

금속 표면의 공초점 현미경을 이용한 영상 처리

Image Processing on the Metal Surface using the Confocal Microscope

*#서명희¹, 김종배²

*#Myeong-Hee Seo¹(sign0924@naver.com), Jong-Bae Kim²

¹고등기술연구원, ²(주)엘에스텍

Key words : Laser, Image Processing, Wafer, Matlab, Confocal Microscope

1. 서론

인간에게 실제와 같은 3차원 영상 정보를 제공할 수 있는 3차원 디스플레이 장치에 관한 연구는 19세기 초반부터 지속적으로 수행되어 왔다. 이제까지 제안되었던 많은 3차원 디스플레이 장치들은 3차원 정보 전달에 사용 하는 인지 요소에 따라 크게 스테레오스코픽 (stereoscopic) 방식, 부피 (volumetric) 방식, 홀로그래픽(holographic) 방식으로 분류할 수 있다.¹

본 논문에서 사용한 3차원 영상 처리 방식은 공초점 현미경을 이용하여 찍은 2차원 영상을 가지고 구성하였다. 기존에는 전자현미경이나 광학현미경을 이용하여 시료의 구조를 관찰하였는데 전자현미경을 사용하면 높은 해상력으로 미세 구조를 볼 수 있지만 세포 또는 조직 처리 시 고정(fixations) 및 절편제작(sectioning) 과정에서 시료에 손상을 줄 수 있고, 연속절편을 관찰하더라도 삼차원적인 형태를 재구성하기가 어렵다. 그리고 광학현미경은 고정된 세포뿐만 아니라 살아있는 세포의 생명현상까지 관찰할 수 있다고는 하나 해상도가 낮고 두꺼운 조직은 선명하게 볼 수 없다는 단점이 있다. 그리하여 공초점현미경은 광학현미경 기법과 전자현미경 기법이 지니는 단점을 보완하는 동시에 이들이 갖지 못한 여러 가지 장점까지 보유하고 있는 우수한 현미경이라고 말할 수 있다. 본 연구에서는 Matlab을 이용하여 공초점현미경으로 찍은 2차원 영상을 3차원으로 구성하여 2차원 형상에 기초하여 비교 및 영상 기법을 적용하였다. 2차원 영상은 공초점 현미경을 이용하여 일차적으로 얻은 영상이므로 이는 프로그램을 이용하여 3차원적으로 나타내어진다.

2. 공초점 현미경의 원리

공초점 현미경이란, 시료에서의 초점과 검출기에서의 초점을 공유한다는 의미로 시료에 초점이 맞았을 때 가장 많은 빛이 검출되고, 초점을 벗어날수록 검출되는 빛의 양이 감소하게 된다. 이때 빔을 x-y축 방향으로 스캐닝하면서 검출되는 빛의 양을 화면으로 구성하면 시료 표면의 2D 영상을 얻을 수 있다. 공초점 현미경의 방식에는 기존의 핀홀을 사용하는 방식과 본 논문에서처럼 광섬유를 사용하는 방식이 있다. 핀홀 방식의 공초점 현미경을 그림 1에 나타내었다.

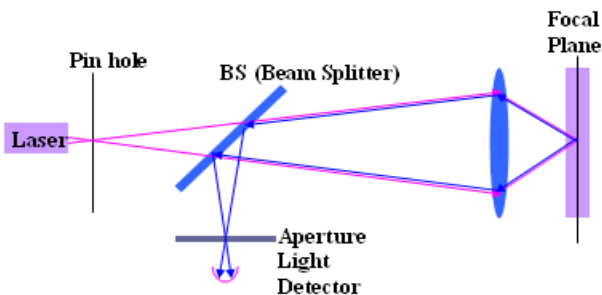


Fig. 1 Confocal microscopy using the pin-hole

핀홀 방식은 두 개의 핀홀을 사용하는데 첫 번째 핀홀은 레이저 광원으로부터 나오는 산란광을 크게 감소시켜 주고, 두 번째 핀홀은 시료의 초점으로부터 벗어난 다른 영역의 정보를 제거하는데 기여된다. 공초점이란 광원이 되는 레이저에서 시료의 초점과 일치하지 않는 빛은 제거하고 초점과 일치하는 빛만 분석에 이용한다는 것으로써 두 번째 핀홀이 이와 같은 역할을 한다. 이러한 핀홀 방식은 두 개의 핀홀을 사용하므로 광학계가 복잡하고 커지게 된다.

이에 대응한 방식으로 적용된 것이 광섬유를 이용하는 방식인데, 광섬유가 핀홀의 역할을 대신할 수 있어서 광학계가 간단해지고 헤드의 크기가 작아서 소형 제작이 가능하다. 소형으로 만들면 유연성이 좋기 때문에 반도체 장비 등에 장착이 유리하다.

