

/ 글 송국호, 이동구, 이찬석, 장무석

# 초음파-광 상호 작용과 능동 광 파면 조작을 통한 고심도 광 이미징 기술

## 1. 서론

의·생명 이미징 기술은 사용하는 파동의 종류에 따라 다음과 같이 분류된다. X 선(X-ray)을 사용하는 컴퓨터단층촬영(Computed Tomography; CT), 라디오파를 사용하는 자기공명영상(Magnetic resonance tomography; MRI), 감마선을 사용하는 양전자 방출 단층 촬영(Positron Emission Tomography; PET), 음향파(sound wave)를 사용하는 초음파 영상, 빛을 이용하는 광학 이미징이 그 예이다. 이 중에서 광학 이미징 기술은 1 $\mu$ m 이하 수준의 고해상도 이미지를 제공하며, 광자의 에너지가 생물 분자의 에너지 준위와 유사하여 풍부한 생화학적 정보를 얻을 수 있다는 장점이 있다. 또한 방사성 피해로부터도 안전하기 때문에 의·생명 연구에서 필수적인 이미징 기법으로 인식되고 있다.

이러한 장점에 비해 광학 이미징은 관측 깊이(accessible depth)가 생체 내에서 1mm 이하로 제한되는 치명적인 단점을 가지고 있다[1]. 고대비도, 고해상도의 광 영상을 얻기 위해서는 생체 조직 내에 회절 한계의 빛 초점을 만들 수 있어야 하는데, 산란 특성이 강한 생체 심부 내에는 일반적인 렌즈로 빛 초점 생성이 불가능하기 때문이다(그림 1). 이러한 어려움 때문에 광 현미경은 관측 대상(생체 조직)을 얇게 잘라 시료를 만들어야 하며, 따라서 인체를 직접 이미징하거나 살아있는 시료의 생체 현상을 직접 관측하는데에는 활용성이 제한되어 왔다.

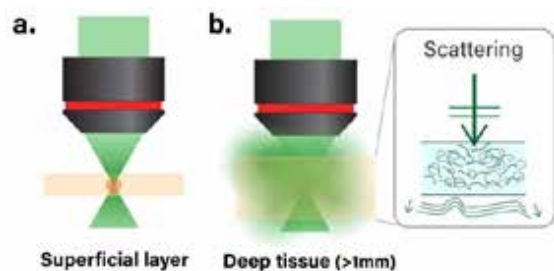


그림 1. 생체 조직 내 광 이미징 깊이 한계. (a) 1mm 이하의 얇은 생체 조직. 직진광이 주요 성분(직진광>산란광)으로 초점 생성이 가능하다. (b) 두꺼운 생체 조직. 산란광이 주요 성분이라 초점이 생기지 않는다. 삽입도: 산란에 의한 파면 왜곡 과정.

광학 이미징 깊이 문제의 근본적인 원인은 빛과 생체 조직의 상호 작용에서 찾을 수 있다. 빛은 생체 조직과 흡수와 산란 두 가지 상호 작용을 하는데, 이 중 이미징 깊이를 제한하는 주요 원인은 산란 상호 작용이다. 흡수는 광 정보(혹은 에너지)가 손실되는 과정이며, 산란은 광 정보가 보존되지만 복잡하게 교란되는 과정이다. 이 때, 상호 작용의 빈도를 나타내는 대표적인 지표로 평균 자유 경로(mean free path)가 있는데, 이는 서로 인접한 상호 작용 지점 사이의 행로(travel length)의 길이로 정의된다. 생체 조직내에서 산란 평균 자유 경로는 30  $\mu$ m 내외이며 흡수 평균 자유 경로는 1,000~10,000  $\mu$ m 이다[2]. 즉, 산란 상호 작용이 흡수 작용 보다 10~100배 가량 자주 일어남을 의미한다. 즉, 광학 이미징 깊이 문제의 원인은 광 정보의 소실이 아닌 교란이며, 이는 교란된 정보를 해독(decoding)하거나 산란 과정을 제어하는 방식으로 이미징 깊이 문제를 상당 수준 해결할 수 있음을 의미한다.

본문에서는 산란 제어 기술로 최근 각광을 받고 있는 초음파-광 상호 작용 기반의 능동 광 조작 기술을 소개하고자 한다. 먼저, 산란 제어의 근간이 되는 능동 광 조작 기술을 소개하고, 초음파의 전파 특성과 빛과의 상호 작용을 통해 생체 조직 내부 특정 지점의 광 정보를 선택적으로 측정하는 기법-음향광학 기법, 광음향 기법-을 소개한다. 이어서, 초음파-광 상호 작용과 능동 광 조작 기술을 결합하여 생체 깊은 곳의 광 이미지를 얻거나 광 초점을 생성하는 기술을 소개하고, 마지막으로 중적외선 기반의 분자 영상을 광음향 기법을 통해 고해상도로 촬영하는 기술을 소개하고자 한다.

## 2. 능동 광 파면 조작 기술

능동 광 파면 조작 기술(complex wavefront shaping)은 공간 광 변조기(spatial light modulator; SLM)를 이용하여 1000개 이상의 높은 자유도로 광 파면을 조작하는 기술이다[3] [4]. 공간 광 변조기는 액정(liquid crystal), 마이크로 거울 등의 능동 픽셀로 빛의 세기나 위상을 자유자재로 변조할 수 있는 장치이다. 일반적으로, 공간 광 변

조기의 각 픽셀에 전압을 조절하여 액정 분자의 방향이나 마이크로 거울의 방향을 제어하는 방식으로 입사된 평면 광 파면을 원하는 광 파면으로 조작한다. 공간 광 변조기 기술의 개발에 기반하여, 능동 광 파면 조작기술은 2000년대 중반부터 생체 내 다중 산란 현상을 극복하고 광학 이미징 기술의 깊이 문제를 해결할 수 있는 게임 체인저로 각광을 받고 있다.

