

주파수 영역 분광법을 이용한 생체의 광학계수 측정법 연구

전 계 진*, 윤길원*, 김홍식*, 김원기*, 이정환*, 박승환#, 김웅#

* 삼성생명과학연구소 임상의공학연구센터

+ 삼성종합기술원 의료기기연구실

연세대학교 이과대학 물리학과

Measurement of Optical Parameters of Biological Tissues by Using the Frequency-Domain Spectroscopy

K. J. Jeon*, G. Yoon*, H. S. Kim*, W. K. Kim*, J. H. Yi†, S. H. Park#, and U. Kim#

* Biomedical Engineering Research Center, Samsung Biomedical Research Institute

Medical Electronics Lab., Samsung Advanced Institute of Technology

Department of Physics, Yonsei University

ABSTRACT

A method for measuring optical properties of biological medium was investigated by using the frequency domain spectroscopy. When amplitude-modulated light with the frequency of several tens up to several hundred MHz propagates through a scattering medium, the phase lag and the amplitude reduction occur. The phase lag depends on the average of optical path lengths. The amplitude reduction with respect to the radial distance is influenced by the penetration depth. The mean of optical path length and penetration depth are related to optical coefficients. The phase lag and the amplitude reduction were measured based on the heterodyne detection method. The experimental data were fitted with the theoretical curves derived from diffusion theory and the absorption and scattering coefficients were calculated.

서론

레이저 수술이나 빛을 이용한 진단에 대한 연구가 활발해지면서 생체 조직내의 빛의 전파에 대한 관심이 높아졌다. 혈액내의 특정성분 예컨대 헤모글로빈 산소포화도, 글루코즈, 빌리루빈, 알코올 등의 농도를 비침습적으로 측정하는 것은 중요한 이슈로 떠올랐다. 빛이 생체조직내부를 전파해 나갈 때의 광세기 변화는 흡수와 산란을 고려해야하는데 생체와 같은 다중 산란 매질의 광분포 특성 (photon distribution)은 확산이론(diffusion theory)을 이용하여 분석적으로 기술할 수 있다.[1] 유도된 해는 광세기 변조 주파수의 함수로 표현할 수 있으며 이와 같은 접근방식을 주파수 영역 분광법(frequency-domain spectroscopy)이라 한다.[2] 주파수 영역 분

광법은 짧은시간 영역(~ps)에서 일어나는 광의 변화를 측정하기에 용이한 방법이다.[3]

매질에 조사하는 광을 수집에서 수백 MHz로 진폭 변조(amplitude modulation)시켜 다중 산란 매질에 조사하면 그 진폭 변조된 파는 매질내를 진행하다가 다시 반사되어 나오는 동안 흡수에 의해 광세기는 감소되고 산란에 의해 전파(migration)시간이 길어져서 입사파에 대해 반사파는 진폭이 감소되고 위상변화가 생긴다. 이러한 현상을 확산이론(diffusion theory)을 이용하여 위상차이와 진동 성분의 진폭의 변화를 매질의 산란 계수와 흡수 계수의 함수로 표현할 수 있다.[4]

광원으로 LED (light emitting diode)를 사용하였고 두개의 주파수를 이용하여 매질의 광학적 특성을 측정하였다. 총 광원의 세기를 고려하지 않는다면 LED는 효율적으로 모듈레이션된 광원의 기본 조건을 훨씬 능가하는 경제성, 소형화, 안전성 등의 몇 가지 중요한 장점을 가지고 있다.[5] Heterodyne detection방법[6]을 사용하여 위상차이와 진동성분의 진폭을 측정하였다. 이론식과 실험치를 꼭선맞춤하여 펜텀의 광학계수를 얻었다.

이론

입사광이 amplitude modulation 되어서 매질에 조사되는 경우를 생각해 보자. Diffusion Equation에서 무한대의 매질 내에 $t = t'$ 에 원점으로부터 방출된 단위 에너지의 광펄스의 Green's function solution은 다음과 같다.[7]

$$\phi_{G(r,t)} = \frac{c}{n} \left[\frac{4\pi Dc(t-t')}{n} \right]^{-3/2} \times \exp \left\{ -\frac{(z-l_0)^2 + \rho^2}{4Dc(t-t')/n} - \mu_a c(t-t')/n \right\} \dots \dots \dots (1)$$

