

# 시간 분해 반사율 측정에 의한 다중산란 매질의 광학 계수 측정

전 계진\*, 박 승환\*, 김 응\*, 윤 길원\*, 김 원기\*

\* 연세대학교 물리학과

+ 삼성생명과학연구소 임상의학공학센터

## Measurements of Optical Constants of Biomedical Media Based on Time-Resolved Reflectance

K. J. Jeon\*, S. H. Park\*, U. Kim\*, K. W. Yoon\* and W. K. Kim\*

\* Department of Physics, Yonsei University, Seoul 120-749

+ Biomedical Engineering Research Center, Samsung Biomedical Research Institute

### ABSTRACT

In recent years, the optical properties of multiple-scattering media like tissue have been studied for their potential applications in medicine. In this work the optical properties of multiple scattering media were investigated using the time-resolved reflectance measurement. The reflected light was measured by time-correlated single photon counting system. The transport scattering and absorption coefficient are related to the initial rapid decay and the subsequent decay in reflected light, respectively. Also the optical properties of the samples were measured by conventional method, i.e., using continuous wave light. When the distance between the light source and the detector is over 8mm, the optical coefficient can be measured accurately using the suggested method.

### 1. 서론

근래에 빛을 이용한 의학적 접근이 활발해지면서 레이저나 여러종류의 광이 생체조직을 전파해갈 때 다중산란과 흡수에 의한 생체 내에서의 광분포 모델에 대한 관심이 높아졌다. 생체의 상태나 특성을 비침습적으로 감지하기 위해 특정성분에 대해 특정파장의 빛의 흡수변화를 측정해야 하는데 생체는 산란이 흡수보다 훨씬 많이 일어나므로

산란계수와 흡수계수를 분리해서 측정하는 것은 매우 유익하다.<sup>[1,2]</sup> 다중산란 매질내에서의 광분포를 간편하게 설명하는 이론은 수송이론인데 매질 내를 진행하는 광자가 국소적으로 흡수되거나 산란되는 효과를 직접 다룬 이론이다. 이로부터 광선속 이론과 확산 이론을 이끌어 낼 수 있으며 이들 방정식의 해는 해석적으로 구할 수 있다.<sup>[3,4]</sup> 특히 확산 이론은 생체와 같이 산란이 흡수보다 많이 일어나는 경우에 잘 설명할 수 있다.<sup>[5]</sup> 확산 이론은 시간 영역과 주파수 영역에서 각각 접근할 수 있는데 이들은 서로 Fourier Transform 관계에 있다.<sup>[6]</sup> 시간 영역에서 "Time-Resolved Reflectance"는 극초단 펄스가 산란 매질을 진행하면서 겪는 시간적인 퍼짐 효과가 매질의 광학적 계수를 얻어내는 방법이다.<sup>[7]</sup> 이 방법은 몇 가지 장점을 가지고 있는데 첫째로 시료에 손상을 주지 않아 비침습적으로 살아있는 상태에서(in vivo) 측정할 수 있으며, 둘째로 측정 시간이 수 분내로 짧고, 셋째로 산란 계수와 흡수 계수를 동시에 측정할 수 있다는 것이다. 1990년 K. M. Yoo, F. Liu, R. R. Alfano 등에 의하면 "Diffusion theory"는 시료의 두께가 mean free path의 열배 이상이 되면 Diffusion Approximation을 잘 만족하여 이론과 실험이 잘 일치함을 보여주었다.<sup>[8]</sup>

본 연구에서는 Time-Resolved Reflectance를 시간 상관 단일 광자 계수법을 이용하여 인크를 absorber로 우유를 scatterer로 한 매질에 대하여 광원과 측정 지점사이의 거리에 따라 측정하였다. 이로부터 얻은 실험치와 이론을 꼭선 맞춤 하여 수송산란계수와 흡수계수를 구하였다. 또한 시간 영역에서 얻은 값과 cw 광원을 사용한 기존의 방법<sup>[9]</sup>으로 측정된 값과 서로 비교하였다. 두 가지 경우

의 실험 결과가 잘 일치함을 확인하였으며 이로부터 Time-Domain Spectroscopy의 측정이 생체의 광학적 특성 연구에 매우 적합함을 확인하였다.