### 2-1. 반복적(iterative) 광 파면 최적화 기술

능동 광 파면 조작 기술은 산란에 의해 발생하는 무작위적인 파면 왜곡을 미리 보상하는 방식으로 산란 극복에 활용된다. 산란매질을 투과한 빛은 그 파면이 매우 복잡하게 왜곡된다 (그림1 삽입도). 파면의 왜곡은 빛의 위상이 지연된 결과인데, 산란 경로가 짧으면 위상 지연의 정도가 작고 산란경로가 길면 위상 지연의 정도는 커진다. 생체 조직을 전파하는 빛은 무수히 많은 독립적인 산란 경로를 거치므로 무작위적인 위상 지연이 발생한다. 무작위적으로 위상이 지연된 빛은 서로 중첩될 때 보강 간섭과 상쇄 간섭이 무작위적으로 발생하며, 그림2a의 스크린에서 볼 수 있는 스펙클(Speckle) 패턴으로 관측된다. 능동 광 파면 조작 기술의 핵심 원리는 공간광 변조기를 이용해 산란 경로에 의한 위상 지연을 미리 보상한 파면을 입사하여 산란의 효과를 상쇄하는 것이다(그림2b).

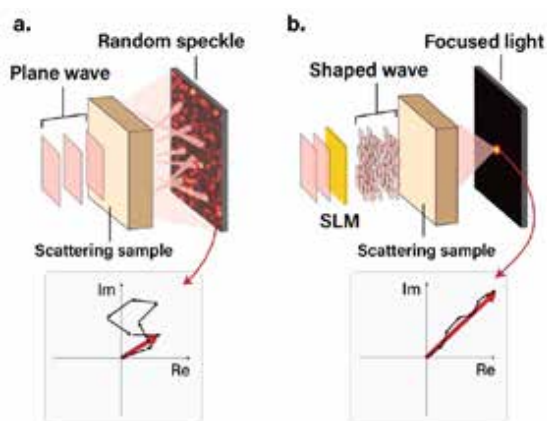


그림2. 광 파면 조작 개념도. (a) 파면 조작을 하지 않은 평면파가 산란매질에 입사할 경우, 다중산란에 의한 무작위 위상 지연으로 스펙클 패턴이 형성된다. (b) 파면조작을 통해 위상 지연을 미리 상쇄하여 초점 영역에서 위상을 정렬하는 방식으로 보강 간섭을 유도한 모습.

는 광 파면을 모든 픽셀에 대해서 반복적으로 최적화 하는 방식으로 구현되었다[5]. 공간 광 변조기의 한 픽셀에서 생체 조직 너머의 특정 점으로 진행되는 빛은 복소 평면의 위상자로 표현된다. 위상자의 크기와 각도는 각각 세기와 위상 기여를 의미한다. 공간 광 변조기의 서로 다른 픽셀은 서로 다른 세기와 위상으로 기여하므로, 무작위적인 크기와 각도를 가지게되며(검은 화살표), 무작위 행보(random walk)의 결과로 스펙클 패턴 한 지점의 세기(빨간 화살표)가 결정된다 (그림2a 아래). 무작위 행보에 의한 광학 장(optical field)의 양상 불 평균 진폭(amplitude)은 행보수, 즉 공간 광 변조기 픽셀 수(N)의 제곱근 ( $\sqrt{N}$ ) 으로 결정된다.

반복적 최적화 방식은 공간 광 변조기 각 픽셀의 위상을 조절하여 복소 평면 상에서 위상자의 방향을 정렬하여 한 지점에서 스펙클 패턴의 세기를 최적화하는 방식이다(그림 2b 아래). 공간 광 변조기 각 픽셀의 위상을 하나씩 조절하여 세기를 점진적으로 높여가는 방식으로 작동하며, 결과적으로 위상자가 한 방향으로 정렬되면 광학장의 진폭은 N 으로 결정된다. 따라서, 능동 광 파면 조작을 통해 최적화된 지점의 세기(=진폭<sup>2</sup>)는 일반적인 스펙클 패턴의 세기에 비해 N 배 (=N<sup>2</sup>/( $\sqrt{N}$ )<sup>2</sup>) 증가하게 된다. 이 때, 공간 광 변조기의 픽셀 수(N)는 10<sup>5-6</sup>개에 달하므로 광 초점의 대비도(=광 초점의 세기/주변부 스펙클의 세기)도 역시 비례하여 커지게 된다.

광파면 조작을 통한 산란 극복이 가능한 이유는 산란 매질이 빛을 매순간 무작위적으로 바꾸는 것이 아니라, 내부의 미세 산란자들의 구조와 배열에 따라 결정된(deterministic) 방식으로 바꾸기 때문이다. 그러나 생체 내부에서 산란자의 역할을 하는 세포와 세포내 구조의 배열은 시간에 따라 매우 빠르게 (<1 ms) 변하기 때문에 광 파면 최적화는 빠른 시간에 이루어져야 한다. 반복적 최적화 방식은 10<sup>5-6</sup>개의 많은 픽셀의 위상을 개별적으로 찾아야하는데 그 시간이 수시간에서 수십시간이 걸리므로 생체 조직 적용에 난점을 가진다.

### 2-2. 광 위상 반전기술 (Optical phase conjugation)

광 위상 반전 기술은 광 파면 최적화 기술과 같은 원리인 선택적 보강 간섭으로 산란을 극복하지만, 최적화 광 파면을 측정을 통해 한번에 찾는 방식이 이용하여 능동 광 파면 조작의 속도를 1,000배 이상으로 크게 향상시킨다. 보다 일반적인 관점에서 보면 광 위상 반전 기술은 빛의 파면을 측정된 다음 반대의 위상으로 되돌리는 광학 기

같은 개념을 통해 생체 조직 너머에 광 초점을 생성한 최초의 연구

/ 글 송국호, 이동구, 이찬석, 장무석

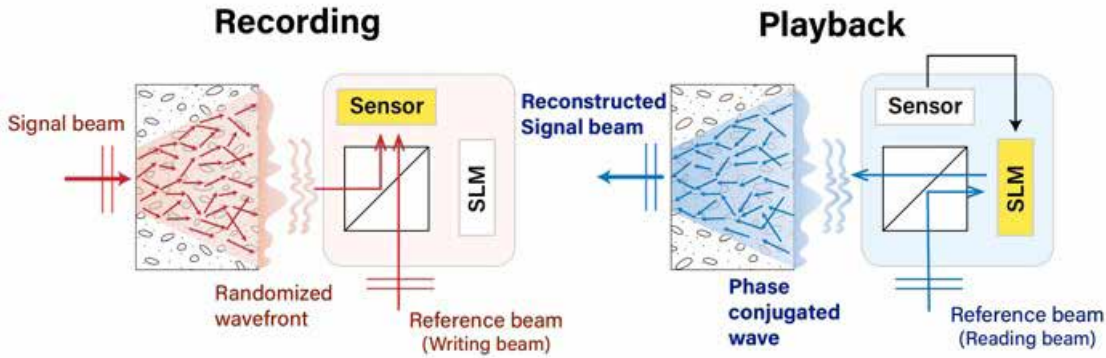


그림3. 광 위상 반전 기술 개념도. 파면 기록과 재생 단계로 나뉜다.

