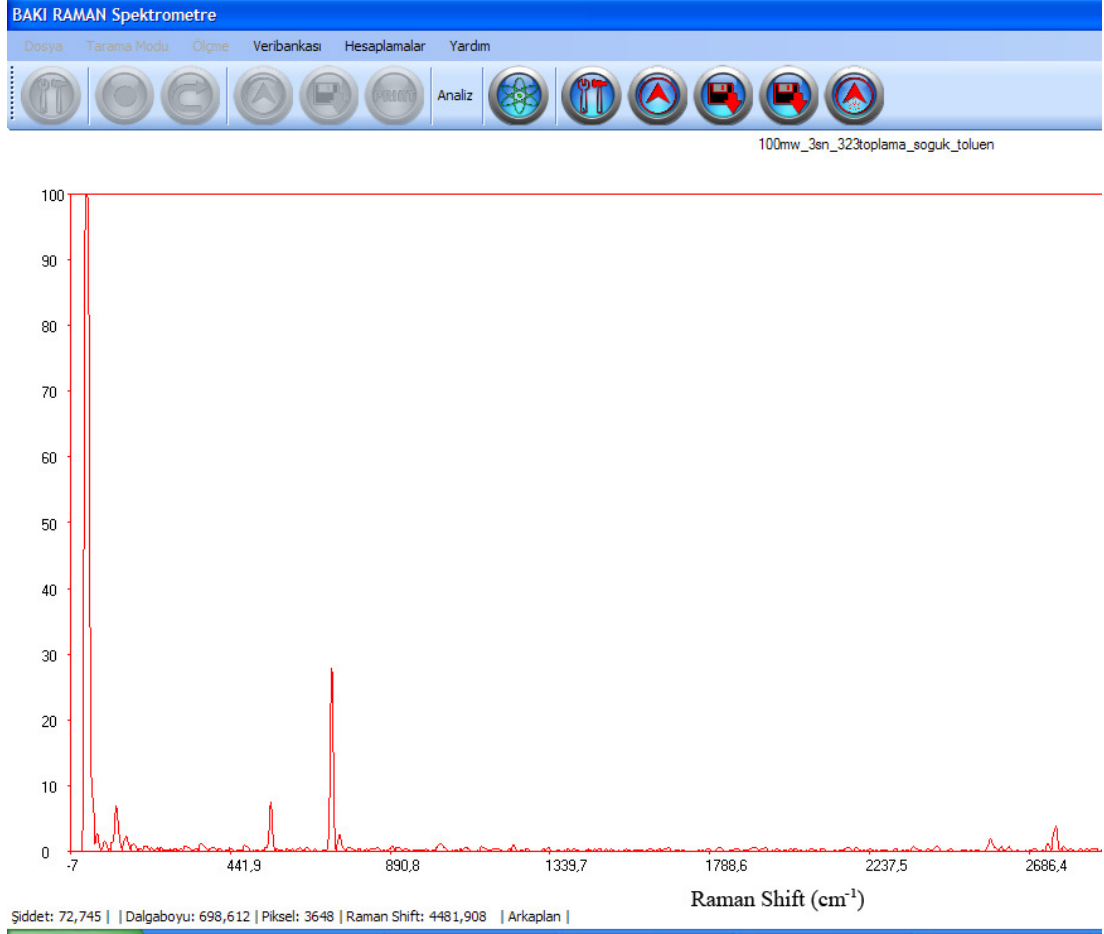
Analiz bölümünde kayıtlı spektrum açıldığında analize başlamadan önce bazı iyileştirmeler yapılması gerekmektedir. Bu iyileştirmeler; spektrumun pürüzsüzleştirilmesi (smoothlaştırma) ve spektrum tabanının (baseline) alınmasıdır. Bu işlemleri yazılım otomatik olarak yapabilmektedir. Ardından otomatik olarak

piklerin bulunması ve bu piklerin veritabanında kayıtlı moleküllere ait piklerle karşılaştırılması ve bulunan pikin hangi molekül(ler)e ait olabileceği de yazılım tarafından otomatik olarak yapılmaktadır. Yazılımın analiz arayüzüne ait görüntü Şekil 2.11’de verilmiştir.



