

편광산란분광법을 이용한 표면의 입자 크기 측정

조형준 · 최치규 · 김두철 · 유영훈[†]

제주대학교 물리학과, 기초과학연구소

☎ 690-756 제주도 제주시 제주대학로 66

(2005년 9월 26일 받음, 2005년 12월 9일 수정본 받음)

편광 광산란 분광법을 이용하여 광 확산물질의 표면 정보만을 선택적으로 얻었으며, Mie 산란 이론으로 표면의 산란체 크기 정보를 얻었다. 그 결과 편광 광산란 분광법이 광 확산 물체의 표면 정보만을 측정하는데 적절한 방법임을 확인 하였고, 이 연구 결과는 세포와 같은 광 확산 물체를 측정하는데 이용될 수 있다.

주제어 : Scattering measurements, Mie theory, Spectroscopy surface.

I. 서 론

광산란을 이용한 측정은 비파괴적인 동시에 신속한 통계적 평균화의 특성을 가지고 있으며, 많은 계측기술에 응용되고 있다. 광산란 실험은 μm 및 $\text{sub-}\mu\text{m}$ 의 크기를 측정하는 대표적인 방법이다. 미립자에 의한 산란광의 공간분포는 그 입자에 대한 크기와 굴절률에 의해 결정되며 이는 이론적으로 계산될 수 있다. 따라서 굴절률을 알고 있을 경우, 산란광 세기의 공간분포로부터 산란체의 크기를 알 수 있고, 이것이 산란 장치를 이용한 산란체 크기 측정 원리이다^[1-3]. 또한 입자의 크기에 따라 산란 빛의 파장분포의 변화를 이용하는 광산란 분광법(LSS, Light Scattering Spectroscopy)도 이용되고 있다. LSS는 공간분포를 측정하기 위하여 각도를 주사(Scan)하거나, 여러 개의 검출기를 연결한 센서를 사용하지 않고도, 분광기를 통한 한 번의 측정으로 입자의 크기 측정에 필요한 정보를 획득 할 수 있는 장점이 있다. 그리고 바이오 기술 분야에서 광산란을 이용하여 질병진단에 응용하고자 하는 연구가 많이 진행 중이다. 특히 세포의 표면의 이상 유무를 측정하는, 즉 상피세포의 이상을 측정하거나, 약리 작용에 의한 상피세포의 변화를 측정하는 등의 연구가 활발히 진행 중이다^[4-13]. 그러나 세포와 같은 광 확산 물질은 세포 표면뿐만 아니라 상피세포 아래 부분에서도 산란이 일어나는데 일반적으로는 상피에 의한 산란 세기 보다는 상피 아래에서 일어나는 산란 세기가 매우 크다. 이와 같은 문제점으로 인해 광산란을 이용하여 상피세포의 변화나 이상을 판단하는 것이 매우 어렵다. 이와 같은 문제점을 해결하기 위해서는 상피세포에서 일어나는 광산란만을 측정 하는 방법을 고려해야 한다. 상피에서 광산란은 준 탄성 산란이고, 상피 아래에서의 산란은 다중 산란이다. 준탄성 광산란의 경우 조사 광원의 편광 방향이 유지되며, 확산현상에 의한 산란의 경우는 편광 방향이 유지되지 않는다^[14-16]. 그러므로 편광 광산란법

을 이용하면 표면의 산란 정보만을 얻을 수 있다.

본 연구에서는 표면의 정보만을 조사하기 위하여 편광산란 분광법(PLSS, Polarized Light Scattering Spectroscopy)을 이용하여 확산현상에 의한 영향을 최소화시켜 폴리스티렌 구(polystyrene beads)의 μm 및 $\text{sub-}\mu\text{m}$ 의 크기를 측정하였고, Mie 산란 이론의 전산시뮬을 통하여 측정결과를 확인하였다.

