

# 레이저를 이용한 형광측정 시스템 설계 연구

## A study on the design of laser-induced fluorescence system

\*김인섭<sup>1</sup>, #홍정화<sup>1</sup>, 김훈희<sup>1</sup>, 주환상<sup>1</sup>

\*I. S. Kim<sup>1</sup>, #J. H. Hong(Hongjh32@korea.ac.kr)<sup>1</sup>, H.H.Kim<sup>1</sup>, H.S.Joo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>고려대학교 제어계측공학과

Key words : Lab on a chip, Laser-induced-fluorescence, Scattered light, Ensemble average, Optical Body tube

### 1. 서론

일반적으로 랩온어칩(Lab on a chip)은 측정기를 Hand-held 형태로 만들어 현장(on-site)에서 측정이 가능하도록 하는 기술을 바탕으로 설계된다. 이러한 랩온어칩을 이용한 병원균 진단은 형광 측정 장비를 이용해 형광량을 측정하는 기술이 주를 이루는데 형광 유무에 따라 질병유무도 알 수 있고, 또한 형광의 밝기에 따라 질병의 진행정도도 알 수 있다.

측정기법 또한 다양한데, 랩온어칩을 기반으로 한 여러 측정 기법 중 레이저 유도 형광법(Laser-induced-fluorescence, LIF)을 이용한 검출법에 대한 연구이며, 극미세량의 형광에 대해서도 측정이 가능한 시스템을 구현하기 위해 설계된 광학 경통을 기반으로 한 형광 측정부를 소개한다. 광학 시뮬레이션 프로그램인 Zemax를 기반으로 렌즈와 필터의 최적 설계를 진행하였다. 또한 설계된 광학경통을 바탕으로 측정된 형광에 대한 산란광의 영향을 분석하고, 산란광의 완전한 제거를 위해 Ensemble Average Filter를 적용하여 신호를 처리한다. 본 논문의 목적은 랩온어칩의 형광측정을 위한 Hand-Held 타입의 소형 광학계를 제작하는데 목적을 둔다.

### 2. 형광 측정 시스템 설계

일반적으로 형광 측정의 신호 대 잡음비를 향상시키기 위해서는 광학 필터인 Bandpass filter를 사용하여 여기광과 형광과의 파장 차이를 이용하여 분리시키는 방법과, 광학시스템의 구조를 이용해 기하학적으로 여기광과 형광의 경로를 다르게 만들어 분리하는 두가지 방법이 있다. 첫 번째 방법인 필터만 사용하는 방법으로는 형광의 세기가 여기광의 세기에 비해 대단히 작기 때문에 그 한계가 있으므로 새로운 개념의 측정 광학계의

설계를 통해 기하학적으로 여기광과 형광의 분리하는 방법을 시도하였으며, 본 연구에서는 광학 설계 프로그램인 Zemax를 이용하여 광학회로를 설계하고 시뮬레이션을 진행하였다. 설계된 광학 기기 하우징 시스템인 경통시스템을 기반으로 여기광과 형광의 경로를 기하학적으로 달리하게 되고 집광렌즈인 Plano convex Lens(반볼록 렌즈)와 Bi-convex Lens(볼록렌즈)를 각각 조합하여 검출 효율에 대한 simulation을 진행하였다.

$$\frac{\text{Detecting Light intensity}}{\text{Initial Light intensity}} = \text{Detection efficiency}(\%)$$

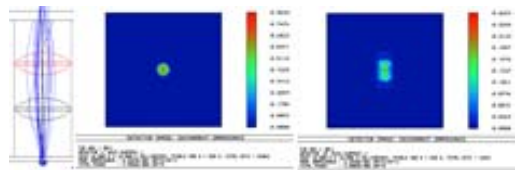


Fig. 1 Simulation Results of Fluorescence Lens system

Table 1 Results of Detection Efficiency(%)

Lens system	Detection Efficiency(%)
Bi-convex Lens 1개	20.97%
Plano-convex Lens 3개	39.63%
Plano-convex Lens 2개	39.25%
Bi-convex Lens 1개 Plano-convex Lens 1개	35.99%
Bi-convex Lens 2개	52.48%



Fig. 2 Development of Optical Body tube

Fig 1은 광의 발광조건을 고려하여 비순차 (Non-sequential) 방식의 광선 추적 방법을 이용하여 추적된 렌즈시스템의 광로도이며, 초기발광도와 검출발광도의 검출효율을 보여준다. 측정 샘플에서 발하는 형광의 위치를 고정시켜놓고 렌즈의 위치와 조합에 따른 출력을 알아보았으며 가로, 세(8mm x 1mm) 슬릿을 모델링하여 검출기 앞에 설치하여 광원에 대한 출력값에 대해 시뮬레이션을 진행하였다. 또한 Table 1과 같이 Bi-convex Lens 2개를 이용한 시스템이 가장 검출효율이 우수하다는 결론을 도출하였다. Fig 2는 다음의 시뮬레이션을 바탕으로 하여 설계된 광학 경통의 실제 사진을 보여준다.