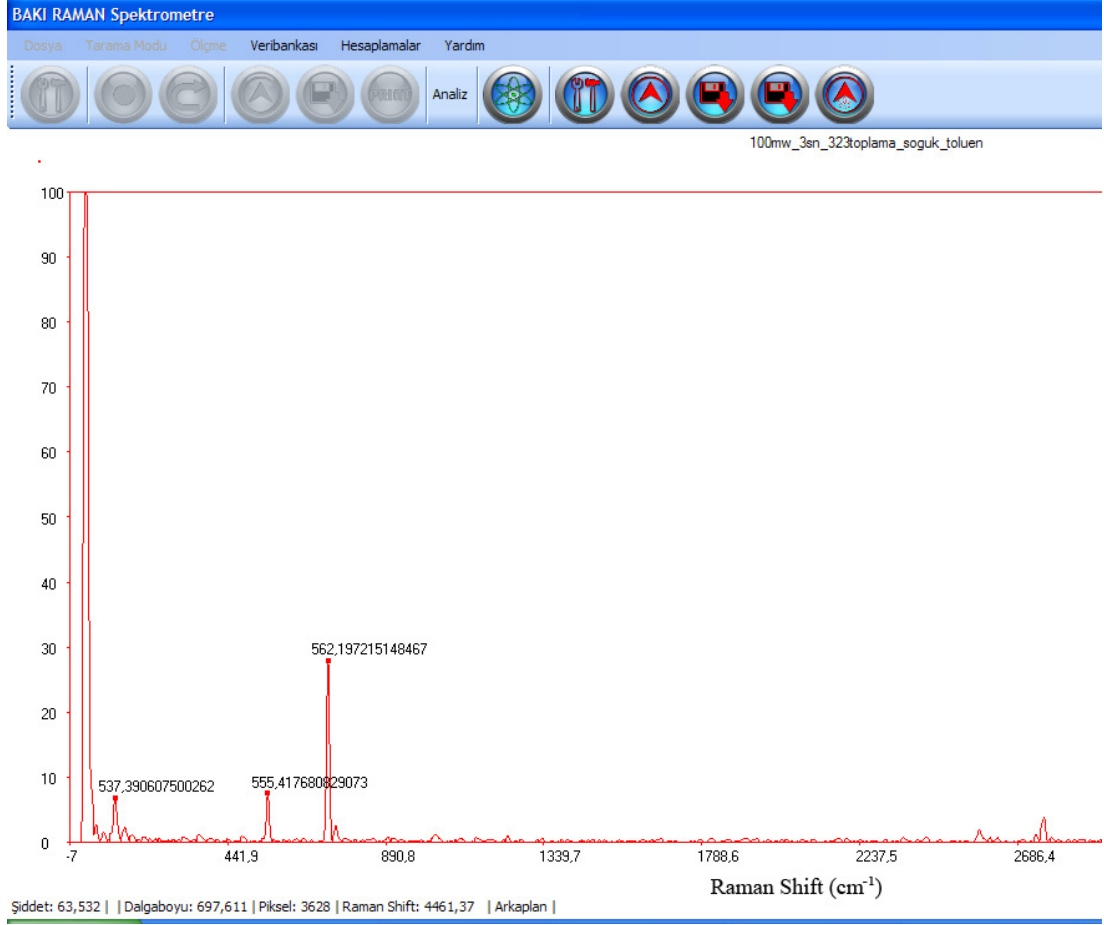
Şekil 2.11. Analiz arayüzü.

Şekil 2.11’deki spektrumun yumuşatma (smoothing) ve baseline alma işlemlerinden sonraki hali Şekil 2.12’de görülmektedir.



Şekil 2.12. Analiz arayüzü. Smoothlaştırma ve baseline alma işlemlerinin ardından spektrumun görüntüsü.

Aynı spektrumun piklerinin otomatik olarak belirlenmesinin ardından görüntüsü Şekil 2.13'deki gibi olmaktadır.



Şekil 2.13. Analiz arayüzü. Piklerin otomatik olarak belirlenmesi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Spektrometre Kalibrasyonu

Spektrometre kalibrasyonu için bilinen dalgalarda piklere sahip Hg-Ar kalibrasyon lambası kullanılmıştır. Bu lamba UV-VIS-NIR (Ultraviolet - Visible - Near Infrared) bölgelerinde ışınım yapmakta ve 200 - 1100 nm dalgalarda çalışabilen spektrometrenin kalibre edilebilmesi için gerekli pikleri üretebilmektedir. Elde edilen piklerin, spektrometre tasarımında kullanılan Toshiba TCD1304 CCD kameranın hangi piksellerine denk geldiği belirlenerek bu bilgiler ışığında Origin programında piksel - dalgalarda grafiği çizilmiş ve bu grafiğin üzerindeki noktalarda geçerli olan polinom belirlenmiştir. Ardından bu polinom hazırlanan spektrometre yazılımına bildirilerek kalibrasyon işlemi tamamlanmıştır.

3.2. Raman Ölçümlerinin Kalibrasyonu

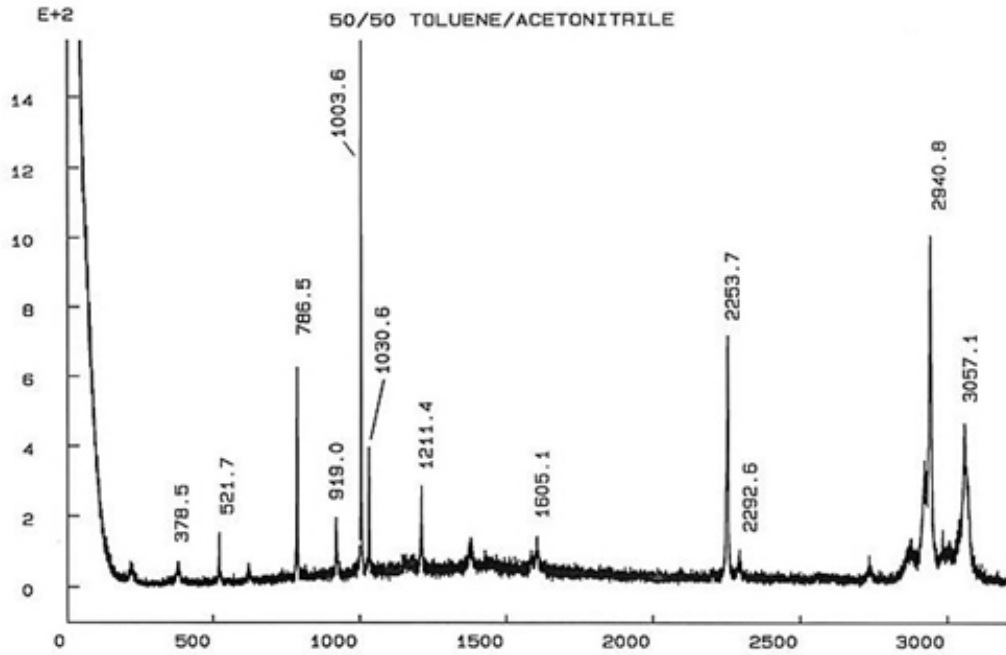
Kalibrasyon işlemleri referans numunesi hazırlama işlemlerini gerektirmektedir. Kalibrasyon işlemi Raman bantlarından doğrudan aktarılan bilgilere dayalı olduğunda verilen dalgalardaki yüzeyin maksimum şiddeti, pik şiddetleri oranı maksimum şiddetteki dalgalardaki kayması gibi pek çok yararlı bilgi farklı şekilde ifade edilebilir. Kullanılan kalibrasyon tekniği ne olursa olsun, bazı araştırmacılar spektral verileri ön işlemde geçirerek işaret/gürültü oranını artırma yoluna gitmişlerdir ve bu sayede istenmeyen taban çizgisi, floresans etkisi ve çalışma parametrelerine bağlı spektral verilerin hassaslığı problemini ortadan kaldırmışlardır. Farklı çalışmalar arasında literatürde en çok karşılaşılan ön-veri işleme işlemleri spektrum ortalaması alma, ikinci türev hesaplaması ve pürüzsüzleştirme işlemleri uygulanmaktadır.