전체적인 실험 장치는 그림2와 같고, 광섬유를 직접 구동하는 레이저 주사 타입의 공초점 현미경으로 구성하였다. 먼저 시료를 공초점 현미경의 시료대에 올려놓고 공초점현미경의 영상을 모니터 화상으로 보면서 분석하고자하는 시료의 한 부분에 레이저 빔의 초점을 맞춘다. 본 실험에서 사용한 광원은 658nm파장을 사용하였고, 반경이 3 mm인 대물렌즈를 사용하였다. 편광유지 단일모드 광섬유(single mode polarization maintaining fiber)는 0.45NA, 코어 크기가 5.3±0.5 μm이다. 수평 편광된 레이저 빔은PBS (Polarized beam splitter)를 통과하여 광섬유로 커플링된다. 광섬유를 통과한 레이저 빔은 Y축 스캐너인 볼록렌즈를 통과하여 시료에 조사된다. 시료에서 반사된 레이저 빔은 광섬유를 통과한 후 PBS에 반사되어 APD로 검출된다. 이렇게 검출된 신호는 0-1V의 전압 값에 따라 흑백의 명암을 모니터에 나타내게 되는데, offset과 gain회로를 사용하므로 시료에 맞는 증폭율로 조절할 수 있게 구성하였다.²

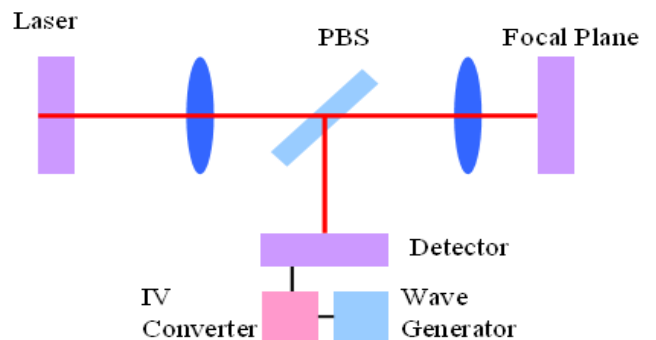


Fig. 2 Confocal microscopy using the optical fiber

3. 영상처리 분석 및 결과

시료를 스캐닝 함으로써 얻은 2차원 이미지는 간편하게 3차원 화할 수 있으며 이미지 형상에 따라 다양한 필터링 기법을 적용하여 적합한 이미지를 구현할 수 있다. 2차원 표면 좌표에 대한 정보를 획득하면 3차원 화할 수 있으며, 얻어진 이미지를 소프트웨어를 사용하여 분석할 수 있다. 이를 위하여 Matlab을 선택하였고, 이 언어와 소프트웨어는 Mathworks에 의하여 개발되었다.

이를 사용하면 영상에 대한 계산적인 결과를 충분히 만족할만한 해결책을 얻을 수 있다.

또한 보정 기법으로 다양한 필터링 기법이 개발되어 향상된 질의 이미지를 얻을 수 있다. 3차원 이미지화하는 방법에 대해서는 여러 가지 기법들이 소개되어지고 있으며 이러한 수많은 이미지 프로세스 방법과 그들의 조합은 그들 가운데 어떠한 방법을 선택할 것인가 하는 것이 관건이 된다. 본 논문에서는 Matlab을 이용한 방법으로 구성하였다. 이를 이용하면 3차원 이미지 재구성에 있어서 재빠르게 디자인할 수 있고 원형을 보존할 수 있으며, 그래픽적인 시물레이션과 효과적인 코드 구성을 할 수가 있다.³

3.1. 공초점 현미경에 의한 2차원 영상 분석

대부분의 현미경들은 2차원 내에서는 정밀한 상을 얻을 수 있으나 2차원 영상으로 3차원 구조를 재구성하게 되면 시료 내 빛의 분산과 초점을 벗어난 빛으로 인해 이미지 흐림이나 번짐 현상이 나타나게 된다. 이러한 현상을 해결하고 고해상도의 3차원 영상을 얻기 위해 개발된 공초점 현미경은 보다 정밀한 3차원 영상 정보를 제공해 준다. 2차원 정보를 얻는 과정에서 광학의 조도 조절과 검출 경로들이 빛의 전달에 영향을 주므로 검출 시스템 부를 PBS와 같은 렌즈부의 광학 소자를 영상 처리과정에 사용하여 이를 최적화하였다. 공초점 현미경을 통하여 나타난 2차원 영상은 그림 3과 같다. 그림3(a)는 격자 그리드를 나타내고, 그림3(b)에는 웨이퍼의 영상을 나타내었다. 공초점 현미경의 영상은 320×240 픽셀 사이즈로 200 μ m×200 μ m 크기의 영상을 초당 1프레임 획득하여 나타낸 것이다. 이때 x-y축 분해능은 1 μ m이고, z축 분해능은 10 nm이다.