솔로, 1950-60년대에 제안된 이후 시간 역전 (time-reversed) 빔 생성을 위한 기법으로 활발히 연구가 진행되었다.

산란 매질을 전파한 광학 장을  $E(r, t) = \sum_k A_k \exp(i(\mathbf{k} \cdot \mathbf{r} - \omega t))$ 로 표현하면, 광 위상 반전을 통해 생성된 빔은 공간적으로 위상이 반전이 되므로 모든 파동 벡터  $k$ 가  $-k$ 로 전환되어,  $E_{OPC}(r, t) = \sum_k A_k \exp(i(-\mathbf{k} \cdot \mathbf{r} - \omega t))$ 으로 표현된다. 이는 시간이 역전된 빔  $E(r, -t)$  과 같은 실질적으로 같은 광학 장  $\text{Re}[E_{OPC}(r, t)] = \text{Re}[E(r, -t)]$  을 생성하므로 산란 매질에 반대로 입사 되었을 때 산란 과정을 역으로 거슬러가는 방식으로 진행된다.

광 위상 반전 기술의 구현은 파면 기록 단계(recording)와 재생 단계(playback)로 나뉜다(그림3). 파면 기록 단계에서는 산란매질을 지난 빛의 파면을 기록한다. 이 때, 빛의 위상과 세기를 측정해야하므로 홀로그래피 기술이 이용된다. 홀로그래피는 아날로그 또는 디지털 방식으로 구분된다. 아날로그 방식은 광 감응성 물질에 신호광(signal beam)과 참조광(reference beam)의 간섭무늬를 기록하며 [6], 디지털 홀로그래피는 카메라 센서를 이용하여 phase stepping이나 off-axis holography를 이용해 빛의 파면을 측정한다. 재생 단계에서는 아날로그 방식의 경우 측정에서 사용된 참조광을 광 감응성 물질에 반대로 입사시키면 위상 반전된 시간 역행 신호광이 발생한다. 디지털 방식의 경우 측정된 빛의 위상을 반전시켜 공간 광 변조기에 투영하여 참조광을 시간 역행 신호광으로 변형한다. 디지털 홀로그래피와 공간 광 변조기를 이용하는 광 위상 반전 기술을 DOPC(Digital optical phase conjugation)라고 하며 아날로그 방식에 비해 시간 역전 빔의 세기에 제한이 없고 파면에 추가적인 조작

이 가능하다는 장점에 기반하여, 2000년대에 최초로 구현된 이후로 생체 조직의 산란 극복에 활발히 활용되고 있다[7]. 또한, 앞서 언급하였듯 다중 산란을 극복한 최초의 연구인 반복 수행 방식과 달리 산란 상태를 위한 파면의 모든 위상을 기록 단계에서 한번에 구할 수 있기 때문에 생체 조직에 활용할 수 있을 만큼 속도가 매우 빠르다는 장점을 가진다.

### 3. 초음파 기술과 광학 기술의 결합

초음파 영상기술에서 주로 사용되는 초음파는 1~100MHz의 주파수를 갖는다. 생체 조직은 물과 비슷한 역학적 특성을 가진다. 생체 조직내에서 초음파는 1,500m/s의 속도로 진행하고 파장은 15 $\mu$ m~1.5mm수준이다. 초음파는 연조직에서 1-10cm의 깊은 깊이까지 왜곡 없이 전파할 수 있고, 저주파 이용시에는 두개골도 투과할 수 있다. 초음파는 이러한 투과 깊이 장점을 바탕으로 의료 진단 목적으로 활발히 사용되고 있으며, 대상의 기계적인 특성(acoustic impedance) 측정에 활용된다. 하지만, 물질의 생화학적 특성을 관찰할 수 없고, 또한 해상도에 근본적인 한계가 있다.

초음파와 빛 사이의 상호 작용을 이용하면 초음파의 투과 깊이 장점을 광학 이미징에 접목할 수 있다. 초음파는 두 가지 방식-음향광학(acousto-optic) 효과, 광음향(photo-acoustic) 효과-으로 빛과 상호 작용한다. 음향광학 효과는 초음파에 의해 빛의 주파수가 변조되는 현상을 의미하고, 광음향 효과는 빛 흡수에 의한 초음파 발생을 의미한다. 초음파-광 상호작용은 1990년 부터 의생명 이미징 분야에서 활발한 연구가 진행되어, 광 파면 조작과는 별개로 UOT

(ultrasound modulated-optical tomography), PAT(photoacoustic tomography) 라는 기술로 활용되고 있다.[8].

초음파 초점에 의해 국소화된 상호작용은 생체 조직 내부에서 특정 위치의 빛 정보 추출을 가능하게 한다는 점에서 광 파면 조작 기술을 위한 가이드 스타의 역할을 할 수 있다. 천문학에서 대기에 의한 광학 수차를 극복하기 위해 밝은 별을 가이드 스타로 설정하여 파면 왜곡을 보정하는데, 이와 같이 생체 내부에 특정 지점에 초음파 초점 혹은 측정 복셀을 설정하고 이를 기준으로 광 파면 조작을 수행하는 연구는 2010년대에 들어 활발히 진행되고 있다. 이러한 기술은 생체 조직 내부에 대한 정보 없이 입사되는 모든 신호 광을 되돌리는 기존 광 위상 반전 기술에 반해 생체 조직 내부에 특정 지점의 빛을 제어하는 기술로서 생체 심부 이미징에 핵심 요소 기술로 인식되고 있다.

