

환경대기 중 석면측정용 현미경법 -

2016

투과전자현미경법

(Transmission Electron Microscope Method

in Asbestos Measurement)

1.0 개요

투과전자현미경은 광학현미경과 그 원리가 비슷하다. 전자현미경에서의 광원은 높은 진공 상태 (1×10^{-4} 이상)에서 고속으로 가속되는 전자선이다. 전자선이 표본을 투과하여 일련의 전기자기장 (electromagnetic field) 또는 정전기장 (electrostatic field)을 거쳐 형광판이나 사진필름에 초점을 맞추어 투사된다. 이 전자의 파장은 가속전압에 따라 다르며 흔히 사용되는 전압 (100 kV)에서의 전자파장은 0.004 nm 이다. 최근에 고전압 (500 ~ 1,000 kV)을 사용하는 투과전자현미경이 개발되어 비교적 두꺼운 조직표본도 투과할 수 있게 됨으로써 관찰이 가능해 졌으나 아직은 크게 활용되지 않고 있다. 전자현미경은 확대율과 해상력이 뛰어나 광학현미경으로 관찰할 수 없는 세포 및 조직의 미세한 구조를 관찰할 수 있으며, 단백질과 같은 거대분자보다 더 작은 구조도 볼 수 있다. 광학현미경의 광원 대신에 광원과 유사한 성질을 지닌 전자선과 렌즈 대신에 전자 렌즈를 사용한 현미경으로서 결상 (상맺힘)의 기본원리는 같다. 전자선은 광선과 비교하면 물질과의 상호작용이 현저하게 크기 때문에 시료는 아주 얇아야 하며 진공 중에 놓여지게 된다. 전자선이 시료를 투과할 때에 생기는 산란흡수, 회절, 위상 3가지의 대조 (contrast) 발생원리를 이용한 장비이다. 일정한 파장을 지닌 전자선을 시료에 조사 (쏘여줌)하면 시료에서 산란되어진 전자선이 대물렌즈의 후초점면에 회절 형상을 형성시킨다. 즉 시료에서 일정한 방향으로 산란되어진 전자선이 후초점면에서 한 점으로 모이게 된다. 이 후초점면에서 2차파가 대물렌즈의 초점에 확대상을 만든다. 이 상은 투영렌즈에서 형광판에 확대결상 되어진다. 중간렌즈의 초점거리를 바꾸게 되면 현미경형상과 회절형상을 마음대로 얻을 수 있게 된다.

1.1 투과 전자현미경의 기본 원리

1.1.1 전자총에 의해서 형성된 일련의 전자들이 인가된 전기장에 의하여 시료를 향하여 가속된다.

1.1.2 전자다발이 금속으로 형성된 조리개와 자기장을 이용한 렌즈에 의해서 초점으로 모아지고 파장이 일정한 전자빔을 형성한다.

1.1.3 이 전자빔이 다시 자기장을 이용한 또 다른 렌즈에 의해서 시편에 초점을 형성한다.

1.1.4 시편에 입사되는 전자들과 시편 내에 포함된 원자 및 전자들이 상호작용한다.

1.2 목적

이 시험방법은 대기환경 중 석면의 농도 측정 방법을 규정함으로써 석면배출을 감시 및 억제하고자 하는데 그 목적이 있다. 대기 중 부유먼지 중의 석면섬유를 위상차현미경으로 석면 판독이 불가능한 경우에는 투과전자현미경법으로 결정한다.

1.3 적용범위

1.3.1 이 시험방법은 대기 중의 실내에 석면을 사용하고 있는 건축내 또는 일정한 공간내에 석면 함유되어 있는 건축물 폐기시 비산되는 부유먼지 중의 석면의 분석방법에 대하여 규정한다.

1.3.2 투과전자현미경 (TEM, transmission electron microscopy)의 이론적 분해능 (해상력)은 약 0.001 nm이나 생물학적 표본에서 사용되는 분해능은 약 0.2 nm (side entry), 0.14 nm (top entry)이다.

1.3.3 투과전자현미경은 분해능이 300 kV 투과전자현미경에서도 0.18 nm 이하로 상당히 높기 때문에 물질의 분자, 원자수준의 미세구조를 관찰할 수 있고, 전자회절형상을 이용하여 물질의 결정구조를 분석할 수가 있다.

1.3.4 투과전자현미경은 조사전자선에 따라 시료 내 돌기된 부분의 특성 X선을 에너지 분산형 X선분광기 (EDS, energy dispersive X-ray spectrometer)에서 나노메타영역의

원소분석, 전자에너지 손실분광기 (EELS, electron energy-loss spectroscopy)로 시료를 투과한 전자선의 에너지 분석에서 원소 분석, 결합상태 분석이 가능하다. 이와 같은 복합 기능을 지닌 투과전자현미경은 분석전자현미경 (AEM, analytical electron microscopy) 이라고도 불리며 폭넓게 이용되고 있다.

1.4 간섭물질

1.4.1 분석시료의 원자번호

원자번호가 클수록 더 많은 전자들을 흡수하거나 차단시켜 상호 작용하는 부피가 작다.

1.4.2 가속전압

전압이 높을수록 입사전자들의 에너지가 크기 때문에 시료내로 더 깊숙히 침투하여 상호작용하는 부피가 크다.

1.4.3 전자빔의 입사각도

각도가 클수록 상호작용하는 부피가 작다.