II. 이론적 배경

그림 1은 평행 광원이 편광기를 통해 산란체에 조사되고, 발생한 산란광이 편광기를 통과한 후의 빛의 세기를 표현한 것이다. 입사 광원의 진행방향이 \hat{s}_0 , 검출기를 향하는 산란광의 진행방향이 \hat{s} 이며, \hat{s}_0 와 \hat{s} 가 만드는 면이 산란 면이다. $\hat{\epsilon}_0$ 는 입사 광원의 편광 방향이고, 산란 면에 평행한 편광 방향이 $\hat{\epsilon}_p$, 수직인 편광 방향이 $\hat{\epsilon}_s$ 이다. $\hat{\epsilon}_b$ 는 산란광의 편광 방향이고, 산란광은 산란 면에 평행한 편광 방향 $\hat{\epsilon}_a$ 과 수직인 편광 방향 $\hat{\epsilon}_n$ 인 2 개의 편광기를 통해 산란광의 빛 세기를 검출할 수 있다. $\hat{\epsilon}_a$ 에 의해 수평성분의 빛의 세기 $I_{||}$ 가 얻어지고, $\hat{\epsilon}_n$ 에 의해 수직성분의 빛의 세기 I_{\perp} 가 얻

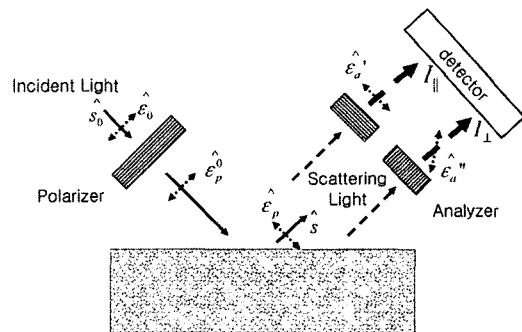


그림 1. Mie 이론의 편광산란.

[†] E-mail: yyhyoung@cheju.ac.kr

어진다. Mie 산란 이론에 의해 주어지는 I_{\parallel} 와 I_{\perp} 는

$$I_{\parallel} = \frac{I_0}{K^2 r^2} \int d\hat{s} \int d\hat{s}_0 I_0(\hat{s}_0) |S_2(\hat{s}_0, \hat{s}) \cdot \cos \phi \cos \phi_0 + S_1(\hat{s}_0, \hat{s}) \sin \phi \sin \phi_0|^2 \quad (1)$$

$$I_{\perp} = \frac{I_0}{K^2 r^2} \int d\hat{s} \int d\hat{s}_0 I_0(\hat{s}_0) |S_2(\hat{s}_0, \hat{s}) \cdot \cos \phi \sin \phi_0 + S_1(\hat{s}_0, \hat{s}) \sin \phi \cos \phi_0|^2 \quad (2)$$

와 같다^[17]. 여기서 $\phi_0 = \cos^{-1}(\hat{\epsilon}_p^0 \cdot \hat{\epsilon}_0)$ 이고, $\phi = \cos^{-1}(\hat{a} \cdot \hat{p})$ 이다. $I_{\parallel} - I_{\perp}$ 는

$$I_{\parallel} - I_{\perp} \approx \frac{I_0}{K^2 r^2} \int Re(S_1^*(\theta) S_2(\theta)) \sin \theta d\theta \quad (3)$$

로 근사할 수 있다.

준 탄성 산란에서 수평성분 빛의 세기 I_{\parallel}^e 와 수직성분 빛의 세기 I_{\perp}^e 는 $I_{\parallel}^e \gg I_{\perp}^e$ 이고, 확산현상에 의한 수평성분 빛의 세기 I_{\parallel}^d 와 수직성분 빛의 세기 I_{\perp}^d 는 $I_{\parallel}^d \approx I_{\perp}^d$ 가 된다. 그러므로 두 성분의 빛의 세기 차 $\Delta I = I_{\parallel} - I_{\perp}$ 는

$$\Delta I \approx I_{\parallel}^e - I_{\perp}^e \approx I_{\parallel}^e \quad (4)$$

로 표현 할 수 있다^[18-21]. 즉 ΔI 는 확산현상에 의한 빛의 세기를 최소화 시키고, 준 탄성 광산란에 의한 빛의 세기를 측정할 수 있다. 즉 수평한 성분에서 수직한 성분을 빼준다면, 확산에 의한 영향은 수평성분과 수직성분에서 확률적으로 거의 일정하므로 최소가 되어 탄성 광산란에 의한 영향을 효과적으로 측정할 수 있다. 식(2)와 식(3)에서 ΔI 는 산란 진폭 S_1 과 S_2 , 미립자구의 크기 d , 상대굴절률 n 그리고 산란 파장 $\lambda = 2\pi/k$ 에 의하여 구할 수 있다. 그러므로 ΔI 에 의하여 주어지는 분광정보(spectrum)는 미립자구의 크기와 굴절률과의 관계로 나타낼 수 있다.

