구경합성을 이용한 초고해상도 홀로그래피 영상 기술

DOI: 10.3938/PhiT.21.023

장재덕·박정훈·김규현·유현승·박용근

Super-resolution Holographic Imaging Techniques Using a Synthetic Aperture

Jaeduck JANG, Jung Hoon PARK, Kyoohyun KIM, Hyeonseung YU and YongKeun PARK

The advent of holographic imaging concepts for retrieving optical field images has led to the synthesis of optical fields to increase the spatial bandwidth or the numerical aperture in order to achieve extremely high spatial resolution beyond the diffraction limit. Here, we discuss the principle of synthetic-aperture microscopic techniques for super-resolution coherent imaging with differences in implementation and operation. Finally, we outline perspectives on potential developments.

광학 현미경은 17세기경 R. Hooke와 V. Leeuwenhoek에

저자약력

장재덕 박사는 2011년 KAIST(바이오뇌공학과)에서 박사학위를 취득하였으며, 현재 KAIST 의광학연구실에서 초고해상도 광학 영상 기술 개발에 참여하고 있다. (shyboy3@kaist.ac.kr)

박정훈 연구원은 KAIST 물리학과 석박사 과정으로서 2011년부터 KAIST 의광학연구실에서 초고해상도 광학 영상 기술과 결맞음 영상 기술 개발에 참여하고 있다. (beetlebum@kaist.ac.kr)

김규현 연구원은 KAIST 물리학과 석박사 과정으로서 2011년부터 KAIST 의광학연구실에서 초고해상도 광학 영상 기술과 결맞음 영상 기술 개발에 참여하고 있다. (kkh2580@kaist.ac.kr)

유현승 연구원은 KAIST 물리학과 석박사 과정으로서 2011년부터 KAIST 의광학연구실에서 초고해상도 광학 영상 기술과 결맞음 영상 기술 개발에 참여하고 있다. (akalidos@kaist.ac.kr)

박용근 교수는 Harvard-MIT(Health Science and Technology)에서 박사학위를 취득하였으며, 2010년부터 KAIST 물리학과에 근무하고 있다. 의학/생물학 연구를 위한 광기술 개발을 연구하고 있다. (yk.park@kaist.ac.kr)

의해서 소개되었다. 광학 렌즈들을 조합하여 만든 당시 현미경은 1 μm 크기의 물체까지 관찰했다는 기록이 있으며, 이후 20세기까지 큰 혁신 없이 미생물의 영상화 등에 사용되었다.^[1] 광학 현미경이 본격적으로 생물학과 의학에 사용되기 시작한 것은, 1950년 이후 F. Zernike에 의한 위상차 현미경(phase contrast microscopy)^[2] 그리고 G. Nomarski에 의한 미분간섭대조 현미경(differential interference contrast microscopy)의 발명 이후이다.^[3] 일반적으로 투명한 생물학적 시편을 높은 대조(contrast)를 가지는 광학 영상으로 측정하게 되면서 본격적으로 생물학과 의학 분야에 적용되기 시작하였다. 20세기의 다른 중요한 광학적 발견으로 D. Gabor에 의해 최초로 제안된 홀로그래피(holography) 기술이 있다.^[4] 홀로그래피 기술은 레이저를 이용하게 되면서 발전하여 3차원 영상 저장 및 복원 기술로 사용되고, 특히 위상 현미경과 결합하여 디지털 홀로그래픽 현미경의 등장으로 이어졌다.^[5-7] 레이저의 결맞음(coherent) 성질로 인해 간섭계를 활용한 위상 지연 측정과 홀로그래피의 활용이 쉬워지고, 홀로그래픽 광학 시스템과 영상 재현 방법을 간단히 구현할 수 있어서 명시야(bright-field) 현미경 분야에서 널리 사용되고 있다.

