Regular paper | Journal of the KIECS. pp. 1095-1100, vol. 19, no. 5, Oct. 31. 2024, t. 127, pISSN 1975-8170 | eISSN 2288-2189
http://dx.doi.org/10.13067/JKIECS.2024.19.5.1095

# 생물학적 표시기를 이용한 멸균 자동 판독장치의 UV 광량에 따른 형광 방출 특성 연구

송 혁* · 이우철**

# Automatic Sterilization Reading Device Using Biological Indicator Study of Fluorescence Emission Charateristics According to Incident UV Light Amount

Hyeok Song* · Woo-Cheol Lee**

요 약

멸균 자동 판독장치를 위한 UV 광량 세기 조절 기능의 형광 방출 특성 연구는 생물학적 표시기의 형광 배지와 아포균이 만나서, 형광 반응을 일으키게 되는데, 신속하게 판독하기 위해 형광 배지와 아포균에 섞여있는 곳에 UV 광량 세기를 조절해 주면서 형광 방출되는 양의 특성을 측정하면서 일정한 특성을 찾아낸다. 기존에는 UV의 광량을 고려하지 않고 형광 방출 특성을 연구했다면, 멸균 자동 판독장치를 위한 적절한 UV 광량의 세기를 찾아내는 연구는 생물학적 표시기의 감도 특성을 높여주고, 시간이 지나서도 적절한 UV 광량 세기를 통해서 판독의 정확성을 높인다.

ABSTRACT

In the study of the fluorescence detection characteristics of the UV light intensity control function for automatic reading sterilization devices, the fluorescent medium of the biological indicator meets the spore bacteria, causing a fluorescence reaction. We try to find certain characteristics by measuring the characteristics of the detected amount of fluorescence while adjusting the intensity. Research to find the appropriate intensity of UV light for automatic reading sterilization devices aims to increase the accuracy of biological indicators and increase the accuracy of reading through appropriate UV light intensity over time.

키워드

Fluorescence-Detection, Rapid, Biological-Indicators, Incubator, Auto-Reader, Sterilization
형광 검출, 신속, 생물학적 표시기, 배양기, 자동판독, 멸균

## Ⅰ. 서 론

멸균이 제대로 사멸되었는지를 확인하는 방법은 크게 2가지 방식으로 쉽게 육안으로 바로 판독할 수 있는 화학적 표시기(Chemical Indicator)와 다른 하나는 생물학적 표시기(Biologocal Indicator : BI)가 멸균의 사멸여부를 확인하는데 사용된다. 생물학적 표시기(Biologocal Indicator)를 기존보다 빨리 판독할 수 있고, 판독의 정확

* 을지대학교 대학원 생체의과학융합학과 (151019@hanmail.net wclee@eulji.ac.kr)
** 교신저자 : 을지대학교 대학원 생체의과학융합학과
· 접 수 일 : 2024. 08. 22
· 수정완료일 : 2024. 09. 16
· 게재확정일 : 2024. 10. 12
· Received : Aug. 22, 2024, Revised : Sep. 16, 2024, Accepted : Oct. 12, 2024
· Corresponding Author : Woo-Cheol Lee
Dept. Biomedical, Eng, Eulji University,
Email : wclee@eulji.ac.kr

성을 높이기 위해서는 현재의 균을 일반 배양기에서 판독하는 것이 아닌 신속한 생물학적 표시기(Rapid Biological Indicator)에 대한 멸균 자동 판독장치를 개발해서 alpha-glucose와 그 기질이 용해되어있는 배지 내에 기질이 만나서 활성화된 배지에 UV 빛을 비추어 주면, 형광이 나오게 되는데, 그 빛을 차광장치를 통해서 걸러진 형광을 전기신호로 변환해서 그 변화 값을 일어내는 장치가 신속한 생물학적 표시기에 대한 멸균 자동 판독장치이다. 이 논문은 멸균 자동 판독장치 중에서 UV 광량 세기에 따는 형광 방출 특성을 연구하기 위한 것이다. 정확한 형광 방출 특성을 찾아내기 위해서는 UV 광량을 세기의 양을 변화해 가면서 특성을 찾아내야 한다. 그러기 위해 UV 세기를 조절할 수 있는 형광 측정장치를 구현해서 그 특성을 연구하는 것이 이 논문의 목적이다[1-5].