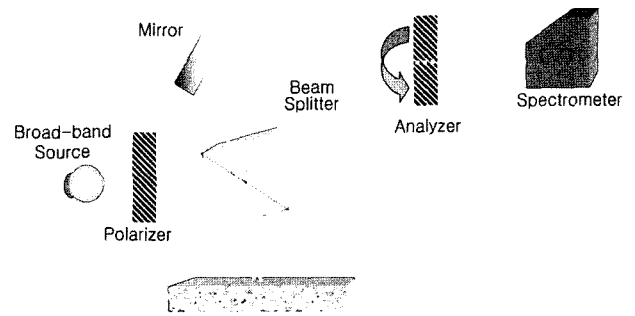


그림 2. 편광산란분광 장치의 개략도

III. 실험결과

그림 2는 편광산란분광법을 이용하여 미립자구의 크기를 측정하기 위한 실험장치의 개략도이다. 사용된 입사 광원은 광대역 가시광원(250 W CW halogen lamp)을 사용하였고, 분광기는 측정 파장영역이 320~1050 nm 이고, 분해능이 0.7 nm 인 분광기(SM-240, Korea Spectral Products)를 사용하였다. 입사 광원은 선 편광기를 통해 선 편광되고, 광분할기를 통해 시료에 조사 된다. 이때 입사 광원은 시료에 대해 약 15°의 각을 갖고 입사하게 하여, 표면에서 직접 반사되는 빛이 분광기 내로 들어가는 것을 방지하였다. 시료에 입사되는 빛의 크기는 2 mm 미터의 지름을 갖고 있다. 산란된 빛은 편광기를 지나 분광기에 입사된다. 편광기는 수평성분의 분광정보와 수직성분의 분광정보를 받아들일 수 있도록 구성되어 있다.

시료는 지름이 각각 1 μm , 2 μm , 3 μm 의 폴리스티렌(polystyrene) 구와 증류수를 2.5 : 97.5의 비율로 혼합하여 만든 시료(Polysciences, Inc)를 사용하였다. 여기에 사용된 폴리스티렌 구의 굴절률 $n_{\text{particle}} = 1.59$ 로, 상대굴절률은 $n = n_{\text{particle}} / n_{\text{medium}} \approx 1.2$ 이다.

그림 3(a)는 지름이 1 μm 의 폴리스티렌 구의 현탁액을 Mie 이론에 의해 주어지는 수평성분의 빛의 세기 분포 I_{\parallel} 를 측

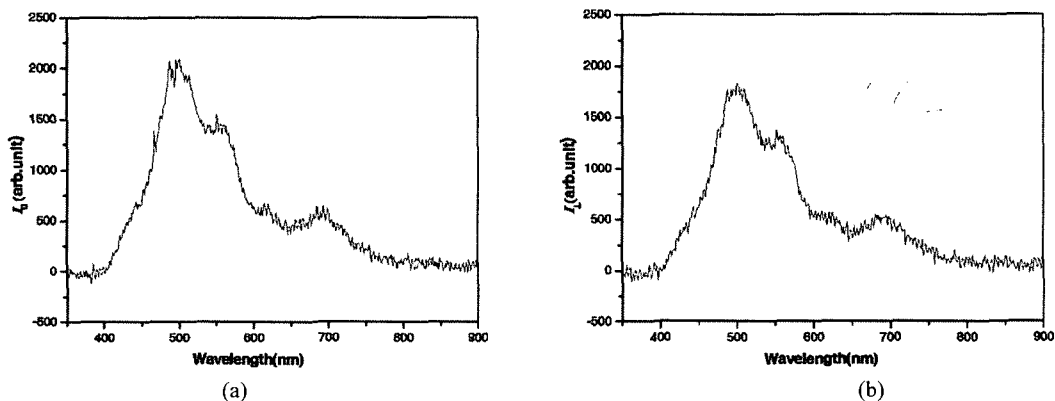


그림 3. (a) 수평성분의 산란광세기 분포. (b) 수직성분의 산란광세기 분포.