광학 현미경은 렌즈의 조합을 사용하여 사람의 눈으로 구

REFERENCES

- [1] H. Gest, Notes and Records of the Royal Society of London **58**, 187 (2004).
- [2] F. Zernike, Physica **9**, 686 (1942).
- [3] R. Allen, G. David and G. Nomarski, Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und mikroskopische Technik **69**, 193 (1969).
- [4] D. Gabor, Nature **161**, 777 (1948).
- [5] M. K. Kim, SPIE Reviews **1**, 018005-018005-018050 (2010).
- [6] G. Popescu, *Quantitative Phase Imaging of Cells and Tissues* (McGraw-Hill Professional, 2011).
- [7] J. Garcia-Sucerquia, W. Xu, S. K. Jericho, P. Klages, M. H. Jericho and H. J. Kreuzer, Applied Optics **45**, 836 (2006).

별하기 힘든 작은 물체를 확대하고 관찰할 수 있게 해준다. 광학 현미경의 분해능(가까이 붙어 있는 물체를 분해할 수 있는 능력, resolving power - 흔히 resolution이라는 용어로 지칭됨)은 (1) 대물렌즈의 구경수(Numerical Aperture, NA)와 영상 시스템에 사용된 빛의 파장(λ)과 관계가 있다. 일반적인 영상 시스템에서 결맞음 광원을 사용하는 경우, Rayleigh 조건으로 알려진 해상도 한계가 $0.6\lambda/NA$ 의 크기로 결정되고, 이때 얻을 수 있는 시편의 최대 공간주파수는 $1/\lambda$ 정도로 한정된다. 따라서 가시광선을 사용한 영상 기술에서 수평방향 해상도의 한계는 일반적으로 200~300 nm 정도가 된다. 대물렌즈에서 구경수는 매질의 굴절률(n)과 최대허용각도(θ)로 정의된다: $NA = n \sin \theta$. 구경수가 높을수록 높은 해상도를 가지게 되므로 공기($n=1$)보다 높은 굴절률을 가지는 매질(기름, 물, 글리세롤 등)을 사용하는 대물렌즈가 있지만, 매질의 사용으로 인해 특수한 시편에만 적용이 가능하게 된다. 이러한 문제를 해결하기 위해, 최근 홀로그래픽 영상을 통해 측정된 광학 정보를 재구성하여 대물렌즈의 구경을 넘어서 초고해상도 영상을 구현하는 합성 구경 현미경 기술들이 개발되어, 산업용이나 생물학 연구를 포함한 많은 분야로 널리 보급되는 중이다. 본 논문에서는 최근 활발하게 개발되고 있는 결맞음 광원을 사용하는 광학 영상 시스템에서 초고해상도와 넓은 관찰영역을 가지는 구경 합성 영상화 기법들에 대해서 소개하고자 한다.

일반적으로 높은 구경수를 가지는 대물렌즈를 사용하기 위해서는 관찰 영역(Field-of-view)이 좁아지고 특정 매질을 사용하는 조건을 만족해야 되므로 시편을 제작하고 관찰하는 방법에 있어서 많은 제약이 존재하게 된다. 따라서 가장 이상적인 관찰 조건은 높은 해상도를 가지고 넓은 관찰 영역을 가지며 시편을 제작함에 있어서 제약이 적은 대물렌즈로 영상화하는 것이다. 합성 구경 현미경은 이러한 조건을 만족시키는 방법으로 낮은 구경수를 가지는 대물렌즈를 이용하여 넓은 관찰 영역과 높은 구경수를 가지는 광학 시스템의 해상도를 구현할 수 있다. 또한 구경을 합성함으로써, 사용되는 광학 영상 시스템의 구경수를 뛰어넘는 초고해상도 영상을 얻을 수 있게 된다. 앞으로 본 논문에서는 구경 합성 현미경에서 사용되는 홀로그래피의 원리와 이를 활용한 구경 합성 현미경의 원리, 연구동향 및 활용 분야를 순서대로 소개하도록 하겠다.

홀로그래피의 원리

홀로그래피는 시편을 통과하며 산란된 빛의 파면과 산란되지 않은 파면간의 간섭(interference)을 기록하고 이를 재현하

Fig. 1. Optical configuration for (a) the off-axis holography measurement and (b) reconstruction. Optical configuration for (c) the in-line holography measurement and (d) reconstruction. Reproduced from Ref. [8].