## II. 형광 측정 기술

### 2.1 형광 측정 이론

형광은 특정 파장(365nm)에서 샘플을 들뜨게 하는 외부 광원과 연관된다. 적절한 파장이 분자에 가해지면, 분자가 기저상태에서 들뜬 상태로 변환된다. 분자가 기저상태로 돌아오면, 더 낮은 에너지의 서로 다른 더 긴 파장에서 빛과 열 형태로 방출된다[6-7].

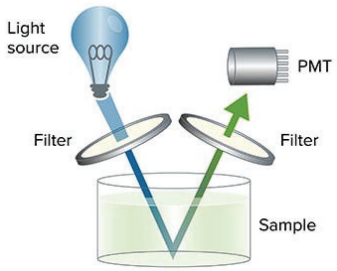


그림 1. 형광의 특성 파장에서 빛과 열 형태로 방출
Fig. 1 Emits light and heat at characteristic wavelengths of fluorescence

### 2.2 생물학적 형광 측정 모듈

그림 2에서와 같이 생물학적 형광 측정을 위한 구성은 1. Indicator 2. 가열 장치 3. UV LED 4. 광 차단 장치 5. 광전 센서 6. UV Filter 7. 광 Filter로 구성되어 있다[8].

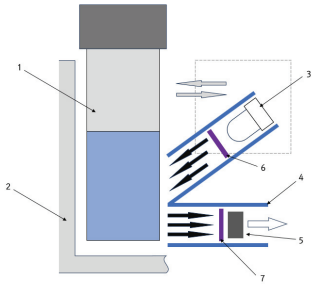


그림 2. 생물학적 형광 측정 구성 원리
Fig. 2 Principle of biological fluorescence measurement setup

## III. 형광 측정 장치 구현

### 3.1 UV LED 전류 제어회로 설계 구현

UV LED 365nm 파장을 사용하여, 8개의 UV LED들을 구동 전류 1mA~20mA까지 1mA 간격으로 20단계로 정전류 제어방식으로 아래와 같이 그림 3과 같이 회로설계를 구현하였다.

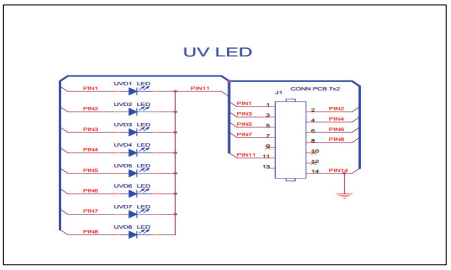


그림 3. UV LED 구동회로 설계
Fig. 3 UV LED drive circuit design

정해진 측정 시간과 조건에 따라 UV LED 광원이 꺼지도록 설계되었고, 과전류를 방지하기 위해서 적절한 UV LED 광원을 20단계로 조절해서 사용할 수 있도록 설계했다. 이러한 설계를 바탕으로 UV LED PCB를 구현했다.

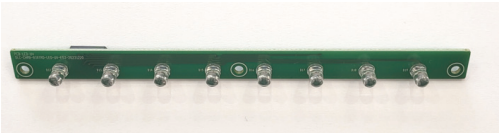

그림 4. UV LED PCB 구현
Fig. 4 UV LED PCB Implementation

### 3.2 형광 측정 회로 설계 구현

8채널의 광전자 센서(PD Sensor)를 이용하여 형광 검출을 하기 위해 그림 5와 같이 형광 검출 회로를 설계하였다.

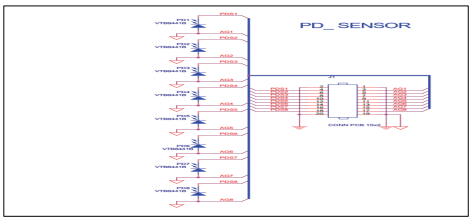


그림 5. 형광 검출 회로
Fig. 5 Fluorescence detection circuit

광필터를 통해서 광전자 센서(PD Sensor)의 값을 형광 증폭 회로는 IVC201 Charger Amp를 이용하여 이온 전하량을 시간에 따른 축적된 형광값을 측정하여 결과값으로 나타낼 수 있도록 형광 증폭 회로를 설계하였다. 8채널의 UV LED 광원을 통해서 광필터를 거친 480nm의 파장이 광전사 센서(PD Sensor)로 측정된 형광값을 8채널 형광 증폭 회로를 통해서 보다 세밀하게 형광값을 측정할 수 있도록 8채널 형광 증폭 회로를 설계하였다[9-10].