#### 4. 음향광학 기반 능동 광 파면 조작 기술

초음파는 생체 조직을 응축 또는 팽창시켜 굴절률을 변조하는 방식으로 빛의 진행에 영향을 준다. 압력에 의한 매질의 굴절률 변화를 압광 효과라고 하는데, 굴절률 변조량은 압광계수와 압력의 곱,  $\Delta n = \frac{dn}{dp} P$ 로 주어진다[9]. 압광계수(Piezo-optical constants)는 물질마다 고유한 값으로 나타나는데, 생체조직의 대부분을 구성하는 물의 경우 그 값이  $1.466 \times 10^{-10} \text{Pa}^{-1}$ 이다. 음향광학 기술의 핵심 장점은 초음파 초점을 지난 빛과 지나지 않은 빛을 구분할 수 있다는 것이다. 먼저 생체조직의 특정 위치에 초음파의 초점을 형성하면, 이 초점은 빛의 관점에서 볼 때 초음파의 주파수로 진동하는 회절판이 형성된 것과 같다. 따라서 이 초음파 초점에

의해 회절된 빛은 주파수가 초음파 주파수만큼 변조된다.

##### 4-1. 초음파 결합 광 위상 반전기술

초음파 결합 광 위상 반전기술 (Time-Reversed Ultrasonically Encoded optical focusing) 기술은 초음파에 의한 빛 주파수 변조 기술과 빛의 위상을 반전시켜 지나온 경로로 되돌리는 광 위상 반전 기술이 융합된 기술로, 한번의 측정으로 생체 조직 내부의 특정 위치에 빛 초점을 생성하는 기술이다 [10]. 일반적으로, 구현 방식은 (1) 생체조직 내부 특정 위치에 초음파 초점을 형성, (2)단일모드 레이저 광원 조사( $f_0$ ), (3)생체조직을 지나 산란된 빛 중 초음파 초점을 지난 빛 성분( $f_0+f_{us}$ )의 위상 정보를 디지털 홀로그래피 방식으로 기록, (4) 초음파 초점을 지난 빛( $f_0+f_{us}$ )의 위상 정보를 반전하여 초음파 초점의 위치로 빛을 집속 하는 과정으로 이해할 수 있다 (그림4a).

초음파 초점을 지난 빛만 구분하는 원리는 디지털 홀로그래피와 맥놀이 현상(optical beating)을 기반으로 한다. 디지털 홀로그래피는 생체조직을 통과한 신호광과 참조광의 간섭무늬를 기록하여, 평면 파인 참조광에 대한 산란광의 상대적 위상 차이를 측정한다. 초음파 변조된 광 성분 측정을 위해 홀로그래피에 사용되는 참조광을 음향광학 변조기를 통해 초음파 변조된 주파수( $f_0+f_{us}$ )를 갖도록 설정한다. 그 결과 주파수 변조가 되지 않은 빛( $f_0$ ), 즉 초음파를 지나지 않은 빛은 참조광과 만났을 때 주파수 차이( $f_{us}$ )에 의한 맥놀이 현상이 발생하여 세기가 주기적으로 변한다. 이 때 진동 속도는 초음파의 주파수( $f_{us}$ )만큼 빠르므로 카메라의 셔터 시간(1ms 수준)동안 누적되었을 때 간섭 무늬가 아닌 일정한 세기의 배경 신호로 나타난다. 반면

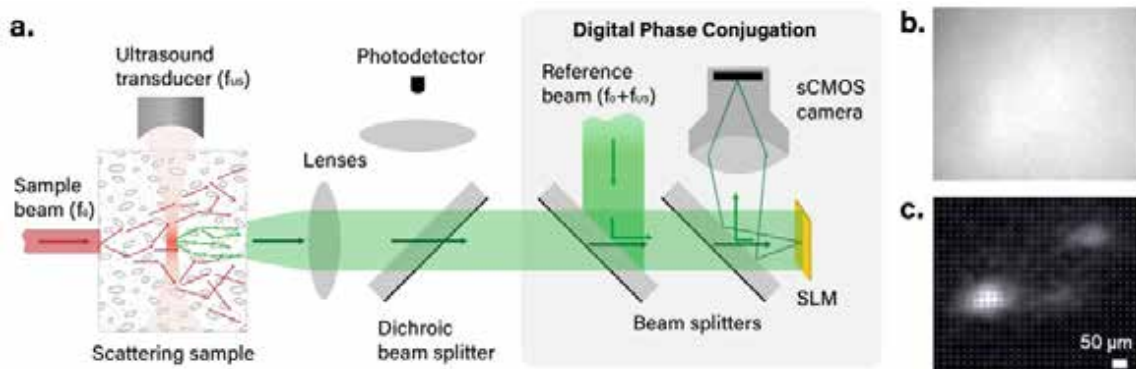


그림4. 초음파 결합 광 파면 조작 기술 개념도 및 형광 이미징 결과. (a)신호 광은 초음파 초점을 지나면서 초음파 주파수만큼 변조되어 선택적으로 기록된다. (b,c) 2.5mm 두께 생체 조직 내부의 형광 표지된 암세포를 일반 형광현미경으로 관찰한 결과 (b)와, 초음파 파면 조작 초점으로 스캔하여 관찰한 결과(c)를 보여준다  
그림 4는 Nature Communications 3, 928 (2012) 에서 차용되었음.

/ 글 송국호, 이동구, 이찬석, 장무석

주파수 변조된 신호 광( $f_0 + f_{us}$ )이 만드는 간섭 무늬는 시간에 따른 변화가 없으므로 카메라 측정 이미지에 기록된다. 기록된 간섭 무늬로부터 계산한 위상 정보는 반전된 후 공간 광 변조기에 투영되어 시간 역전 현상에 의해 초음파 초점 위치로 빛을 집속할 수 있다.

그림4b와 c는 2.5mm 두께의 생체 조직 내부의 형광 표지 암세포를 각각 일반현미경과 초음파 초점 스캔 방식으로 이미징한 것이다. 동일한 조건에서 아무런 정보도 얻을 수 없는 일반 형광 현미경과 달리, 초음파 초점을 이용하면 암세포의 위치와 크기 등을 특정할 수 있다.

#### 4-2. 초음파를 이용한 산란광 차폐: 공간 게이팅(Space-gating)

초음파 결합 광 위상 반전기술은 초음파 초점을 지난 산란광을 되돌려 빛 초점을 만드는 방식으로 산란광을 유의미한 신호로 다루는 기술이다. 하지만, 이러한 방식의 영상 해상도는 초음파 초점의 크기 (>30  $\mu\text{m}$ )로 제한된다. 이에 반해, 공간게이팅 기술은 산란광을 이미지를 교란하는 잡음으로 다루는 기술로써 초음파-광 상호 작용을 산란광 차폐에 활용한다. 따라서, 광학 회절 한계의 이상적인 해상도 (<1  $\mu\text{m}$ )로 생체 심부 이미징을 가능케한다[11].