여 시편의 3차원 정보를 재구성하는 기술로, 결맞음 광원인 레이저의 발명, 디지털 기록장치(카메라) 및 컴퓨터의 발전에 따른 수치 재현(numerical reconstruction) 기술 개발 등에 힘입어 생물학, 유체역학 등 다양한 분야에 쓰이고 있다.^[8]

시편에 광학장이 입사할 경우, 시편의 광학적 특성(굴절률, 두께, 형상 등)에 따라 산란된 빛과 산란되지 않은 입사 광학장이 간섭을 일으켜 카메라 등의 기록 장치에 도달한다. 이때, 영상 기록 장치는 간섭하는 빛의 세기(Intensity),

$$I = |\tilde{R} + \tilde{O}|^2 = |\tilde{R}|^2 + |\tilde{O}|^2 + \tilde{R}\tilde{O}^* + \tilde{R}^*\tilde{O}, \quad (1)$$

를 측정하게 된다. 입사하는 빛이 평행광인 경우 $|\tilde{R}|^2 = 1$, 산란이 적은 시편을 통과하는 경우 $|\tilde{O}|^2 \ll 1$ 이 되어, 결과적으로는 $I \approx 1 + \tilde{R}\tilde{O}^* + \tilde{R}^*\tilde{O}$ 의 홀로그램이 측정된다.

수식 (1)의 두 번째 항은 시편의 실상(real image), 세 번째 항은 시편의 허상(virtual image)을 나타내는데, 일반적인 경우 실상과 허상이 겹쳐 있어 홀로그램을 재현하기에 어려움이 있다. 이같은 홀로그램 측정 방식을 인라인 홀로그래피(In-line holography, 그림 1c)라고 하는데, 실상을 복원하기 위해 초점면이 다른 여러 장의 홀로그램을 측정하거나 프레넬-키르히호프(Fresnel-Kirchhoff) 회절을 이용하여 허상을 투영시킨 뒤 제거하는 방법이 사용된다(그림 1d).^[9] 인라인 홀로

REFERENCES

- [8] J. Katz and J. Sheng, Annual Review of Fluid Mechanics **42**, 531 (2010).
- [9] G. Liu and P. Scott, JOSA A **4**, 159 (1987).

Fig. 2. (a) Topographic image of a red blood cell measured by diffraction phase microscopy (reproduced from Ref. 19), (b) The three-dimensional distribution of refractive index of a HeLa cell by measured by tomographic phase microscopy (reproduced from Ref. 26).

그래피는 광학 장비의 구성이 쉽고, 입사 광학장과 산란 광학장의 간섭 무늬의 간격이 커서 비교적 낮은 분해능(pixel resolution)을 갖는 기록 장치를 사용해도 측정이 가능하다는 장점이 있어, 액체 매질을 떠다니는 무기물질 및 생물체의 크기와 속도 측정 등에 널리 쓰이고 있다.^[10,11] 하지만 인라인 홀로그래피의 경우 광축(optical axis) 방향으로의 분해능이 낮은 단점이 있으며, 이를 극복하기 위해 (1) 간섭을 일으키는 기준 파면(reference wavefront)의 위상을 바꾸어 가며 측정하는 시간 변조(temporal modulation) 혹은 위상 이동 간섭계(phase shifting interferometry),^[12,13] (2) 기준 파면이 산란 광학장의 광축에 대해 각도 차이를 가지고 간섭이 되게 하는 공간 변조(spatial modulation, 그림 1a-b),^[14-17] (3) 빛의 편광을 이용하는 편광 변조(polarization modulation)^[18] 등의 방법이 사용된다. 이 중 공간 변조 방법은 시간 변조 방법에 비해 빠르게 시편을 측정할 수 있으며, 입사 광학장과 산란 광학장의 각도 차이를 조절함으로써 일정한 간섭 무늬의 간격을 쉽게 바꿀 수 있으므로 보다 쉽게 광학장을 측정할 수 있다.