2.0 용어정의

2.1 전자총계

전자총계는 전자선을 발생시키는 전자총과 가속기능을 갖는다. 텅스텐 (헤어핀형), 필드방출 (FE, field emission)형 등의 전자총 (electron gun)을 장착하여 발생된 전자선을 여러 단계에 걸쳐서 가속관에서 가속시킨다.

2.2 전자렌즈계

전자렌즈계는 전자선을 시료상에 집속시키기 위해 집속렌즈와 시료를 투과한 전자선을 확대 결상시키기 위해 4개 이상의 결상렌즈로 구성되어진다. 회전대칭의 전계 또는

자계를 이용한 렌즈이며 광축 결합용 편향기, 비점수차보정기 등으로 구성되어 있다. 투과전자현미경 탄생의 초기는 전계 렌즈가 사용되었으나 이후 에너지필터(energy filter)와 같은 특별한 경우를 제외하고 짧은 초점거리를 얻기 쉬운 자계 렌즈가 폭넓게 사용되어 성능이 대폭 향상되었다.

2.2.1 집광렌즈

집광렌즈는 조명시스템 A (illuminating system)의 일부로 전자총으로부터의 첫 번째 크로스오버이미지 (crossover image)의 전자들을 모아서 시편으로 초점을 맞추며 대부분의 전자현미경은 2 개의 집광렌즈로 구성되어 있다. 첫 번째 집광렌즈 (C_1)는 50 μm 크기의 크로스오버이미지 (crossover image)를 축소시켜서 1 ~ 20 μm 크기의 탐침크기 (spot size)를 형성한다. 두 번째 집광렌즈 (C_2)는 반대로 C_1 탐침 (spot)을 확대시킨다. 2 개의 집광렌즈의 전체적인 효과는 시편에 조사되는 전자빔의 양을 정확하게 조절 하는 데에 있다. C_1 과 C_2 를 조작하는 원칙은 관찰하고자 하는 시편 부위에만 적당한 크기의 탐침 (spot)를 형성하는 것이므로 고배율에서는 탐침크기 (spot size)를 작게 만들고, 저배율의 관찰에서는 탐침크기를 크게 형성하여야 한다.

2.2.2 집광렌즈의 조리개

2 개의 집광렌즈는 여러 크기의 조리개를 갖는데 일반적으로 C_1 조리개의 크기는 고정되어 있고 C_2 조리개의 크기는 전자빔의 경로에 위치한 서로 다른 크기의 조리개를 삽입하여 조절이 가능하다. 일반적으로 500 μm , 300 μm , 200 μm , 혹은 100 μm 크기를 가진 3 ~ 4 개의 구멍이 뚫린 몰리브덴 박 (molybdenum foil)을 사용하고 컬럼의 바깥쪽에 위치한 조절나사로서 구멍이 전자빔의 경로 가운데에 위치하도록 한다. 큰 크기의 집광조리개를 사용하면 대부분의 전자들이 렌즈를 통과하므로 시편에 밝은 탐침을 얻을 수 있으며, 크기를 줄이면 전자빔의 바깥쪽에 있는 전자들을 배제함으로써 시편의 밝기가 줄어드는 대신에 구면수차값이 줄어들어 분해능을 증가시킬 수 있다.

2.2.3 대물렌즈

대물렌즈는 시편의 첫 번째 확대된 영상을 형성하므로 가장 중요한 부분으로서 고배율을 얻기 위해서 대물렌즈는 1 ~ 2 mm의 초점거리를 가져야 하고 비점수차이나 그 외 다른 수차가 없어야 한다.

다른 렌즈들은 형성된 영상을 확대하는 역할을 수행하지만, 대물렌즈의 주된 역할은 영상을 첫 번째로 형성하고 확대하는 것이다. 영상을 확대하는 모든 렌즈들보다 대물렌즈의 조절범위가 가장 작아서 고배율을 얻기 위해서 매우 짧은 초점거리를 가지며 또한 초점을 맞추기가 쉽다. 만일 대물렌즈의 세기가 넓은 범위에 걸쳐 조절이 가능하다면, 다시 초점을 맞추거나 할 때에 렌즈의 전류를 전제적으로 재조정하여야 하므로 조절범위를 작게 만든 것이다. 최근의 투과전자현미경에서는 대물렌즈의 배율이 바뀔 때, 쉽게 초점을 형성하도록 대물렌즈의 조절이 쉽게 되어 있다. 만일 렌즈에 흐르는 전류의 양이나 전압이 불안정하면 대물렌즈의 초점 형성에 영향을 미친다.

2.2.4 대물렌즈 조리개

얇은 시편에서 좋은 대조 (contrast)의 영상을 얻는 것은 항상 쉽지 않다. 대물렌즈 조리개의 역할은 주로 전자빔의 광축에서 벗어난 전자들을 차단함으로써 대조 (contrast)를 증가시키는 것이다. 시편 바로 아래의 폴피스갭 (pole piece gap)에 70 μm , 50 μm , 30 μm , 20 μm 등의 여러 가지 크기의 조리개를 위치시켜 사용한다. 대물렌즈 조리개의 크기를 줄이면 대조 (contrast)는 증가시킬 수 있으나 전체적인 밝기는 줄어들고, 또한 조리개의 크기가 줄어들수록 오염이 되기 쉽다. 조리개를 사용하면 투과전자현미경이나 일반 광학 사진에서나 마찬가지로 초점심도 (depth of field)를 증가시킬 수 있는데 조리개의 크기가 줄어들수록 초점심도가 증가하여 초점을 중심으로 더 많은 앞뒤의 부위의 영상을 얻을 수 있다.