산란 매질을 진행하는 빛은 산란광과 직진광으로 나뉜다. 직진광은 손상되지 않은 빛 정보를 전달하는 반면, 산란광은 교란된 정보로써 이미지를 흐리게 한다. 산란 매질 내 진행 깊이가 깊어질수록 직진광은 지속적으로 감쇄되고 산란광은 선형적으로 감쇄된다. 따라서, 생체 심부에서는 산란광의 영향이 크기 때문에 광학 회절 한계 이미징은 생체 조직의 매우 얇은 깊이(~100  $\mu\text{m}$ )로 그 활용 범위가 제한된다. 이를 극복하기 위한 방안으로 산란광을 억제하는 여러가지 게이팅 기법이 개발되었다. 대표적으로 직진광과 산란광의 행로 차이를 이용하는 시간게이팅과 산란광의 편광 특성을 이용하는 편광 게이팅, 초점 조영을 한 영역의 신호만 관측하는 공초점 게이팅이 그 예이다. 이러한 여러 게이팅 기법을 결합하여 산란 차폐 효과를 극대화하는 광결맞음단층 촬영 영상(optical coherence tomography)은 비침습 의학 진단에 활용성이 가장 큰 의생명 광 기술로 자리 잡고 있다[12].

공간게이팅 개념은 생체 내부에서 공간적으로 산란광을 차폐하는

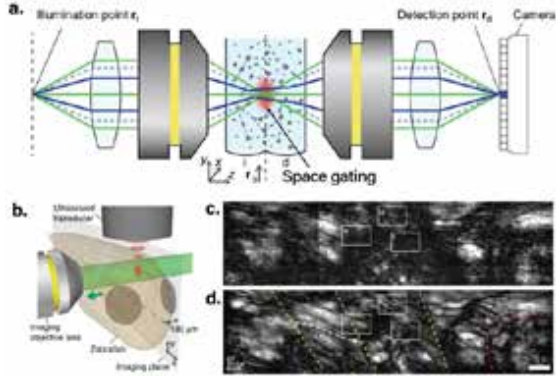


그림5. 공간게이팅 개념도 및 이미징 결과. (a)녹색 실선은 직진광, 점선은 산란광을 나타내는데, 산란광의 대부분은 초음파 초점(빨간색)으로 형성된 공간게이팅 영역을 지나가지 않는다. (b)공간게이팅 현미경의 제브라피시 이미징 과정. (c, d) 일반 광학 현미경(c)과 공간 게이팅 현미경(d)을 이용해 관찰한 제브라피시 내부. 공간 게이팅 현미경을 사용하면 근육중격(노란 점선), 근육-뼈 접합부(붉은 점선) 등의 미세 구조를 관찰할 수 있다.

그림 5는 Nature Communications 11, 710 (2020)에서 차용되었음.

새로운 게이팅 개념이다. 공간게이팅은 음향광학 변조를 위한 초음파 발생기와 기존의 공초점 현미경을 결합한 형태로 구현된다. 산란광의 대부분은 초음파 초점을 지나지 못하는 반면, 직진광은 온전히 주파수 변조를 겪으므로 초음파는 산란광 거름망의 역할을 할 수 있다. (그림5a). 공간게이팅을 이용했을 때, 산란매질의 두께가 산란 평균 자유경로보다 20배이상 큰 상황에서 산란광이 100배이상 감쇄되는 효과가 입증되었으며, 부하 후 30일된 제브라피시(열대어)를 살아있는 상태로 이미징하여 척추 너머의 근육 조직을 광 회절한계인 1 $\mu\text{m}$ 이하 수준의 해상도로 관측하는데 성공했다(그림5b-d).

### 5. 광음향 기술

광음향 효과는 고에너지의 레이저 펄스가 광 흡수력이 높은 조직이나 입자에 전달되어 흡수되었을 때 흡수된 광 에너지가 열 에너지로 전환되고 주변 매질의 열 팽창/수축에 의해 초음파가 발생하는 현상이다. 발생된 광음향 신호, 즉 초음파 신호는 산란의 영향을 크게 받지 않고 생체조직 외부로 전파되므로 이 신호를 초음파 수신기로 측정하여 생체 내 광 정보를 비침습적으로 측정할 수 있다. 즉, 광음향 기술은 마치 카메라를 생체 내부에 배치한 것과 같은 효과를 만들고, 이를 광파면 조작의 피드백 신호로 사용할 수 있다.

5-1. 광음향 기술을 이용한 산란매질의 전파행렬 측정



전파 행렬은 산란 매질에 의한 빛의 세기와 위상의 변화를 기술하는데 사용되는 이론적 도구이다 [13]. 산란 매질은 빛을 선형적으로 교란하기 때문에 입사되는 광학 장과 출력되는 광학 장 사이의 세기, 위상 관계를 복소수 행렬  $T$ 로 표현할 수 있다:  $E^{out}=TE^{in}$ . 입력 벡터  $E_n^{in}$  ( $n=1, \dots, N$ )와 출력 벡터  $E_m^{out}$  ( $m=1, \dots, M$ )는 입력 광학 장과 출력 광학 장을 독립적인 광 모드에 따라 이산화(discretize)한 것이다. 이 때, 아래 첨자  $n$ 과  $m$ 은 각각  $n$  번째 입력 광 모드와  $m$  번째 출력 광 모드를 의미한다. 일반적으로, 입력 광 모드는 공간 광 변조기의 픽셀 수와 같이 조작 가능한 자유도이고, 출력 광 모드는 카메라의 픽셀과 같이 관측 가능한 자유도이다. 따라서, 전파 행렬  $T$ 는  $N \times M$  복소수 행렬이다. 전파 행렬 측정을 위해 입력 광 모드 제어는 산란 매질의 입력 표면에서 이루어지며, 출력 광 모드 측정은 산란 매질의 방출 표면에서 이루어진다. 따라서, 전파 행렬은 산란 매질 내부가 아닌 산란 매질 입력 표면, 출력 표면 사이의 광 전파를 제어하는데 사용되어 왔다.