원점에 출력 $Pe^{i\omega t}$ 의 광원이 존재하면 fluence rate는

$$\begin{aligned} \phi_{\omega}(\rho, t) &= \int_{-\infty}^t \phi_G(\rho, t-t') P \exp(i\omega t') dt' \\ &= \frac{P \exp(i\omega t)}{4\pi D} \frac{\exp(-k\rho)}{\rho} \\ &= \frac{P}{4\pi D} \exp(-k_{real}\rho) \frac{\exp[-i(k_{imag}\rho - \omega t)]}{\rho} \\ &\dots \dots \dots (2) \end{aligned}$$

이다. 여기서, $k = k_{real} + ik_{imag} = \sqrt{\frac{\mu_a c' + i\omega}{Dc'}}$ 이고, $c' = c/n$ 이고, 이다. 실제 광원은 DC term 과 AC term 의 합으로 주어진다. 즉, $S = S_{dc} + S_{ac} \exp(i\omega t)$ 로 나타내어지므로 이에 따른 fluence rate는

$$\begin{aligned} \phi_{\omega}(\rho, t) &= A_{dc} \frac{\exp(-\rho/\delta)}{\rho} \\ &+ A_{ac} \frac{\exp(-k_{real}\rho)}{\rho} \exp(-i(k_{imag}\rho - \omega t)) \quad (3) \end{aligned}$$

이다. 여기서, $\delta = \sqrt{\frac{3}{2} \mu_a \sigma_{tr}}$ 이다. 따라서,

$$\begin{aligned} \text{phase lag} &= k_{imag} \cdot \rho \\ \text{AC component} &= \exp(-k_{real} \cdot \rho) \quad (4) \end{aligned}$$

이다. 여기서, $\sigma_{tr} = (\mu_a + \mu_s')$ 이고, $\tau = 1/\mu_a c'$ 이다. 따라서 phase lag와 AC 성분은 매질의 광학계수의 함수로 주어지며 이것을 측정함으로써 흡수계수와 산란계수를 얻을 수 있다.

실험 장치 및 방법

본 연구에서 수행한 실험 장치는 그림 1과 같다. 그림에서와 같이 광원으로는 fast response time 를 갖는 light emitting diode(LED)을 사용하였다. Frequency synthesizer 1 (Hewlett-Packard 33120A)에 의해 발생된 peak to peak 전압이 8V인 사인파의 전압을 LED에 인가시켜 광세기를 amplitude modulation시킨다. 사용한 주파수 대역은 수십 MHz 이다. 다중 산란된 광은 광원으로부터 ρ 만큼 떨어진 optical fiber에서 검출된다. 검출된 광은 gain이 synthesizer 2에 의해 모듈레이션된 sampling PMT로 감지되는데 이 방식은 cross-correlation이라는 기술로 널리 알려져 있다. 이 PMT의 second dynode에 걸리는 전압을 frequency synthesizer 2(Hewlett-Packard 33120A)에 의해 발생된 사인파로 모듈레이션 시켜서 걸어주는데 주파수는 광원의 주파수와 약간 차이 나게 걸어 준다. 실험에서 사용한 cross-correlation 주파수는 10 Hz였다. PMT에서 나온 신호는 low pass filter(LPF)를 이용하여 고주파는

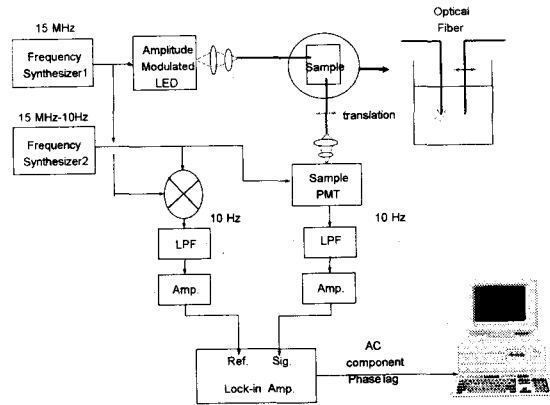


그림 1. 주파수 영역 분광법을 이용한 생체의 광학계수 측정하기 위한 실험 장치

필터링시키고 나머지 신호를 증폭하여 lock-in amp의 signal channel에 넣어주었다. 한편, 각 frequency synthesizer의 일부분을 분할하여 mixer에 넣어 주어 두 주파수를 mixing한 후 LPF를 사용하여 cross-correlation 주파수 신호를 얻어서 증폭하여 lock-in amp의 reference 신호로 사용하였다. 결과적으로 나오는 두 신호는 cross-correlation 주파수인 10Hz 이고 두 신호간의 phase lag과 진동성분의 진폭(AC 성분)의 차이를 lock-in amplifier에서 나타나게 된다. 이들 사이의 이론식으로부터 매질의 광학계수를 얻을 수 있다.

