

광섬유의 직접구동에 의한 공초점 현미경

Scanning Confocal Microscope

by direct drive of optical fiber

박두성, 류광현, 노정은, 김종배, 권남익

한국의국어대학교 물리학과

namic@hufs.ac.kr

편광 방향이 단일 모드의 유지되는 광섬유와 파장이 780nm인 반도체 레이저를 사용하여 간결한 구조의 beam scanning 타입의 공초점 현미경을 구성하였다.

공초점 현미경은 세포내의 생명 현상을 보다 잘 이해 할 수 있는 장비이기 때문에 기존의 현미경으로는 연구할 수 없던 생명현상을 연구할 수 있도록 여러 가지 강력한 연구수단을 제공하고 있다. 살아 움직이는 생명체를 관찰할 수 있는 공초점 현미경에서 중요한 것은 속도와 투과 깊이이고, 장기의 표면을 관찰하기 위해서는 크기가 작아야 한다. 작은 크기와 빠른 속도를 위해서 광섬유 끝에 고속의 초소형 scanner를 달아 x축을 scan하고 비교적 느려도 되는 y-축은 magnetic galvanometer를 사용하였다. 광섬유를 통해 레이저 빛이 전달해 오고 광섬유의 끝을 직접 x-축 scanner에 달아 구동함으로써 헤드의 크기를 축소 시켰다. 광섬유 자체를 편홀 대신에 사용함으로써 공초점 현미경의 특성을 그대로 가지면서 보다 간결하게 구성하였다.

반도체 레이저로부터 방출된 선형 편광된 빛은 PBS(Polarization Beam Splitter)를 지나고 렌즈에 의해 3.0dB인 편광유지 단일모드 광섬유(single mode polarization maintaining fiber)에 입사하게 된다. 수평 편광인 상태로 입사된 레이저 빛은 광섬유 밖으로 나온 후 quarter wave plate(QWP)를 통해 원형 편광으로 바뀌게 되고 x-y scanner에 의해 시료를 scan한다. 시료 표면에서 반사된 빛은 회전 방향이 반대인 원형 편광인 상태로 바뀌어 다시 QWP를 지나 수직 편광인 상태로 광섬유에 재 입사되고 이 빛은 PBS에서 분리되어 photodiode로 검출된다.

검출된 반사신호를 이용하여 영상을 획득하기 위하여 variable scan type 의 frame grabber board를 사용하였다. 이 board는 아날로그 형태의 영상 신호를 입력받아 컴퓨터에 저장 가능한 디지털 데이터로 변환한 후, 보드에 내장된 메모리나 인터페이스를 통해 다른 장치로 출력하는 장치이다. 일반적으로 Video에서는 1/60초당 1frame을 interlaced 방식으로 odd 또는 even을 주사하게 된다. interlaced 방식은 odd 혹은 even을 먼저 주사하고 나머지를 주사하는 방식이다. 본 실험에서는 non-interlaced 방식인 연속적(순차적인) 주사 방식을 사용하여 고화질인 영상을 획득하는데 사용하였다.

자체 제작한 x-축 scanner를 이용하여 7.54 KHz의 속도로 찍은 영상으로 320×240 픽셀의 1 frame 영상을 찍는데 1/15초가 걸렸다. 따라서 픽셀 수를 160×120으로 줄이거나 15 KHz의 속도로 x-축을 스캔하게 되면 실시간이 가능한 영상을 획득할 수 있게 된다.

그림 1은 $250 \times 250 \mu\text{m}^2$ 의 크기로 grid 표면을 1.24 KHz의 속도로 찍은 영상으로 한 격자의 크기가 $125\mu\text{m}$ 이기 때문에 약 2개 크기의 grid 가 확인할 수 있었다. 그림 2는 $15 \times 15 \mu\text{m}^2$ 의 크기로 CD 반

사표면을 찍은 영상으로 CD에는 폭이 $0.4\mu\text{m}$, 길이가 $0.9\sim 3.2\mu\text{m}$, 깊이가 $0.11\mu\text{m}$ 인 pit이 트랙을 따라 새겨져 있는데 트랙간의 간격은 $1.6\mu\text{m}$ 이므로 약 9줄의 트랙이 나타나는 것을 확인할 수 있다.