### 3. 광학 경통을 이용한 형광 측정

형광 측정 경통을 기반으로 한 형광측정 검증을 위한 실험으로써 잡음신호인 산란광의 영향으로 하여금 잡음 신호의 집합을 원신호에서 차감함으로써 잡음을 감소시키기 위한 Ensemble Average Filter를 설계하여 산란광의 완전한 제거에 목적을 두었다. 모든 시간 t에 대해서 각각의 잡음 신호는 독립이고 평균이 제로라는 가정을 바탕으로 신호처리를 진행하였으며, 추후 안정화된 데이터를 바탕으로 산란광 신호를 원신호에서 차감하는 방식의 신호처리를 진행하였다.

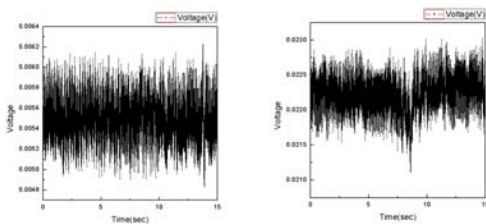


Fig. 3 Scattered Light and Fluorescence Light Variation by Optical Bodytube system

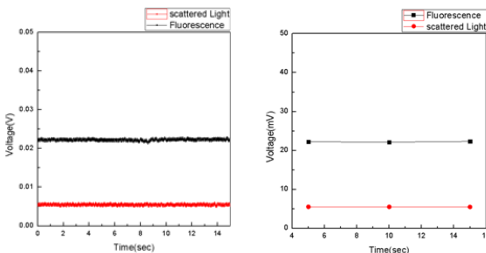


Fig. 4 Signal Processing by Adaptive Ensemble Average Filter

$$\bar{X}(t) = \frac{1}{M} \sum_{i=0}^M X_i(t) \quad \bar{N}(t) = \frac{1}{M} \sum_{i=0}^M N_i(t)$$

$$\bar{S}(t) = \bar{X}_i(t) - \bar{N}_i(t)$$

Fig 3은 설계된 광학 경통을 바탕으로 형광과 산란광을 각각 측정한 그래프이다. Fig 4는 Ensemble average filter를 바탕으로 원신호와 잡음 신호에 대해 각각 8회씩 측정하여, 5, 10, 15초에 걸쳐 평균화 작업을 진행한 결과이며 원신호에서 산란광 신호를 차감하는 방식으로 형광 측정 시스템이 설계된다.

### 4. 결론

일반적으로 형광검출에 있어서 산란광의 영향에 의해 실제로 검출 집광장치로 모을 수 있는 것은 전체의 초기 발광도의 10-20% 정도밖에 되지 않으며, 여기에 필터의 투과율과 검출기 자체의 검출율을 고려한다면 전체적인 광검출 효율은 1~5%밖에 되지 않는다. 허나 광학 경통을 최적 설계함으로써 빛을 효율적으로 집광한다면 검출 효율을 높힐수 있게 되고, 신호처리 기법인 ensemble average 기법으로 하여금 데이터 안정화가 가능하다. 상기의 실험 자료를 토대로 기존의 부피가 큰 형광 측정기기가 아닌 광학경통을 이용한 소형화된 형광 측정 기기의 개발과 측정의 효율적 설계에 대한 가능성을 제시한다.

### 후기

“ 이 논문은 2012년도 정부(교육과학기술부와 중소기업청)의 재원으로 한국연구재단과 중소기업청의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임 (No.2012-0000790, No.R1110601).”

### 참고문헌

1. Jing-Lin Fu, Qun Fang, Ting Zhang, Xin-Hua Jin, Zhao-Lun Fang “laser-induced Fluorescence Detection System for Microfluidic Chips Based on an Orthogonal Optical Arrangement” Analytical Chemistry, Vol 78, No.11, pp. 3827-3834
2. David Barat. Danial Spencer, Giuseppe Benazzi, Matthew Charles Mowlem, Hywel Morgan “Simultaneous high speed optical and impedance analysis of single particles with a microfluidic cytometer” The Royal Society of Chemistry, Vol 12, pp.118-126