

에너지 분산 X선 분석장치가 장착된 투과전자현미경을 이용한 석면분석방법

한정희* · 김광진 · 정용현 · 이준연 · 이용목 · 정호근 · 유일재

한국산업안전공단 산업안전보건연구원 산업화학물질연구센터

A study on establishing asbestos analysis method using a transmission electron microscope with Energy dispersive X-ray analyzer (TEM-EDX)

Jeong Hee Han, Kwang Jin Kim, Yong Hyun Chung, Jun Yeon Lee, Yong Muk Lee, Ho Keun Chung, and Il Je Yu

Center for Occupational Toxicology, Occupational Safety & Health Research Institute, Korea Occupational Safety & Health Agency,
104-8, Moonji-dong, Yuseong-gu, Daejeon, 305-380, Korea

To establish an accurate asbestos analysis method for workplace samples, chrysotile, amosite, crocidolite, tremolite, actinolite, and anthophyllite asbestos fibers were analyzed for their morphology, atomic content and electron diffraction patterns. The morphology of asbestos fiber was evaluated in 10,000 \times magnification. The atomic contents was analyzed by a transmission electron microscopy with energy dispersive X-ray analyzer (TEM-EDX). Asbestos fibers were further assessed using electron diffraction (ED) patterns to provide an additional criterion for classifying the asbestos fibers. Twenty asbestos fibers were initially randomly selected for morphological evaluation, based on an aspect ratio (length : diameter = 3:1). Then the fibers were determined for their EDX spectrums and ED patterns. Our results showed that only chrysotile fiber has a hollow tube structure to be

distinguished from other asbestos fibers. Although asbestos fibers had similar morphology, they had different EDX spectrums and ED patterns. Our results on the atomic content of asbestos fibers were very similar to those of other researchers, but amosite and crocidolite had a little difference in atomic content compared with the results from other researchers. The difference may be due to the difference in equipment or asbestos sample selection. A study on asbestos samples from biological specimens to establish a criterion for determining occupational asbestos exposed diseases should be done in the near future.

Key Words : TEM-EDX, asbestos, chrysotile, amosite, crocidolite, tremolite, actinolite, anthophyllite

I. 서 론

근래 들어 석면에 폭로된 근로자의 피
해사례보고가 늘어나고 있고 석면과 유사
한 대체물질의 수입이 늘어나면서 석면의

유해성에 대해 많은 논란이 일어나고 있
어 정확한 석면분석방법이 요구되고 있
다. 그리고 석면은 종류별로 그 노출기준
과 유해성이 차이가 있으므로 석면의 종
류를 분석하는 것도 중요한 일이 되었다.

석면을 분석하는 방법에는 optical
microscopy (광학현미경법, OM) (Kohya-
ma, 1987) phase contrast microscopy (위상
차현미경법, PCM) (강보영 등, 1991;
Schlecht and Shulman, 1995; NIOSH #7400,
1994), polarized light microscopy (편광현
미경법, PLM) (백남원과 이영환, 1991;
NIOSH #9002, 1994), scanning electron
microscopy (주사전자현미경법, SEM)

접수일 : 2000년 10월 21일, 채택일 : 2001년 6월 4일

* 교신저자 : 한정희(대전광역시 유성구 문지동 104-8 산업안전보건연구원 산업화학물질연구센터
Tel : 042-863-8181, Fax : 042-863-8361, E-mail : hanjh@kosha.net.)