### 2. Diffusion Theory

다중산란매질 내를 진행하는 전자기파의 세기 분포는 radiance 라는 양으로 표현하는데 단위 면적당, 단위시간당, 단위 고체각당의 에너지 (W/m<sup>2</sup>sr)이다. 국소적인 흡수와 산란이 있는 매질 내에서의 radiance의 시간적인 변화는 Boltzmann 수송 방정식으로 설명할 수 있다.

$$\frac{n}{c} \frac{\partial L(\vec{r}, \vec{s}, t)}{\partial t} + \nabla \cdot L(\vec{r}, \vec{s}, t) \vec{s} = \mu_s \int_{4\pi} f(\vec{s}, \vec{s}') L(\vec{r}, \vec{s}', t) d\Omega' - (\mu_s + \mu_a) L(\vec{r}, \vec{s}, t) + Q(\vec{r}, \vec{s}, t) \quad (1)$$

여기서  $\mu_a$ 는 흡수 계수,  $n$ 은 매질의 굴절률,  $c$ 는 진공중의 광속도,  $\mu_s$ 는 산란 계수,  $\vec{s}$ 는 관심있는 방향을 가리키는 단위 벡터,  $Q(\vec{r}, \vec{s}, t)$ 는 광원으로써 단위 부피당 단위시간당 단위고체각으로 방출되는 광원의 에너지,  $f(\vec{s}, \vec{s}')$ 는 정규화된 미분 산란 단면적이다.

산란이 흡수보다 훨씬 우월하게 일어나는 다중산란 매질에  $((1-g)\mu_s \gg \mu_a)$  대해서 radiance는 등방성인 fluence rate  $\phi$ 와 작은 양의 방향선속  $j$ 의 합으로 표현할 수 있다는 Diffusion Approximation을 이용하면 Diffusion Equation을 얻을 수 있다:

$$D \nabla^2 \phi(\vec{r}, t) - \mu_a \phi(\vec{r}, t) = \frac{n}{c} \frac{\partial \phi(\vec{r}, t)}{\partial t} - Q(\vec{r}, t) \quad (2)$$

여기서  $D$ 는 분산 계수 (diffusion coefficient) 로  $[3(\mu_a + \mu_s')]^{-1}$ 로 나타낸다. 무한대의 매질내의 시간  $t=0$ 에 방출되는 원점에 점광원이 있을때 빛의 해는 다음과 같다:

$$\phi = \frac{c/n}{(4\pi Dct/n)^{3/2}} \exp(-\frac{r^2}{4Dct/n} - \mu_a ct/n) \quad (3)$$

이 식은 평면경계면이 있는 반무한대의 (semi-infinite) 매질에 대해 적용할 수 있다. 매질의 경계 면에서 partial-current 경계조건으로 가장 잘 설명할 수 있지만 너무 복잡하여 이용이 쉽지가 않

고, 실제 경계면에서 fluence rate가 0이라는 경계 조건을 얻을 수 있다. 비록 이 조건이 물리적으로 맞지 않고 diffusion approximation 에도 위배되지만 수학적으로 간단하여 매우 복잡한 생체조직을 설명하는데 좋은 근사가 될 수 있다.<sup>[10]</sup> 이 경계 조건은 물리적인 경계면으로 부터  $l_{tr}$ 의 깊이에 광원이 존재하면,  $-l_{tr}$ 의 위치에 음의 image source를 놓음으로서 만족된다. 매질 표면에서 측정되는 시간분해반사율은 radiance가 매질경계면을 통과하여 빠져 나오는 양에 해당하므로 다음과 같이 쓸 수 있다.

$$R(r, t) = \int_{A_{l_{tr}}} dx dy \int_{\Omega_{l_{tr}}} d\Omega T_{Fresnel}(\vec{s}) L(x, y, z=0)(\vec{s}, \vec{n}) \propto \frac{\partial \phi(x, y, z=0, t)}{\partial t} = (4\pi Dc/n)^{-3/2} l_{tr}^{-5/2} \exp(-\frac{\rho^2 + l_{tr}^2}{4Dct/n} - \mu_a ct/n) \quad (4)$$

여기서  $\vec{n}$ 은 매질경계면 바깥으로 향하는 수직 벡터이다. 결과식 에서 볼 수 있듯이  $\delta$ -함수 형태의 광으로 매질에 조사하였을 때 측정되는 거리에 따른 시간분해반사율은 산란과 흡수에 의해 지연되고 감소되는 것을 보여준다.