식 (1)에서 산란 광학장($\tilde{O}$)은 일반적으로 크기(amplitude)와 위상(phase)을 갖는 복소함수로, $\tilde{O} = |A| e^{i\Delta\phi}$ 로 쓸 수 있으며, 이 중 위상차($\Delta\phi$)는

$$\Delta\phi = \frac{2\pi}{\lambda} (n - n_m) d, \quad (2)$$

로 표현된다. 따라서 시편의 위상을 입사 파장(λ)에 대해 정량적으로 측정함으로써, 매질에 대한 시편의 굴절률 차이($n - n_m$)와 두께(d) 등의 정보를 구할 수 있다. 최근 개발된 회절위상현미경(diffraction phase microscopy)은 입사 광학장과 산란 광학장이 같은 광학 경로를 지나므로 위상 잡음이 적고, 공간 변조 방법을 이용하여 빠르게 움직이는 동적 시편을 측정할 수 있어 수 나노미터 두께의 변화도 빠른 속도로

Fig. 3. The concept of synthetic aperture radar system. Reproduced from Ref. 30.

측정 가능하다.^[16,17] 이를 이용하여 적혈구 세포막의 진동 측정을 통한 적혈구의 역학적 물성치 도출, 세포의 생리학적 특성과의 관계 등의 연구가 활발히 진행 중이며, 또한 회절위상현미경으로 측정한 광학장을 푸리에 변환하면 원거리장 산란(Far-field light scattering) 신호를 쉽게 얻어 시편의 크기, 굴절률 분포를 쉽게 도출할 수 있다.^[19-24] 또한, 입사되는 빛

REFERENCES

- [10] W. Xu, M. Jericho, I. Meinertzhagen and H. Kreuzer, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98**, 11301 (2001).
- [11] F. C. Cheong, B. Sun, R. Dreyfus, J. Amato-Grill, K. Xiao, L. Dixon and D. G. Grier, *Opt. Express* **17**, 13071 (2009).
- [12] H. Schreiber and J. H. Bruning, *Optical Shop Testing* (Wiley, New York, 2007), pp. 547-666.
- [13] C. Fang-Yen, S. Oh, Y. Park, W. Choi, S. Song, H. S. Seung, R. R. Dasari and M. S. Feld, *Optics Letters* **32**, 1572 (2007).
- [14] P. Marquet, B. Rappaz, P. J. Magistretti, E. Cuche, Y. Emery, T. Colomb and C. Depeursinge, *Optics Letters* **30**, 468 (2005).
- [15] T. Ikeda, G. Popescu, R. R. Dasari and M. S. Feld, *Optics Letters* **30**, 1165 (2005).
- [16] Y. K. Park, G. Popescu, K. Badizadegan, R. R. Dasari and M. S. Feld, *Optics Express* **14**, 8263 (2006).
- [17] G. Popescu, T. Ikeda, R. R. Dasari and M. S. Feld, *Optics Letters* **31**, 775 (2006).
- [18] D. Hogenboom, C. A. DiMarzio, T. J. Gaudette, A. J. Devaney and S. C. Lindberg, *Optics Letters* **23**, 783 (1998).

Fig. 4. Schematic representation of the principle of synthetic aperture microscopy. (a) The illumination light wave, and scattered or diffracted waves in the sample plane (b) Regions of the available spatial frequencies for different image system. Purple circle: conventional coherent imaging system; Red circle: spatial frequencies available to the synthetic aperture; Green circle: available spatial frequencies when the on-axis restriction of the detector is removed; (c) Upper-right quadrant: The rectangular range of spatial frequencies available to a single holographic recording. The dependence of this region on the illumination-beam parameters is depicted in other quadrants. Reproduced from Ref. [31].