Raman spektrumları sıcaklık etkisine karşı oldukça hassastır, verilen dalgalarda daha fazla veya daha az sıcaklığa bağımlılık gösterir. Daha doğru ve güvenilir kalibrasyon işlemleri için kalibrasyon işlemleri boyunca sıcaklık etkisi hesaba

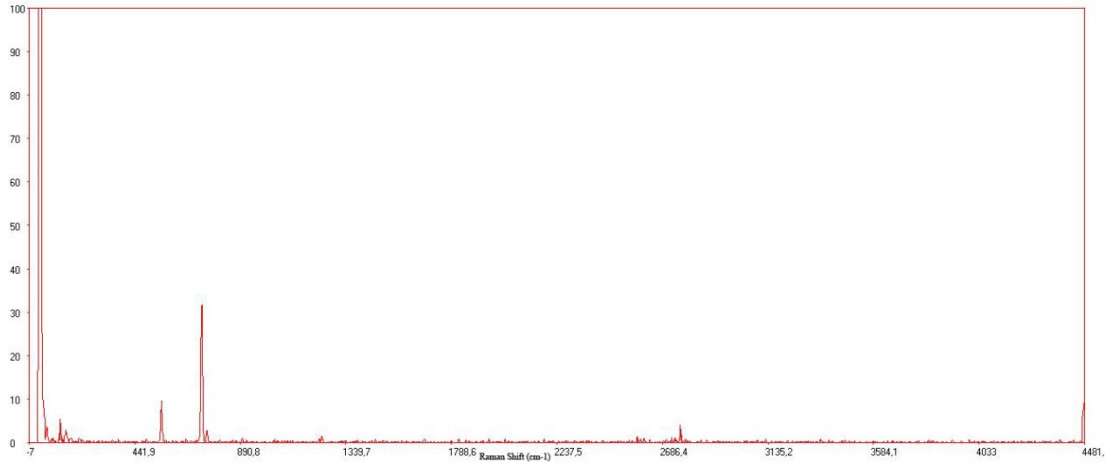
katılmalıdır. Bu nedenle Raman spektrometre sistemlerine sıcaklık etkisini ortadan kaldıracak, sistemin sıcaklığını kontrol edebilecek çözümler oluşturulması sistemin çalışma performansını iyileştirecektir. BAKİ Raman Spektrometrenin sinyal performansını arttırmak amacı ile spektrometrede kullanılan CCD detektörün sıcaklığını kontrol altına almak amacı ile elektronik kontrollü TEC (Thermo Electric Cooler) sistemi tasarlanmış ve gerçekleştirilmiştir.

3.3. Tıbbi Uygulamalar

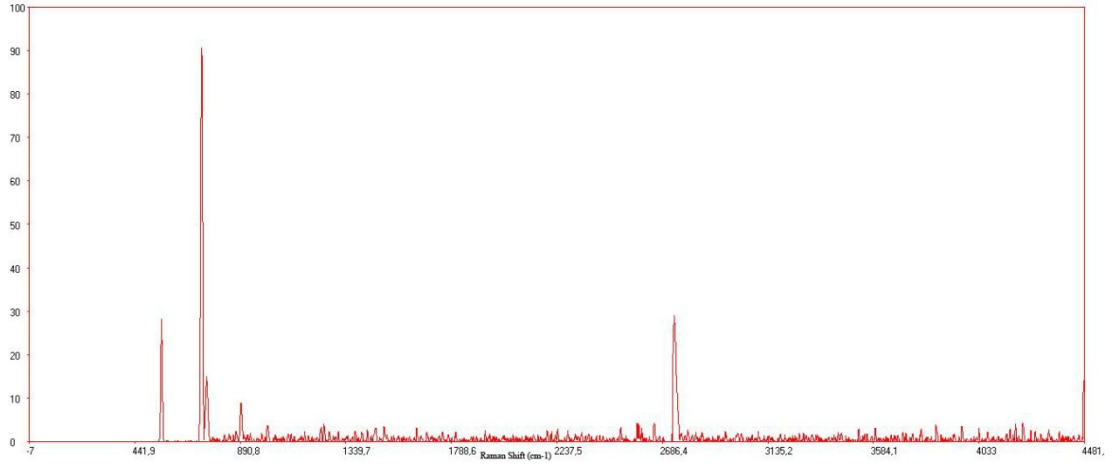
Masa üstünde kurulan ve soğutma eklenmiş Raman sistemi ile benzene, toulene, aspirin, metanol, aspirin + altın nanoparçacık, novalgin(metamizol-sodyum), novalgin(metamizol-sodyum) + altın nanoparçacık, böbrek taşına ait Raman spektrumları kaydedilmiştir. Bu numunelere ait referans spektrumu (Şekil 3.1), farklı lazer güçlerinde, soğutmalı ve farklı toplama sayılarında alınan spektrumlar Şekil 3.2 - 3.9'da görülmektedir.