식 (4)에서  $\log_e(R(\rho, t))$ 의 기울기를 주목하여 보면 시간이 증가할 수록 근사적으로  $-\mu_a c/n$ 로 접근함을 알 수 있다:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \frac{d}{dt} \log_e R(r, t) = -\mu_a c/n \quad (5)$$

또한  $R(\rho, t)$ 이 최대가 되는 시간을  $t_{max}$ 라 하면 수송산란계수에 대한 식을 얻을 수 있다:

$$(1-g)\mu_s = \frac{1}{\rho^2} \left( \frac{4\mu_a c^2 t_{max}^2}{n^2} + \frac{10ct_{max}}{n} \right) - \mu_a \quad (6)$$

따라서  $R(\rho, t)$ 가 최고치까지 증가하는데 까지 걸리는 시간은 주로 산란효과에 의한 것이고 긴 시간후의 행동으로부터 흡수의 정도를 알 수 있음을 보여 준다.

### 3. 실험 장치 및 방법

본 연구에서는 실제 생체시료 사용에 앞서 흡수와 농도의 조절이 간편한 펜텀을 사용하였다. 사용한 펜텀은 우유(scatterer)에 잉크(absorber)를 섞은 용액으로 각각의 농도를 조절하였다. 시간영역에서 시간분해반사율을 측정하는 방법과 steady

## 시간분해 반사율 측정에 의한 다중산란 매질의 광학계수 측정

-state에서 측정하는 방법은 다음과 같다.

### 3.1 시간 상관 단일 광자 계수법 (Time-Correlated Single Photon Counting) 및 시간분해반사율 측정

시간 상관 단일 광자 계수법(TC-SPC)은  $\delta$ -함수 형태의 여기광으로 시료를 여기시키면 여기된 시료는 형광을 내면서 다시 바닥상태로 떨어진다. 이때 시료로부터 방출된 단일광자의 확률분포가 시료에서 방출되는 형광 세기의 시간에 따른 분포와 동일하다는 양자 이론적인 사실에 근거를 두고 형광소멸 시간을 측정하는 대표적인 방법이다. 여기 펄스가 ps( $10^{-12}$  sec)정도인 경우 이보다 더 짧은 시간영역에서 일어나는 에너지 전달과정까지 연구할 수 있다. 실험장치도는 그림 (1)과 같다. 광원은

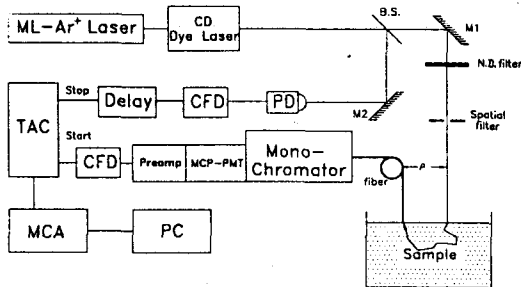


그림1. Time-Resolved Reflectance를 측정하기 위한 TC-SPC 실험장치

로는 모드 동기된 아르곤 레이저를 펌핑 광원으로 하는 동시 모드 록킹된 Cavity-dumped 색소 레이저(Rhodamine 6G)를 사용하였으며 펄스폭은 수십 ps이고 반복률을 3.8MHz 였다. 그림 (1)에서 보는 바와 같이 레이저광이 빔가르기로 나뉘어서 한 빔은 광다이오드에 trigger신호로 들어가고 다른 한 빔은 시료를 조사한다. 조사광으로부터 거리  $\rho$ 만큼 떨어진 곳에서 광섬유를 통하여 다중산란 반사된 광자를 광전자증배관(Potomultiplier Tube)으로 검출하여 광전자 증배관의 양극(anode)에서 펄스를 발생시킨다. 이 펄스는 펄스 판별기(Constant Fraction Discriminator : CFD)와 Delay를 거쳐 TAC(Time to Amplitude Converter)에 시작 신호로 입력되고 trigger source에 의한 기준신호는 TAC에 정지신호로 입력되면 TAC은 두 신호사이의 시간간격을 전압으로 바꾸어 MCA (Multi-Channel Analyzer)로 보낸다. MCA는 그 전압의 크기에 해당되는 channel에 계수 하나를 증가시켜 저장한다. 이 과정이 무수히 반복하면 광자의 시간에 따른 확률 분포가 MCA에 나타나게 된다.