시료는 100% 우유 용액의 펜톤을 사용하였으며 변조주파수 10 MHz와 14 MHz에서 측정 거리에 따른 phase lag과 AC 성분의 변화를 측정하였으며, 측정 광섬유는 직경이 600um의 multi-mode 유리 광섬유를 사용하였다.

결과 및 분석

생체 조직이 나타내는 광학계수를 측정하기 위해서는 변조주파수가 약 100 MHz가 되어야 위상변이를 측정할 수 있는 한계에 들어온다. 그러나 본 연구에서와 같이 흡수계수가 작은 산란매질은 약 10 MHz에서도 위상 변화를 충분히 측정할 수 있었다. 무한 매질 속에서는 diffusion 근사에서 가정한 조건을 잘 만족시키기 때문에 시료의 광학적 계수를 정확하게 측정할 수 있다.

그림 2는 우유 100% 용액에 대해 amplitude modulation의 주파수가 10 MHz일 때와 14 MHz일 때의 실험결과이다. Normalized AC 성분은 두 주파수에 대해 거의 같은 값을 보인다. Normalized AC 성분의 주파수 의존성을 측정하려면 더 높은 주파수 영역에서 주파수 차이를 크게 둘 때 관측할 수 있다. 그러나 낮은 주파수 영역에서도 주파수 차이에 대한 위상 변이에서 큰 차이를 볼 수 있는데 변조 주파수가 클수록 위상 변이가 커짐을 알 수 있다. 이것은 optical path length의 평균값이 매질의 광학적 특성으로 인해 이미 결정되어있으므로, 주파수를 높여서 본다는 것은 time-resolution을 높인다는 것을 의미하고 주어진 측정거리에서 phase

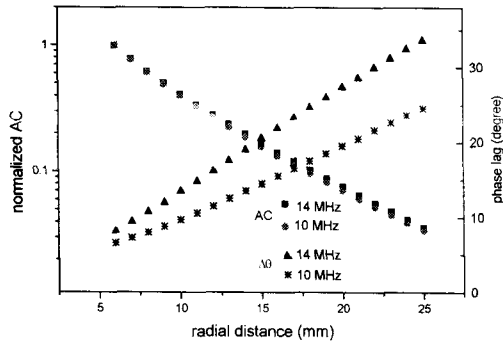


그림 2. 모듈레이션 주파수 14 MHz 와 10 MHz에서 매질내에서 측정된 fluence rate의 phase lag과 AC성분의 실험 data의 비교

차가 더 커지게 된다. 또한 위상 변이는 측정 거리에 대해 선형성을 보여주는데 이는 광원으로부터 측정 지점까지 도달하는데 평균적인 path length는 광원과 측정 지점 사이의 거리 ρ 에 비례함을 알 수 있다.

그림 3은 우유 100% 용액에 대해 amplitude modulation의 주파수가 10 MHz일 때 AC 성분과 위상변이의 실험치와 곡선 맞춤한 결과를 보여 주었다.

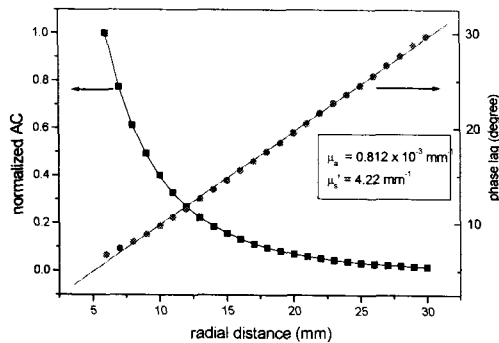


그림 3. 모듈레이션 주파수 10 MHz에서 매질내에서 측정된 fluence rate의 phase lag 과 AC 성분의 실험data (data point)와 이론에 의한 곡선 맞춤(solid line)의 결과

그림 4는 우유 100% 용액에 대해 amplitude modulation의 주파수가 14 MHz일 때 AC 성분과 위상변이의 실험치와 곡선 맞춤한 결과를 보여 주었다. 10 MHz 에서 실험치에 대해 곡선 맞춤한 결과 k_{real} 은 0.0993 mm^{-1} , k_{imag} 은 $0.01749 \text{ rad mm}^{-1}$ 이고, 이로부터 계산된 산란계수는 4.29 mm^{-1} 이고, 흡수계수는 0.000741 mm^{-1} 이다. 14MHz에서 계산된 k_{real} 은 0.09941 mm^{-1} 이고 phase lag에 대해 측정된 k_{imag} 은 $0.02342 \text{ rad mm}^{-1}$ 이다. 이로부터 계산된 산란계수는 4.26 mm^{-1} 이고, 흡수계수는 0.000782 mm^{-1} 이다. 두 진폭 변조주파수에 대해 5% 오차 이내에서 동일한 결과를 보여주었다.

