

라만 신호의 재현성을 높이는 스펙트럼 Smoothing 방법

손원범¹, 신영권¹, 김수근^{1,2}, 이수열^{1,2}

sylee01@khu.ac.kr

¹경희대학교 생체의공학과, ²최소침습 정밀표적 연구센터

질병을 진단하는데 있어 라만분광법은 신호의 세기가 작고 재현성이 낮다는 한계를 가지고 있다. 최근 라만 신호의 낮은 재현성을 높이기 위한 신호처리 연구가 활발히 진행되고 있으며, 본 실험에서는 smoothing의 여러 요소들을 변경해가며 물질의 동일한 지점에서 얻은 신호의 상대표준편차를 비교하여 재현성을 높이는 조건을 찾았다.

1. Introduction

Raman Spectroscopy

- 라만분광법은 빛이 매질을 통과할 때 발생하는 라만산란을 통해 분자의 진동 스펙트럼을 관찰하여 물질의 분자구조를 파악하는데 사용되고 있다.
- 최근 라만분광법의 비침습적이고 비파괴적인 장점 덕분에 질병을 진단하는데 있어 많은 주목을 받고 있다.
- 하지만 라만분광법은 신호의 세기가 작고 재현성이 낮다는 한계를 가지고 있다.



라만분광법의 한계를 극복하기 위해 장비를 발달시키거나^[1]
새로운 신호처리 방법^[2]을 개발하려는 노력이 이어지고 있다.

Objectives

- 라만분광법에서 사용하는 신호처리 방법 중에서 재현성을 높일 수 있는 smoothing 방법을 찾아본다.
- 또한, 동일한 smoothing 방법에서 window size, smoothing order 바꾸어가며 조금 더 재현성을 높일 수 있는 방법을 찾아본다.

2. Method

Experimental setup

- 사람피부와 비슷한 돼지피부를 이용하였다.
- 돼지피부를 2cm X 2cm 크기로 자른 후, 공초점 라만현미경과 785nm 레이저를 이용하여 돼지피부의 동일한 지점에서 5분 동안 300개의 라만 데이터를 추출하였다.

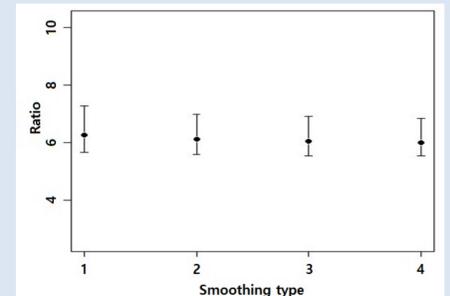
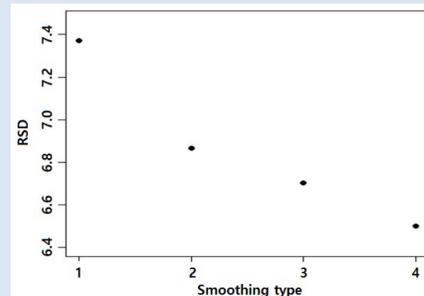
Data analysis

- 라만 스펙트럼의 재현성을 높이는 smoothing 방법을 찾기 위해 baseline correction은 5차 polynomial regression로, normalization은 vector normalization으로 고정하였다.
- 재현성을 평가하기 위해 각 smoothing 방법에서 얻은 스펙트럼에서 돼지피부에서 재현성이 좋다고 평가되는 1003cm⁻¹(phenylalanine breathing)과 1443cm⁻¹(CH₂ deformation)의 세기 비율에 대한 상대표준편차를 구하였다.
- 추가적으로 재현성이 좋다는 smoothing 방법에서도 조금 더 재현성을 높여주기 위하여 window size와 smoothing order를 바꾸가며 동일한 방법으로 상대표준편차를 계산하였다.

3. Results

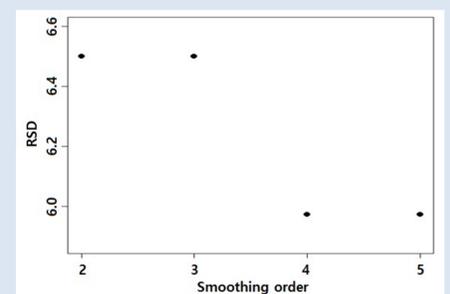
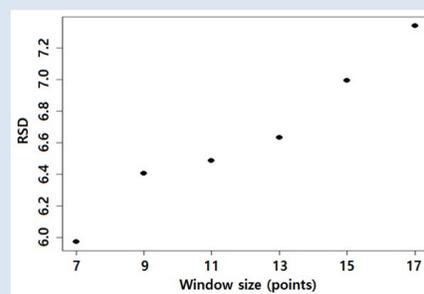
Choosing smoothing type

- Smoothing type을 no weight moving average(smoothing type 1), triangular moving average(smoothing type 2), Gaussian weight moving average(smoothing type 3), Savizky-Golay(smoothing type 4)로 바꾸가며 상대표준편차를 구해보니, 각각 순서대로 7.370%, 6.867%, 6.704%, 6.500%이 나왔다. 이를 통해 Savizky-Golay가 가장 재현성이 높게 나온다는 것을 확인하였다. (그림 1-(a))
- 상대표준편차가 낮을수록 재현성이 높아진다는 것의 정확도를 파악하기 위해 1003cm⁻¹과 1443cm⁻¹에의 세기 비율에 대한 평균을 계산해보니, 각각 6.245, 6.098, 6.042, 6.004가 나왔다. 이는 거의 변화가 없는 것으로 농도가 동일한 지점을 제대로 측정하였다고 볼 수 있으며, 따라서 재현성을 평가하는데 있어 상대표준편차를 이용하는 것은 합리적이라고 말할 수 있다. (그림 1-(b))



[그림 1] (a) Smoothing 방법을 바꾸가며 측정된 두 peaks(1003cm⁻¹과 1443cm⁻¹)의 세기 비율에 대한 상대표준편차 그래프, (b) 두 peaks의 세기 비율에 대한 평균과 표준편차 그래프

- Smoothing 방법을 Savizky-Golay로 고정한 상태에서 window size와 smoothing order를 바꾸가며 실험한 결과 window size는 작을수록, smoothing order는 클수록 재현성이 좋아진다는 것을 확인하였다. (그림 2)



[그림 2] (a) Savizky-Golay로 smoothing할 때 window size를 바꾸가며 측정된 상대표준편차 그래프, (b) 동일한 smoothing 방법에서 smoothing order를 바꾸가며 측정된 상대표준편차 그래프

4. Conclusion

- 적절한 Smoothing 방법(Savitzky-Golay)을 사용하여 신호처리를 함으로써 라만분광법에서 문제가 되고 있는 재현성을 충분히 보완할 수 있다.

5. Reference

- [1] Shangyuan Feng, Duo Lin, Juqiang Lin, Buhong Li, Zufang Huang, Guannan Chen, Wei Zhang, Lan Wang, Jianji Pan, Rong Chen, Haishan Zeng, "Blood plasma surface-enhanced Raman spectroscopy for non-invasive optical detection of cervical cancer", Analyst, 138, 3967-3974 (2013).
- [2] Jianhua Zhao, Harvey Lui, David I. McLean, Haishan Zeng, "Automated Autofluorescence Background Subtraction Algorithm for Biomedical Raman Spectroscopy", Applied Spectroscopy, 61, 1225-1232 (2007).

Acknowledgment

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korean Government (MSIP) (2015R1A5A1037656 and 2015M2A2A7A03043177).