의 각도를 바꾸어가며 시편의 위상 정보를 얻어내어 시편의 3차원 굴절률 정보를 재구성하는 방식으로 이용하여 세포 내부의 3차원 구조를 외부 염색 물질을 사용하지 않고 영상화할 수 있으며,^[25,26] 생리학적 또는 병리학적인 변화에 따른 세포 내부 구조의 변화를 연구하는 데도 이용되고 있다.^[27,28]

합성 구경의 원리

합성 구경(Synthetic Aperture)의 개념은 레이더 시스템에서 처음 시작되었다.^[29] 레이더의 기본 원리는, 레이더에서 발생한 빛의 속도를 가진 펄스파가 측정 대상에 도달하여 반사된 후, 다시 레이더로 돌아올 때까지의 시간을 측정하여 물체의 위치를 파악하는 것이다. 레이더의 펄스파는 일반적인 라디오 주파수를 이용하므로, 레이더가 정지한 상태에서의 해상도는 수 km에 달하게 된다. 만약 수십 미터 단위로 해상도를 높이기 위해 큰 구경수를 가지는 레이더를 만든다면, 길이가 수백 미터에 달하는 레이더가 필요할 것이다. 레이더는 비행체에 탑재되어 이동한다는 점을 고려하면 이는 현실적으로 불가능하다.

하지만 레이더의 위치를 움직일 수 있다면 구경 수를 넓히는 효과를 가져올 수 있다. 그림 4와 같이 레이더를 비행체에 탑재된 상태로 이동(A→B→C→D)하며 관측하면, 마치 비행체가 일정 시간 동안 총 이동한 거리에 해당하는 크기의 큰 레이더를 사용하는 효과를 얻을 수 있다. 이때 합성된 구경수는 실제 레이더의 구경수보다 크게 된다. 이러한 효과를 이용한 레이더를 합성 구경 레이더(synthetic aperture radar)라고 한다.^[29] 합성 구경 레이더를 구현하는 방식은 도플러 효과를 고려하는 것이다. 비행체가 물체에 대해 상대속도를 가지고 있으므로, 물체가 비행체 앞에 있으면 양의 도플러 변이를 갖고, 물체가 비행체 뒤에 있으면 음의 도플러 변이를 가진다. 즉 레이더가 정지한 상태에서는 한 개의 구경 안에서 구분할 수 없었던 물체를, 다른 위치에서 측정된 정보를 합성함으로써 매우 큰 구경에서 측정된 것과 같은 세밀한 영상을 얻을 수 있게 된다. 이 경우에는 레이더 크기의 절반에 해당하는 높은 해상도를 얻을 수 있다.

합성 구경 홀로그래피 현미경의 원리

앞서 살펴 본 합성 구경 레이더 시스템에서는 펄스파의 도달 시간 정보만을 이용하여 영상화하는 대신, 도플러 효과를

REFERENCES

- [19] Y. Park, C. Best, K. Badizadegan, R. Dasari, M. Feld, T. Kuriabova, M. Henle, A. Levine and G. Popescu, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**, 6731 (2010).
- [20] Y. K. Park, C. A. Best, T. Auth, N. S. Gov, S. A. Safran, G. Popescu, S. Suresh and M. S. Feld, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**, 1289 (2010).
- [21] H. F. Ding, Z. Wang, F. Nguyen, S. A. Boppart and G. Popescu, *Phys. Rev. Lett.* **101**, 238102 (2008).
- [22] G. Popescu, Y. Park, N. Lue, C. Best-Popescu, L. Deflores, R. Dasari, M. Feld and K. Badizadegan, *Am. J. Physiol.: Cell Physiol.* **295**, C538 (2008).
- [23] G. Popescu, Y. K. Park, R. R. Dasari, K. Badizadegan and M. S. Feld, *Physical Review E* **76**, 31902 (2007).
- [24] G. Popescu, Y. Park, W. Choi, R. Dasari, M. Feld and K. Badizadegan, *Blood Cells, Molecules, and Diseases* **41**, 10 (2008).
- [25] V. Lauer, *Journal of Microscopy* **205**, 165 (2002).
- [26] W. Choi, C. Fang-Yen, K. Badizadegan, S. Oh, N. Lue, R. Dasari and M. S. Feld, *Nat Methods* **4**, 717 (2007).
- [27] Y.-K. Park, M. Diez-Silva, G. Popescu, G. Lykotrafitis, W. Choi, M. S. Feld and S. Suresh, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **105**, 13730 (2008).
- [28] R. Chandramohanadas, Y. K. Park, L. Lui, A. Li, D. Quinn, K. Liew, M. Diez-Silva, Y. Sung, M. Dao and C. T. Lim, *PLoS ONE* **6**, e20869 (2011).
- [29] W. M. Brown, *IEEE Transactions on Aerospace and Electronic Systems* **AES-3**, 217 (1967).