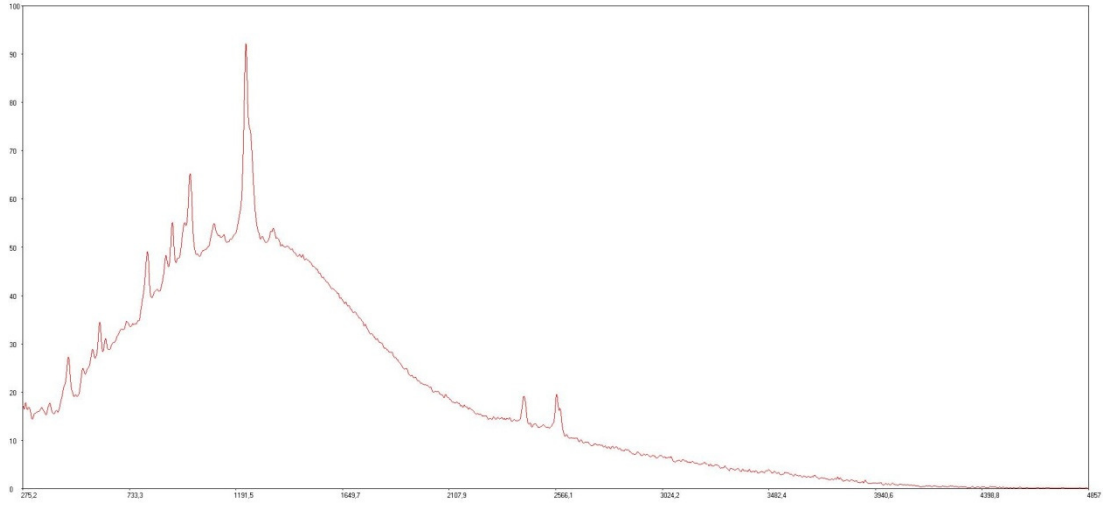
Şekil 3.1. Toulene ait referans spektrumu [6].



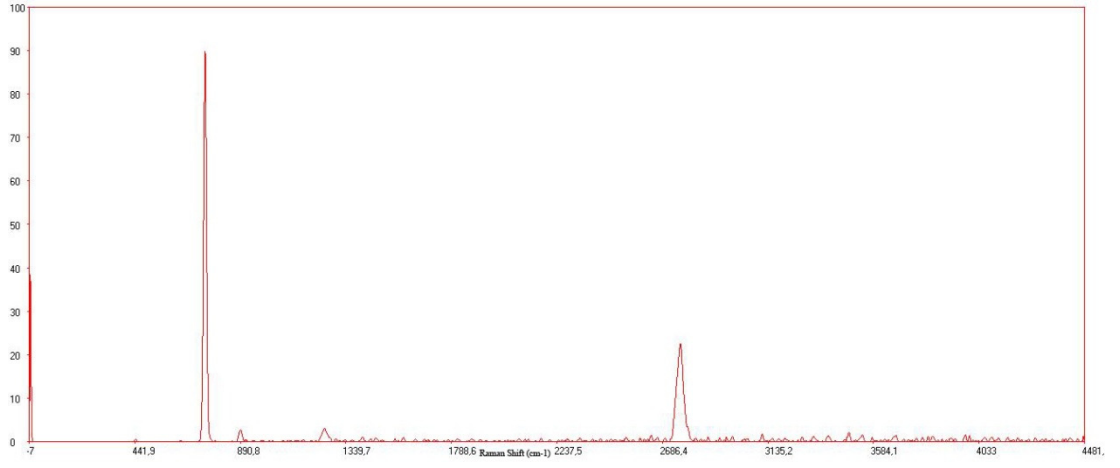
Şekil 3.2. Toluene spektrumu 532 nm 100 mW lazer gücünde 323 toplama.



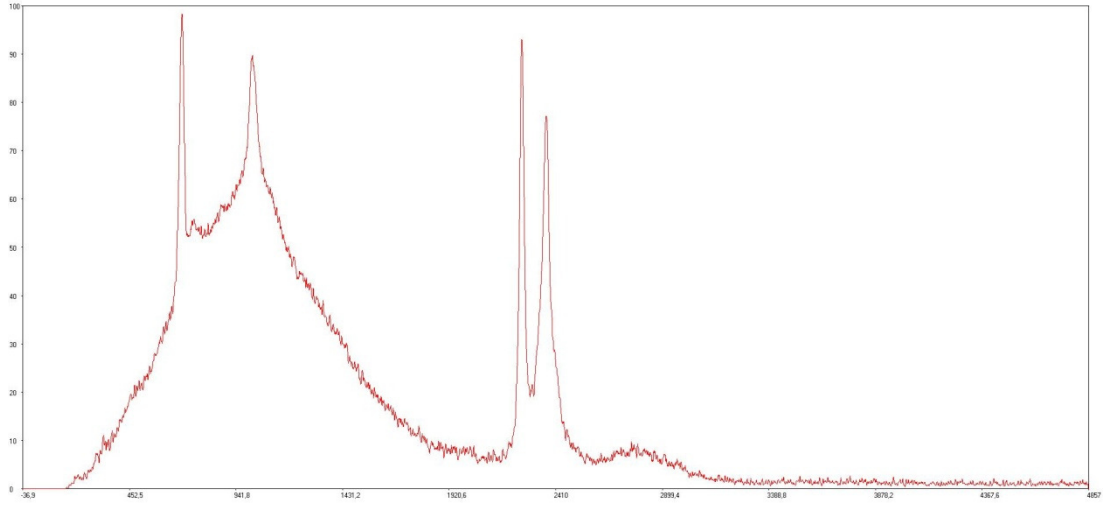
Şekil 3.3. Toluene spektrumu 532 nm 150 mW lazer gücünde 109 toplama.