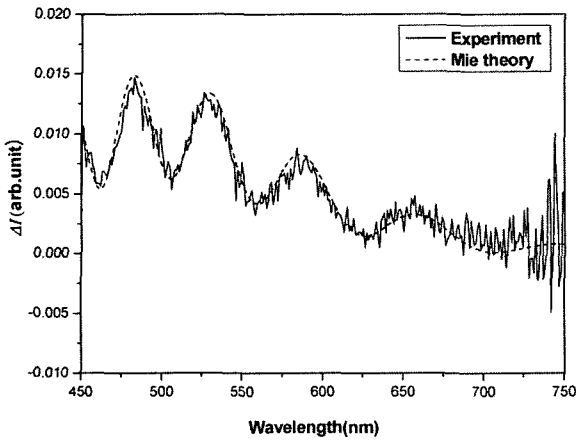


그림 4. 1 μm 폴리스티렌구의 편광산란분광측정.
 — : 편광산란분광측정의 실험결과.
 - - - : Mie 산란 이론의 전산시뮬결과.

정한 결과이며, (b)는 수직성분의 빛의 세기 분포 I_{\perp} 를 측정
 한 결과이다. I_{\parallel} 가 I_{\perp} 에 비하여 대부분의 파장대역에서 조
 금 큰 값을 갖고있다. 또한 Mie 이론을 고려하여 보면 I_{\parallel}
 는 탄성 광산란의 정보와 확산산란 정보가 혼합된 측정 결과
 이며, I_{\perp} 는 탄성 광산란의 정보가 거의 없는 확산산란 정보
 가 대부분인 측정결과이다. 이를 Mie 산란 이론에서 확인 한
 (4)식과 전산시뮬을 통한 비교를 위하여 그림 3에서 얻어진
 결과로부터 $\Delta I = I_{\parallel} - I_{\perp}$ 를 구하였으며, 이 과정에서 입사
 광원의 파장에 따른 빛의 세기 I_B 가 파장에 따라 일정하지
 않으므로

$$\Delta I = (I_{\parallel} / I_B) - (I_{\perp} / I_B) \tag{5}$$

로 규격화하였다. 그림 4는 그림 3에서 얻어진 결과를 (5)식

과 같이 처리하여주고, (3)식에 표현된 Mie 산란 이론을 전
 산시뮬하여 얻어진 결과이다.

그림 4는 1 μm의 폴리스티렌 구의 현탁액을 편광산란분광
 법을 사용하여 측정한 결과이며, 이 값은 (3)식의 Mie 산란
 이론에 적용시켜 얻은 값과 실험에 의한 분광 결과를 비교한
 것으로, 파장이 700 nm 이상의 영역에서 불안한 측정결과를
 얻었으나 대부분의 파장영역에서 거의 일치하는 결과를 얻
 을 수 있었다. 또한 700 nm 이상의 영역에서 발생한 불안정
 한 측정결과와 (5)식의 규격화 과정에서 빛의 세기가
 너무 작아서 잡음에 민감하게 반응한 것이다. 그림 5(a)는 2
 μm의 폴리스티렌 구의 현탁액을 Mie 산란 이론에 적용시켜
 얻은 값과 실험에 의한 분광 결과를 비교한 것으로, 그 결과
 가 거의 일치함을 알 수 있다. 그림 5(b)는 3 μm의 폴리스티
 렌 구의 현탁액을 Mie 산란 이론에 적용시켜 얻은 값과 실험
 에 의한 분광 결과를 비교한 것으로, 진폭은 이론과 실험
 결과가 차이를 보이지만 그 주기성은 거의 일치함을 알 수
 있다. 위의 결과로부터 입자의 크기가 커질수록 같은 파장
 영역에서 더 많은 주기성을 나타내고, 파장이 짧은 영역 일
 수록 그 주기 역시 짧다. 이는 다중슬릿(Multiple Slits) 및 회
 절격자(Diffraction Grating)와 유사한 현상으로 현탁액 표면
 에 분포된 폴리스티렌 입자에 의해서 회절과 유사한 현상이
 발생된다고 볼 수 있다^[22].