### 3.2 Steady-State Measurement

Steady-state Measurement란 일정한 세기를 갖는 cw-광을 광원으로 하여 반사율 투과율 등을 측정하는 것을 말한다. 본 실험에서는 He-Ne 레이저를 사용하여 거리에 따른 산란반사율과 goniometer를 이용한 g값 측정 그리고 총감쇠계수 측정의 세 가지의 실험결과로부터 광학적 특성을 얻어내었다.

매질의 표면에 광을 조사하였을 때 조사광과 측정 광섬유의 거리에 따른 반사율을 Local Diffused Reflectance라하며 거리의 함수로 곡선맞춤하면 유효 침투깊이를 알 수 있다. 실험장치는 그림(2-a)에서와 같이 레이저광을 초점을 거쳐 N.D. 필터로 광량을 조절한 후 시료의 표면에 수직으로 입사시킨다. 입사광과 거리  $\rho$ 만큼 떨어진 거리에 산란 반사된 신호는 광섬유를 통해 PMT에서 검출된다. Lock-in Amp에 초점의 진동수를 reference로 하여 PMT의 광신호를 신호로 측정하여 산란 반사율을 측정하였다.

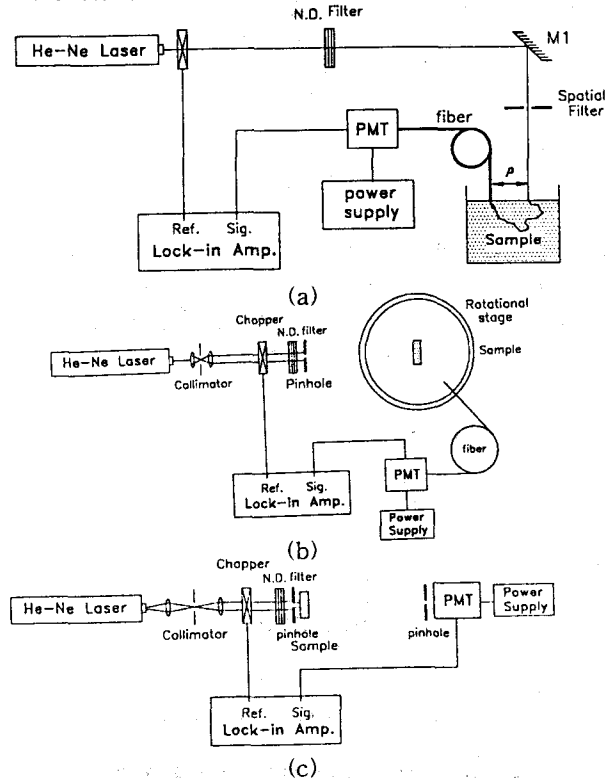


그림2. steady-state 측정을 위한 실험장치

산란 매질의 입자에 의한 각도에 따른 산란광 세기를 측정하기 위해 그림 (2-b)와 같이 장치를 구성하였다. 시료를 두장의 slide glass 사이에 넣어 붙여서 단일단란의 효과만 일어나도록 하여서 산란 각도에 따른 광세기를 측정하였다.

총감쇠 계수는 그림 (2-c)와 같이 narrow beam transmission geometry를 구성하여 측정할

수 있는데 이는 산란계수와 흡수계수의 합으로써, 얇은 시료에 시준된 빔을 조사하여 투과한 광 중에서 산란과 흡수를 배제한 시준된 광량만 측정함으로써 얻을 수 있다.

4. 결과 및 분석

TC-SPC의 방법으로 측정된 산란 반사율  $I(t)$ 는 측정된 여기펄스함수  $P(t)$ 는와 실제 소멸 곡선  $R(t)$ 의 convolution이다. Least square curve fitting법을 사용하여 fitting하였고 weighted residual  $\gamma(t)$ 가 무작위하게 분포하고  $\chi^2$ 값이 1~1.3에 들어오도록 하였다.