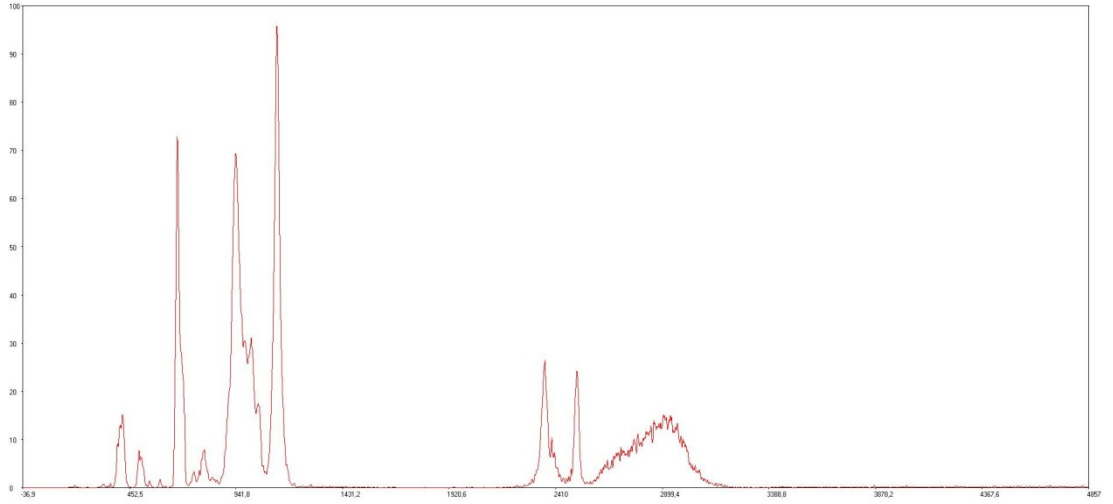
Şekil 3.4. Aspirin spektrumu 532 nm 200 mW lazer gücünde 45 toplama.



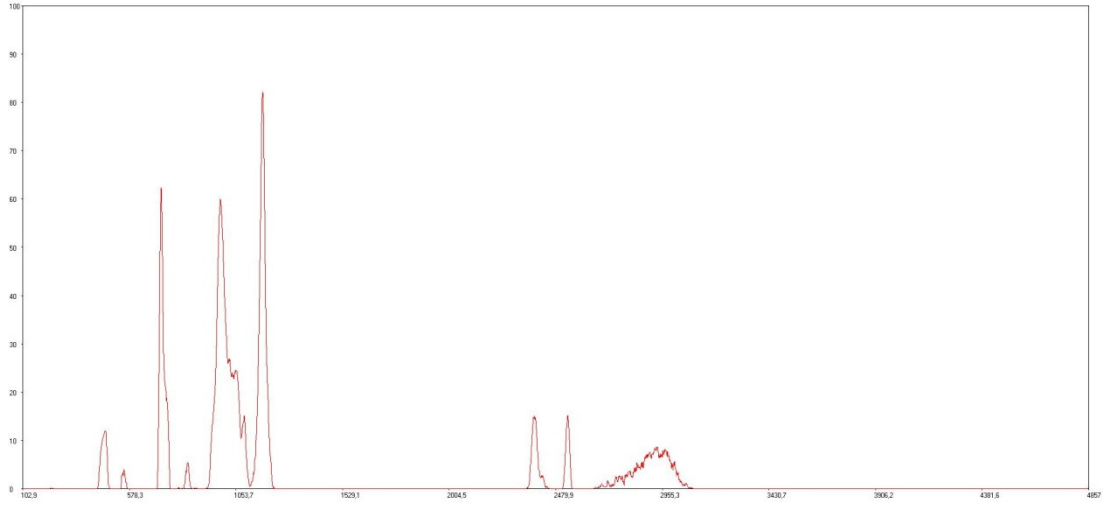
Şekil 3.5. Benzene spektrumu 532 nm 350 mW lazer gücünde 92 toplama.



