

편광각 투과 유도 프리즘의 에바네스트파를 이용한 잔류 농약

검출 형광 측정 시스템 설계

Design of fluorescent measurement system for agricultural chemical residues using Brewster's angle transmission prism

홍영주, 안정호, 박효준, 권원식, 이형철, 류성윤, 김수현
 한국과학기술원 기계공학과
 hongyoungjoo@kaist.ac.kr

농약은 병해충을 방제하는 화합물으로써, 대부분 사람에게 해를 입힐 수 있으며, 일부 농약은 강한 독성으로 인해 소량의 노출도 매우 해롭다. 사람은 매일 2~3 L의 물을 섭취하므로, 미량의 유해 물질이라도 장기적인 노출은 건강을 악화시키게 된다. 이런 이유로 수질 관리가 중요하며, 음용수의 잔류농약을 현장에서 정밀하게 측정할 수 있는 새로운 분석방법 도입과 고도의 분석 기술 확보가 필요하다. 극미량의 잔류 농약을 정밀하게 측정하기 위해 형광(fluorescence) 측정법을 채택하였다. 나노-효소 복합체(nano-enzyme complex)와 잔류농약 성분과 반응에 따른 형광량의 변화를 측정함으로써, 잔류농약의 농도를 알 수 있다.

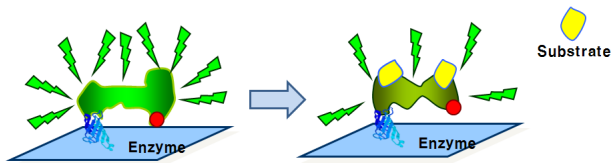


그림 1. 나노-효소 복합체와 시료의 반응에 따른 형광 감소 개념도

특정 농약성분에 저해(inhibition) 특성을 가지는 생화학적 나노-효소 복합체를 시료에 투입하면 잔류농약의 농도에 따라 효소반응이 일어나게 된다. 이때 효소반응을 대변할 수 있는 reporter 단백질로써 녹색형광단백질(EGFP)을 사용하게 되는데, 잔류농약의 농도가 진할수록 그림 1과 같이 형광의 세기가 감소하는 반응이 일어나게 된다. 따라서 감소된 형광 세기를 측정하여 잔류농약의 농도를

추정한다⁽¹⁻⁴⁾.

본 연구에서는 나노-효소 복합체가 도포된 시료면에서 에바네스트파가 형성되도록 하여 이를 형광의 여기광으로 사용하는 잔류 농약 검출 광학계를 구성하였다. 에바네스트파를 형광의 여기광으로 이용하는 형광검출 장치의 개념도는 그림 2와 같다. 시료면에 도포된 형광 물질을 에바네스트파를 이용하여 여기하는 것은 두 가지 관점에서 장점을 가진다. 형광의 여기광원과 검출부를 시료면을 경계로 나눔으로써, 형광 검출 광경로를 줄임으로서, 검출 효율을 증가시키면서, 여기광원이 내부전반사 됨으로써 시료면을 지나 검출부에 영향을 미치지 않으며, 에바네스트파에 의해 여기된 형광만이 검출부에 도달함으로써, 신호 대 잡음비(SNR)이 높아진다⁽⁵⁾.

입사평면에 대하여 평행하게 선형 편광된 빛이 매질 경계면을 지나갈 때, 입사각과 투과각의 합이 직각이 되는 경우에 반사성분이 없어진다⁽⁶⁾. 내부전반사된 빛이 편광각(polarization angle or Brewster's angle)을 가지고 프리즘을 투과하도록 함으로써, 프리즘 내부로 되반사되는 성분을 없앨 수 있어, 시료

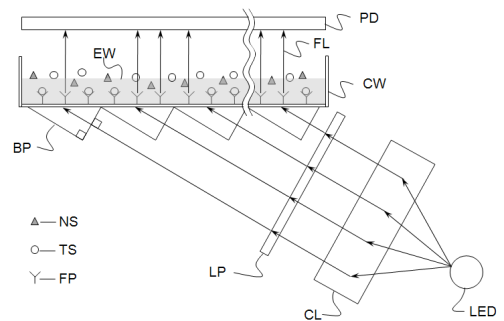


그림 2. 에바네스트파를 이용한 형광 측정 개념도, CL: 시준광학장치, LP: 선형편광기, BP: 편광각 투과 유도 프리즘, FP: 형광 단백질, TS: 검출 시료, NS: 비검출시료, EW: 에바네스트파, FL: 검출 형광, PD: 광검출기

면에 미치는 영향을 제거할 수 있다.