Fig. 5. Experimental procedures of synthesizing the aperture. Eight regions of the spatial frequencies corresponding to different incident beam angles. They are combined into the center image of large synthetic aperture. The green and red dashed circles represent the available spatial frequencies of single and multiple holograms as shown in Fig. 4(b), respectively. Reproduced from Ref. [31]

이용하여 주파수 공간에서 산란 정보를 합성함으로써 높은 구경수를 얻었다. 광학 현미경에서도 동일한 개념을 적용하여, 시편에 대한 영상 공간에서 정의되는 구경을 퓨리에 변환 관계인 공간 주파수 공간(퓨리에 공간)에서 합성함으로써 동일한 효과를 얻을 수 있다. 그림 4(a-c)는 이러한 합성 구경 홀로그래피 현미경의 원리를 나타내고 있다. 그림 4(a)는 특정 입사 각도(θ_i)에 대해 샘플에서 산란된 정보가 측정 각도(θ_d)를 중심으로 삼각뿔 영역을 형성함을 의미한다.^[31] 퓨리에 공간에서 이 정보를 나타내는 공간 주파수는 다음과 같이 표현된다.

$$\nu = \frac{|\sin \theta_i - \sin \alpha_{out}|}{\lambda}, \quad (3)$$

일반적인 광학 영상 시스템에서 해상도는 대물렌즈에 의해 모아지는 가장 높은 공간 주파수로 정해지게 된다. 하지만 식 (3)에서 확인할 수 있듯이 입사각(θ_i)를 높이면 샘플의 높은 공간 주파수 정보를 담은 산란된 빛이 더 작은 각도로 굴절되어 낮은 구경수의 대물렌즈로도 측정이 가능하게 된다. 그림 4(b)는 이러한 방식을 통해 퓨리에 공간상에서 확장하여 측정할 수 있는 영역을 보여주고 있다. 중심의 보라색 원은 일반적인 영상 시스템에서 측정할 수 있는 영역을 나타내며, 빨간색 원은 합성 구경의 원리를 사용하여 측정할 수 있는 범위를 의미한다.

만약 측정기기가 퓨리에 공간상의 중심에 고정되어 있다는 제약 없이 측정 각도에 따라 움직일 수 있는 상황이라면, 초

Fig. 6. Schematic of the experimental system for synthetic aperture holographic microscopy in (a) reflection and (b) transmission geometry. Reprinted from Refs. [31-37].

록색 원 영역만큼의 정보를 더 얻을 수가 있다. 그림 4(c)의 오른쪽 위 빨간색 직사각형은, 식 (3)에 의해 주어지는 한 개의 홀로그램 측정에서 얻을 수 있는 정보의 영역을 의미한다. 이 영역의 위치는 빛의 파장이나 입사각에 따라 달라지므로, 그림 5에서 볼 수 있듯이 여러 개의 입사각에 대해 홀로그램을 측정하여 퓨리에 공간상에서 합성하면 높은 구경수를 얻을 수 있고 이로부터 높은 해상도의 영상을 복원할 수 있게 된다.