반면, 광음향 신호 측정이 카메라를 생체 내부에 배치하는 것과 같다는 성질을 이용하면 전파 행렬의 출력 광 모드를 생체 내부로 설정할 수 있다[14]. Gigan 그룹은 공간 광 변조기를 이용하여 특정 입력 광 모드를 입사하고 발생한 광음향 신호를 도착 시간에 따라 나누어 측정하는 방식을 통해 생체 조직 외부 표면과 생체 조직 내부 영역 사이의 전파 행렬을 측정하였다(그림 6a). 이 때, 광음향 신호의 도착 시간은 생체 내 빛 흡수 지점의 깊이, 광음향 신호의 세기는 흡수 지점에 도달한 빛의 양을 나타낸다. 광음향 신호는 세기 신호이므로,

복소수 영역의 전파 행렬 측정을 위해 기준 광을 입력 광 모드와 함께 입사한다. 기준 광과 입력 광 모드의 위상차에 따라 간섭 세기가 삼각 함수에 따라 변하는 현상을 이용하여 전파 행렬의 위상 지연 성분을 측정할 수 있다.

최종적으로 구성된 전파 행렬과, 이를 이용해 빛 초점을 만든 결과가 그림 6 b와 c에 나타나 있다. 특정 출력 광 모드에 초점을 만들고 싶다면, 그 출력 광 모드에 대응되는 모든 입력 광 모드들의 전파행렬 성분 위상을 반전한 파면을 공간 광 변조기에 투영해 광 파면을 조작하면 된다. 전파 행렬 성분의 위상은 산란매질에 의한 위상 지연을 나타내고 있기 때문에 이를 반전시켜 입력하면, 광 위상 반전기의 원리와 마찬가지로, 산란 매질에 의해 위상 지연이 상쇄되므로 특정 출력 광 모드에 보강 간섭을 유도하는 방식으로 광 초점을 생성할 수 있다.

### 5-2. 비선형 광음향 신호를 이용한 파면 최적화

앞서 소개한 일반적인 광음향 기술은 빛의 세기에 광음향 신호가 비례하는 선형 광음향 신호에 기반한다. 선형 광음향 신호를 이용해 파면을 최적화하면 빛을 초음파 측정 복셀(초음파 초점 영역)에 모을 수 있지만 빛이 수많은 스펙클로 분산되는 것은 막기 어렵다(그림 7b 중간 패널). 이는 초음파 초점의 크기 (수 십  $\mu\text{m}$ )가 빛의 회절 한계( $<1 \mu\text{m}$ )보다 크고, 초음파 측정기는 초점 부피 내의 여러 스펙클에 의한 신호를 구분하지 못하고 중첩하여 받아들이기 때문이다.

Lihong Wang연구진은 이러한 해상도 문제를 해결하기 위해 비선

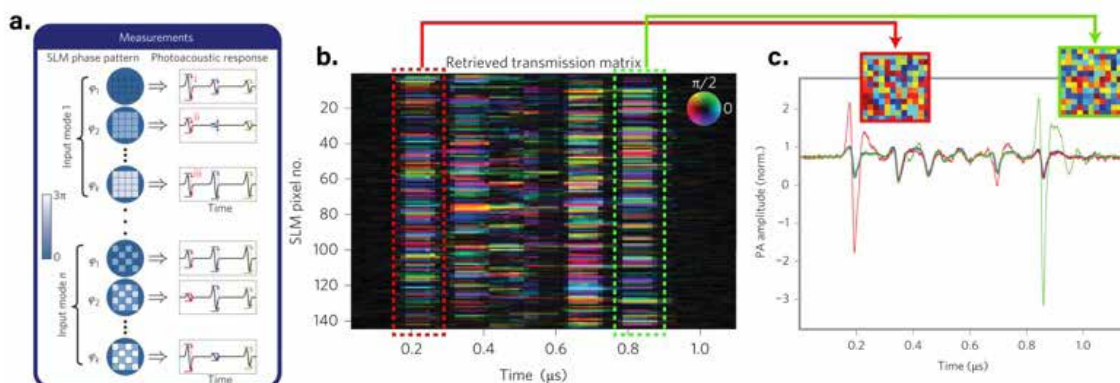


그림6. 광음향 전파 행렬 개념도 및 광초점 생성 결과. (a) 광음향 전파 행렬 측정 원리. (b) 측정된 전파행렬. 가로축은 출력 광 모드(도달시간), 세로축은 입력 광 모드(공간 광 변조기의 픽셀 번호)이다. 밝기는 세기변조, 색은 위상 변조를 나타냄. (c) 출력 광 모드에 초점을 형성할 수 있는 공간 광 변조기의 위상 지도와 그에 따른 광음향 신호. 빨간색- 가장 가까운 출력 광 모드에 빛이 집중됨. 녹색- 가장 먼 출력 광 모드에 빛이 집중됨. 파란색- 평면 위상지도에 의한 신호로, 초점이 형성되지 않음. 그림 6는 Nature Photonics 9, 126 (2015)에서 차용되었음.

/ 글 송국호, 이동구, 이찬석, 장무석

형 광음향 현상을 이용하였다[15]. 동일한 레이저 펄스 두 개를 짧은 시간 차를 두고 연속적으로 입사할 때, 첫 번째 펄스에 의한 광음향 신호 세기( $V_1$ )와 두 번째 펄스에 의한 광음향 신호 세기( $V_2$ )의 차이  $V_2 - V_1$ 은 그뤼나이젠(Grüneisen) 메모리 효과에 기반하여 레이저 펄스 에너지 밀도의 제곱에 비례한다:  $\Delta V = V_2 - V_1 \propto E^2$ . 따라서,  $\Delta V$ 를 비선형 광음향 신호라 한다 (그림 7a). 선형 광음향 신호는 총 에너지가 많은 반점으로 분산되는 경우와, 한 초점으로 집중 되는 경우 모두 동일하지만, 비선형 광음향 신호는 동일 에너지가 집중되는 반점의 개수가 적을수록 신호의 세기가 이에 반비례하여 증가한다. 따라서, 이러한 비선형 광음향 신호를 최적화하는 방향으로 광 파면을 제어하면 회절 한계의 크기를 가지는 반점으로 빛 에너지를 집중할 수 있다(그림 7b).

