

레이저 소스 진폭 변조 기법을 이용한 고해상도 파이버 타입 공초점 현미경 개발

Development of the fiber-type confocal microscopy of high resolution using amplitude modulation method

*김희승¹, 손병욱², 윤희선³, #박기환⁴

*H. S. Kim¹, B. U. Sohn², H. S. Yeon³, #K. H. Park (khpark@gist.ac.kr)⁴

¹ 광주과학기술원 기전공학과

Key words : Fiber confocal microscopy, Amplitude modulation/demodulation

1. 서론

공초점 현미경은 점광원과 점 검출기(Spatial pinhole)를 사용하여 초점 평면 외에서 반사되는 광신호를 제거하기 때문에, 기존 광학식 현미경에서 나타나는 광반(Optical flare)현상과 광학적 회절 현상 등을 줄여, 기존 광학방식 현미경보다 횡방향 해상도를 1.4배 이상 향상시키고, 종방향 해상도를 이론적인 광학 한계까지 증가시킨 측정 장비이다.[1] 특히 레이저를 광원으로 사용한 비 접촉식 측정 장비이므로, 시료의 진처리나 손상이 없이 고속 3차원 형상 측정이 가능하고, 정확한 표면의 높낮이 정보를 얻을 수 있기 때문에, 공업적인 계측 뿐 아니라 의료, 생물학 분야에 이르기까지 광범위한 분야에서 활용중이다. 그러나 광 검출기를 센서로 사용하는 공초점 현미경은 외부 광원이나 신호처리 회로에서 오는 노이즈의 영향으로 이론적인 해상도 달성 어려움이 있었다.

본 논문에서는 광원의 세기를 변조시키고, 광 검출기에서 측정 신호를 모듈레이션 시키는 앰플리튜드 모듈레이션 기법을 이용하였다. 이를 통해 외부 광원에 대한 효과와 신호 처리 회로에서 오는 노이즈를 제거하여, 이론적인 해상도에 근접하는 공초점 현미경의 개발하였다. 본 논문에서 제안하는 공초점 현미경은 구성이 간결하고, 설치가 용이하도록 Single mode Fiber와 655nm 파장의 LD(Laser Diode), APD(Avalanche Photo Diode)를 사용하였으며, S/N Ratio가 1:76, 수직 방향 분해능이 36nm, 수평 방향 해상도는 600nm 이다. 본 논문에서는 같은 조건에서 앰플리튜드 모듈레이션 기법이 적용된 공초점 현미경과 적용되지 않은 공초점 현미경의 성능을 비교하여, 제안하는 방법의 효과를 검증하였다.

2. 광섬유를 이용한 공초점 현미경

광섬유를 이용한 공초점 현미경은 일반적으로 사용하는 베어 타입(Bare type)의 공초점 현미경에 비해 그 구조가 간결하고, 소형화가 가능하며, 그 형태적 제약이 적다는 장점이 있다. 본 논문에서 제작한 광섬유를 이용한 공초점 현미경의 구성은 Fig. 1과 같다. 광원으로는 Sharp사의 Single mode이며 654nm 파장대의 10mw 광출력을 가지는 Gh06510B2A를 사용하였다. 광 검출기로 654nm에서 0.16 A/W의 광신호 민감도를 가지는 Hamamatsu사의 S2181 APD(Avalanche Photo Diode)를 사용하였다. 파이버 커플러는 50/50 분배비율을 가지며, 632nm에서 Single mode guiding이 가능한 광섬유를 사용한 Thorlabs 사의 50/50 파이버 커플러를 사용하였으며, Objective lens 는 N.A가 0.45이고, 50배율인 올림프스 사의 SLMP1an시리즈를 사용하였다.