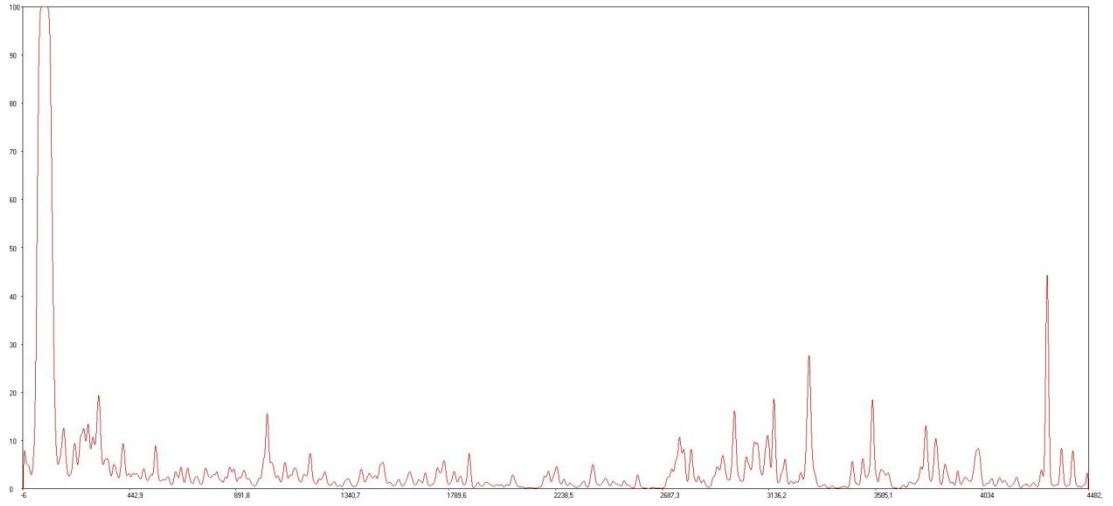
Şekil 3.6. Metanol spektrumu 532 nm 350 mW lazer gücünde 58 toplama.



Şekil 3.7. Novalgin(Metamizol-Sodyum) spektrumu 532 nm 300 mW lazer gücünde 64 toplama.



Şekil 3.8. Novaljin(Metamizol-Sodyum)-Altın spektrumu 532 nm 300 mW lazer gücünde 64 toplama.



Şekil 3.9. Böbrek taşı spektrumu 785 nm 150 mW lazer gücünde 17206 toplama.

4. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, monokromatik ışın kaynağı olarak 532 nm dalgaboyuna sahip lazer kullanılmıştır. Bu ışın kaynağı ile uyarılmaya çalışılan özellikle katı numunelerde oldukça fazla floresans gözlenmiştir. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda, Raman spektroskopisinde, katı haldeki numuneleri uyarmak için monokromatik ışın kaynağı olarak 785 nm dalgaboyuna sahip lazer kullanıldığı anlaşılmıştır.

İlerleyen zamanlarda hazırlanan Raman spektroskopisi sistemine 785 nm dalgaboyuna sahip ikinci bir lazer daha eklenerek katı numunelerden de floresans etkisini en aza indirgeyerek spektrum alınmaya çalışılacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] <http://lisanskimya.balikesir.edu.tr/~f10501/sp.htm> (Ziyaret tarihi: 18 Nisan 2013).
- [2] Latimer P., Absolute adsorption and scattering spectrophotometry, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1967, **119**, 580-581.
- [3] DeGraff B. A., Hennip M., Jones J. M., Salter C., Schaertel S. A., An Inexpensive Laser Raman Spectrometer Based on CCD Detection, *Chem. Educator*, 2002, **7**, 15-18.
- [4] Ingle J. D. J., Crouch S. R., *Spectrochem. Analysis*, Prentice Hall, New Jersey, 1988.
- [5] Skoog D. A., Leary J. J., *Principles of Instrumental Analysis*, 4th ed., Saunders, Fort Worth, 1992.
- [6] http://www.spectroscopynow.com/Spy/basehtml/SpyH/1,1181,6-1-12-0-0-news_detail-0-321,00.html (Ziyaret tarihi: 18 Nisan 2013).
- [7] Compton A., A quantum theory of the scattering of X-rays by light elements, *Phys. Rev.*, 1923, **21**, 483.
- [8] Harrand M., Lennuier R., *Comptes Rendus Academie des Sciences*, 1946, **223**, 356.
- [9] Gill D., Kilponen R. G., Rimai L., *Nature*, 1970, **227**, 743.
- [10] ATALLA R. H., AGARWAL U. P., BOND J. S., *Raman Spectroscopy*, Springer-Verlag, Berlin, 1992.
- [11] Delhaye M., Dhamelin court P., Raman Microprobe and Microscope with Laser Excitation, *J. Raman Spectrosc.*, 1975, **3**, 33-43.
- [12] Adar F., *Evolution and Revolution of Raman Instrumentation — Application of Available Technologies to Spectroscopy and Microscopy*, Marcel Dekker, New York, 2001.
- [13] Kochendoerfer G. G., Lin S. W., Sakmar T. P., Mathies R. A., How color vision proteins are tuned, *Trends Biochem. Sci.*, 1999, **24**, 300-305.
- [14] Kneipp K., Kneipp H., Corio P., Brown S. D., Shafer K., Motz J., Perelman L. T., Hanlon E. B., Marucci A., Dresselhaus G., Dresselhaus M. S., Surface-enhanced and normal stokes and anti-stokes Raman spectroscopy of single-walled carbon nanotubes, *Phys Rev Lett.*, 2000, **84**, 3470-3473.