합성 구경 기술을 이용하게 되면 회절 한계를 넘어서는 초고해상도 영상이 가능해질 뿐만 아니라 결맞음 광원을 사용할 때 발생하는 스페클 잡음(speckle noise)도 저감된다. 결맞음 광원의 특성상 시편에서 발생하는 회절뿐만 아니라 광경로 내에 있는 모든 회절이 신호로 들어오고, 이들간의 약한 간섭효과로 인해 이미지에 작은 반점 무늬의 스페클 잡음이 생기는 문제가 발생한다. 영상에서 스페클 잡음을 저감시키기

REFERENCES

- [30] <http://www.radartutorial.eu/20.airborne/ab07.en.html>.
- [31] T. R. Hillman, T. Gutzler, S. A. Alexandrov and D. D. Sampson, Optics Express **17**, 7873 (2009).
- [32] N. George and A. Jain, Applied Optics **12**, 1202 (1973).
- [33] Y.-K. Park, W. Choi, Z. Yaqoob, R. Dasari, K. Badizadegan and M. Feld, Optics Express **17**, 12285 (2009).

Fig. 7. (a) Pentium Pro microprocessor imaged by bright-field reflection microscopy and 4X objective lens with NA=0.13; red box image is magnified in bottom image. Comparison results of single hologram (b) and synthesized holograms (c). Reproduced from Ref. [31].

위해서는 일반적으로 크게 광원의 시간적, 공간적 결맞음을 낮추는 방법이 사용된다.^[32,33] 합성 구경 현미경에서는 다양한 입사각으로 들어오는 평면파들이 퓨리에 공간상에서 합성되기 때문에, 각 입사각에 따른 시편에서 발생하지 않은 간섭 효과는 사라지게 된다.

최근 동향

앞에서 살펴본 합성 구경 기법의 원리를 위상 현미경과 결합하여 현미경에 응용한 연구들이 최근 활발하게 이루어지고 있다. 합성 구경 위상 현미경이라고 불리는 이 기술은 호주의 David D. Sampson 그룹^[31,34,35]과 스페인의 Javier Garcia 그룹^[36-38]이 주도하고 있으며, 넓은 관측 시야와 고해상도를 동반하는 것이 가장 큰 장점이다. 이들은 공통적으로 낮은 구경수의 대물렌즈를 이용함으로써 얻을 수 있는 넓은 관측시야 및 긴 초점 거리로 다양한 샘플들을 측정하였으며, 합성구경을 이용하여 해상도를 높일 수 있었다.

위상 합성 구경 현미경은 반사와 투과 방식 모두 가능하다. Sampson 그룹에서는 반사 방식(그림 6(a))으로 두꺼운 샘플의 영상화를 주로 수행하였으며 Garcia 그룹은 투과 방식(그림 6(b))의 현미경을 구현하여 얇고 투명한 시편들을 주로 영상화하였다.

합성 구경 현미경의 응용 분야

합성 구경 현미경의 원리는 위상 정보가 필수적인 표면 측정 분야와 생물 분야에서 활발히 응용되고 있다. 그림 7은 펜티엄 프로급의 마이크로프로세서를 측정한 결과로써 산업용

Fig. 8. Image obtained with a low NA objective lens for conventional (a) and synthetic aperture (b) methods. The phase maps for the conventional (c, e) and synthetic aperture (d, f) microscopes show the difference in resolution where we can clearly see the dimple, respectively. Scale bars in (a, b) are 50 µm. Reprinted from Ref. [37].

현미경에서 합성 구경 현미경을 이용하여 검사장비에 활용이 가능함을 보여주고 있다.^[31] 그림 6의 반사형 합성 구경 현미경을 활용하여 측정을 하였다. 마이크로프로세서의 넓은 면적을 동시에 검사하기 위해서 0.13 구경수를 가지는 4배 대물렌즈를 이용하였다. 그림 7(b)에서 보이는 영상은 기존 반사형 현미경에서 측정되는 영상을 나타내고 있다. 마이크로프로세서 칩 위에 나타나는 패턴이 깨끗하게 보이지 않지만, 합성 구경법을 이용한 우측 그림에서는 패턴이 깨끗하게 나타나는 것을 확인할 수 있다. 즉, 넓은 관찰면을 가지면서 높은 해상도를 가지는 광학 시스템이 구현된 것으로 합성된 구경수는 0.61 정도로서 일반적인 현미경 대물렌즈에서는 20~40배 정도 대물렌즈가 가지는 구경수에 해당된다.