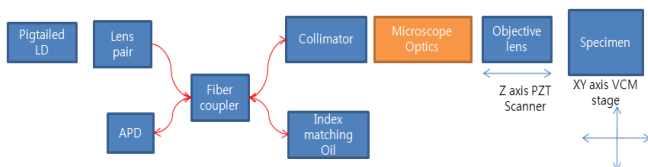


Fig.1 Schematic of fiber type confocal microscope

3. 공초점 현미경에서의 앰플리튜드 모듈레이션

광섬유를 이용한 공초점 현미경의 거리에 따라 정규화 된 측정 신호의 세기 $I(z)$ 는 Eq(1)과 같이 광원의 파장길이 λ , 대물렌즈의 N.A, 반사면에서의 반사율 n , 광축과 입사광 간의 호각의 1/2인 θ_0 , 시편과 대물렌즈 사이의 수직거리 z 의 함수로 나타낼 수 있다.[2]

$$I(z) = \left(\frac{\sin(u/2)}{u/2}\right)^2 = \left(\frac{\sin[nkz(1 - \cos\theta_0)]}{nkz(1 - \cos\theta_0)}\right)^2 \quad \text{Eq(1)}$$

$$\text{where } u = 2nkz(1 - \cos\theta_0), \quad k = \frac{2\pi}{\lambda}$$

공초점 현미경의 수직 거리 해상도는 일반적으로 수직방향 측정 신호 세기 선도에서 3-dB point (Half-power point)로 정의되며, Eq(2)와 같이 간략히 표현된다. 본 시스템의 이론적 수직 거리 분해능은 530nm이다.[2]

$$d_z(3db) = \frac{0.45\lambda}{n(1 - \cos\theta_0)} \quad \text{Eq(2)}$$

본 논문에서 적용한 앰플리튜드 모듈레이션 기법은 먼저 공초점 현미경의 광원으로 쓰이는 레이저를 원하는 주파수의 사인 신호로 모듈레이션 하는 것에서 시작한다. LD의 특성 때문에 일정 전압 이상 인가 후, 소신호를 실어주는 방법으로 모듈레이션 한다. Fig. 2(a)은 공초점 현미경의 수직거리 변화에 따른 측정 신호 세기의 변화를 보여준다. 이 신호는 일련의 과정을 거쳐 APD에서 측정이 되며, Fig. 2(b)와 같이 초점 평면에서 입력된 빛은 앰플리튜드가 크고, 초점 평면이 아닌 곳에서 입력되는 빛은 앰플리튜드 값이 작음을 알 수 있다.

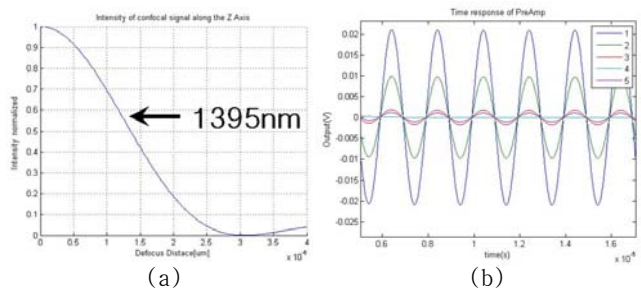


Fig. 2 (a) The measured depth response of Confocal microscope, (b) Amplitude difference between focal plane and others

이러한 측정 신호는 Eq(3)과 같이 모델링할 수 있다. Eq(3)에서 w 는 레이저 광원을 모듈레이션 시켜주는 주파수이며 500Khz로 가진하였다. Noise는 APD에서 측정되는 신호에서 측정되는 외부 광원(형광등)에 의한 120hz 노이즈와 신호 처리부에서 오는 고주파 노이즈로 모델링 하였다. A는 광섬유를 이용한 공초점 현미경에서 시편의 형상을 나타내는 신호이며, Fig. 2(b)에서의 앰플리튜드와 같다. 모델링 된 측정신호 S에서 노이즈를 제거하고, A값을 획득하기 위해 다음과 같은 디모듈레이션