### 6. 고해상도 중적외선 분자 이미징 기술

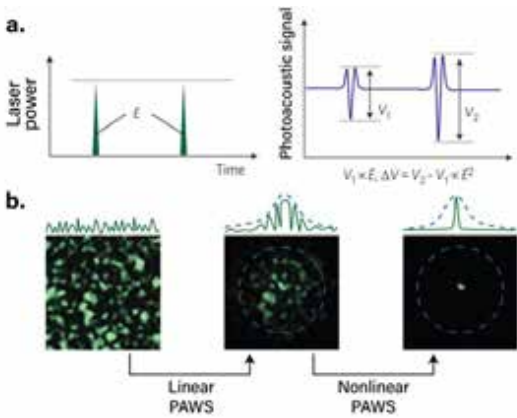


그림 7. 비선형 광음향 신호 기반의 광 초점 생성 기술. (a) 비선형 광음향 신호 발생 원리. (b) 선형, 비선형 광음향 신호에 기반한 광 파면 조작의 결과. 비선형 신호 이용 시에 광학 회절 한계의 초점 하나로 빛이 집중된다. 그림 7은 Nature photonics 13, 609 (2019)에서 차용되었음.

지금까지 광학 이미징의 산란극복과정에 대해 다루었다. 한편, 앞서 설명한 광음향 기술은 분자영상 기술의 해상도를 향상시키는 데에도 활용될 수 있다. 분자영상은 분자의 진동 모드를 여기시키고 그에 따른 빛의 변화를 봄으로써 생체 내 특정 위치에서 분자의 조성을 특징하는 기술로, 정밀 진단에도 활용할 수 있는 차세대 영상기법이다. 분자영상기법중 하나인 중적외선 현미경(Mid-infrared microscopy)은 단백질과 지방, 핵산 등이 고유의 분자 결합 조성에 따라 지문과 같이 고유한 중적외선 흡수 스펙트럼을 보이는 것을 이

용하여, 염색 등 표지 없이도 풍부한 화학 및 구조적 정보를 얻어낼 수 있는 기술이다. 따라서 진단 분야에서 큰 장점이 있지만, 물이 넓은 파장대의 중적외선을 비특이적으로 흡수하여 잡음이 발생하기 때문에 건조된 시료에만 사용될 수 있었으며, 중적외선의 긴 파장으로 인한 해상도 제한이 있었다.

일반적으로, 중적외선 현미경을 이용한 분자 영상 기법은 중적외선의 흡수량 측정에 기반을 둔다. 한편, 이전 세션에서 소개한 비선형 광음향 효과는 짧은 시간 간격으로 중적외선 레이저 펄스와 자외선 레이저 펄스가 이어질때도 발생한다. 먼저 중적외선 펄스로 특정 분자 진동 모드를 여기하고 이에 발생된 열이 두 번째 펄스인 자외선 펄스의 광음향 신호의 크기를 변조하는 것이다. 이러한 비선형 광음향 효과를 이용해 중적외선 현미경의 해상도 한계를 자외선 회절 한계까지 향상시킬 수 있다[16].

자외선 기반의 중적외선 음향광 현미경(Ultraviolet-Localized Mid-IR Photoacoustic Microscopy; ULM-PAM)의 구현 방법은 다음과 같다. 그림 8a에서 보이듯 (1)단일 자외선 펄스를 이용해 첫번째 광음향 신호 측정, (2)충분한 시간이 흐른 후 중적외선 펄스를 보내고, 100-500ns후 자외선 펄스를 보내어 두번째 광음향 효과 신호를 측정, (3)첫번째 광음향 신호와 두번째 광음향 신호의 세기를 비교하여 비선형 광음향 신호 측정. 부피당 중적외선 흡수가 클수록 두 신호의 세기 차이는 커진다. (4) 중적외선 초점과 자외선 초점을 동시에 스캔 하는 방식으로 비선형 신호를 반복 측정하여 중적외선 흡수량에 대한 고해상도 이미지 정보를 얻는다(그림 8b). 그림8c는 지질과 단백질에 대한 중적외선 현미경과 자외선 기반 중적외선 음향광 현미경 이미지를 보여준다. 자외선 기반 중적외선 음향광 현미경 이미지는 자외선의 해상도의 이미지를 제공하여 세포핵과 세포 구조체 등을 관찰할 수 있다. 또한 자외선은 물에 흡수되지 않으므로 물에 의한 잡음 역시 제거된 것을 확인할 수 있다.

### 7. 결론

생명과학의 비약적인 발전을 이끌고 있는 광학 이미징 기술은 산란에 의한 관측 깊이 한계 문제에 오랜 기간 봉착해 있다. 하지만, 본 기고에서 다루었던 산란은 매우 복잡해 보이지만 빛 정보를 선형적으로 섞는 과정에 불과하며, 우리는 이제 능동 광 파면 조작 방식으로 산란의 과정을 제어하는 수준까지 나아가고 있다. 이에 더하여 초음