합성 구경 현미경 기술은 특히 의학/생물학 분야로의 적용을 위해 빠르게 발전하고 있다. 그림 8은 합성 구경 현미경을

REFERENCES

- [34] S. Alexandrov, T. Hillman, T. Gutzler and D. Sampson, *Physical Review Letters* **97**, 168102 (2006).
- [35] T. Gutzler, T. R. Hillman, S. A. Alexandrov and D. D. Sampson, *Optics Letters* **35**, 1136 (2010).
- [36] L. Granero, V. Micó, Z. Zalevsky and J. García, *Applied Optics* **49**, 845 (2010).
- [37] V. Mico, Z. Zalevsky and J. García, *Opt. Commun.* **281**, 4273 (2008).
- [38] V. Mico, Z. Zalevsky, C. Ferreira and J. García, *Optics Express* **16**, 19260 (2008).

Fig. 9. Sperm cells at different axial planes. Digital focusing using (a, b) conventional imaging and using (c, d) synthetic aperture. Reprinted from Ref. [38].

사용하여 혈액을 영상화한 결과이다. 대면적 측정을 통해 많은 수의 적혈구를 한번에 고해상도로 측정할 수 있는 예이다. 구경수가 낮은 대물렌즈를 이용하여 관측시야가 매우 넓음에도 불구하고 합성 구경 현미경을 사용하는 경우 적혈구의 가운데 움푹 들어간 형상이 관찰되는 것을 확인할 수 있다.

또한 합성 구경 현미경은 일반 위상 현미경의 장점인 디지털 초점 맞추기가 가능하다. 그림 9는 두 개의 다른 평면에 위치한 정자들을 영상화한 결과를 보여준다. 하나의 합성된 광학장을 이용하여 고해상도의 영상의 광학장을 수치적으로 전개하여 서로 다른 수직 방향 면에 초점을 맞춘 영상을 얻을 수 있다.

결론

지금까지 합성 구경을 이용한 홀로그래피 현미경의 개념과 발전 동향에 대해서 살펴보았다. 기존 광학 영상 시스템의 해상도는 빛의 파장과 대물렌즈의 구경수에 따라 결정됨을 알 수 있었다. 일반적으로 고해상도 영상 획득을 위해서는 짧은 파장의 빛이나 높은 구경수를 가지는 렌즈를 사용해야 한다. 하지만 높은 구경수를 가지는 렌즈는 일반적으로 공기를 매질로 하지 않으며 짧은 작동 거리를 가지므로 시편을 준비할 때 특수한 조건이 필요하다. 하지만 낮은 구경수를 가지는 렌즈는 넓은 관찰면과 긴 작동거리를 가지기 때문에 다양한 시편의 영상 획득에 유리하다. 레이더에서 사용되던 합성 구경 개념을 광학 현미경 영상 기술에 적용함으로써 영상 시스템이 가지는 회절한계를 훨씬 뛰어넘는 고해상도 영상을 얻을 수 있을 뿐만 아니라, 낮은 구경수의 렌즈가 가지는 장점(넓은 관찰면, 긴 작동거리)과 높은 구경수의 렌즈가 가지는 장점(높은 해상도)을 동시에 이룰 수 있는 장점을 가지고 있다. 또한 합성 구경 개념은 광학 현미경뿐만 아니라, 인체 조직의 3차원 구조를 광학적으로 영상화하는 빛 간섭 촬영 기법(optical coherence tomography)에도 응용이 되고 있다.^[39] 본 논문에서 소개된 합성 구경 현미경은 산업용 정밀 측정 분야뿐만 아니라 위상 현미경을 활용한 생물학 분야 응용에 이르기까지 다양하게 활용될 것으로 기대된다.

REFERENCES

- [39] T. S. Ralston, D. L. Marks, P. S. Carney and S. A. Boppart, *Nature Physics* **3**, 129 (2007).