- [15] Myers B. D., Kessler E., Levi J., Pick A., Rosenfeld J. B., Tikvah P., Kaposi's sarcoma in kidney transplant recipients, *Arch Intern Med.*, 1974, **133**, 307-311.
- [16] Baena J. R., Lendl B., Raman spectroscopy in chemical bioanalysis, *Curr Opin Chem Biol.*, 2004, **8**, 534-539.
- [17] Pettinger B., Wetzel H., *Organic and Inorganic Species at Ag, Cu, and Au Electrodes*, In *Surface Enhanced Raman Scattering*, Edited by: Chang R., Furtak T., New York, Plenum Press, 295-297, 1982.
- [18] Rousseau D. L., Friedman J. M., Williams P. F., *The Resonance Raman Effect*, In *Topics in Current Physics*, Edited by: Weber, A., New York, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 204-209, 1970.
- [19] Faulds K., Smith W. E., Graham D., DNA detection by surface enhanced resonance Raman scattering (SERRS), *Analyt.*, 2005, **130**, 1125-1131.
- [20] Holtom G. R., Thrall B. D., Chin B. Y., Wiley H. S., Colson S. D., Achieving molecular selectivity in imaging using multiphoton Raman spectroscopy techniques, *Traffic*, 2001, **2**, 781-788.
- [21] Graselli J. G., Bulkin B., *Analytical Raman Spectroscopy*, Wiley & Sons, New York, 1991.
- [22] McCreery R. L., *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2002.
- [23] Hanlon E. B., Manoharan R., Koo T – W., Shafer K. E., Motz J. T., Fitzmaurice M., Kramer J. R., Itzkan I., Dasari R. R., Feld M. S., Prospects for in vivo Raman spectroscopy, *Phys. Med. Biol.*, 2000, **45**, R1-R59.
- [24] Aksenov Y., Raman microscopy in an electron microscope: combining chemical and morphological analyses, *Doktora Tezi*, 2003.
- [25] Edelstein A. S., Cammarata (Eds.) R. C., *Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1998.
- [26] Wang Y., Tang Z., Kotov N. A., Bioapplication of Nanosemiconductors, *Materials Today*, 2005, **8**, 20.
- [27] Knight D. S., Characterization of Diamond Films by Raman Spectroscopy, *J. Mater. Res.*, 1989, **4**, 385.
- [28] Willard H. H., Merritt Jr. L. L., Dean J. A., *Raman Spectroscopy. In Instrumental Methods of Analysis*, 5th ed., D. Van Nostrand Co., New York, 189-197, 1974.
- [29] Irish D. E., Raman Study of Zinc Chloride Solutions, *J. Chem. Phys.*, 1963, **39**, 3436.

- [30] Lin C - C., Yang Y - M., Chen Y - F., Yang T - S., Chang H - C., Characterisation of biomolecules, *Biosensors and Bioelectronics*, 2008, **24**, 178-183.
- [31] <http://www.horiba.com> (Ziyaret tarihi: 18 Nisan 2013).
- [32] Vikesland, P. J., Wigginton, K. R., Intrinsic SERS signals for adenovirus. (Ad), rhinovirus (rhino), and HIV. Pathogens, *Environ. Sci. Technol.*, 2010, **44**, 3656-3669.
- [33] Schuster K. C., Urlaub E., Gapes J. R., Microbial analysis at the single cell level, *Journal of Microbiological Methods*, 2000, **42**, 29-38.
- [34] Mahadevan-Jansen A., Richards-Kortun R., Proceedings, *19th International Conference IEEE/EMBS*, Chicago, 1997.
- [35] <http://www.horiba.com> (Ziyaret tarihi: 18 Nisan 2013).
- [36] Wall M. H., De Noble L., Hartman R., Raman microanalysis in the forensic laboratory: identification and characterization of suspect solids, liquids and powders, *Spectroscopy*, 2005, **6**, 1-3.
- [37] http://www2.potsdam.edu/hepelmr/RamanLab_files/Raman_Chem_Biol_Appl.pdf (Ziyaret tarihi: 18 Nisan 2013).
- [38] <http://www.thermofisher.com/global/en/home.asp> (Ziyaret tarihi: 18 Nisan 2013).
- [39] Fe´votte G., Trans IChemE, *Chemical Engineering Research and Design*, 2007, **85(A7)**, 906-920.
- [40] Vankeirsbilck T., Vercauteren A., Baeyens W., Van der Weken G., Applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis, *Trends in Analytical Chemistry*, 2002, **21(12)**, 869-877.
- [41] Johansson J., Pettersson S., Taylor L. S., Infrared imaging of laser-induced heating during Raman spectroscopy of pharmaceutical solids, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2002, **30(4)**, 1223-1231.
- [42] Crawford A., Silva E., York K., Li C., Raman Spectroscopy: A Comprehensive Review, *TMS 763 Raman Report*, 1-34.
- [43] http://www2.potsdam.edu/hepelmr/RamanLab_files/Raman_Chem_Biol_Appl.pdf (Ziyaret tarihi: 28 Nisan 2013).
- [44] De Beer T. R. M., Vergote G. J., Baeyens W. R. G., Remon J. P., Vervaeet C., Verpoort F., Development and validation of a direct, non-destructive quantitative method for medroxyprogesterone acetate in a pharmaceutical suspension using FT-Raman spectroscopy, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2004, **23(4-5)**, 355-362.

- [45] Lehto V. P., Tenho M., Vaha-Heikkila K., Harjunen P., Paallysaho M., Valisaari J., Niemela P., Jarvinen K., The comparison of seven different methods to quantify the amorphous content of spray dried lactose, *Powder Technol*, 2006, **167(2)**, 85-93.
- [46] Fe´votte G., In situ Raman spectroscopy for in-line control of pharmaceutical crystallization and solids elaboration processes: A Review, *Chemical Engineering Research and Design*, 2007, **85 (A7)**, 906-920.
- [47] http://www.spectroscopyonline.com/_spectroscopy_/article_/article_Detail.jsp?id=807678&sk=&date=&pageID=2 (Ziyaret tarihi: 28 Nisan 2013).