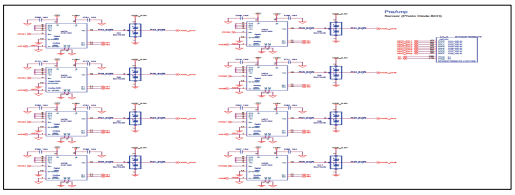

그림 6. 형광 증폭 회로
Fig. 6 Fluorescence amplifier circuit

그림 7에서와 같이 IVC201 Charger Amp를 이용하여 형광 증폭 회로를 구현한 형광 증폭 회로 PCB이다.

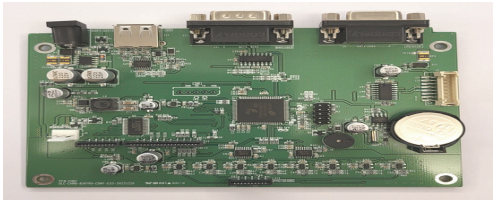

그림 7. 형광 증폭 회로가 달린 메인보드 PCB
Fig. 7 Mainboard PCB with fluorescent amplifier circuit

### 3.3 샘플 블록의 설계 구현

설계한 샘플 블럭은 UV LED의 광량이 일정하게 입사 되어, 신속한 생물학적 표시기(Rapid Biological Indicator)의 형광 발현되는 양을 제대로 측정하기 위해 입사각과 출력값이 광전자 센서(PD Sensor)에 잘 도달할 수 있도록 설계된 블럭에 UV LED PCB와 광전자 센서(PD Sensor) PCB가 일체형으로 설계되어 그림 8과 같이 형광 측정장치를 구현했다.

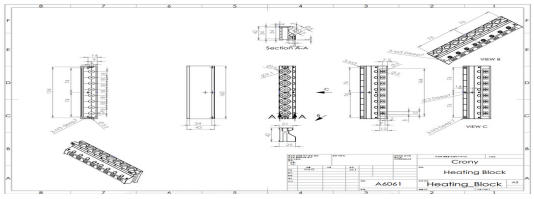


그림 8. 8채널 샘플 블럭 설계
Fig. 8 8-channel sample block design

8채널 샘플 블록을 설계한 구성도를 가지고 실제로 그림 9와 같이 샘플 블럭을 제작했다.

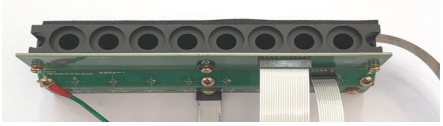

그림 9. 샘플 블럭으로 형광 측정 장치 구현
Fig. 9 Implementing a fluorescence measurement device with sample blocks

샘플 블록 제작 및 형광 측정장치를 구현하게 되어 UV LED 전류량에 따라 UV LED 광량 세기를 측정할 수 있게 되었다.

## Ⅳ. 연구 결과

### 4.1 UV LED 전류 제어에 따른 광량 특성 결과

UV LED 전류값이 4mA-12mA까지 2mA씩 증가함에 따라 UV LED 광량 측정값($mW/cm^2$)이 증가한다.

표 1. UV 전류량에 대한 UV광량 특성
Table 1. UV intensity characteristics for UV current

| UV LED Electric current | UV LED Light measurement value |
|---|---|
| 4mA | 0.72mW/cm$^2$ |
| 6mA | 1.62mW/cm$^2$ |
| 8mA | 2.12mW/cm$^2$ |
| 10mA | 2.83mW/cm$^2$ |
| 12mA | 3.42mW/cm$^2$ |

### 4.2 형광 측정 결과

형광 발생 기준 Test-Strip 샘플을 만들어서, UV 광량 변화에 따라 PD Sensor 형광값을 측정해보았다.

표 2. UV 광량 변화에 따른 형광 출력값
Table 2. UV intensity characteristics for UV current

| UV LED light intensity | PD Fluorescence Output Value of Test Strip |
|---|---|
| 0.72mW/cm$^2$ | 385 |
| 1.62mW/cm$^2$ | 685 |
| 2.12mW/cm$^2$ | 955 |
| 2.83mW/cm$^2$ | 1310 |
| 3.42mW/cm$^2$ | 1660 |

형광 발생 기준 Test-Strip용지를 사용해서 세 가지의 0.72mW/cm$^2$, 2.12mW/cm$^2$, 3.42mW/cm$^2$ 형광값을 측정해 보았다.