그림 6(a)와 그림 6(b)는 폴리스티렌 구의 크기가 각각 108
 nm, 270 nm인 현탁액의 경우이다. 그림 4, 5와 달리 입사 광
 원의 파장보다 폴리스티렌 구의 크기가 더 작은 경우이다.
 그림 6에서 역시 Mie 산란 이론에 적용시켜 얻은 값과 실험
 에 의한 분광 결과가 거의 일치함을 알 수 있다.

IV. 결 론

본 연구에서는 확산산란이 일어나는 물질에 편광산란분광
 법을 적용시켜, 확산산란의 영향을 최소화한 탄성 광산란 신

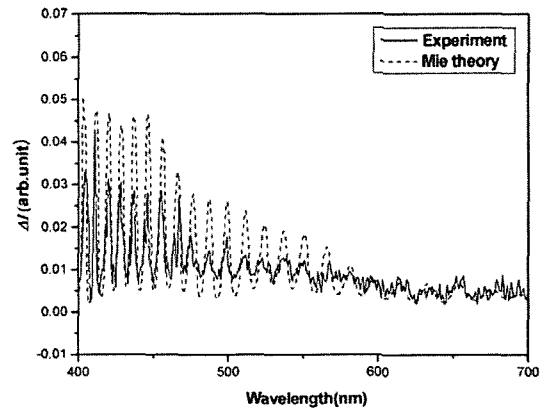
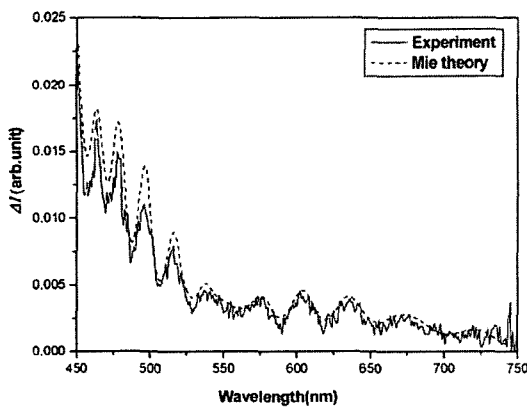


그림 5. (a) 2 μm 와 (b) 3 μm 폴리스티렌구의 편광산란분광측정.
 — : 편광산란분광측정의 실험결과.
 - - - : Mie 산란 이론의 전산시뮬결과.

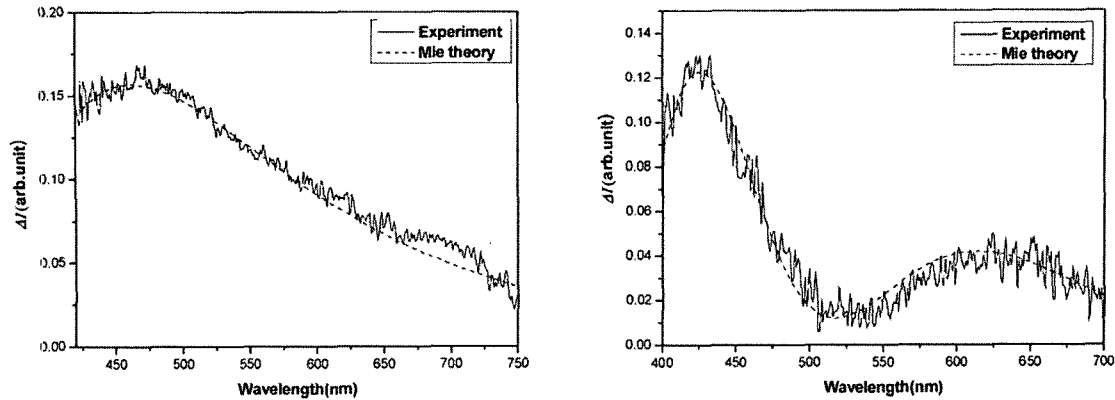


그림 6. (a) 108 nm 와 (b) 270 nm 폴리스티렌구의 편광산란분광측정.