2.2.5 중간렌즈 (intermediate lens)

대물렌즈의 아래쪽에 위치하면서 대물렌즈와 비슷하게 구성되어 있다. 주된 역할은 대물렌즈로부터 나온 영상을 확대하는 것이다.

2.2.6 투사렌즈 (projector lens)

중간렌즈 밑에 2 개의 투사렌즈 (P1, P2)가 위치하여 중간렌즈로부터 나온 영상을 더욱 확대시킨다. 중간렌즈와 마찬가지로 분해능보다 수차에 영향을 더 미치는 왜곡현상이 투사렌즈의 성능을 좌우한다. 투사렌즈는 초점심도가 아주 커서 멀리 떨어진 스크린에 초점이 맞는 최종 영상을 형성한다.

2.3 시료계

시료계는 시료를 나노미터의 정확도로 구동하며 경사, 회전이 가능한 시편대 (stage), 고니오미터 (goniometer)기구와 가열, 냉각, 팽창 등의 기능을 가진 각종 시료 홀더로 구성되어 있다.

2.4 관찰, 기록, 검출계

관찰, 기록, 검출계는 확대결상이 되어진 상을 관찰하기 위해 형광판과 전자를 직접사진으로 기록하는 것이 일반적이다.

2.5 진공 배기계

진공 배기계는 전자선의 통로를 이하의 진공으로 유지시키기 위해 각종 배기 펌프로 구성되어진다. 펌프는 주로 오일펌프 (oil disperse pump), 터보펌프 (turbo pump) 등이 있고 보조 펌프로서 오일회전펌프가 대표적이다. 각종 펌프에 필요한 진공도에 따라야 하며 진공계, 배기관의 조합으로 사용되어 진다.

2.6 전원

전원 제어계는 위의 각 요소를 동작시키기 위한 높은 안정도를 지닌 전원과 쉽게 조작할 수 있는 중앙처리장치 제어계로 구성되어 진다. 분해능 (d)은 전자선의 파장 (λ)과 대물렌즈의 구면수차계수 (C_s)로 결정되어지는데 다음과 같다.

$d = 0.65 \times C_s^{1/4} \times \lambda^{3/4}$ 즉, 파장이 짧을수록 높은 분해능을 얻을 수 있다. 한편 파장과 가속전압 (V)의 관계는 $\lambda \approx AV^{-1/2}$ (A : 정수)로 나타내며 가속전압을 높이면 파장은 짧아지고 높은 분해능을 얻을 수 있다. 일반적으로 100 kV에서 3 MV까지 최고가속전압을 지닌 각종 투과전자현미경이 있다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 분석기기 및 기구

3.1.1 열전자에 의한 전자선

3.1.2 렌즈

3.1.2.1 정전형 전자렌즈

3.1.2.1.1 망목렌즈 (mesh lens)

3.1.2.1.2 원공렌즈 (aperture lens)

3.1.2.1.3 원통렌즈 (cylinder lens)

3.1.2.1.4 정전형단렌즈 (electro static unipotential lens)

3.1.2.1.5 음극렌즈 (cathode lens)

3.1.3 자계형 전자렌즈

3.1.4 진공계 - 고진공 상태

3.1.5 상의 기록 시스템

3.1.5.1 sheet film camera 내장

현미경 상의 기록 : 은유제에 전자선을 직접 노출시키는 방식

3.1.6 부속장치

TEM/TV 시스템 : 형광판에 나타난 상을 텔레비전 카메라로 동시에 처리 관찰

4.0 표본제작방법

시편은 대개 구리로 만들어진 그리드에 부착시킨 뒤, 시편 지지대를 컬럼 내로 넣고, 다시 진공을 유지시킨 뒤 현미경의 시료실 (specimen stage)로 이동시킨다. 시료실은 x, y방향으로 약 10 nm 단위로 이동이 가능하며, 회전 및 기울기 변화가 가능하다. 유기물 시편과는 달리 세라믹스, 금속, 광물들의 시편에서는 확대된 영상만이 중요하지 않고 영상과 함께 원자의 배열에 따른 회절패턴이 중요하므로 이중경사 시료실 (double-tilt specimen stage)이 필요불가결하며 또한 전자빔과 시편과의 상호작용에 의하여 열이 발생하기 때문에 열적 진동에 따른 상 및 회절패턴의 흐려짐을 방지하는 것이 좋다.

4.1 영상시스템 (viewing system)과 카메라

투사렌즈에 의해서 형성된 영상은 마지막으로 스크린에 영상을 형성한다. 스크린은 기울여서 볼 수도 있게끔 되어 있고 또한 입체현미경 (stereomicroscope)을 이용하여 더욱 확대된 영상을 관찰할 수도 있다.

스크린 아래쪽의 카메라 챔버가 위치해 있어서 필름을 넣은 카세트가 장착된다. 필름 장착 후, 다시 고진공을 유지하고 카메라 챔버가 컬럼쪽으로 열리면서 필름 영상을 기록할 수 있게 된다. 주의할 점은 필름을 미리 진공상태로 3 ~ 4 시간 동안 유지시켜야 하는데, 이는 필름에 부착되어 있는 수분이나 기타 가스를 제거하는데 적어도 2 ~ 3 시간 이상 소요되기 때문이다. 카메라는 13/4" x 4" 크기의 필름을 1 ~ 15 장 장착할 수 있다. 셔터로 노출시간을 적절히 조절할 수 있다. 일단 노출 시간이 정해지면 노출계가 적절한 노출정도를 유지하도록 C_1 과 C_2 렌즈를 조절하여 밝기를 조절한다. 필름을 스크린 밑으로 이동시킨 다음 스크린을 젖혀 올려 영상이 필름에 기록되게 한다.

4.2 진공시스템 (vacuum system)

진공시스템은 펌프, 스위치, 밸브 등으로 구성되어 전자빔의 경로에서 공기를 제거할 뿐만 아니라 전자현미경의 다른 부위, 예를 들면 전자총, 카메라부위 등에서도 공기 분자들을 제거하는 역할을 한다. 초기 전자현미경의 진공 시스템은 작동이 번거로웠지만 최근의 전자현미경은 자동화된 진공시스템으로 구축되어 작동이 용이할 뿐만 아니라 오염, 밸브의 오동작, 정전, 단수 등의 사태에도 전자현미경을 보호할 수 있도록 개선되었다.

4.3 고진공의 필요성

4.3.1 전자의 평균 자유이동 (mean free path)를 증가

4.3.2 필라멘트와 전극 사이의 고전압 방전 (discharge)을 방지

4.3.3 방전은 필라멘트의 작동불능을 가져올 뿐만 아니라, 필라멘트는 산화에 극히 민감하므로 고진공을 유지하여야 한다.

4.3.4 수증기나 실험실내 유기물로부터 나온 가스에 의한 오염 방지

4.3.5 회전펌프 (rotary pump)와 확산펌프 (diffusion pumps)

예비펌핑 (10 ~ 1) Pa range으로서 회전펌프를 사용하고 이어서 확산펌프를 사용하여 (10 ~ 3) Pa to (10 ~ 4) Pa 범위의 고진공을 얻는다. 이 2 가지 진공펌프는 서로 다른 원리를 이용하여 진공을 얻는데 각각의 작동한계가 있다.

4.4 시료의 표본제작

4.4.1 시료의 채취와 세절 : 1 mm³ 크기로 세절

4.4.2 전 고정과 수세

- 2.5 % 글루타르알데히드 ($C_5H_8O_2$, glutaraldehyde, 분자량: 100.12) 용액 (4 °C, 2 ~ 8 시간)
- 0.1 M Phosphate Buffer 용액으로 pH 7.0 ~ 7.4로 수세

4.4.3 후 고정과 수세

- 1 ~ 2 % 오스뮴 테트로사이드 (OsO_4 , osmium tetroxide, 분자량: 254.23) 용액 (4 °C, 90 ~ 120 분)

- 0.1 M Phosphate Buffer 용액으로 pH 7.0 ~ 7.4로 수세

4.4.4 탈수

50 ~ 100 % 에탄올 (C_2H_5OH , ethanol, 분자량: 46.07)로 탈수 후 치환

4.4.5 치환

- 프로필렌옥사이드 (C_3H_6O , propylene oxide, 분자량: 58.08) (투명제)로 치환

4.4.6 포매

포매제로는 친수성 포매제와 비친수성포매제가 있다. 일반적으로 많이 쓰이는 것은 비친수성포매제인 에폰 812 (Epon 812)이다. 실질적인 포매제의 제조는 epon 812, DDSA (dodecenyl succinio anhydride), NMA (nadic methyl anhydride), DMP-30 (tridimethyl amino-methyl phenol)을 적당 비율로 섞어 제조한다. 이 네 가지 시약의 비율을 어떻게 하느냐에 따라서 포매된 블록의 굳기는 달라지며 상황에 따라 예를 들어 여름과 겨울 등의 계절에 따라 시약의 비율을 달리 조절해야할 필요성도 있을 수 있다. 블록의 적당한 굳기는 조직절단을 용이하게 하기 위해 필요하다. NMA의 비율이 많아 질수록 블록은 더 단단해진다. 블록의 굳기를 항상 일정하게 하기 위해서 한 가지 더 주의할 사항은 사용된 epon 812의 W.P.E. (weight per epoxide equivalent) 수치를 참고로 하여 이를 기준으로 하여 정해진 공식에 의거 포매제에 들어가는 각 시약의 비율을 약간씩 조정해 주어야 한다.

포매한 블록을 단단하게 굳히는 것이 중합 (polymerization)이다.

- Epon 혼합물

① 포매제 : Epon-812

② 경화제 DDSA

- MNA

③ DMP-30 : 가속제

- 열중합

- ① 37 °C electron microscope oven - 12 시간
- ② 45 °C electron microscope oven - 12 시간
- ③ 60 °C electron microscope oven - 48 시간

4.4.7 박절편 (thin section)

- 광학현미경에서 선정된 부위만을 남기고 다시 한번 부위 (block)을 손질 (trimming) 하여 나머지 부분을 제거한다.
- 이 때 손질 (trimming)한 부위 (block face)가 너무 넓을 경우에는 박절편을 제작하기에 어려우므로 가급적 작게 손질 (trimming)한다.
- 만들어진 절편을 모으기 (collecting)와 전자현미경 하에서의 관찰을 용이하게 하기 위하여 가급적 리본 (ribbon) 모양으로 절편을 만든다.
- 증류수 위에 만들어진 박절편 (thin section)의 리본 (ribbon)을 격자 (grid)로 뜬다.
- 격자 (grid)와 집게 (forceps) 사이의 수분을 여과 종이 (filter paper)로 제거한 후 패트리디쉬 (petridish) 또는 격자 상자 (grid box)에 보관한다.

4.4.8 삭정 (trimming)

- 절편을 제작하기에 앞서서 먼저 부위의 불필요한 부분을 제거한다.
- 입체현미경 (stereomicroscope) 아래서 면도칼을 이용하여 실시한다.
- 칼 (knife)와 부위 윗면 사이에서 부위가 균등한 힘을 받아서 절편이 용이하게 되며 연속된 절편 (ribbon)을 얻을 수 있도록 부위의 윗면 (block face)을 사다리꼴로 손질한다.
- 또한 광학현미경하에서 박 절편 (thin section)을 위한 부위 선정시 용이하도록 사다리꼴로 실시한다.

4.4.9 후절편 (ultrathin section)의 제작

- 초마이크로톰 (ultramicrotome)을 이용하여 일반적으로 두께 0.1 ~ 1 μm 정도로 자른다.
- 유리봉이나 루프를 이용하여 슬라이드 글라스 위에 절편을 옮긴다.

- 슬라이드 글라스를 전열기 (hot plate) (60 ~ 80 °C) 위에서 건조시킨다.
- 건조된 절편을 염색액 톨루이딘 블루 (toluidine blue) 나 메틸렌 블루 (methylene blue)로 염색한다. (hot plate 이용)
- 광학현미경하에서 관찰하여 전자현미경에서 관찰하고자 하는 부위를 선정한다.

4.4.10 전자염색 : 이중 염색

- 탈수전에 실시하는 부위 염색 (block stain)은 1 ~ 2 % 우라실 아세테이트 ($\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Uranyl acetate, 분자량: 424.15)를 이용하여 1 ~ 2 시간 한다.
- 보통의 염색방법으로는 우라실 아세테이트를 먼저 염색한 후 납 구연산염 (lead citrate)를 염색하는 더블 염색 (double stain)법을 많이 사용한다.
- 염색시간은 보통 우라실 아세테이트에는 5 ~ 30 분, 납 구연산염에는 5 ~ 20 분 염색하나 각 실험실마다 시간이 매우 다를 수 있다.
- 염색이 매우 손쉬운 자동 염색기 (automatic stainer)를 사용할 수도 있다.
- 염색이 끝난 격자는 증류수를 담은 작은 비이커를 3 개 정도 준비하여 차례대로 담 그어서 세척하거나 세척병을 이용하여 격자위에 물을 떨어뜨려서 세척하는 방법이 있다.

5.0 시료채취 및 관리

5.1 시료채취 및 측정방법

5.1.1 시료채취 조건

시료채취는 해당시설의 실제 운영조건과 동일하게 유지되는 일반 환경상태에서 측정하는 것을 원칙으로 한다. 시료채취지점에서의 실내기류는 원칙적으로 0.3 m/s 이내가 되도록 한다. 단 지하역사 승강장 등 불가피하게 기류가 발생하는 곳에서는 실제조건하에서 측정한다.

5.1.2 시료채취 지점 및 위치

시료채취 위치는 원칙적으로 주변시설 등에 의한 영향과 부착물 등으로 인한 측정 장애가 없고 대상시설의 오염도를 대표할 수 있다고 판단되는 곳을 선정하는 것을 원칙

으로 하되, 기본적으로 시설을 이용하는 사람의 많은 곳을 선정한다. 또한 인접지역에 직접적인 발생원이 없고 대상시설의 내벽, 천정에서 1 m 이상 떨어진 곳을 선정하며, 바닥면으로부터 (1.2 ~ 1.5) m 위치에서 측정한다. 대상시설의 측정지점은 2 개소 이상을 원칙으로 하며, 건물의 규모와 용도에 따라 불가피할 경우 (대상시설내 공기질이 현저히 다를 것으로 예상되는 경우 등)에는 측정지점을 추가할 수 있다.

5.1.3 시료채취 및 측정시간

주간시간대에 (오전 8 시 ~ 오후 7 시) 10 L/min 으로 1 시간 측정

5.2 시료채취장치

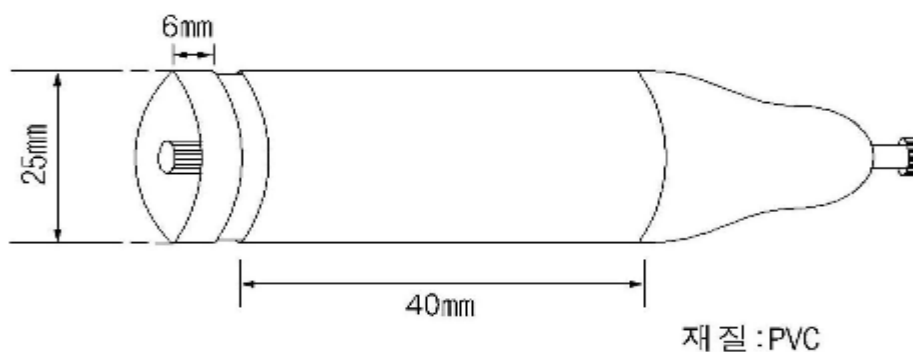
5.2.1 시료채취분석기기 및 기구

5.2.1.1 멤브레인필터

셀룰로오스에스테르제 (cellulose ester) 또는 셀룰로오스나이트레이트제 (cellulose nitrocellulose) 공경크기 (pore size) 0.8 ~ 1.2 μm , 직경 25 mm 또는 47 mm

5.2.1.2 개방형 멤브레인필터홀더

원형의 멤브레인필터를 지지하여 주는 장치로서 아래 그림 12와 같이 40 mm의 집풍기를 홀더에 정착된 것



open face형 필터홀더 (직경 25 mm 멤브레인 필터의 경우)

그림 12. 멤브레인필터

5.2.1.3 흡입 펌프

20 L/min로 공기를 흡입할 수 있는 회전펌프 또는 격막 펌프는 시료채취관, 시료채취장치, 흡입기체 유량측정장치, 기체흡입장치 등으로 구성한다.

5.2.2 시료채취조작

5.2.2.1 시료채취장치가 정상적으로 작동하는 가를 확인한다.

5.2.2.2 밀폐 용기 속에 보존하였던 멤브레인필터를 공기가 새지 않도록 주의하면서 홀더에 고정시킨다.

5.2.2.3 시료 포집면이 주 풍향을 향하도록 설치한다.

5.2.2.4 유량계의 부자를 10 L/min 되게 조정한다.

5.2.2.5 전원스위치를 넣고 포집시작 시각을 기록한다.

5.2.2.6 흡입을 시작하고부터 약 10 분 후에 진공계 또는 마노미터로 차압을 측정하여 흡입유량을 정확히 보정한다.

5.2.2.7 포집종료 시각을 기록하고 흡입공기량을 구한다.

5.2.2.8 여과지를 다시 밀폐 용기 속에 넣는다.

5.2.2.9 시료채취가 끝나면 각각의 시료에 시료채취시의 기상과 시료채취의 제반 조건 및 시료채취자의 성명 등에 관하여 기록한다.

5.2.2.10 유량의 보정 및 주의사항에 관하여는 일반적인 규정에 따른다.

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 내부정도관리

6.1.1 방법검출한계 및 정량한계

방법의 검출한계는 포집 여과기의 면적, 채취된 공기의 부피 그리고 측정에서 조사된 시험편의 면적 선택에 따라서 다양해진다. 사용되지 않은 여과기상에서 석면 구조의 바탕함수이기도 하다. 검출한계는 각각의 시료 분석에 대해 인용된다. 실제로 가장 낮은 검출한계는 여과기상의 각 입자를 간섭없이 식별할 수 있는 충분한 간격으로 인접한 입자를 분리하여야 하기 때문에 종종 부유된 입자상 물질의 농도에 의해 결정된다. 일반적인 대기 또는 건물 대기에서 1 구조/L의 분석 감도가 얻어질 수 있음이 밝혀졌다. 어떤 상황에서는 대기가 예외적으로 청정한 곳에서는 0.1 구조/L이나 더 낮아질 수 있다. 5 μm 보다 긴 섬유 또는 묶음에 대하여 규정된 감소 배율은 상대적으로 낮은 검출한계의 결과가 나오도록 하고 적절한 시간으로 측정 시험편의 넓은 면을 검사한다. 분석에서 구조가 발견되지 않을 경우 상위 95 % 신뢰도 한계는 농도의 상위 경계로서 인용될 수 있다. 계수된 0 구조에 대해 95 % 신뢰도 한계를 검출한계로서 채택한다. 석면 구조에 의한 새 여과기의 오염이 있을 수 있기 때문에 검출한계에 대한 토론에서 고려해야 한다.

6.1.2 실험실의 정밀도 및 정확도

6.1.2.1 정밀도

얻을 수 있는 분석 정밀도는 계수된 구조의 수와 원래 여과기에 흡착된 입자상 물질의 균성에 의존한다. 구조는 무작위로 여과기에 흡착된다고 가정하고, 100 구조가 계수되고 부하가 적어도 3.5 구조/그리드 구멍일 때 컴퓨터 계수 과정의 모형 제작은 약 10 %의 변수 계수가 예측됨을 보여준다. 계수된 구조의 수가 감소함으로써 정밀도는 약 \sqrt{N} 만큼 줄어들 것이다. 여기에서 N은 계수된 구조의 수이다. 실제로 대기 시료의 여과로 얻은 입자상 물질 흡착물은 이상적으로 분포하지 않으며 정밀도는 감소됨을 알 수 있다. 정밀도의 저하 요인은 다음과 같다.

- 여과된 입자상물질 흡착의 비균일성
- 구조 계수 기준의 응용에 의한 섬유 분포의 흐트러짐
- 섬유성 구조의 해석에서 현미경 학자 사이의 차이 (variation)

- 섬유를 확인하는 검출과 확인하는 능력에서 현미경 학자 사이의 차이가 분석 방법을 사용한 단일 구조 농도 측정에서 평균에 대한 95 % 신뢰도 구간은 100 구조가 10 개의 그리드 구멍에서 측정되었을 때 ± 25 %이다.

6.1.2.2 정확도

정확도를 결정하는 데 용이한 독립적인 방법은 없다.

6.1.3 내부정도관리 주기

내부정도관리 주기는 현미경 학자의 능력을 조사하고 전체 방법을 점검하기 위한 방법이다. 여과기에 입자상 물질 흡착의 비균성은 현미경 학자의 수행 능력에 관계없이 차이를 유발한다. 입증된 섬유계수 (모든 차이의 분리도에 의해 둘 또는 그 이상의 조작자에 의해 여과지의 그리드의 똑같은 그리드 구멍에서 석면 구조의 계수)는 조력자를 훈련시키는 것으로서 다른 현미경 학자의 수행 능력을 비교하여 반복적으로 실시하여야 한다. 또한, 분석자의 변경, 분석 장비의 수리나 이동 등 주요 변동사항이 발생한 경우에는 수시로 내부 정도 관리를 실시한다.

6.1.3.1 HSE NPL (health and safety executive national physical laboratory) 테스트 슬라이드

- 미세한 눈금이 표시된 슬라이드로 등급별로 굵기가 정해져 있어 분석자 (관찰자)가 현미경으로 분석 가능한 최소의 굵기를 확인할 수 있다.

6.1.3.2 내부정도관리용 상용 테스트 슬라이드

- 농도나 적합범위를 알고 있는 상용 테스트 슬라이드가 있는 경우 이를 이용한다.

6.1.3.3 외부정도관리용 슬라이드시료

- 외부정도관리에 참여하여 받은 테스트 슬라이드를 보관하여 반복적으로 내부정도관리용으로 활용한다. 설치가 잘 되어 있고 보관을 잘 했을 경우 장기간 사용이 가능하다.

6.1.3.4 동일 시료에 대해 기관내 분석자 (관찰자)간 비교 테스트

6.1.3.5 동일 시료에 대해 기관간 비교 테스트

7.0 분석절차

7.1 기기 작동

7.1.1 광원 조절

7.1.1.1 배전판의 전원 스위치를 올리고, 냉각수 수도꼭지를 열어 준다 (4 ~ 5 L/min).

7.1.1.2 동력 (power) 스위치를 넣어 작동시킨다.

7.1.1.3 확산펌프 (DP, diffusion pump)램프, 고진공 (high vacuum)램프, 준비 (ready) 램프, 카메라공기개폐 (camera air lock open)램프가 점등될 때까지 기다린다 (시동 후 20 ~ 30 분).

7.1.1.4 필라멘트 발사손잡이 (filament emission knob)가 완전히 반시계 방향으로 돌려 있는가를 확인한다.

7.1.2 가속전압 조절

7.1.2.1 가속전압 누름단추가 20 kV에 점등되어 눌러 있는가를 확인한다.

7.1.2.2 고전압 (HT) 누름단추를 누르고, 고압지시 전류계기를 관찰하면서 가속전압 누름단추를 단계적으로 누르면서 가속전압을 원하는 위치로 올린다.
(20 kV ~ 40 kV ~ 60 kV ~ 80 kV ~ 100 kV)

7.1.2.3 고압지시 전류계가 안정되면 필라멘트 발사 손잡이를 시계 방향으로 서서히 돌려 포화점에 맞춘다. (예, 100 kV일 때 85 ~ 120)

7.1.2.4 기능선별계 (function)의 누름단추 중 주사 (scanning) 누름단추를 누르고 집광렌즈구경 장치를 시계 방향으로 돌리면서 희망하는 크기 (주로 2 또는 3)에 넣고 중심축과 비점보정이 되어 있는가를 확인한다.

7.1.3 시료정착

7.1.3.1 시료교환 장치를 돌려 막공시료 (micro grid)를 시료실에 넣고 초점을 맞춘다.

7.1.3.2 대물렌즈 구경장치를 시계 방향으로 돌리면서 집어넣고 중심에 맞춘 후 기능선별계의 주사 회절 (SA, DIFF) 누름단추를 누르고 대물렌즈의 비점보정을 실시한다.

7.1.3.3 미세 격자 (micro grid)를 꺼내고 촬영하려는 시료를 집어넣는다.

7.1.4 배율조정 및 관찰

7.1.4.1 기능선별계의 배율 누름단추를 누르고, 배율 교환장치 손잡이를 돌려 희망하는 배율에 놓고 초점을 맞춘다.

7.1.4.2 필름을 촬영위치에 보내고 램프의 점등을 확인한다.

7.1.5 사진촬영

7.1.5.1 형광판 작동 누름단추 (셔터 개폐장치)를 눌러 사진을 촬영한다.

7.1.5.2 촬영한 필름은 카메라실 손잡이를 시계 방향으로 90° 돌려 필름통을 꺼내고, 새로운 필름통을 넣고 반시계 방향으로 90° 돌린다.

7.1.6 조작정지

7.1.6.1 필라멘트 발사손잡이를 반시계 방향으로 완전히 멈출 때까지 돌린다.

7.1.6.2 시료를 시료실에서 꺼낸다.

7.1.6.3 고전압 누름단추 (HT)를 눌러 끈다.

7.1.6.4 동력스위치를 차단 (OFF)위치로 돌린다.

7.1.6.5 20 분 후 배전판 스위치를 내리고 수돗물을 잠근다.

7.1.7 관리 요령

7.1.7.1 전자현미경의 상태확인

- 진공도의 확인 (confirmation of degree of vacuum)
- 전압중심, 전류중심의 확인 (confirmation of voltage and current axis)
- 비점 수차와 전기적 안정도의 확인 (confirmation of astigmatism and electrical stability)

7.1.7.2 전자현미경의 setting

- 조사조건 (illuminating condition)
- 결상계의 렌즈 모드 (lens mode of image forming system)
- 디포커스 조건 (defocusing amount)
- 필름 노출의 조건 (films and exposure)

7.2 투과전자현미경 측정

투과전자현미경을 효과적으로 사용하기 위해 얇은 시료를 제작하기 위한 기술이 중요하다. 투과전자현미경에 의한 석면 섬유 분석은 분산 패턴을 이용하거나 엑스레이 미세분석장치 (X-ray micro analysis)를 이용하여 확인한다, 석면은 고유의 결정과 방위각을 가지고 있으므로 분산 패턴 상에 나타난 결정과 방위각을 계산하여 석면과 비석면 여부를 결정하거나 에너지분산형 X선분광기 (EDS, energy dispersive X-ray spectrometer) 또는 에너지파장분광기 (EWS, energy wavelength spectrometer)를 이용하여 정성 및 정량 분석한다. 통상적으로 약 0.1 μm 정도의 아주 작은 석면섬유까지 검출할 수 있다.

7.3 석면의 크기산정

7.3.1 샘플격자홀더를 표본 격자 홀더에 넣고, 낮은 배율 (ca. 300 to 500 x)로 경사지지 않게 격자를 스캔한다. 또한 카본필름 (carbon film)이 흐트러지지 않아야 하고, 개방된 격자의 75 % 이상이 깨지지 않아야 한다.

7.3.2 격자들이 어떻게 샘플이 되는가를 결정하기 위해 약 500 ~ 1,000 배의 낮은 배율동안 개방된 격자 당 섬유 수를 세어야 한다. 섬유가 계산되고 분석되는 동안, 분석자들이 격자의 대부분을 분석할 수 있을 것이다.

7.4 석면계수 방법

7.4.1 개방된 격자 당 5 개의 섬유보다 적을 때

40 개의 개방된 격자의 전부를 세운다.

7.4.2 개방된 격자 당 5 개의 섬유보다 많고 25 개의 섬유보다 적을 때

40 개의 개방된 격자 혹은 100 개의 섬유 중에서 적은 것을 세운다.

7.4.3 개방된 격자 당 25 개의 섬유보다 많을 때

최소 6 개의 개방된 격자 혹은 100 개의 섬유 중에서 적은 것을 세운다.

7.4.4 오직 흐트러지지 않은 카본필름 (carbon film)을 가지고 있는 개방된 격자만을 세어야 한다.

7.4.5 500 ~ 1,000 배의 배율에서, 격자의 한쪽 끝에서 세수를 시작하고, 대칭적으로 옆을 따라 가로지르며 반대방향으로 세운다.

7.4.6 최소한 1 개의 오염된 샘플 당 2 개의 배경농도를 세운다.

7.5 섬유계수시 규칙사항

7.5.1 섬유의 직경인 0.25 μm 보다 직경이 큰 모든 조각들을 계수한다.

7.5.2 섬유의 치수와 인정받을 수 있는 계수성능을 확보하기 위해 더욱 고배율을 사용한다.

7.5.3 석면의 존재를 확인할 수 있는 방법으로 모든 섬유의 최소한 10 %와 최소한 3개 이상의 석면 섬유를 분석한다.

7.5.4 절반의 섬유로서 격자에 의해 부분적으로 불명료한 섬유를 계수한다.

7.5.5 만약 하나의 섬유가 시야부분의 가장자리인 격자막대에 의해 부분적으로 불명료하다면, 2.5 μm 섬유보다 커서 눈에 보인다면, 그것을 반개의 섬유로서 계수한다.

7.5.6 계수된 각 섬유의 크기를 재서 직경과 길이를 기록한다.

7.5.6.1 스크린 중앙으로 섬유를 이동하고, 스크린 스케일 (scale)대로 즉시 섬유의 길이를 읽는다.

[주 1] 데이터는 스크린에서 μm 로 기록되어질 수 있고, 나중에 컴퓨터에 의해 μm 로 변환될 수 있다.

[주 2] 시야 부위 밑쪽으로 확장한 섬유들에 대해, 섬유는 반드시 이동되어야만 하고, 섬유의 전체 길이가 측정되어지기 전까지 스케일 (scale)에 덧붙여져야 한다.

7.5.6.2 섬유의 크기가 재어졌을 때, 낮은 배율을 다시 사용하고, 다음 섬유의 격자 부위를 가로질러서 계수한다.

8.0 결과보고

8.1 석면 계산

다음의 섬유 숫자를 기록한다.

8.1.1 f_s, f_b ; 상대적으로 샘플 필터와 그에 해당하는 배경농도 (field blank) 안에서 분석된 개방된 격자 안에 있는 석면 섬유들의 숫자

8.1.2 F_s, F_b ; 상대적으로 샘플 필터와 그에 해당하는 배경농도 (field blank) 안에서 분석된 개방된 격자 안에 있는 섬유의 숫자

8.1.3 여과지안의 눈에 보이는 석면 섬유들의 파편을 기록하고 $(f_s - f_b)/(F_s - F_b)$ 를 계산한다.

8.1.4 시편 내에서 다른 여과지 안에 있는 섬유의 개수도 이 시편들에 적용한다.

8.1.5 EDX 시스템의 모델과 제작회사를 기록한다.

8.2 결과의 표시

대기환경 중의 석면의 농도 측정 결과의 표시 자리수는 소수 네 자리까지 구하고, 측정 결과는 소수 세 자리까지 표시한다.

9.0 참고자료

9.1 NIOSH Method 7400, Asbestos and Other Fibers by PCM; NIOSH Manual of Analytical Methods; U.S. Department of Health and Human Services, National Institute of Occupational Safety and Health: Washington, DC, (1994).

9.2 NIOSH Method 7402, Asbestos and Other Fibers by TEM; NIOSH Manual of Analytical Methods; U.S. Department of Health and Human Services, National Institute of Occupational Safety and Health: Washington, DC, (1994).

9.3 환경부, 실내공기질 업무편람, (2004).

10.0 부록 "내용 없음"