본 실험을 통해 파장이 780nm 인 반도체 레이저와 0.45 NA 의 대물렌즈를 사용하여 정밀한 시료 표면 검색이 가능함을 알 수 있었고 실시간에 가까운 영상을 얻을 수 있는 가능성을 확인할 수 있었다. 또한 종방향 반사신호의 곡선에서 반치폭이 수십 μm 정도로 넓은 경우에도 nm 단위의 종방향 분해능을 얻을 수 있으므로 광섬유를 직접 움직여도 영상의 일그러짐이나 깊이 정보의 변화가 없음을 보았다.

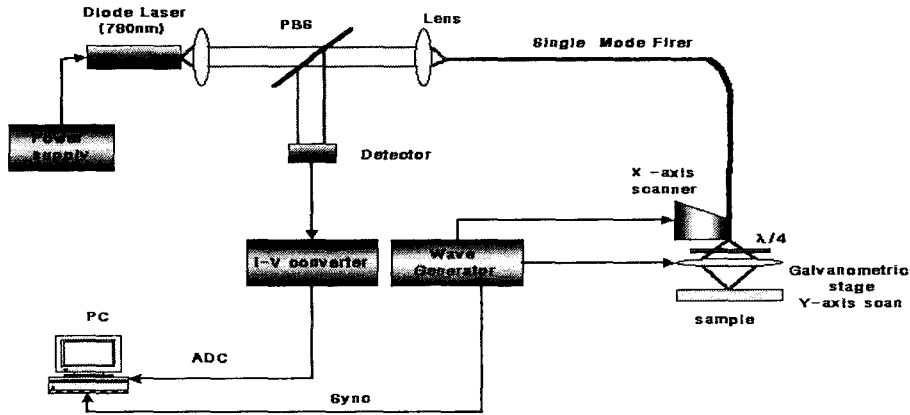


그림 1. 광섬유의 직접 구동에 의한 공초점 현미경의 실험 구성도

M
F

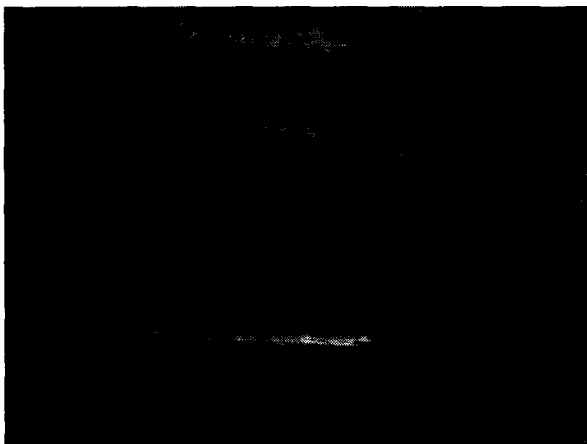


그림 2. Grid 표면 영상 ($250 \times 250 \mu\text{m}^2$)

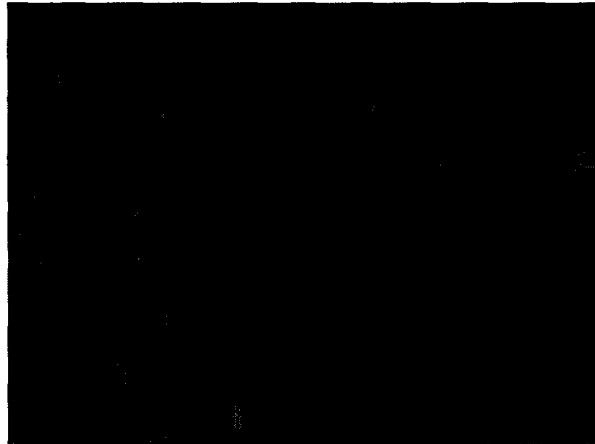


그림 3. CD 반사표면영상 ($15 \times 15 \mu\text{m}^2$)

[참고문헌]

1. C.J.R. Sheppard and D.M. Shotton, Confocal Laser Scanning Microscopy
2. Jeff Hecht, Understanding Fiber Optics
3. 김수철, 송장섭, 권남익, 응용물리. 9, 1, 1 (1998)