———— : 편광산란분광측정의 실험결과.
 - - - - - : Mie 산란 이론의 전산시뮬레이션결과.

호를 측정하고, 이를 Mie 산란 이론을 이용하여 산란체의 크기를 측정하였다. 즉 준 탄성 광산란의 경우 입사광의 편광 방향에 의존하며, 확산산란의 경우 입사광의 편광방향에 무관한 성질을 이용하여, 그 차이를 구함으로서 확산산란에 의한 다중산란효과를 최소화 할 수 있었다. 실험에서는 100 nm 정도의 폴리스티렌 구를 측정 할 수 있었으며, 더욱 짧은 파장대역의 입사광원을 사용한다면 더욱 작은 입자의 크기도 측정 할 수 있을 것이다.

편광산란분광법은 세포와 같은 광 확산물질에서 비파괴적이며, 비절개(In Situ)를 통하여 표면의 산란체 정보를 얻는 것이 가능하며, 그 장치구조가 간단하여 내시경 형태의 광학적 기구를 통해 구현이 가능할 것으로 예상된다. 또한 광산란 측정의 특징인 넓은 면적에 대한 신속한 통계적 처리 특성을 이용하여 산란체에 대한 정보를 실시간에 가깝게 얻을 수 있다.

감사의 글

이 논문은 2005년도 제주대학교 발전기금 지원계획에 의해 연구 되었습니다.

참고문헌

[1] 박병천, 정명세, “준탄성광산란을 이용한 0.3 μm 폴리스티렌구의 평균지름 측정 불확도 향상,” *한국광학회지*, 제 9권 4호, pp. 258-263, 1998.
 [2] Kun Chen, Alexey Kormin, Melville P. Ulmer, Bruce W. Wessels, Vadim backman, “Nanoparticle sizing with a resolution beyond the diffraction limit using UV light scattering spectroscopy,” *Opt. Com.*, vol. 228, pp. 1-7, 2003.
 [3] Rhonda Dzakpasu and Daniel Axelrod, “Dynamic light

Scattering Microscopy. A Novel Optical Technique to Image Submicroscopic Motions. I : Theory,” *Biophys. J.*, vol. 87, pp. 1278-1287, 2004.

[4] Vadim Backman, Rajan Gurjar, Lev T. Perelman, Venkatesh Gopal, Maxim Kalashnikov, Kamran Badizadegan, Adam Wax, Irene Georgakoudi, Markus Mueller, Charles W. Boone, Irving Itzkan, Ramachandra R. Dasari and Michael S. Feld, “Imaging and measurement of cell structure and organization with submicron accuracy using light scattering spectroscopy,” *Proc. SPIE*, vol. 4613, pp. 101-110, 2002.
 [5] L. T. Perlman, V. Backman, M. Wallace, G. Zonios, R. Manoharan, A. Nusrat, S. Shields, M. Seiler, C. Lima, T. Hamano, I. Itzkan, J. Van Dam, J. M. Crawford, and M. S. Feld, “Observation of Periodic Fine Structure in Reflectance from Biological Tissue : A New Technique for Measuring Nuclear Size Distribution,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 80, no. 3, pp. 627-630, 1998.
 [6] Guillermo Marquez and Lihong V. Wang, “White light oblique incidence reflectometer for measuring absorption and reduced scattering spectra of tissue-like turbid media,” *Opt. Express*, vol. 1, no. 13, pp 454-460, 1997.
 [7] Kamran Badizadegan, Vadim Backman, Charles W. Boone, Christopher P. Crum, Ramachandra R. Dasari, Irene Georgakoudi, Kristin Keefe, Karl Munger, Stanley M. Shapshay, Ellen E. Sheets and Michael S. Feld, “Spectroscopic diagnosis and imaging of invisible pre-cancer,” *The Royal S. Chem.*, vol. 126, pp. 265-279, 2004.
 [8] Nuno C. Santos and Miguel A. R. B. Castanho, “Teaching Light Scattering Spectroscopy: The Dimension and Shape of Tobacco Mosaic Virus,” *Biophys. J.*, vol. 71, pp. 1641-1645, 1996.
 [9] Juan Yguerabide and Evangelina E. Yguerabide, “Light-

