



RAMAN SPECTROSCOPY AND ITS APPLICATIONS Yılmaz Şahin*¹

¹Vocational School of Health Services, Atatürk University, Erzurum, Turkey

(Alınış / Received: 10.09.2021, Kabul / Accepted: 14.10.2021, Online Yayınlanma / Published Online: 21.12.2021)

*Corresponding Author: yilmaz.sahin@atauni.edu.tr (Y.ŞAHİN)
(ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2998-8879>)

Keywords

Raman Spectroscopy,
Diagnosis,
Application Areas,
Spectroscopic Analysis

Abstract: The discovery of Raman scattering was made by Krishna and Raman in 1928 and attracted thousands of people [1]. Until about 1986, the Raman literature was dominated by physical and structural studies. There were few reports of Raman spectroscopy applied to chemical analysis. The application of Raman spectroscopy for "real world" chemical analysis has been blocked by both fundamental and technical issues, including poor intensity, fluorescence interference, and inefficient light collection and detection. Prospects for routine chemical analysis took a big turn towards a better start in 1986 with the introduction of the Fourier transform (FT)-Raman, charge-coupled devices, small computers, and near-infrared lasers. These developments overcame major hurdles and resulted in a Raman renaissance in the context of chemical analysis.

RAMAN SPEKTROSKOPİSİ VE UYGULAMA ALANLARI

Anahtar Kelimeler

Raman Spektroskopisi,
Teşhis,
Uygulama Alanları,
Spektroskopik Analiz

Özet: Raman saçılmasının keşfi 1928 yılında Krishna ve Raman tarafından yapıldı ve binlerce kişinin ilgi odağı oldu [1]. Yaklaşık 1986 yılına kadar, Raman literatürüne fiziksel ve yapısal araştırmalar hakimdi. Kimyasal analize uygulanan Raman spektroskopisine ait az rapor vardı. "Gerçek dünya" kimyasal analizi için Raman spektroskopisinin uygulanması, zayıf yoğunluk, floresan girişimi ve verimsiz ışık toplama ve algılama dahil olmak üzere hem temel hem de teknik sorunlar tarafından engellendi. Rutin kimyasal analiz için beklentiler, 1986'da Fourier dönüşümü (FT)-Raman, şarj bağlantılı cihazlar, küçük bilgisayarlar ve yakın kızılötesi lazerlerin piyasaya sürülmesiyle daha iyi bir başlangıç için büyük bir dönüş aldı. Bu gelişmeler büyük engellerin üstesinden geldi ve kimyasal analiz bağlamında bir Raman rönesansı ile sonuçlandı.

1. Giriş

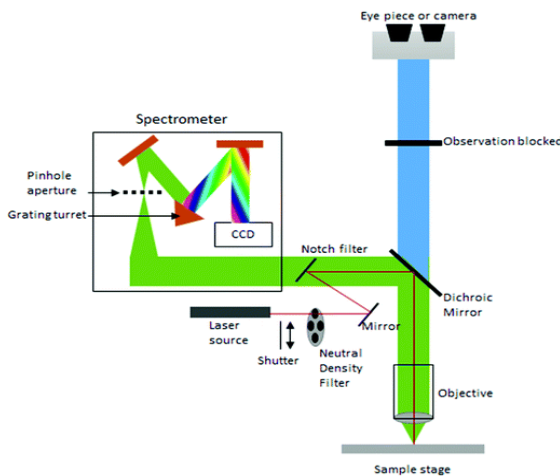
Moleküllerdeki titreşimleri tespit etmek için kullanılan ana spektroskopiler, kızılötesi Absorpsiyon ve Raman saçılması süreçlerine

dayanır. Raman Spektroskopisi, kimyasal yapı, faz ve polimorfi, kristallik ve moleküler etkileşimler hakkında ayrıntılı bilgi sağlayan tahribatsız bir

kimyasal analiz tekniğidir. Işığın bir malzeme içindeki kimyasal bağlarla etkileşimine dayanır [2]. Raman, bir molekülün yüksek yoğunluklu lazer ışığı kaynağından gelen ışığı dağıttığı bir ışık saçılım tekniğidir. Saçılan ışığın çoğu lazer kaynağıyla aynı dalga boyunda (veya renkte) olup yararlı bilgiler sağlamaz – buna Rayleigh Saçılımı adı verilir. Bununla birlikte, analitin kimyasal yapısına bağlı olarak farklı dalga boylarında (veya renklerde) az miktarda ışık (tipik olarak %0.0000001) saçılır - buna Raman Saçılımı adı verilir. Bir Raman spektrumu, saçılan ışığın yoğunluğunu ve dalga boyu konumunu gösteren bir dizi tepe noktası içerir. Her tepe noktası, C-C, C=C, N-O, C-H vb. gibi bireysel bağlar ve benzen halkası solunum modu, polimer zincir titreşimleri, kafes modları vb. gibi bağ grupları dahil olmak üzere belirli bir moleküler bağ titreşimine karşılık gelir [2].