EKLER

CCS C İLE YAZILAN PROGRAMIN KAYNAK KODLARI

```
#include <16f877a.h>

#device ADC=10

#fuses
XT,NOWRT,NOPROTECT,NOWDT,NOLVP,NOCPD,NODEBUG,NOPUT,NOB
ROWNOUT

#use delay(clock=4M)

#use fast_io(a)

#define use_portb_lcd TRUE

#include <lcd.c>

#define AA 0

signed int dijital, esik, temp;

float sicaklik,Mvolt,filterval;

void lcd_yaz()

{

    printf(lcd_putc,"\f");

    lcd_gotoxy(1,1);

    printf(lcd_putc,"Sicaklik=%dC",temp);

    lcd_gotoxy(1,2);

    printf(lcd_putc,"Esik=%d",esik);

        delay_ms(300);

}

void main()

{

    esik = read_eeprom(AA);
```

```

if(esik == -1)
{
    esik = 0;
}

set_tris_a(0x01); //ra0 giriş
set_tris_c(0xff); // c portunun tüm pinleri giriş
set_tris_d(0x00); // d portunun tüm pinleri giriş
output_d(0x00); // d portunun tüm pinlerini lojik 0 yap
setup_adc(adc_clock_div_32);
setup_adc_ports(AN0);
lcd_init();
set_adc_channel(0);
delay_us(50);
while(true)
{
    if(input(pin_c0))
    {
        esik++;
        write_eeprom(AA, esik)
    }
    if(input(pin_c1))
    {
        esik--;
        write_eeprom(AA, esik);
    }
    dijital=read_adc();
    Mvolt=((0.0048828125*dijital)*1000);

```

```
    sicaklik=(Mvolt/10);
    filterval=(0.9*filterval)+(0.1*sicaklik);
    temp = filterval;
    lcd_yaz();
    if(temp > esik)
    {
        output_d(0xff);
    }
    if(temp <= esik)
    {
        output_d(0x00);
    }
}
}
```


KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

- [1] Hussein Furat I., Akman E., Genc Oztoprak B., **Gunes M.**, Gundogdu O., Kacar E., Hajim K.I., Demir A., Evaluation of PMMA joining to stainless steel 304 using pulsed Nd:YAG laser, *Optics & Laser Technology*, 2013, **49**, 143-152.
- [2] Akman E., Aktas O.C., Genc Oztoprak B., **Gunes M.**, Kacar E., Gundogdu O., Demir A., Fragmentation of the gold nanoparticles using femtosecond Ti:Sapphire laser and their structural evolution, *Optics & Laser Technology*, 2013, **49**, 156-160.
- [3] Genc Oztoprak B., Akman E., Hanon M. M., **Gunes M.**, Gümüs S., Kacar E., Gundogdu O., Zeren M., Demir A., Laser welding of copper with stellite 6 powder and investigation using LIBS technique, *Optics & Laser Technology*, 2013, **45**, 748-755.
- [4] Hanon M. M., Akman E., Genc Oztoprak B., **Gunes M.**, Taha Z. A., Hajim K. I., Kacar E., Gundogdu O., Demir A., Experimental and theoretical investigation of the drilling of alumina ceramic using Nd:YAG pulsed laser, *Optics & Laser Technology*, 2012, **44**, 913-922.
- [5] Akman E., Genc Oztoprak B., **Gunes M.**, Kacar E., Demir A., Effect of femtosecond Ti:Sapphire laser wavelengths on plasmonic behaviour and size evolution of silver nanoparticles, *Photonics and Nanostructures*, 2011, **9**, 276-286.
- [6] Demir A., Genc Oztoprak B., Gulecen T., Akman E., **Gunes M.**, Kacar E., Mutlu N., Development of time and space resolved LIBS technique and application in medical research, *EMSLIBS 2011, 6th EuroMediterranean Symposium on LaserInduced Breakdown Spectroscopy*, 37, Eylül 2011.
- [7] Genc Oztoprak B., Akman E., **Gunes M.**, Kacar E., Demir A., Kalsiyumlu dokuların analizi için lazerle oluşturulan plazma spektroskopi sistemi (LIBS) geliştirme, *13. Ulusal Optik, Elektro-Optik ve Fotonik Toplantısı*, 2011.
- [8] Akman E., Genc Oztoprak B., **Gunes M.**, Kacar E., Gundogdu O., Demir A., Ti:Safir lazeri kullanılarak altın nanoparçacıkların sıvı ortamında üretilmi ve parçalanması, *13. Ulusal Optik, Elektro-Optik ve Fotonik Toplantısı*, 2011.
- [9] Genc Oztoprak B., Gulecen T., Akman E., **Gunes M.**, Kacar E., Mutlu N., Demir A., Laser-Induced Breakdown Spectroscopy system development for analysis of kidney stones, *EMSLIBS 2011, 6th EuroMediterranean Symposium on LaserInduced Breakdown Spectroscopy*, Eylül 2011.

- [10] Canel T., Genc Oztoprak B., Akman E., **Gunes M.**, Demir A., Application of LIBS on automotive coatings, *EMSLIBS 2011, 6th EuroMediterranean Symposium on LaserInduced Breakdown Spectroscopy*, Eylül 2011.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Kars'ın ıldır ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 1995 yılında Gölcük Barbaros Hayrettin Lisesinden mezun olduktan sonra Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Metalurji Mühendisliği Bölümünde üniversite öğrenimine başladı. Lisans öğrenimini 1999 yılında tamamladı. Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Elektro-Optik Sistem Mühendisliği Ana Bilim Dalında yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir. 2001 yılından bu yana Kocaeli Üniversitesi Köseköy Meslek Yüksekokulu Bilgisayar Programcılığı Programında Öğretim Görevlisi olarak çalışmaktadır. TÜBİTAK TEYDEB tarafından desteklenen Ar-Ge projelerinde görev aldı. Bilim Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından desteklenen Tekno Girişim programı projesinde yazılım çalışmalarında görev aldı.