기법을 이용하였다. 먼저 Cutoff Frequency가 300Khz인 HPF를 이용해 Noise를 제거한 후 Eq(4)과 같이 양변을 제곱해 준다. 삼각함수의 성질을 이용해 Eq(5)를 정리한 후, Cutoff Frequency가 50Khz인 4차 LPF를 이용하여 상대적으로 고주파인 cos항을 제거하여, Eq(6)과 같은 형태를 만들었다. 이와 같은 디모듈레이션 기법을 이용해 Eq(3)에서 노이즈를 제거하고 원하는 신호인 A항을 선택적으로 분리하였다.

$$S = A \sin(\omega t) + Noise \quad \text{----- Eq(3)}$$

$$S^2 = A^2 \sin^2(\omega t) \quad \text{----- Eq(4)}$$

$$S^2 = \frac{A^2(1 - \cos(2\omega t))}{2} = \frac{A^2}{2} - \frac{A^2 \cos(2\omega t)}{2} \quad \text{-- Eq(5)}$$

$$S^2 = \frac{A^2}{2} \quad \text{----- Eq(6)}$$

4. 실험결과

Fig. 3(a)는 제작한 광섬유 타입 공초점 현미경에서 신호처리부로 입력되는 신호이며 LD를 모듈레이션 했을 때와 하지 않았을 경우, 시료가 초점 평면에 있는 경우와 그렇지 않은 경우에 대한 보여 준다. 파란색 띠처럼 보이는 것은 초점이 맞은 경우, LD가 500Khz가진 되었고, 120hz 외부 광원에 의한 노이즈가 더해진 형태의 신호를 의미한다. 빨간색 띠는 초점이 맞은 경우, 120Hz의 외부 광원에 의한 노이즈가 포함된 신호를 의미한다. Fig. 3(b)는 Fig. 3(a)부분을 부분 확대한 것을 보여준다. Fig. 3(c)는 모듈레이션을 한 경우, Gain과 HPF로 구성된 preAmp단을 통과한 신호와, 모듈레이션을 하지 않은 경우, Gain 과 LPF로 구성된 preAmp단을 통과한 입력신호를 보여준다. 초점이 맞은 경우의 최대 신호크기와 초점이 맞지 않은 경우의 최소 신호 크기, 그리고 각 경우에서의 최대 노이즈 레벨을 측정하기 위해 시료를 수직 방향으로 초점 평면으로부터 신호가 줄어들다가 변화가 없어지는 지점까지 2 nm씩 PZT 스테이지를 이용해 이송하였다. Fig. 3(d) 위 실험의 결과를 보여준다. 모듈레이션을 하지 않은 경우 최대 출력 신호는 2.8V, 최소 출력 신호는 2.0V이며 외부 광원에 의한 120hz 노이즈는 제거되지 않았으며, 그 크기는 100mV급으로 이 경우 S/N Ratio는 1:8이므로, 전기적인 수직 방향 측정 해상도는 350nm급이다. 모듈레이션을 한 경우 최대 출력 신호는 400mV, 최소 출력 신호는 20mV, 노이즈 레벨은 5mV 이내였다. 이 경우 S/N Ratio는 1:76이며, 모듈레이션을 하지 않은 경우 대비 9~10배의 분해능 향상을 확인할 수 있었다. 이 경우 전기적인 수직 방향 최대 측정 가능 해상도는 36nm 급임을 확인하였다.