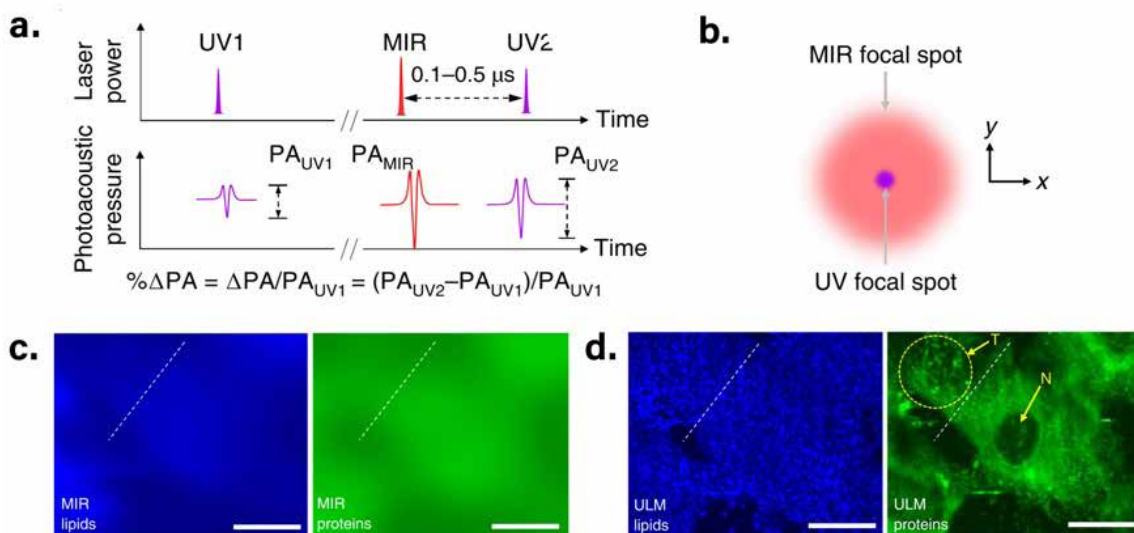


그림8. 자외선 기반 중적외선 음향광 현미경의 원리 및 이미징 결과. (a)중적외선과 자외선 펄스에 의한 비선형 광음향 신호. (b)그림과 같은 정렬을 유지하며 표본을 스캔하며 이미징한다. (c) 기존 중적외선 현미경 이미지. 파란색은 지질, 녹색은 단백질. (d) (c)와 같은 영역에 대한 자외선 기반 중적외선 음향광 현미경 이미지. 자외선 기반의 음향광 이미지는 자외선의 해상도의 이미지를 제공하여 세포핵(N)과 세포 구조체(T)등을 관찰할 수 있다. 그림 8은 Nature photonics 13, 619 (2019)에서 차용되었음.

파-광 상호 작용은 생체 내부 특정 지점으로부터 정보를 선택적으로 받아들이 수 있게 하여 생체 심부 특정 지점에서 산란을 다룰 수 있는 자유도와 깊이를 비약적으로 증가시켰다. 향후 초음파 회절한계로 제한되는 해상도 문제를 극복하여 수cm이상의 깊이에서 1μm이하의 광학 해상도로 이미징하는 것, 더하여 질병의 표지자가 되는 분자 지문을 얻는 것이 이 분야의 주요 연구 목표가 될 것이다.

### 참고 문헌

1. Ntziachristos, V., *Going deeper than microscopy: the optical imaging frontier in biology.* Nature methods, 2010. 7(8): p. 603-614.
2. Cheong, W.-F., S.A. Prael, and A.J. Welch, *A review of the optical properties of biological tissues.* IEEE journal of quantum electronics, 1990. 26(12): p. 2166-2185.
3. Mosk, A.P., et al., *Controlling waves in space and time for imaging and focusing in complex media.* Nature Photonics, 2012. 6(5): p. 283-292.
4. Jang, M., et al., *Wavefront shaping with disorder-engineered metasurfaces.* Nat Photonics, 2018. 12: p. 84-90.

5. Vellekoop, I.M. and A.P. Mosk, *Focusing coherent light through opaque strongly scattering media.* Optics Letters, 2007. 32(16): p. 2309-2311.
6. Yaqoob, Z., et al., *Optical phase conjugation for turbidity suppression in biological samples.* Nature photonics, 2008. 2(2): p. 110.
7. Cui, M. and C. Yang, *Implementation of a digital optical phase conjugation system and its application to study the robustness of turbidity suppression by phase conjugation.* Optics express, 2010. 18(4): p. 3444-3455.
8. Wang, L.V., *Ultrasound-mediated biophotonic imaging: a review of acousto-optical tomography and photo-acoustic tomography.* Disease markers, 2004. 19(2, 3): p. 123-138.
9. Jang, M., et al., *Model for estimating the penetration depth limit of the time-reversed ultrasonically encoded optical focusing technique.* Optics express, 2014. 22(5): p. 5787-5807.
10. Xu, X., H. Liu, and L.V. Wang, *Time-reversed ultrasonically encoded optical focusing into scattering media.* Nature photonics, 2011. 5(3): p. 154-157.



/ 글 송국호, 이동구, 이찬석, 장무석

11. Jang, M., et al., *Deep tissue space-gated microscopy via acousto-optic interaction*. Nature communications, 2020. 11(1): p. 1-11.
12. Huang, D., et al., *Optical coherence tomography*. science, 1991. 254(5035): p. 1178-1181.
13. Popoff, S., et al., *Measuring the transmission matrix in optics: an approach to the study and control of light propagation in disordered media*. Physical review letters, 2010. 104(10): p. 100601.
14. Chaigne, T., et al., *Controlling light in scattering media non-invasively using the photoacoustic transmission matrix*. Nature Photonics, 2014. 8(1): p. 58-64.
15. Lai, P., et al., *Photoacoustically guided wavefront shaping for enhanced optical focusing in scattering media*. Nature photonics, 2015. 9(2): p. 126-132.
16. Shi, J., et al., *High-resolution, high-contrast mid-infrared imaging of fresh biological samples with ultraviolet-localized photoacoustic microscopy*. Nature photonics, 2019. 13(9): p. 609-615. ✎

#### 저자 약력

송국호는 인하대학교에서 학사 학위를 받았으며(전자공학, 생명공학 전공), 현재는 KAIST 바이오및뇌공학과 석사과정에 재학중이다. 세포 내 생명정보 발현 과정을 높은 시-공간 해상도로 관측하는 기술 개발을 목표로 하고 있다. (gookho.song@kaist.ac.kr)

이동구는 서울대학교에서 물리학, 산림환경학 전공으로 학사 학위를 받았고, 뇌인지과학 전공으로 석사 학위를 받았다. 현재는 카이스트 바이오및뇌공학과에 재학 중이며, 음향광학을 중심으로 뇌 심부 신경 세포의 비침습적 관찰 기술 개발을 목표로 하고 있다. (ehdrn44@gmail.com)

이찬석은 한양대학교에서 생체공학과에서 학사 학위를 받았으며, 현재는 카이스트 바이오및뇌공학과 석사과정에 재학중이다. 홀로그래피, 압축센싱, 머신러닝을 결합하여 이미징 기술의 한계를 극복 및 3차원 이미징 기술 개발을 목표로 하고 있다. (cslee@kaist.ac.kr)

장무석 교수는 KAIST 물리학과 학사, Caltech 전자과 박사, IBS 분자분광학및동력학 연구단 병역특례 연구위원을 거쳐 2019년부터 카이스트 바이오및뇌공학과 교수로 재직중이다. 주요 연구분야는 음향광학, 광 파면 조작, 메타 표면을 이용한 광학 이미징과 디스플레이 기술로 비침습적으로 생물 활동을 관측하고 조절하는 연구에 집중하고 있다. (mooseok@kaist.ac.kr)