표 3. UV 광량 세기에 따른 8채널에서 형광 출력값
Table 3. Fluorescence output values in 8 channels according to UV light intensity

| UV LED Light intensity value | Test-Strip 8-channel PD fluorescence output value | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 0.72mW/cm$^2$ | 365 | 430 | 350 | 355 | 405 | 395 | 485 | 345 |
| 2.12mW/cm$^2$ | 955 | 1115 | 880 | 900 | 895 | 1065 | 1265 | 920 |
| 3.42mW/cm$^2$ | 1785 | 1910 | 1625 | 1630 | 1675 | 2030 | 2320 | 1640 |

위의 실험을 통해서 900 전후의 값이 나오는 2.12mW/cm$^2$ 전류량은 8mA가 적정한 UV LED 광량 세기라고 본다.

### 4.3 8채널 UV LED 광량 2.12mW/cm$^2$ 조건에서 실제의 BI값에 대한 측정 결과

표 4. 8채널 UV LED광량 2.12mW/cm$^2$ 조건에서 실제의 BI값에 대한 측정값
Table 4. Measurement value for actual BI value under 8-channel UV LED light intensity 2.12mW/cm$^2$ condition

| channel number | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1st | 1192 | 1440 | 1142 | 1164 | 1198 | 1390 | 1616 | 1186 |
| 2nd | 1432 | 1772 | 1408 | 1450 | 1508 | 1762 | 1978 | 1492 |
| 3rd | 1584 | 1936 | 1566 | 1586 | 1634 | 1852 | 2190 | 1654 |
| 4th | 1418 | 1774 | 1406 | 1460 | 1502 | 1752 | 1974 | 1468 |
| 5th | 1362 | 1658 | 1346 | 1358 | 1418 | 1624 | 1850 | 1420 |
| 6th | 1648 | 2030 | 1616 | 1658 | 1738 | 1990 | 2282 | 1704 |
| 7th | 1490 | 1870 | 1494 | 1524 | 1602 | 1868 | 2122 | 1634 |
| 8th | 1344 | 1630 | 1354 | 1374 | 1408 | 1570 | 1778 | 1448 |
| 9th | 1436 | 1734 | 1368 | 1424 | 1492 | 1708 | 1930 | 1468 |
| 10th | 1430 | 1732 | 1420 | 1452 | 1462 | 1714 | 1980 | 1404 |
| Mean (Deviation) | 1430 (119) | 1757 (157) | 1412 (124) | 1445 (127) | 1496 (138) | 1723 (159) | 1970 (186) | 1487 (141) |

실제의 생물학적 표시기(Rapid Biological Indicator)를 이용해서 채널별 10회의 실험값 중에서 가장 높은 평균값과 표준편차가 나온 회차는 6회차로서 평균값이 1833이 나왔고, 표준편차는 224가 나왔다. 8회의 결과가 평균값이 1488이 나왔고, 가장 적은 표준편차인 146이 나왔다. 채널간 비교해서는 7채널에서 가장 높은 평균값인 1970과 표준편차가 186이 나왔다. 1채널이 채널간 가장 적은 표준편차인 119의 값이 나왔다.

## Ⅴ. 결론 및 검토

생물학적 표시기를 이용한 멸균 자동 판독장치의 입사 UV 광량에 따른 형광 방출 특성 연구는 적합한 UV LED 광량을 찾고, 적절한 UV LED의 광량을 통해서 표준으로 설정한 형광 Test-Strip을 통해서 UV LED 광량을 통한 PD sensor의 형광값을 확인하므로써 UV LED의 광량 특성을 연구 할 수 있었고, UV LED의 광량에 따른 특성 연구는 다음과 같은 결과를 도출할 수 있었다. 8채널에 대한 UV LED 광량에 대한 0.72mW/cm$^2$, 2.12mW/cm$^2$, 3.42mW/cm$^2$ 세 조건에서의 비교 실험 결과 세 조건의 UV LED 광량에 대한 비교 실험은 형광 발생 기준 Test-Strip 용지 사용해서 안정적인 UV LED 광량을 찾아내기

위한 실험으로 형광 발생 기준 Test -Strip 용지 사용의 형광값이 900이 되는 용지를 사용했기 때문에 UV LED 광량의 세기에 따라 가장 유사한 UV LED 광량은 2.12(40%)mW/cm$^2$가 가장 근접한 값을 찾을 수 있었다.