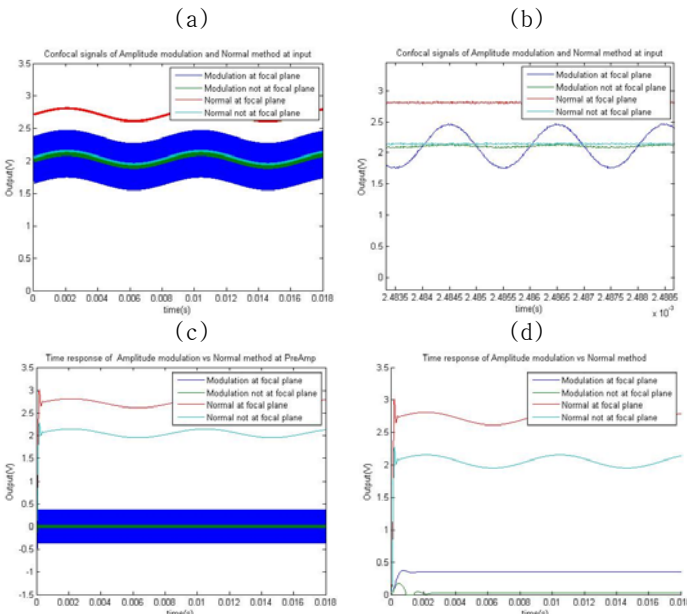


Fig. 3 (a) Confocal signals of amplitude modulation and normal

method at input, (b) Confocal signals of amplitude modulation and normal method at input, (c) Time response of amplitude modulation vs normal method at pre-amp, (d) Time response of amplitude modulation vs normal method.

Fig. 4(a)는 공초점 현미경으로 모듈레이션 기법을 적용하지 않고 측정한 이미지이다. Fig. 4(c)는 Fig. 4(a)의 빨간색 화살표 방향의 단면 신호이며, 외부광원에 의한 120hz 노이즈와 신호처리부의 전기적 노이즈의 영향으로 측정 면에 규칙적인 주름무늬를 확인할 수 있었다. Fig. 4(b)는 모듈레이션 기법을 적용한 측정 이미지이다. Fig. 4(d)는 Fig. 4(b)의 빨간색 화살표 방향의 단면 신호이며, Fig. 4(c) 대비 1/10의 노이즈 제거 효과가 있었음을 확인 하였다.

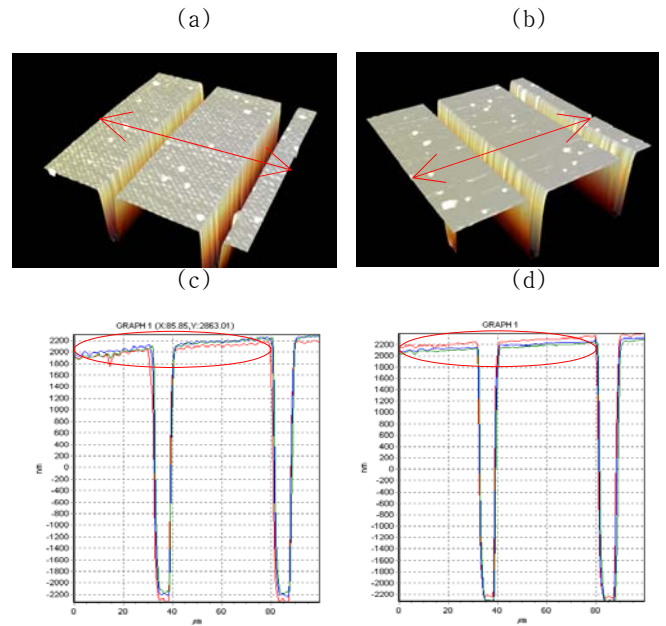


Fig. 4 (a) Confocal image using normal method, (b) Confocal image using amplitude modulation method, (c) Cross section signal of the confocal image using normal method, (d) Cross section signal of the confocal image using amplitude modulation method,

5. 결론

본 논문에서는 광섬유를 이용한 공초점 현미경의 이론적 해상도를 달성하기 위해 공초점 현미경의 레이저 광원의 앰플리튜드 모듈레이션/디모듈레이션 기법을 제안하였다. 이를 통해 제작한 광섬유 타입의 공초점 현미경이 이론적인 수직거리 해상도를 만족함을 실험을 통해 확인하였으며, 앰플리튜드 모듈레이션/디모듈레이션 기법을 적용하지 않은 공초점 현미경과 결과를 비교하여 성능 향상을 확인하였다.

참고문헌

1. T. Wilson, ed., "Confocal Microscopy", (Academic, London, 1990)
2. Timothy. R Corle, "Confocal Scanning Optical microscopy and related image system", (Academic press, 1996)
3. L hanzo, W.T Webb, T. Keller, "Single and Multi carrier Quadrature Amplitude Modulation", QAM-OFD, 11.15, 1999