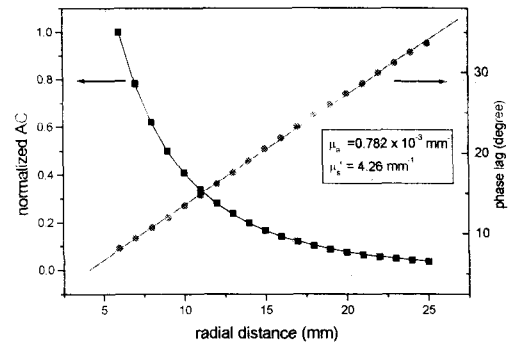


그림 4. 모듈레이션 주파수 14 MHz 에서 매질내에서 측정된 fluence rate의 phase lag 와 AC 성분의 실험 data (data point)와 곡선 맞춤의 결과(solid line).

결론

본 연구에서는 주파수 영역 분광법을 이용하여 다중산란매질의 광학적 특성을 측정하였다. 광원으로는 LED를 사용하였고, heterodyne detection 방식으로 위상변이와 AC성분을 측정하였다. 사용한 변조 주파수는 10 MHz와 14 MHz이고, 측정 거리에 따라 AC 성분과 위상 변이를 측정하였다. AC 성분의 감쇠로부터 세기가 변조된 광의 침투깊이를 알 수 있으며, 위상의 변이로부터 평균 path length를 알 수 있다. 사용한 시료는 100% 우유인데 이는 산란계수가 크고 흡수계수가 작은 매질이므로 비교적 낮은 변조주파수에서도 위상변이 효과를 볼 수 있다. 매질내에 광원과 검출기를 넣어서 측정할 경우 위상변이는 측정거리에 선형적으로 변화하였고, 변조 주파수가 클수록 위상변이가 더 커짐을 확인하였다. 사용하는 주파수 대역을 ~100 MHz 까지 확대하여 생체조직의 흡수계수 영역에 관해서도 측정할 수 있다. 광원 LED의 장점을 최대한으로 활용하면 혈중 성분의 측정에 응용할 수 있을 것이다.

Acknowledgement

본 연구는 '96년도 보건 의료기술연구 개발 사업의 지원에 의하여 이루어진 것임.(# HMP-95-G-1-4)

참고 문헌

1. A. Ishimaru, in *Wave Propagation and Scattering in Random Media* vol.1, (Academic, New York, 1978).
2. M. S. Patterson, J. D. Moulton, B. C. Wilson,

K. W. Berdt, and J. R. Lakowicz, "Frequency-domain reflectance for the determination of the scattering and absorption properties of tissue", *Appl. Opt.* **30**, 4474 (1991).

3. D. M. Jameson and T. L. Hazlett, "Time-resolved fluorescence in biology and biochemistry", in *Biophysical and Biochemical Aspects of Fluorescence Spectroscopy*, (Plenum Publishing Corp., 1991).

4. R. C. Haskell, L. O. Svaasand, T. T. Tsay, T. C. Feng and M. S. McAdams, and B. J. Tromberg, "Boundary condition for the diffusion equation in radiative transfer", *J. Opt. Soc. Am. A* **11**, 2727 (1994).

5. S. Fantini, M.A. Francechini, J. B. Fishkin, B. Barbieri, and E. Gratton, "quantitative determination of the absorption spectra of chromophores in strongly scattering media: a light-emitting-diode based technique", *Appl. Opt.* **33**, 5204 (1994).

6. B. A. Feddersen, D. W. Piston, and E. Gratton, "Digital parallel acquisition in frequency domain fluorimetry", *Rev. Sci. Instrum.* **60**, 2929 (1989).

7. S. Chandrasekhar, in *Radiative Transfer* (Oxford Univ. Press, London and New York and Dover, New York, 1960).