UV LED 광량 2.12(40%)에 전류 8mA을 비추어서 ㈜챔버사 신속한 생물학적 표시기(Rapid Biological Indicator)를 8채널에 걸쳐서 10회 반복실험한 결과 가장 높은 값인(6회차) 평균값이 1833이 나왔고, 표준편차는 224가 나왔다. 표준 형광 Strip을 통해서 실험한 결과 표준편차는 19.96에 비해서 다소 높게 나왔지만, 실제의 살아있는 $10^6$균 이상을 가지고 실험한 것이기 때문에 표준편차가 커질 수 있다는 것을 감안해야 한다. 대체로 10회 실험했을 경우, 형광값 평균이 1590이 나왔고, 평균 표준편차는 175가 나왔다. 결론적으로, 최적의 UV LED의 광량을 찾고, 안정적인 형광값을 얻어내는 것이 위의 모든 실험의 주요한 핵심이다. UV LED 광량의 세기에 따라, PD 형광값이 정비례하게 증가한다는 것과 UV LED의 적절한 광량을 찾는 것이 이 실험의 주요한 목적이었다. 또한, 살아있는 균을 가지고 대체로 일정한 결과값을 얻어냈다는 것은 우수한 측정 결과라고 본다.

## References


[1] S. Lee, M. Shim, S. Kim and G. Kim, *Principles and Practice of Sterilization*, Hyunmunsa: 2004, pp.186~196.

[2] Y. Kim, G. Lee, and Y. Kim, "Miniature Fluorescence Detection System for Protein Chip," *The Korean Institute of Electrical Engineers*, 2002, pp.254~256. doi.org/10.1117/12.583281

[3] K. Cho, J. Seo and S. Choi, "Design of a customizable fluorescence detection system for fluorescently labeled tumor cells," *Biomedical Engineering Frontiers*, vol. 23, no. 3, 2019, pp261~266 doi/10.34133/bmef.0005

[4] C. Lee, "Trends and Development Directions of Fluorescence Detection Technology", *Korea Institute of Science and Technology Information Technical report.* 2021. doi: 10.3389/fonc.2024.1383798

[5] J. Michelle, O. Nancy, *Infection Control & Hospital Epideniology*, Cambridge University Press: 02 January 2015.

[6] S. Chae, E. Kim and H. Jang, "Safety Assessment of an Intrinsic Fluorescence Method for Monitoring Lactic Acid Bacteria," *The Korean Journal of Community Living Science*, vol. 30, no. 3, 2019, pp327-339. doi: 10.1016/j.ajic.2013.09.015

[7] C. Choi, *Color Management Lecture*, Mijinsa: 2021, pp.87-89.

[8] C. Phillip, "Evaluation of a new rapid readout biological Indicator for use in 132℃ and 135℃ vacuum-assisted steam sterilization cycles," *American Journal of Infection Control*, vol. 42, no. 2, 2014, pp17-21. doi: 10.1016/j.ajic.2013.09.015

[9] D. Jameson, *Introduction to fluorescence*, Taylor & Francis: 2014, pp191~213.

[10] B. Fraser, C. Murphy and F. Bunting, *Color Management*, Vase: 2009, pp.25-62.


## 저자 소개


### 송 혁 (Hyeok-Song)

2006년 연세대학교 의용전자공학 졸업(공학사)
2022년 을지대학교 대학원 생체의과학융합학과 졸업(공학석사)
2024년 을지대학원 생체의과학융합학과 박사 수료
2006년~2008년 ㈜화인메디케어 근무
2008년~2024년 현재 ㈜챔버 대표이사, 멸균검증전문회사
※관심분야 : 멸균검증시스템, 멸균통합관리시스템, 멸균기, 전자의료기기

### 이우철(Woo-Cheol Lee)

1983년 건국대학교 전자공학과 졸업(공학사)
1986년 건국대학교 대학원 전자공학과 졸업(공학석사)
2006년 국민대학교 대학원 전자공학과 졸업(공학박사)
1979년~1993년 서울대학병원 의공학과 연구원
1993년~2023년 현재 을지대학교 바이오융합대학 의료공학과 교수
2012년~2021년 을지대학교 바이오 메디테크 산업화 지역혁신센터 소장
2017년~2024년 현재 을지대학교 대학원 생체의과학융합학과 교수
※ 관심분야 : 생체계측, 헬스케어시스템, 전자의료치료기기, 회로 및 시스템