- Scattering Submicroscopic Particles as Highly Fluorescent Analogs and Their Use as Tracer Labels in Clinical and Biological Applications," *Analytical Biochem.*, vol. 265, pp. 157-176, 1998.
- [10] Vadim Backman, Venkatesh Gopal, Kalashnikov, Kamran Badizadegan, Rajan Gurar, Adam Wax, Irene Georgakoudi, Markus Mueller, Charles W. Boone, Ramachandra R. Dasari and Michael S. Feld, "Measuring Cellular Structure at Submicrometer Scale With Light Scattering Spectroscopy," *IEEE J. on Selected Topics in Quantum Elect.*, vol. 7, no. 6, pp. 887-893, 2001.
- [11] Jing He, Shi-min Wang, Jian-Chun Cheng and Shu-yi Zhang, "Inversion of particle size distribution from light scattering spectrum," *Inverse Problems*, vol. 12, pp. 633-639, 1996.
- [12] Barry J. Bauer, "Transformation of phase Size Distribution into Scattering Intensity," *J. of Polymer Sci. Part B: Polymer Phy.*, vol 42, pp. 3073-3080, 2004.
- [13] Rajan S. Gurjar, Vadim Backman, Lev T. Perelman, Irene Georgakoudi, Kamran Badizadegan, Irving Itzkan, Ramachandra R. Dasari and Michael S. Feld, "Imaging human epithelial properties with polarized light scattering spectroscopy," *Nature medicine*, vol. 7, no. 11, pp. 1245-1248, 2001.
- [14] Konstantin Sokolov, Rebekah Drezek, Kirk Gossage and Rebecca Richards-Kortum, "Reflectance spectroscopy with polarized light : is it sensitive to cellular and unclear morphology," *Opt. Express*, vol. 5, no. 13, 1999.
- [15] A. Moussaid and P. N. Pusey, "Multiple scattering suppression in static light scattering by cross-correlation spectroscopy," *Phys. Rev. E*, vol. 60, pp. 5670-5674, 1999.
- [16] H. C. Kelly, "Multiple scattering in hight scattering spectroscopy," *Phys. A: Math. Nucl. Gen.*, vol. 6 353-360, 1973
- [17] Vadim Backman, Rajan Gurjar, Kamran Badizadegan, Irving Itzkan, Ramachandra R. Dasari, Lev T. Perelman and Michael S. Feld, "Polarized Light Scattering Spectroscopy for Quantitative Measurement of Epithelial Cellular Structures In Situ," *IEEE J. of Selected Topics in Quantum Elect.*, vol. 5, no. 4, pp. 1019-1026, 1999.
- [18] Craig F. Bohren and Donald R. Huffaman, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles* (John Wiley & Sons Press, 1998), pp. 57-283.
- [19] H. C. van de Hulst, *Light Scattering by small particles* (Dover Publications Press, 1982), pp. 114-199.
- [20] Leung Tsang, Jin Au Kong and Kung-Hau Ding, *Scattering of Electromagnetic Waves : Theories and Applications* (John Wiley & Sons Press, 2000), pp. 53-195.
- [21] Luis Fernando Rojas-Ochoa, David Lacoste and Ralf Lenke, "Depolarization of backscattered linearly polarized light," *Opt. Soc. Am. A*, vol. 21, no. 9, 1799-1804.
- [22] Grant R. Fowles, *Introduction To Modern Optics* (Dover Publications Press, 1989), pp. 106-147.

Polarized Light Scattering Spectroscopy for Particle Size Measurement on Surface

HyounJun Cho, ChiKyu Choi, DooChul Kim and YoungHun Yu[†]

Department of Physics, Basic Research Institute, Cheju National University, Jeju City, 690-756

[†]*E-mail: yyhyoung@cheju.ac.kr*

(Received September 26, 2005, Revised manuscript December 9, 2005)

We used the polarized light scattering spectroscopy(PLSS) to get selectively the particle size information on a surface in optically diffuse material, and we analyzed the experimental results by Mie scattering theory. We found that the PLSS was the proper method for getting the surface information in optically diffuse material. This method is able to be used in biotechnology area for diagnostics.

OCIS Codes : 290.5820. 290.4020. 300.6490.