측정된 산란광세기 분포는 Henyey-Greenstein phase function을 이용하여 곡선맞춤하였다. 우유를 두 장의 slide glass 사이에 넣어서 측정했기 때문에 내부전반사가 일어나는  $62^\circ$ 까지 측정하였다. 실험치와 곡선맞춤의 결과를 그림(5)에 나타내었다. 곡선맞춤한 결과  $g$ 값은 0.789를 얻었다.

Local Diffused Reflectance는 Diffusion Equation으로부터 얻을 수 있다.

$$R(\rho) \propto \frac{1}{\rho^2} \exp(-\rho/\delta) \quad (7)$$

여기서  $\delta$ 는 유효침투깊이로  $[3\mu_a(\mu_a + \mu_s)]^{-1/2}$ 이다. 그림(3)은 우유 25%, 잉크농도 0.0125%~0.1%의 용액에 대한 Local Diffused Reflectance를 측정 한 데이터와 식(7)과 곡선맞춤한 결과를 보여준다.

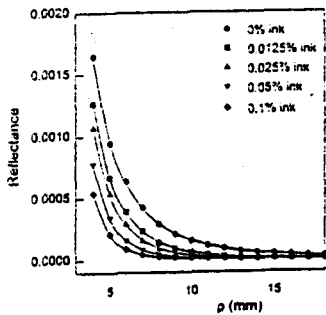


그림3. Local Diffused Reflectance

잉크용액에 대한 농도에 따라 측정된 총감쇠계수는 농도 0.1%에 대해  $0.097\text{mm}^{-1}$ 이었다.

그림(4-a)는 우유의 농도 25%용액에 대해 거리  $\rho$ 를 4mm-12mm까지 2mm씩 변화시켜가며 측정 한 Time-Resolved Reflectance curve를 비교한 것이다.  $\rho$ 가 커질수록  $t_{\text{max}}$ 이 길어짐을 볼 수 있다. 그림(4-b)는 위의 실험에서 각 거리에 따른 수송산란계수와 흡수계수를 비교한 그래프이다. Time-Resolved reflectance에서 구한 값과 steady-state에서 구한 값을 비교하였다. 8mm이상의 거리에서는 흡수 계수와 산란계수가 일정한 값을 가

짐을 보여준다. 그림(5-a)는 우유 농도 25%, 측정 거리 8mm에 대해 ink농도를 0.0125%에서 0.1%까지 변화시켜가며 측정 한 Time-Resolved Reflectance curve를 비교해 본 것이다. 흡수 계수가 커질수록  $R(\rho, t)$ 이 빨리 감소하는 것을 볼 수 있으며  $t_{\text{max}}$ 이 짧아짐을 볼 수 있다. 그림(5-b)에

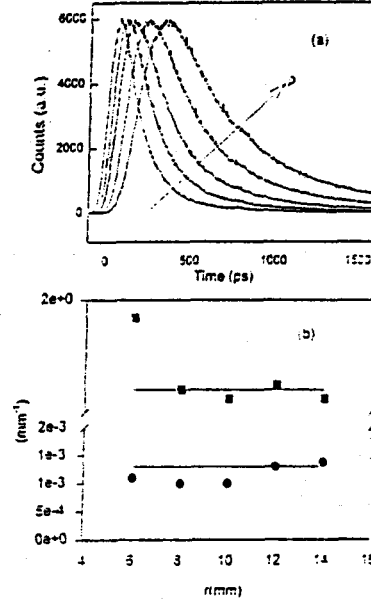


그림4. (a)Time-Resolved Reflectance curve (b)수송산란계수와 흡수계수

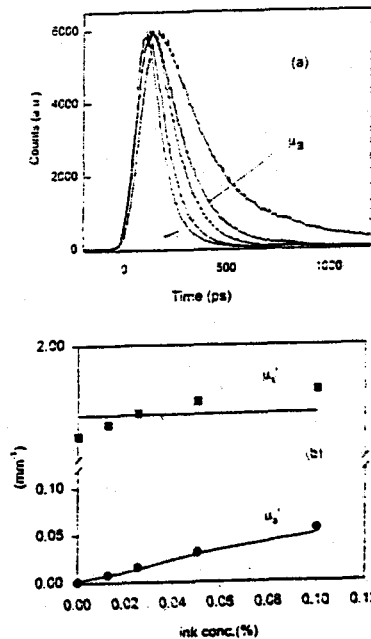


그림5. (a)Time-Resolved Reflectance curve (b)수송산란계수와 흡수계수

서는 위의 실험에서 ink농도에 따른 흡수 계수와

## 시간분해 반사율 측정에 의한 다중산란 매질의 광학계수 측정

산란 계수를 두방법에 대해 비교해 보았다. 흡수 계수는 ink 농도에 비례하여 증가하며 산란계수는 거의 일정함을 보여준다. 두 실험의 결과가 서로 잘 일치함을 보여준다.