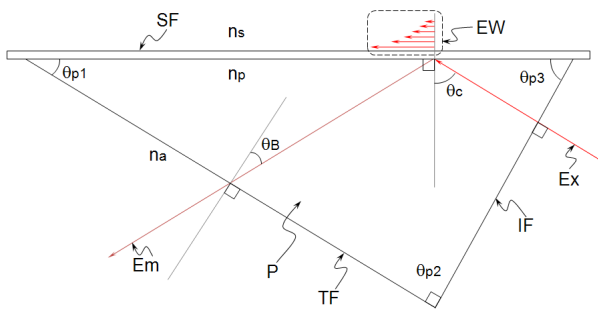


그림 3. 편광각 투과 유도 프리즘 개념도

공기의 굴절률 n_a , 시료의 굴절률 n_s , 프리즘의 굴절률 n_p 에 대하여, 내부전반사와 편광각 투과의 조건의 값으로, 편광각의 크기는 $\theta_B = \arctan(n_a/n_p)$ 로 주어진다. $\theta_{p2} = 90^\circ$ 이면, 삼각형의 옆면을 가지는 프리즘에 대하여 $\theta_{p1} + \theta_{p3} = 90^\circ$ 이 된다. 이때, θ_{p1} , θ_{p3} 와 θ_B 의 관계는 $\theta_{p3} = \theta_{p1} + \theta_B$ 으로 표현이 된다. 위의 관계들을 정리하면 시료면과 접한 프리즘의 두 각에 대하여 $\theta_{p1} = (90^\circ - \theta_B)/2$, $\theta_{p3} = (90^\circ + \theta_B)/2$ 의 관계를 얻는다.

각 부위의 굴절률 값 $n_a = 1$, $n_s = 1.33$, $n_p = 1.515$ 인 경우에 대하여, 이를 대입한 각 값들은 $\theta_B = \arctan(1/1.515) = 33.4^\circ$, $\theta_{p1} = 28.3^\circ$, $\theta_{p3} = 61.7^\circ$ 으로 주어진다. 내부전반사가 시작되는 임계각의 크기는 $\theta_c = 61.39^\circ$ 이며, $\theta_{p3} = 61.7^\circ$ 가 임계각 보다 크기 때문에, 내부전반사로 인한 에바네스토프 발생과, 내부전반사 후 편광각으로 프리즘 투과, $\theta_{p2} = 90^\circ$ 로 인한 음영 부분 제거 세 조건을 모두 만족시킬 수 있다. θ_{p3} 의 값이 임계각 보다 작은 경우에 대하여, 다른 굴절률 값을 가지는 프리즘을 선택함으로써, 편광각 투과를 하면서 에바네스토프가 발생되도록 하고, 프리즘을 소형화 하여 반복적으로 배열함으로써, SNR값의 향상과 상대적으로 얇은 프리즘에 대하여 시료면적과 여기광 사용에 있어 높은 효율을 얻을 수 있다.

후기

본 연구는 2008년도 환경부 차세대 핵심환경기술개발사업에 의해 지원되었습니다.

참고문헌

1. W. E. Moerner and David P. Fromm, "Methods of single-molecule fluorescence spectroscopy and microscopy," Review of Sci. Ins., **74**, 3597-3619 (2003).
2. Mathies, R.A., Peck, K. and Stryer, L., "Optimization of high-sensitivity fluorescence detection," Anal. Chem., **62**, 1786 - 1791 (1990).
3. Albani, J.R., "Principles and Applications of Fluorescence Spectroscopy," Wiley-Blackwell, 2007.
4. Guilbault, G.G., Ed., "Practical Fluorescence, 2ndedi.," MarcelDekker (1990).
5. Daniel Axelrod, "Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy in Cell Biology," Traffic, **2**, 764-774 (2001)
6. Eugene Hecht, "Hecht Optics" Addison Wesley, 348-351 (4th edition)