2. Materyal ve Yöntem

Raman spektroskopisi aynı zamanda eş odaklı bir şekilde mikroskopla birleştirilecek yüzey haritalamasında da etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Şekil 1. bir konfokal Raman mikroskopisini göstermektedir [3]. Son yıllarda özellikle bu haritalama özelliği ile Raman Spektroskopisi birçok biyoteknolojik alanda sıkça ihtiyaç duyulan bir teknik olmuştur. Bu anlamda çeşitli malzemelerin yüzeyde nerelerde yerleştiklerinin, ilaç tedavisinde kullanılan ilacın nasıl yayıldığına takip edilmesi, kanserli ve kansersiz hücrelerin belirlenmesi gibi birçok moleküler biyoloji uygulama alanlarında bilgi edinilebilmektedir.

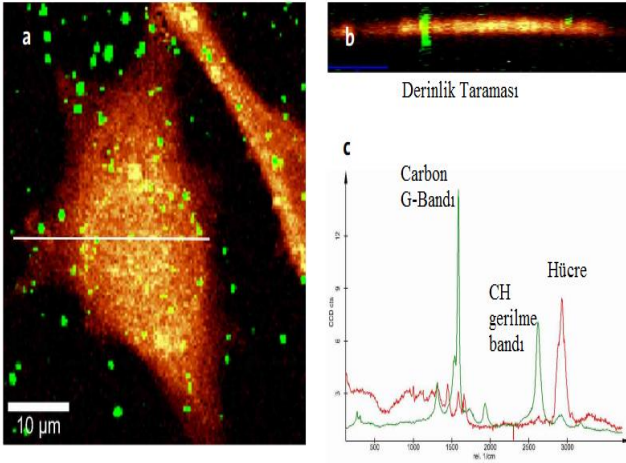


Şekil 1. Konfokal Raman mikroskopunun standart konfigürasyonu [3].

Bu teknikte lazer ışını, geleneksel Raman spektroskopisi ile elde edilenden çok daha iyi bir çözünürlük sağlamak için bir mikroskop lensi ile hücreye odaklanır [4]. Raman spektrometresini bir kameraya, genellikle bir şarjlı-bağlı cihaza (CCD) bağlayarak, konfokal Raman spektroskopisi, Raman spektrumlarını toplamanın yanı sıra, hücre içi bileşenlerin görselleştirilmesine izin vererek, numuneleri görüntüleyebilir veya haritalayabilir [5]. Geniş alanlı Raman görüntüleme, tüm numuneyi bir lazerle aydınlatan doğrudan bir yaklaşımdır ve belirli bir dalga sayısı aralığını ölçmek için dar bantlı bir filtre kullanılır. Raman haritalama, hücre çalışmalarında daha yaygın olarak kullanılır ve geleneksel olarak, bir konfokal lazer noktasının raster taramasını ve spektrometre CCD'ye dağıldıktan sonra numunenin her yerinde sırayla tüm Raman spektrumlarının toplanmasını içerir [6,7]. Bir Raman haritası, her pikselde belirli bir dalga boyunda Raman spektrumlarının nispi yoğunluğuna göre gölgelenmiş sahte renkli bir görüntü üretmek için hesaplamalı olarak oluşturulabilir [8].

3. Sonuç ve Tartışma

Raman spektroskopisinin en önemli potansiyel uygulamalarından biri hastalıkların teşhisinde kullanılmasıdır. Birçok hastalık, hücrelerdeki temel biyokimyasal değişikliklerden kaynaklanır ve Raman spektroskopisi bu ince değişiklikleri, bazen yüksek bir hassasiyetle tespit edebildiği için, teşhisteki potansiyeli göz ardı edilemez. Raman spektroskopisi, aterosklerozdan osteoartrite kadar bir dizi farklı hastalığın teşhisinde potansiyel olarak kullanılabilir, ancak özellikle kanser araştırmalarında önemli bir role sahiptir [9-11]. Sabit hücrelerde olduğu gibi, Raman spektroskopisi, normal ve neoplastik canlı hücreler arasındaki farklılıkları esas olarak Raman spektrumlarıyla incelemek için kullanılmıştır [12,13]. Birçok kanser hücresi, genellikle aynı fenotipteki normal hücrelerde bulunmayan proteinleri ekspres eder ve bu proteinlerin tespiti, hastalığın teşhisine yardımcı olabilir. Chan ve ark. sabit ve sabitlenmemiş hücreler arasındaki DNA, RNA, protein ve lipid titreşimleriyle ilişkili bantların yoğunluğunda değişiklikler bildirmiş, metanol fiksasyonu paraformaldehitten daha büyük değişiklikler göstermiştir [14].



Şekil 2. Eş odaklı Raman mikroskopi düzeneği ile alınmış karbon nanotüp hücre etkileşimi [15].