### 5. 결론

본 실험에서는 diffusion theory를 이용해 turbid media의 Time-Resolved Reflectance를 측정하여 그 광학적 특성을 알아보고 또한 direct method인 steady-state에서 실험한 결과와 비교해 보았다. 측정 영역에서  $\mu_a$ 와  $\mu_s'$  은 두 방법에 대해 잘 일치하였다. 한 시료의 광학적 계수를 측정하기 위해 시간영역에서는 적절한 거리에서 단 한번만 측정하면 결과값을 알 수 있는데 반해 steady-state에서는 일련의 실험을 통해야만 그 결과를 알 수 있다. 또한 시간영역에서는 in vivo상태에서 조직 표면에서 바로 측정할 수 있는데 반해 steady-state에서는 시료 다루기가 아주 불편하고 in vitro 에서만 실험이 가능하다. 이외에도 많은 장점이 있는데 생체내에서 일어나는 반응 과정을 연구하거나 영상처리까지 응용할 수 있다.

본 실험에서 측정한 시간분해 산란반사율의 여러 가지 성질에 관해 살펴보면 다음과 같다. 시간 분해 산란 반사율  $R(\rho, t)$  는  $\mu_a$ ,  $\mu_s'$  그리고  $\rho$ 의 함수인데, 우리가 측정한 영역에서  $\mu_a$ 가 커질수록  $R(\rho, t)$ 가 빨리 소멸하며 subsequent extinction에 특히 관여함을 알 수 있었다. 이는 광이 시간  $t$ 동안 진행할 때까지 흡수되지 않고 살아 남을 확률은  $e^{-\mu_a c t}$ 에 비례한다는 것으로부터 예상할 수 있는 것이다.  $\mu_s'$  가 커질수록  $R(\rho, t)$ 가 천천히 rising해서 천천히 소멸하며 특히 initial rapid expansion에 관여함을 볼 수 있었다. 이는  $\mu_s'$  이 크면 단위 길이당 더 많은 산란이 일어나고 어떤 시간  $t$ , 어떤 지점  $\rho$ 에 들어오는 방법에 더 많은 경우의 수가 커지기 때문이다.  $\rho$ 가 8mm이상에서는 거의 일정함을 얻을 수 있었다. Time-Resolved Reflectance 측정의 방법은 측정치의 정확도와 측정 방법의 간편성으로 볼 때 응용 가치가 높다고 할 수 있다.

### 참고문헌

1. L.J. Steven, IEEE Trans. Biomed. Eng. **36**, 1155(1989).
2. B. C. Wilson and S. T. Jacques, IEEE J. Juan. Elect. **26**, 2186 (1990).
3. A. Ishimaru, *Wave Propagation and Scattering in Random Media*, vol.1,(Academic Press, London, 1978).
4. G. W. Yoon, A. J. Welch, M. Motamedi and M. C. J. Van Germert, IEEE J. Quan. Elect.

- 23, 1721 (1987).
5. A. Ishimaru, Appl. Opt. **28**, 2210 (1989).
6. M. S. Patterson, J. D. Moulton, B. C. Wilson, and B. Chance, SPIE proceedings **1203**, 62 (1990).
7. R. Cubeddu, M. Musolino, A. D. Heri, P. Tarani and G. Valentini, IEEE, J.Quan. Elect. **30**, 2421 (1994).
8. K. M. Yoo, F. Liu, and R. R. Alfano, Phys. Rev. Lett. **64**, 2647 (1990).
9. B. C. Wilson, M. S. Patterson, and S. T. Flock, Photo. Chem. Bhotobiol., **46**, 601 (1987).
10. R. C. Haskell etc., J. Opt. Soc. Am. A. **11**, 2727 (1994).