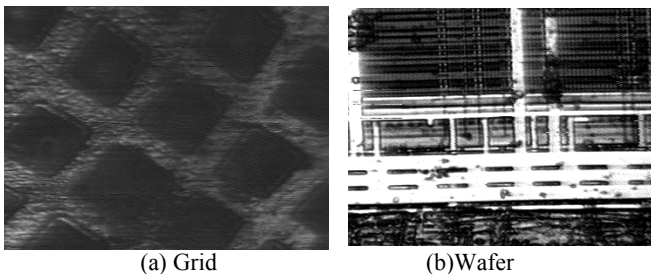


Fig. 3 Image of metal wafer using the Scanning Cofocal Microscopy

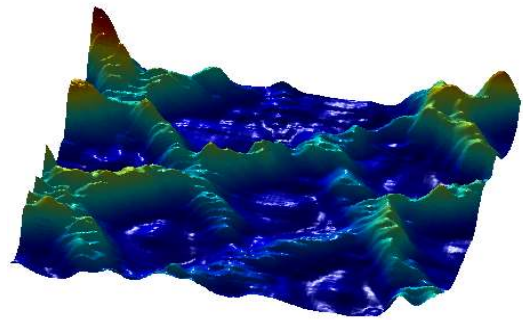
3.2. 영상 처리법에 의한 3차원 영상 분석

오늘날 선명하고 정확한 3차원 데이터를 얻어내기 위해서는 매우 정교한 데이터와 분석이 요구된다. 3차원 이미지를 얻기 위해서는 동일한 시료의 다양한 영역으로부터 얻은 일련의 데이터들이 필요하다. 시료의 2차원 표면 스캔(xy surface scan) 데이터에 대해서, 정보는 3차원 배열(array)로 나타낼 수 있다. 즉 공간적인 좌표정보를 나타내기 위하여 x와 y차원을 사용하고, z차원으로 스펙트럼 정보를 저장한다. 데이터에서 부가적인 스펙트럼 정보 차원은 시료 내부구조의 차이에 대한 유용한 정보를 제공한다. 한편 2차원 정보를 3차원 이미지화 하기 위해서 이미지의 정보를 이해하고 분석하는 것이 쉽지 않다. 따라서 데이터를 처리하는 소프트웨어가 필요하다. 이러한 컴퓨터 소프트웨어를 통해 3차원의 데이터 구조의 좌표에 필요한 정보를 얻을 수 있다.

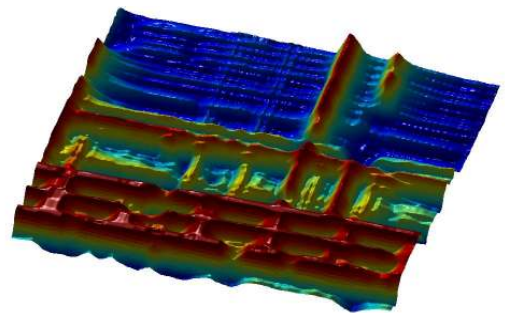
공초점 현미경으로 획득한 2차원 영상을 3차원 영상으로 변환하는 알고리즘은 다음과 같다.

먼저 획득한 영상을 2차 배열 형태의 이미지 데이터로 읽어온 후, 측정 노이즈를 제거하기 위해 2차원 FIR(finite impulse response) 필터를 응용한 Moving Average filter를 적용하여

3차원 z축의 높이 정보를 획득한다. 필터 처리된 데이터를 3차원 영상으로 표현하기 위해 z축의 최대/최소값에 대응되는 color-map를 적용하여 최종적으로 3차원 영상을 얻을 수 있다. 이렇게 얻은 3차원 영상을 그림 4에 나타내었다.



(a) 3-dimensional image of Grid



(b) 3-dimensional image of Wafer

Fig. 4 Image of metal wafer after the 3D Image Processing

4. 결론

공초점 현미경을 기존 현미경과 비교하면 z축 방향의 깊이 분해능과 시료평면 방향의 공간 분해능이 훨씬 우수하다. 또한 레이저 광원이 대물렌즈를 통하여 시료에 집중화된 초점을 벗어난 다른 영역의 산란광은 제외된다.

핀 홀 대신 광섬유를 이용함으로써 광학계의 구성이 간편해지고 이를 통하여 소형 시스템 제작이 가능하므로 이동이 편리하고 장비에 장착이 용이하다. 이러한 영상은 2차원 이미지를 얻을 수 있으며 이를 소프트웨어를 이용하여 3차원 화할 수 있다. 이러한 공초점 현미경은 시료준비의 간단함 이외에 공간분해능이 광범위하고 2차원 이미지를 획득하여 3차원 이미지 분석 등과 같은 강점을 가지고 있다. 향후 광파이버를 이용한 공초점 현미경은 나노기술 및 바이오 셀이나 금속 시료의 구조 분석 및 자동화 시스템에 장착하여 활용 가능할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. T. Okoshi, "Three-Dimensional Display," Proceedings of the IEEE, 68, 548-564, 1980.
2. M. H. Seo, "Measurement of Metal Structure by using the manufactured Scanning cofocal Microscopy," KSPE,25, 53-54, 2008.
3. Zarko Mijajlovic, "Matlab Toolbox for Analysis of 3D Images," Npernea, 4, 70-72, 2004.