Genel olarak, bu çalışmalar kanser teşhisinde Raman spektroskopisinin potansiyelini göstermektedir. Mevcut teşhis teknikleri, Raman spektroskopisinin yapabildiği şekilde bir numune hakkında doğru biyokimyasal bilgi vermez ve genellikle yanlış yorumlanabilecek görsel farklılıkları incelemeye dayanır. Bu nedenle daha doğru teknikler geliştirmeye ihtiyaç vardır ve Raman spektroskopisinin uygulanabilir, etiketsiz ve invaziv olmayan bir alternatif olabileceğine dair kanıtlar mevcuttur.

4. Sonuç

Özetlemek gerekirse, Raman spektroskopisi, bir numunenin kimyasal yapısını karakterize etmek için moleküler titreşimleri tespit eden spektroskopik bir tekniktir. Mevcut görüntüleme tekniklerinin yapamayacağı şekilde normal fizyolojik koşullar altında hücrelerin invazif olmayan, etiketsiz gözlemlenmesine ve görüntülenmesine izin verdiği için biyoloji ile özellikle ilgilidir. Raman görüntüleme, özellikle canlı hücre görüntülemeye gelişen bir tekniktir ve daha önce de gösterdiğimiz gibi, bir dizi farklı biyomedikal alanda potansiyel uygulama olarak görünmektedir.

Çıkar çatışması

Yazar, bu makalede rapor edilen çalışmayı etkileyebilecek görünen hiçbir rekabet halindeki finansal çıkarları veya kişisel ilişkileri olmadığını beyan eder.

Kaynakça

- [1] Le Ru, E., & Etchegoin, P. (2008). Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: and related plasmonic effects. Elsevier.
- [2] Smith, E., & Dent, G. (2019). Modern Raman spectroscopy: a practical approach. John Wiley & Sons.
- [3] Smith, R., Wright, K. L., & Ashton, L. (2016). Raman spectroscopy: an evolving technique for live cell studies. *Analyst*, 141(12), 3590-3600.
- [4] Puppels, GJ, De Mul, FFM, Otto, C., Greve, J., Robert-Nicoud, M., Arndt-Jovin, DJ, & Jovin, TM (1990). Konfokal Raman mikrospektroskopisi ile tek canlı hücrelerin ve kromozomların incelenmesi. *Doğa*, 347 (6290), 301-303.
- [5] Zoladek, A., Pascut, F., Patel, P., & Notingher, I. (2010). Development of Raman Imaging System for time-course imaging of single living cells. *Spectroscopy*, 24(1-2), 131-136.
- [6] Delhaye, M., & Dhamelincourt, P. (1975). Raman microprobe and microscope with laser excitation. *Journal of Raman spectroscopy*, 3(1), 33-43.
- [7] Schlücker, S., Schaeberle, MD, Huffman, SW ve Levin, IW (2003). Raman mikrospektroskopisi: nokta, çizgi ve geniş alan görüntüleme metodolojilerinin karşılaştırılması. *Analitik Kimya*, 75 (16), 4312-4318.
- [8] Ashton, L., Hollywood, KA ve Goodacre, R. (2015). Tek hücrelerin Raman görüntülerini renkli anlamlandırma. *Analist*, 140 (6), 1852-1858.
- [9] Lattermann, A., Matthäus, C., Bergner, N., Beleites, C., Romeike, B. F., Krafft, C., ... & Popp, J. (2013). Characterization of atherosclerotic plaque depositions by Raman and FTIR imaging. *Journal of biophotonics*, 6(1), 110-121.
- [10] Marzec, K. M., Wrobel, T. P., Rygula, A., Maslak, E., Jaształ, A., Fedorowicz, A., ... & Baranska, M. (2014). Visualization of the biochemical markers of atherosclerotic plaque

with the use of Raman, IR and AFM. *Journal of biophotonics*, 7(9), 744-756.

[11] Kumar, R., Singh, G. P., Grønhaug, K. M., Afseth, N. K., de Lange Davies, C., Drogset, J. O., & Lilledahl, M. B. (2015). Single cell confocal Raman spectroscopy of human osteoarthritic chondrocytes: a preliminary study. *International journal of molecular sciences*, 16(5), 9341-9353.

[12] Omberg, K. M., Osborn, J. C., Zhang, S. L., Freyer, J. P., Mourant, J. R., & Schoonover, J. R. (2002). Raman spectroscopy and factor analysis of tumorigenic and non-tumorigenic cells. *Applied Spectroscopy*, 56(7), 813-819.

[13] Chan, JW, Taylor, DS, Zwerdling, T., Lane, SM, Ihara, K., & Huser, T. (2006). Mikro-Raman spektroskopisi, bireysel neoplastik ve normal hematopoietik hücreleri tespit eder. *Biyofizik dergisi*, 90 (2), 648-656.

[14] Chan, J. W., Taylor, D. S., & Thompson, D. L. (2009). The effect of cell fixation on the discrimination of normal and leukemia cells with laser tweezers Raman spectroscopy. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 91(2), 132-139.

[15] Erim, A. S. (2011). Tabakalı yarıiletkenlerin konfokal raman ve fotolüminesans spektrumları (Master's thesis, Trakya Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü).