

근적외선 펄초 레이저 및 이광자 바이오 영상 기술

Near Infrared Femtosecond Laser and Its Two-photon Bio-imaging Technology

송동훈 (D.H. Song, dhsong@etri.re.kr)

서홍석 (H.S. Seo, wisehss@etri.re.kr)

이상균 (S.K. Lee, sklee526@etri.re.kr)

허철 (C. Huh, chuh@etri.re.kr)

박수준 (S.J. Park, psj@etri.re.kr)

진단치료기연구실 선임연구원

진단치료기연구실 책임연구원

진단치료기연구실 책임연구원

진단치료기연구실 책임연구원/실장

복지의료ICT연구단 책임연구원/단장

ABSTRACT

Over the last three decades, the development of Ti:sapphire femtosecond lasers has led to advancements in scientific and industrial fields. In particular, these advanced lasers show great potential for applications with bio-imaging and medical surgery, such as two-photon microscopy, nonlinear Raman microscopy, optical coherence tomography, and ophthalmic surgery. Herein, we present a detailed description of the theoretical and experimental physics of Kerr-lens mode-locked femtosecond Ti:sapphire lasers and its two-photon microscopy.

KEYWORDS 펄초 레이저, 근적외선 바이오 영상, 이광자 영상

1. 서론

대한민국 반도체 기술의 비약적인 발전으로 인해 일반인들에게 ‘나노(Nano)’라는 단어는 이제 익숙하게 되었지만, ‘펄초(Femto)’라 단어는 아직 생소하다. 하지만, 빛을 연구하는 광학 분야에서 ‘펄초’라는 단어는 아주 중요하다. 알하이삼(Ibn al-Haytham)¹⁾이 빛을 처음 연구한 지 1,000년이 지

난 현재 빛을 이용한 광학 기술은 반도체, 디스플레이, 초고속 광통신, 군사용 무기, 의료용 치료 및 진단 장비 등 많은 분야에서 대한민국 산업의 성장 동력이 되고 있다. 그 중 레이저는 앞서 소개한 분야의 기본적인 도구 또는 부품으로 사용되고 있으며, 최근 들어 초정밀, 초미세, 초진단 등의 극한의 물리환경에서 요구되는 산업 환경이 늘어나면서, 본격적으로 펄초 레이저가 기존의 일반 레이저 대신 쓰이기 시작했다. 레이저(Laser)는 유도방출 광선증폭(Light Amplification by the Stimulated Emission)

1) 현대 광학의 아버지라 불리며, AD 965년에 태어나서 1040년에 사망. AD 1011~1021년 동안 <Book of Optics> 저술함

* DOI: <https://doi.org/10.22648/ETRI.2021.J.360501>

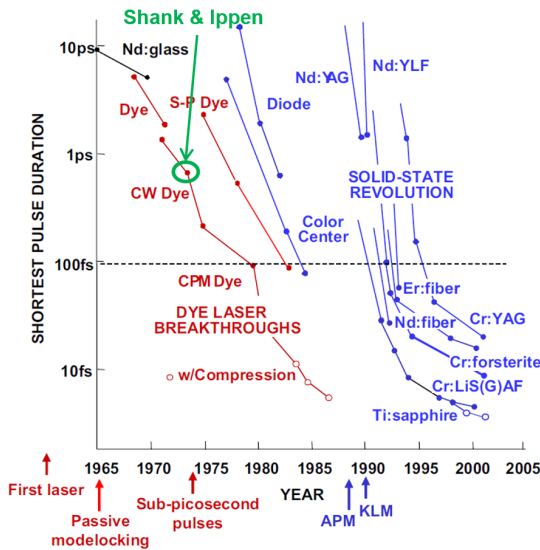
* 본 연구 논문은 한국전자통신연구원 내부연구과제(전략기술)의 일환으로 수행되었음[21YR1800, ICT기반 차세대 의료 핵심기술 개발 & 21YR2400, 뇌 및 척수 질환 환자 대상 치료와 합병증 예측을 위한 영상 및 의료지능 핵심기술 개발].



본 저작물은 공공누리 제4유형

출처표시+상업적이용금지+변경금지 조건에 따라 이용할 수 있습니다.

©2021 한국전자통신연구원



출처 Reprinted with permission from [2].

그림 1 펄초 레이저 발전 역사

sion of Radiation)의 앞 글자를 딴 글자이며, 펄초 레이저는 1,000조분의 1초 펄스폭을 가지는 펄스를 발진하는 레이저를 뜻한다.

펄초 레이저는 1974년 미국의 벨(Bell) 연구소 소속의 Shank와 Ippen이 색소(Dye) 레이저를 이용하여 펄초 펄스를 처음 생성하고, 모드잠김(Mode-locking) 기술을 소개하였는데[1], 이는 1960년 메이먼(T.H. Maiman)이 처음 루비 레이저(Ruby Laser)를 발명한 후 불과 14년만의 일이었다(그림 1[2] 참고).

그 후 1991년 아르곤(Argon) 이온 레이저로 펌핑된 고체(티타늄-사파이어) 레이저 기반의 모드잠김 펄초 레이저(Mode-locked Femtosecond Laser)가 처음 발표되고[3], 이때부터 모드잠김 기술에 대한 다양한 연구결과들이 계속해서 발표되었다[4]. 특히, 모드잠김 기술은 1980년대부터 비약적인 발전을 이룬 다이오드 레이저와 결합하여, 기존의 색소와 기체 레이저의 단점(높은 비용, 주기

적 교체, 유해물질)을 대체하는 다이오드 기반의 Nd:YVO₄ 레이저(고체 타입)를 펌프 광원으로 사용하게 되면서 본격적으로 기초과학 분야에 폭넓게 사용되기 시작했다.

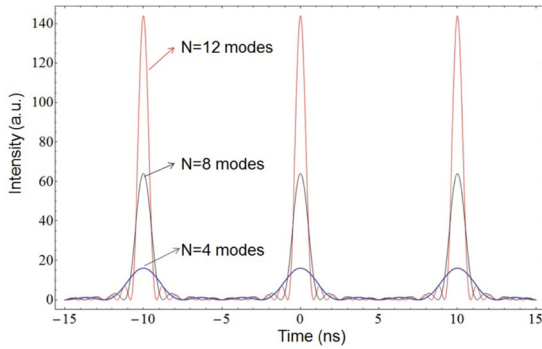
그로부터 8년 후 펄초 레이저를 이용하여 펄초화학 연구로 1999년 Zewail가 노벨화학상을 수상하고, 2005년 초정밀 분광 연구로 J.L. Hall과 T.W. Hansch가 노벨물리학상, 그리고 2018년 펄초 레이저 증폭 원리 연구로 D. Strickland와 G. Mourou가 노벨물리학상을 수상하면서, “펄초”라는 단어가 대중에게 조금씩 알려지기 시작했다.

앞서 언급한 고체 펄초 레이저의 등장은 다이오드 레이저 기술의 발전에 앞서, 1982년 MIT 링컨 연구소(MIT Lincoln Laboratory)에서 분광연구용으로 개발한 파장 가변 티타늄-사파이어(Ti:sapphire, Ti:Al₂O₃) 레이저 개발 때문이다. 1986년 같은 실험실의 Moulton에 의해 티타늄-사파이어 크리스털의 분광학적 특성 연구 결과(넓은 이득 밴드대역)가 발표되면서[5], 티타늄-사파이어 크리스털은 1990년대 고체 펄초 펄스 생성의 중요한 이득 매질이 된다. 그 이후 다양한 이득 매질(Cr:YAG, Cr:forsterite, Cr:LiSAF)과 광섬유 매질(Yb: fiber, Er: fiber, etc)을 이용한 여러 종류의 펄초 레이저가 개발되면서, 이를 이용한 다양한 펄초 산업 시장이 형성되게 된다. 다만, 본고에서는 티타늄-사파이어 펄초 레이저 개발과 이의 이광자 바이오 영상 기술에 한정해서 검토해 보도록 한다.

II. 기술동향

1. 펄초 펄스 생성

펄초 펄스는 모드잠김이라는 기술을 통해서 형성된다. 모드잠김은 레이저 펄스가 공진기 내에서 왕복운동(Round-trip)을 하는 과정에서, 여러



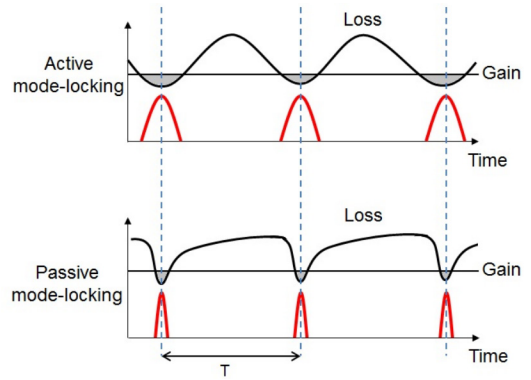
출처 Reprinted with permission from [7].

그림 2 같은 위상을 가진 여러 종모드가 모드잠김된 레이저 펄스

종모드(Longitudinal Mode)들이 동시에 같은 위상을 가지면서 진동(Oscillation)하는 현상을 뜻한다. 예를 들어, 모드잠김된 레이저는 같은 위상(Phase)과 진폭(Amplitude)을 가진 N개의 종모드를 발진시킨다면, 모든 모드들의 강도(Intensity)는 다음의 세기를 가진다[6].

$$I(t) = \frac{\sin^2 N\omega t/2}{\sin^2 \omega t/2}$$

여기서, ω : 축모드 간격 주파수(Axial mode spacing frequency), t : 시간을 뜻한다. 따라서 위 식을 플롯해 보면, 집속 강도는 모드(Mode)의 수가 많을수록 펄스폭이 줄어들고, 진폭이 커지는 것을 알 수 있다(그림 2)[7]. 또한 모드잠김 기술은 높은 이득(High Gain)을 요구하는 기술인데, 크게 능동형 모드잠김과 수동형 모드잠김으로 나뉜다. 능동형 모드잠김은 외부 변조 장치(전기광학변조기(Electro-optic Modulator), 음향광학변조기(Acousto-optic Modulator)) 등을 통해 손실(Loss)을 조절하여 이득(Gain)을 조절하는데, 이는 변조 시간의 물리적 한계로 인해 펄스폭을 줄이는 데 한계를 가진다. 수동형 모드잠김은 이득 매질, 또는 다른 광학 소자 내부에서 발생하는 비선형 현상에 의해 손실이 조

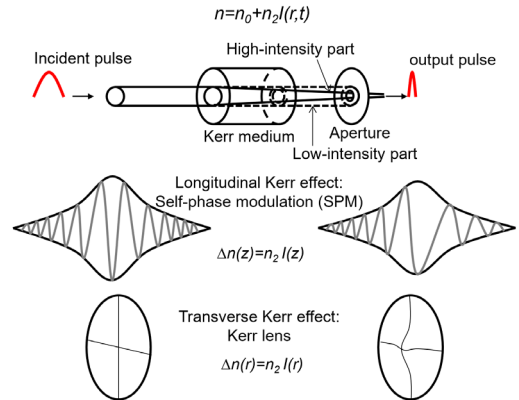


출처 Reprinted with permission from [7].

그림 3 모드잠김 기술 종류

절되는 기술로, 빠른 변조시간(피코초 이하)으로 인해 펄스폭을 생성하는데 유리하다(그림 3).

따라서 티타늄-사파이어의 펄스 레이저는 커-렌즈 모드잠김(Kerr-lens Mode-locking)이라는 수동형 모드잠김 기술에 의해 형성된다. 커-렌즈는 커효과(Kerr Effect)라는 3차 비선형 현상에서 유래되었으며, 매질 내 레이저 펄스가 왕복하면서 강도가 센 중앙부분의 굴절률이 크게 느껴지는 현상이다. 커효과를 횡방향(x, y 혹은 r축 방향)과 종방향(z축 방향)으로 나누어보면, 횡방향은 중심부위가 굴절률이 커지면서, 그림 4와 같이 렌즈효과를



출처 Reprinted with permission from [7].

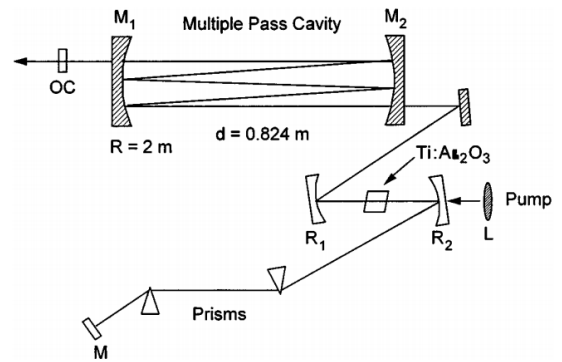
그림 4 커-렌즈 모드잠김 개념도

이저 스펙트럼이 만들어지는 것을 볼 수 있다. 요약하면, 펄스 레이저는 레이저 공진기 내에서 펌프 광원이 이득 매질 내 집속되는 영역에서 일어나는 커효과와 분산의 적절한 균형(Balance)으로 인해 형성되며, 분산값이 0에 근접할수록 펄스폭은 짧아진다(그림 6)[7]. 2001년 R. Ell 등[9]에서 실험적으로 얻은 5fs 펄스폭 레이저를 발표하였는데, 이는 현재까지 달성된 최소 펄스폭이다(그림 7).

2. 펄스 레이저 기술 개발 방향

티타늄-사파이어를 이용한 펄스 레이저 기술은 처음에는 펄스폭을 짧게 만드는 방향으로 개발되어 오다가, 2000년대 들어서면서 레이저 반복률이 메가헤르츠(MHz)로 높으면서, 하나의 펄스 에너지를 올리는 방향으로 연구가 진행되었다(그림 8).

이는 펄스 레이저를 이용한 다양한 산업분야가 확대되면서, 반도체, 디스플레이, 가공/패터닝 등의 높은 수율(Yield)을 요구하는 초정밀 시장의 요구사항을 반영한 흐름이다. 펄스당 에너지를 높이면서, 반복률이 메가헤르츠(MHz)인 펄스 레이저는 공진기의 길이를 늘이는 방법(장주기)과 일반적인 공진기 내부에 광학변조기 장치를 설치하



출처 Reprinted with permission from [10].

그림 9 멀티패스 장주기 펄스 레이저 공진기

는 방법(덤핑(Dumping))이 있다.

Cho 등[10]은 1999년 처음으로 장주기 방식에 의한 11nJ, 16.5fs 펄스를 발진시키는 기술을 소개하면서, 멀티 패스에 의한 콤팩트한 공진기 개념을 도입하였고(그림 9), 2001년 후속 연구를 통해 90nJ의 펄스 에너지를 얻는다[11]. 2003년에는 Kowalevicz 등[12]이 150nJ, 43fs 펄스 발생을 성공하고, 2007년 P. Dombi 등[13]이 200nJ, 5ps를 압축을 통해 35fs까지 달성하는 결과를 발표하게 된다. 그로부터 5년 후 한국전자통신연구원(ETRI)에서도 2013년 330nJ, 98fs 펄스를 발진시키는 펄스 레이저 개발을 성공하게 된다[14](그림 10).

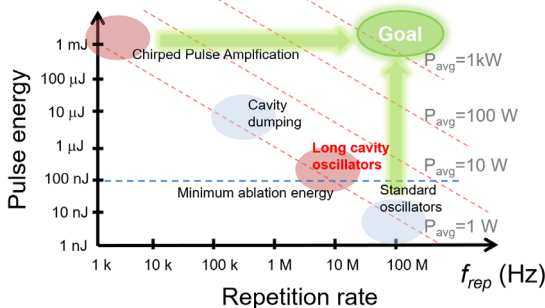
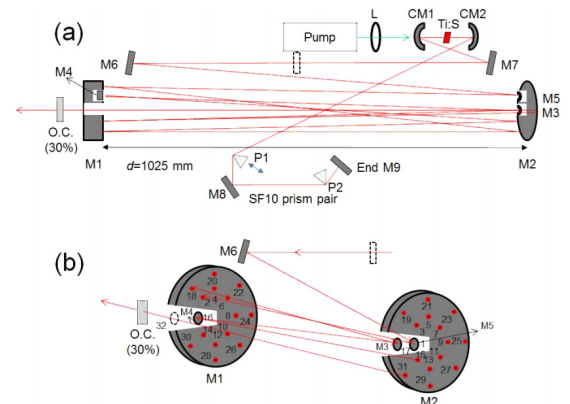
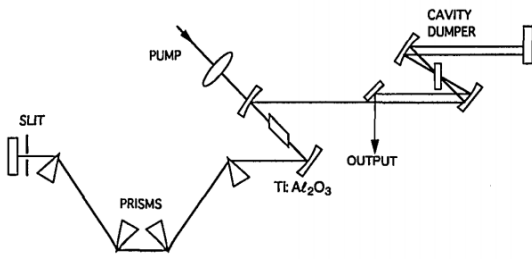


그림 8 펄스 레이저 Overview



출처 Reprinted with permission from [14].

그림 10 ETRI 장주기 펄스 레이저



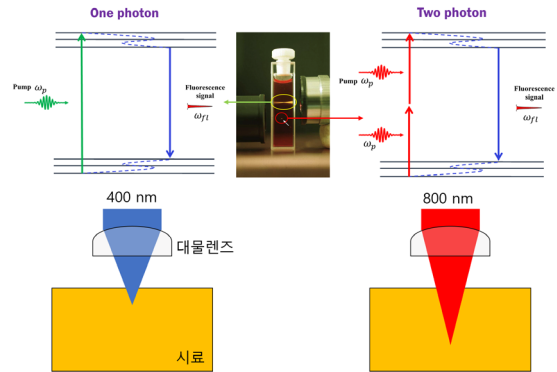
출처 Reprinted with permission from [15].

그림 11 공진기 덤핑 방식의 펄스 레이저

공진기 덤핑방식은 1993년 Ramaswamy 등[15]이 처음 음향광학 변조기를 공진기 내부에 설치하여 100nJ, 40fs 펄스 발진을 성공시키고(그림 11), 10여 년이 지난 2006년 X. Zhou 등[16]이 450nJ, 60fs 펄스를 발생시키면서, 펄스 에너지를 4배 정도 올린다. 2009년에는 Siegel 등[17]이 장주기와 덤핑 기술을 합한 방식으로 펄스 에너지 약 1μJ까지 최고값을 얻게 된다. 그러나 덤핑 방식은 장주기 방식에 비해 높은 펄스 에너지를 얻을 수 있으나, 공진기 내부에 고가의 변조기를 설치해야 하는 단점을 가진다. 이외에 외부 펌프 광원을 이용하여 증폭하는 방식(CPA)이 있으나, 본고에서는 해당 내용을 다루지 않는다.

3. 이광자 바이오 영상 기술

이광자 바이오 영상 기술은 근적외선 펄스 레이저 펄스를 이용하여 이광자 흡수 현상에 따른 형광 신호를 영상화한 기술이다(그림 12). 필수적으로 근적외선 펄스 레이저가 필요하며, 티타늄-사파이어 펄스 레이저가 여기에 적합한 광원이다. 이광자 영상 기술은 1990년 Denk 등[18]에 의해 처음 발표되었는데, 당시 공초점 영상기술과 비교하여, 몇 가지 우수한 점이 소개되면서 현재까지



출처 Reproduced with permission from [19].

그림 12 단광자와 이광자 흡수 에너지 다이어그램(위), 초점영역에서의 형광 사진[19], 단광자와 이광자 빛의 투과 깊이

지속적으로 연구개발이 진행되어 왔다. 첫째, 에너지가 낮은 광자 두 개를 이용하여 시료 내 전자를 여기시키기 때문에 시료에 빛이 깊이 들어간다(그림 12). 둘째, 기존의 단일 광자 광원을 사용해서 발생하는 광독성(Phototoxicity), 광표백(Photo-bleaching), 광손상(Photodamage)으로부터 자유롭게 때문에 장시간 시료의 관찰이 가능하다. 셋째, 자외선 영역까지 이광자 현상을 이용하여 전자를 여기시킬 수 있기 때문에 사용자의 안전과 자외선 영역내 관찰이 가능하다. 넷째, 넓은 파장 밴드폭을 가진 펄스 레이저 광원을 사용하기 때문에 동시에 다양한 형광 신호를 획득하여 영상화할 수 있다. 즉, 다양한 종류의 형광염색(Fluorescence staining)을 통해서 동시에 이를 영상화할 수 있다. 다섯째, 초점 영역에서만 형광을 방출함으로써 특정 깊이의 광단층 영상을 선택적으로 볼 수 있다[19](그림 12 내 사진).

이러한 장점들로 인해 이광자 현미경 기술은 국내에서도 ETRI, 한국생명공학연구원, 한국과학기술원(KAIST), 광주과학기술원(GIST) 등에서 생물학, 면역학, 신경학, 질환 진단(암, 치매 등) 등의

다양한 분야에 활용되고 있으며, 최근에는 살아 있는 동물에 직접 렌즈를 고정하여 생체 이미지화까지 가능한 기술 수준까지 발전하였다. 이에 메이저 현미경 회사(Olympus, Nikon, Zeiss)들은 앞 다투어 이광자 현미경을 개발하여 상용화하였으나, 여전히 펄스 레이저 광원이 고가이기 때문에 이광자 현미경 가격 또한 수억 원에 이른다. 이광자 바이오 영상 현미경은 수요가 많은 고사양 현미경임에도 불구하고, 높은 비용으로 인해 보급에 한계가 있다. 한편, 최근 ETRI에서는 국내 처음으로 다이오드 직접 펄핑 기반의 티타늄-사파이어 펄스 레이저를 개발함에 따라, 레이저 광원 비용을 기존 대비 약 1/10 이상 낮춘 이광자 현미경의 원천 기술을 획득하였다. 이에 최근 의료분야에서 활발히 연구 중인 생체 조직 투명화 기술에 이광자 영상 기술을 더하면 두꺼운 생체조직을 얇게 자르지 않고 3차원 기능성 이광자 영상을 획득할 수 있어, 세포 재생 및 가소성 규명 연구에 하나의 영상 기술로 쉽게 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

III. 시장 동향

펄스 레이저 시장은 크게 티타늄-사파이어, 광섬유, 다이오드, 모드잠김 레이저로 구분하고 있다. 특히 본고에서 언급된 티타늄-사파이어 레이저 전 세계 시장은 2019년 2,392백만 달러에서 연평균 25%씩 성장하여, 2024년이면 약 6,985백만 달러로 급성장할 것으로 보고 있다. 또한 티타늄-사파이어, 광섬유, 다이오드, 모드잠김 레이저 모두 연평균 24% 수준으로 가파른 성장을 보이고 있으며, 2024년 기준으로 전 세계 시장 규모는 약

13,114백만 달러가 될 것으로 보고 있다.

펄스 레이저는 바이오·의료, 재료의 프로세싱, 분광, 자동차, 전자기기, 과학, 국방 등으로 다양한 분야에 적용 중이며, 전 세계 시장 규모는 2019년 4,444백만 달러에서 연평균 24%씩 가파르게 성장하여 2024년에는 13,114백만 달러로 성장할 것으로 보고 있다. 특히 바이오·의료 응용 시장은 2019년 1,498백만 달러에서 연평균 23%씩 급성장하여 2024년에는 4,262백만 달러에 이를 것으로 보고 있다.

현재 국내에서 쓰이는 펄스 레이저는 전량 수입산이며, 글로벌 기업들(Trumpf GmbH, Newport, Coherent, Jenoptik, Amplitude systems, IPG photonics 등)에 의해 공급되고 있으며, 전 세계 시장의 대부분을 점유하고 있다[20].

IV. 결론

본고에서는 펄스 레이저의 역사, 기술 동향, 이를 이용한 이광자 바이오 영상 기술, 시장 동향에 대해 살펴보았다. 펄스 레이저는 현재 다양한 종류와 더불어 국가 기반 산업인 반도체, 디스플레이, 배터리, 자동차 분야와 의학분야(치료 및 진단)에도 활용되고 있다.

펄스 레이저 및 응용 기술은 국내에서 ETRI를 비롯하여, 한국원자력연구원, 한국전기연구원, 한국기계연구원, 한국표준연구원, 광주과학기술원, 한국과학기술원 등에서 세계 기술과 대등한 수준으로 연구개발이 진행되고 있으며, 펄스 산업의 활성화에 큰 밑거름이 되고 있어, 향후 지속적인 발전이 기대된다.

용어해설

나노 Nano 10억분의 1

펨토 Femto 1000조분의 1

레이저 Laser 유도방출광선증폭 Light Amplification by the Stimulated Emission of Radiation

모드잠김 Mode-locking 레이저 공진기 내 모드들의 위상을 일치시키는 기술

커-렌즈 Kerr lens 3차 비선형 물리현상인 커효과에 의해 매질의 굴절률이 렌즈처럼 역할을 하는 현상

처프 Chirped 시간에 따라 주파수가 변하는 것, 즉 시간에 따라 레이저 펄스폭이 변함

메가헤르츠 MHz 레이저의 펄스 수가 초당 100만 개인 주파수

약어 정리

CPA Chirped Pulse Amplification

MHz Megahertz

참고문헌

- [1] C.V. Shank et al., "Subpicosecond kilowatt pulses from a mode-locked cw dye laser," Appl. Phys. Lett. vol. 24, no. 8, 1974.
- [2] T.R. Schibli et al., "Toward single-cycle laser system," IEEE J. Quant. Electron. vol. 9, no. 4, 2003, pp. 990-1001.
- [3] D.E. Spence et al., "60-fsec pulse generation from a self-mode-locked Ti:sapphire laser," Opt. Lett. vol. 16, no. 1, 1991.
- [4] F.X. Kartner et al., "Soliton mode-locking with saturable absorbers," IEEE. J. Quant. Electron. vol. 2, no. 3, 1996, pp. 540-556.
- [5] P.F. Moulton, "Spectroscopic and laser characteristics of Ti:Al₂O₃," J. Opt. Soc. Am. B, vol. 3, no. 1, 1986, pp. 125-133.
- [6] A.E. Siegman, "Lasers," in University Science Books, Sausalito, California, USA, 1986, p. 1049.
- [7] D.H. Song, "Study on high-energy femtosecond laser and amplification," Ph.D. dissertation, GIST, 2012.
- [8] H.A. Haus et al., "Structures for additive pulse mode locking," J. Opt. Soc. Am. B, vol. 8, no. 10, 1991, pp. 2068-2076.
- [9] R. Ell et al., "Generation of 5-fs pulses and octave-spanning spectra directly from a Ti:sapphire laser," Opt. Lett. vol. 26, no. 6, 2001, pp. 373-375.
- [10] S.H. Cho et al., "Low-repetition-rate high-peak-power Kerr-lens mode-locked Ti:Al₂O₃ laser with a multiple-pass cavity," Opt. Lett. vol. 24, no. 6, 1999, pp. 417-419.
- [11] S.H. Cho et al., "Generation of 90-nJ pulses with a 4-MHz repetition-rate Kerr-lens mode-locked Ti:Al₂O₃ laser operating with net positive and negative intracavity dispersion," Opt. Lett. vol. 26, no. 8, 2001, pp. 560-562.
- [12] A.M. Kowalevicz et al., "Generation of 150-nJ pulses from a multiple-pass cavity Kerr-lens mode-locked Ti:Al₂O₃ oscillator," Opt. Lett. vol. 28, no. 17, 2003, pp. 1597-1599.
- [13] P. Dombi et al., "Investigation of a 200-nJ chirped-pulse Ti:sapphire oscillator for white light generation," Laser Phys. Lett. vol. 4, no. 7, 2007, pp. 538-542.
- [14] D.H. Song et al., "A compact Kerr-lens mode-locked Ti:sapphire oscillator with 330 nJ soliton-like pulses," Laser Phys. Lett. vol. 10, no. 6, 2013.
- [15] M. Ramaswamy et al., "Cavity-dumped femtosecond Kerr-lens mode-locked Ti:Al₂O₃ laser," Opt. Lett. vol. 18, no. 21, 1993, pp. 1822-1824.
- [16] X. Zhou et al., "Positive-dispersion cavity-dumped Ti:sapphire laser oscillator and its application to white light generation," Opt. Express, vol. 14, no. 21, 2006, pp. 9750-9757.
- [17] M. Siegel et al., "Microjoule pulse energy from a chirped-pulse Ti:sapphire oscillator with cavity dumping," Opt. Lett. vol. 34, no. 6, 2009, pp. 740-742.
- [18] W. Denk et al., "Two-photon scanning fluorescence microscopy," Sci. vol. 248, no. 4951, 1990, pp. 73-76.
- [19] M. Oheim et al., "Principles of two-photon excitation fluorescence microscopy and other nonlinear imaging approaches," Adv. Drug Deliv. Rev. vol. 58, no. 7, 2006.
- [20] BCC Research, "Lasers: Global markets to 2024," 2019.