(Roberson et al., 1992), transmission electron microscopy (투과전자현미경법, TEM) (Steel and Small, 1985; Koyama et al., 1993; NIOSH #7402, 1994) 등 여러 가지 방법이 있으나 아직까지 우리 나라에서는 일반적으로 정성분석에는 PLM을 정량분석에는 PCM을 사용하고 있다(유성환과 김현욱, 1996). 그러나 이 방법들은 일반적인 bulk시료나 작업환경측정시료의 측정은 가능하나 석면의 함유량이 적거나 여러 종류의 석면이 혼재되어 있는 시료에서는 그 정확도면에서 떨어지는 면이 있다. 이미 선진국에서는 EDX (energy dispersive X-ray analyzer)장비를 장착한 TEM (이하 TEM-EDX)을 이용한 석면분석방법이 널리 보편화되어 있다. TEM-EDX를 이용한 석면분석방법은 고배율로 더욱 미세한 크기의 fiber도 자세히 관찰할 수 있어 정확도에서 다른 광학현미경을 이용한 방법보다 높다. Verma 와 Clark (1995)은 TEM이 PCM보다 50-70배 정도 더 정확하게 측정할 수 있다고 했고, Kohyama 와 Kurimori (1996)는 대기중에서 포집한 시료를 여러 가지 방법으로 분석한 결과 TEM이 OM보다는 1.6배, PCM보다는 3.87배 정도 더 정확히 계수할 수 있었다고 하였다. 뿐만 아니라 TEM은 장착된 EDX를 사용하여 극미량의 원소도 정확하게 분석할 수 있으며 전자회절상 (electron diffraction)을 이용하여 결정체의 독특한 구조를 알 수 있다.

그러므로 TEM-EDX를 이용한 석면분석방법은 현재로서는 석면의 성상과 종류를 가장 정확하게 분석할 수 있는 방법이라고 할 수 있다. 그러나 TEM-EDX를 이용한 석면분석방법은 장비가 너무 고가이고 시간과 노력이 많이 들어 보편화되지 않았을 뿐만 아니라 분석방법조차 정립되지 않은 것이 현실이다. 이번 연구에서는 본 연구원에서 보유하고 있는 TEM-EDX를 이용하여 석면을 종류별로 분석하여 형태와 구성성분의 참고치를 제시하고 전자회절 양상을 얻어 앞으로 작업장내 석면분석방법의 기초자료로 제공하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 시료의 제작

석면표준품은 General Science Corporation(Tokyo, Japan)에서 구입한 UICC (International Union against Cancer) 표준품을 사용하였다. 석면의 종류는 6종으로 사문석 (serpentine) 계열인 chrysotile과 각섬석 (amphiboles) 계열인 amosite, crocidolite, 그리고 tremolite, actinolite, anthophyllite이었다. (표 1) (Hitachi, 1988).

Table 1. Class of asbestos.

Class	Name	Formula
Serpentine Amphiboles	Chrysotile	$Mg_3(Si_2O_5)(OH)_4$
	Amosite	$(Fe,Mg)_7(Si_8O_{22})(OH)_2$
	Crocidolite	$Na_2FeII_3FeIII_2(Si_8O_{22})(OH)_2$
	Tremolite	$Ca_2Mg_5(Si_8O_{22})(OH)_2$
	Actinolite	$Ca_2(Mg,Fe)_5(Si_8O_{22})(OH)_2$
	Anthophyllite	$(Mg,Fe)_7(Si_8O_{22})(OH)_2$

ref. Hitachi Instrument News, 1988

시료는 Sakai의 시료제작방법을 참고로 하여 (Sakai et al., 1991) 표준시료를 각각 mortar와 pestle로 잘게 분쇄하여 증류수 100 ml가 들어있는 병에 소량(약 1 mg)을 넣고 2시간 동안 초음파로 분산한 후 그 혼합물을 polycarbonate membrane filter (Millipore #GTP02500, nuclepore filter, pore size 0.2 μm , diameter 25 mm)에 흡입시켜 하였다. 여과시킨 filter를 건조한 후 얇게 탄소막을 입혀 그 중 일부(약 3 mm)를 잘라내어 탄소막이 입혀진 nickel grid (SPI #2020N, diameter 3 mm, 200 mesh) 위에 놓고 chloroform vapor를 이용하여 filter를 용해하여 제거하였다. 하룻밤 정도 두어 건조시킨 후 이 sample grid를 EDX (Kevex 7000Q)가 장착된 투과전자현미경 (Hitachi H-7100FA)을 사용하여 분석하였다 (그림 1).

2. 분석방법

시료는 EDX가 장착된 TEM으로 분석하였다. 가속전압은 100 kv로 하였고 시

료를 넣고 저배율로 관찰하여 좋은 시야상을 선택한 후 고배율로 확대하여 그 형태와 길이를 자세히 관찰하였다. 석면의 특징인 섬유(fiber) 상의 형태를 가지며 길이와 직경의 비 (aspect ratio)는 3:1 이상인지를 관찰하였다. 그리고 fiber의 EDX spectrum을 얻어 구성원소와 성분비를 조사하였다. EDX는 시료상에 전자빔을 조사했을 때 방출하는 X선을 peak형태로 나타내어주는 장비인데 원소마다 고유의 spectrum을 가지고 있기 때문에 정성분석과 정량분석을 할 수 있다. 마지막으로 석

면은 결정체 구조이므로 전자회절상 패턴을 얻어 그 결정구조를 파악하여 석면의 종류를 분석하였다. 그리고 필요시 계수, 통계 처리하여 석면을 평가하였다 (그림 2). 그림 3에는 석면의 종류를 평가하는 방법을 구체적으로 순서도로 나타내었다.

III. 결 과

석면은 모두 침상결정의 가늘고 긴 fiber로 이루어져 있었고 결정구조를 가지고 있어 각 석면의 고유한 결정구조를 파악할 수 있었다. 사문석 계열인 chrysotile은 다른 각섬석 계열의 석면과는 다른 독특한 성상을 가지고 있어 쉽게 구별할 수 있었다. 10,000배에서 관찰했을 때 fiber는 가늘고 길며 굽어진 모양을 가지고 있었으며, 끝 부분은 대체로 갈라져 있었다 (그림 4A). Fiber를 200,000배정도의 고배율로 확대하면 중앙에 chrysotile 특유의 관모양의 구조를 볼 수 있었다. 이것을

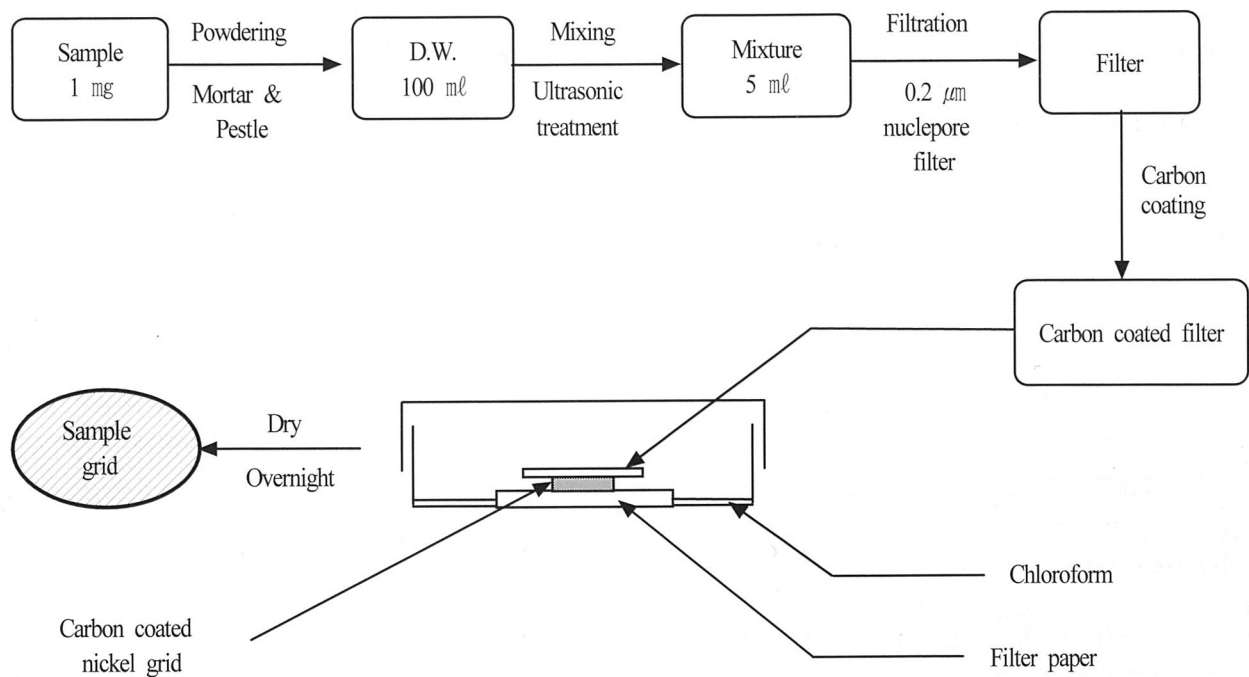


Fig 1. Sample preparation method.

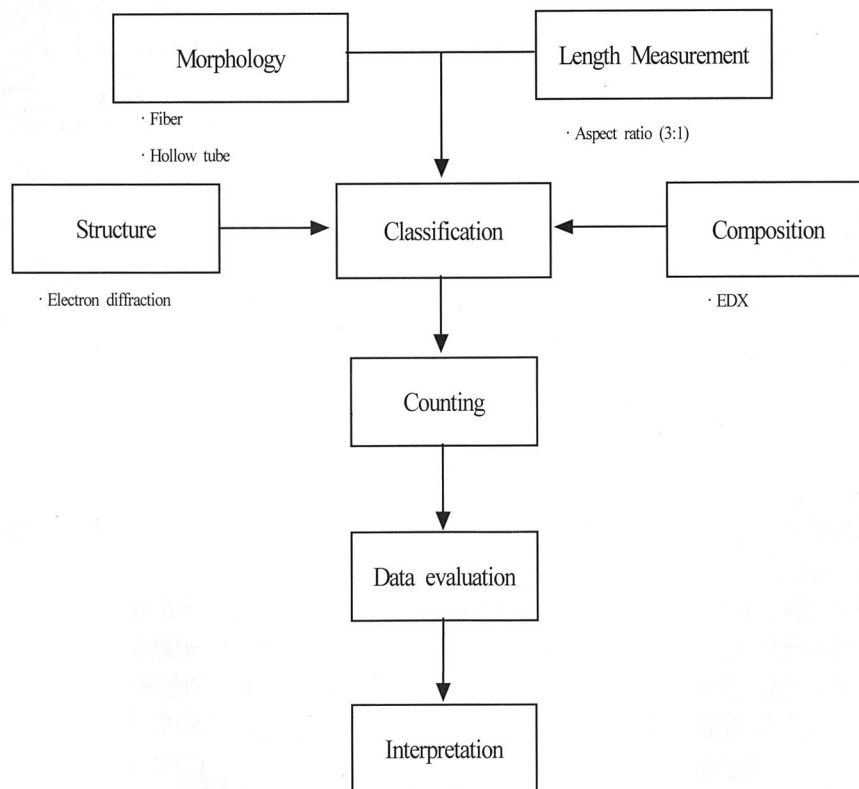


Fig 2. Evaluation of asbestos.

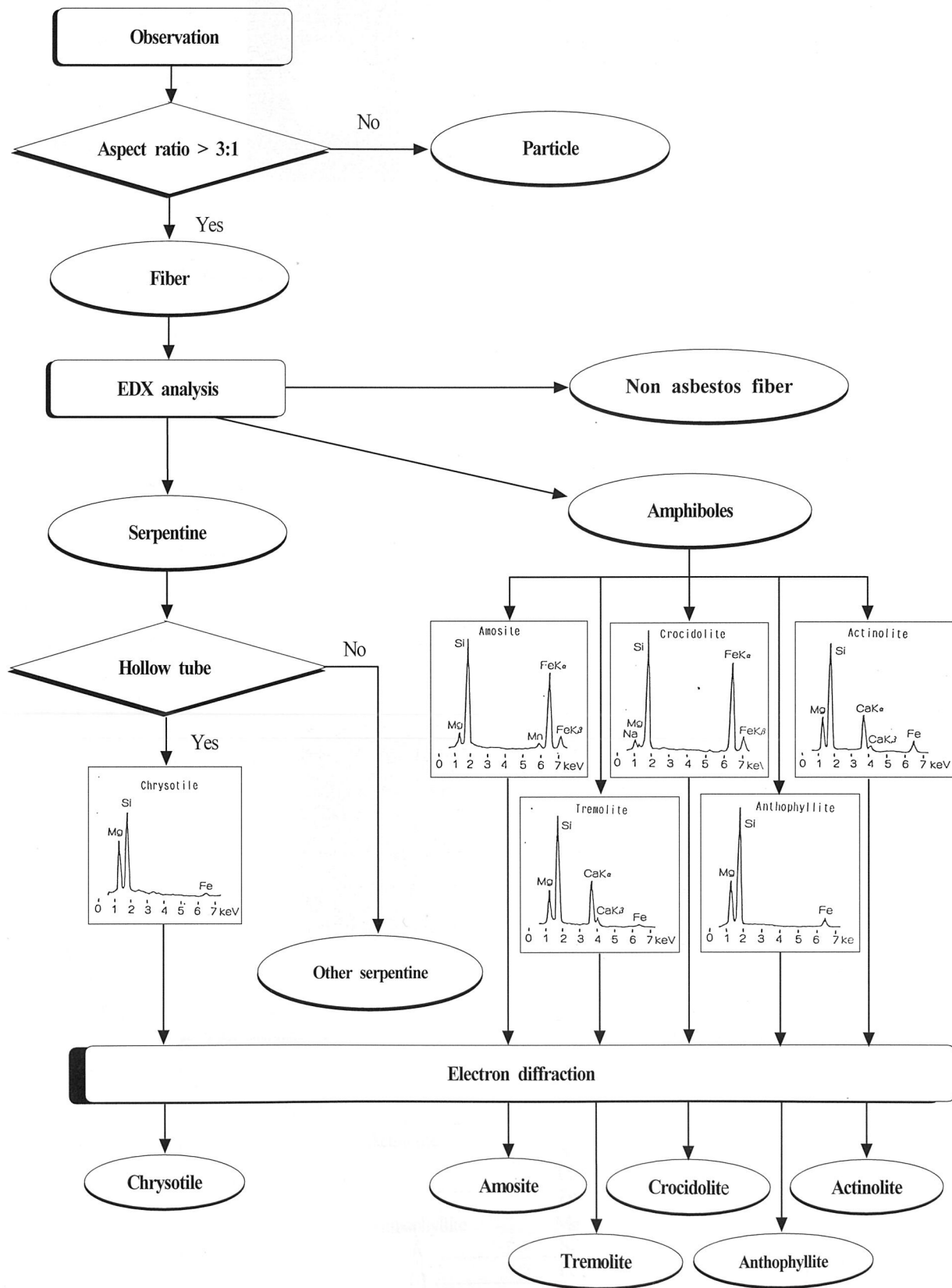


Fig 3. Flowchart of evaluation.

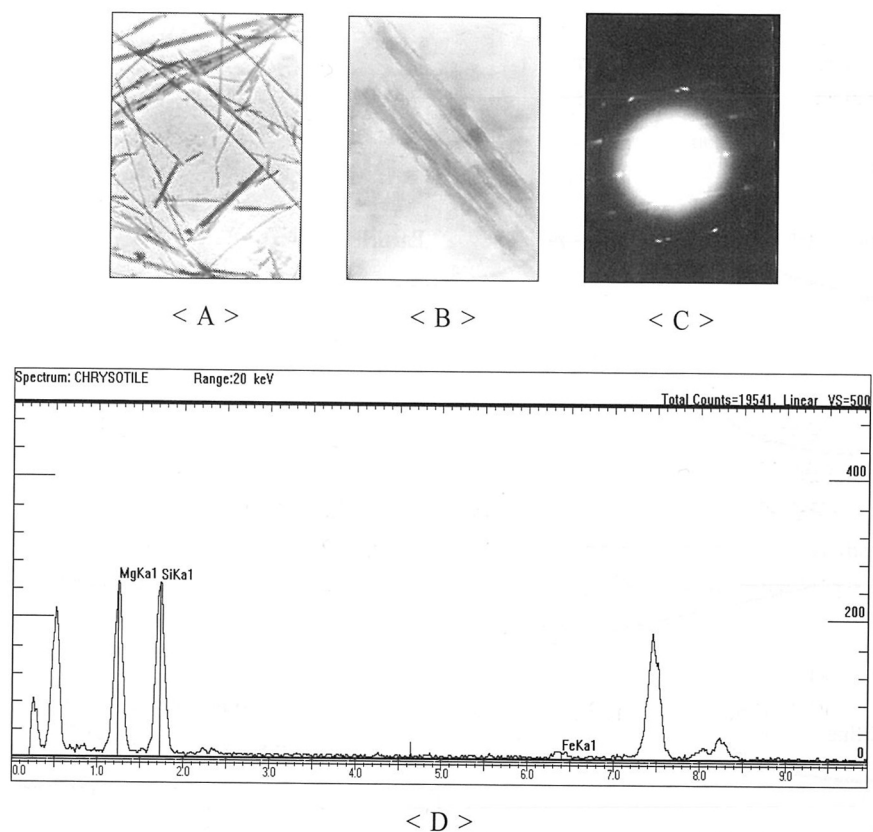


Fig 3. Chrysotile. A, fiber ($\times 10,000$); B, Hollow tube structure ($\times 200,000$); C, Electron Diffraction (camera length 1.2m); D, EDX spectrum

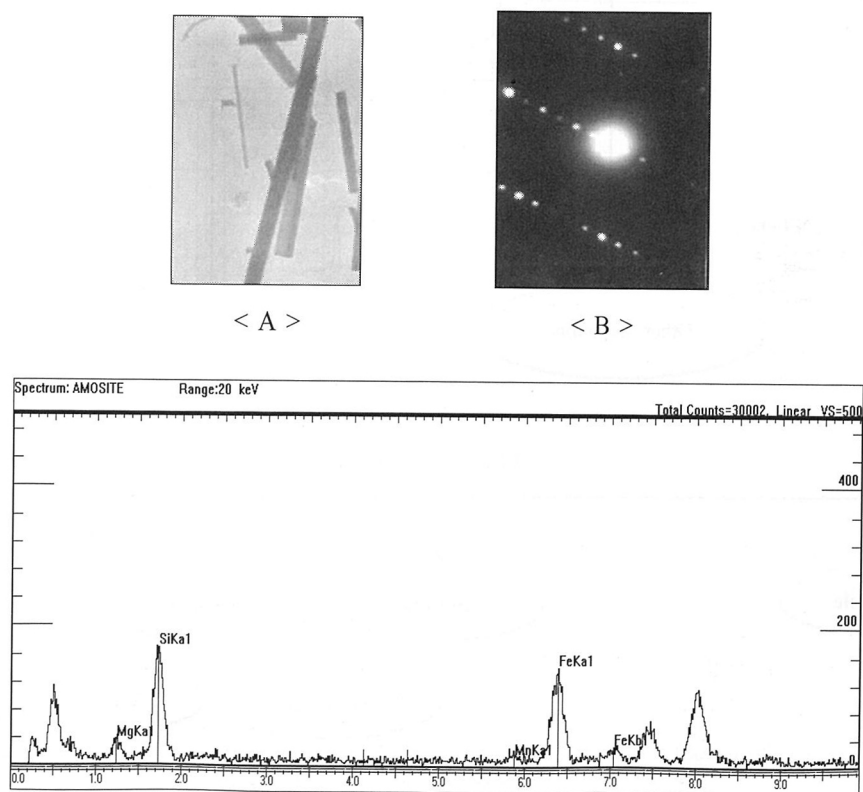


Fig 4. Amosite. A, fiber ($\times 10,000$); B, Electron Diffraction (camera length 1.2m); C, EDX spectrum

hollow tube 구조라고 하며 chrysotile에만 특징적으로 존재한다 (Kohyama et al., 1993) (그림 4B). 그리고 hollow tube 구조로 인해 다른 종류의 석면과는 다른 독특한 전자회절상 패턴을 보여주었다 (그림 4C). EDX로 분석한 결과 주성분은 Mg와 Si이었으며 Fe를 소량 함유하고 있었다 (그림 4D).

Amosite와 crocidolite는 fiber가 모두 긴 막대모양을 하고 있어 (그림 5A, 6A) 형태적으로 유사하나 전자회절상과 EDX spectrum으로 구별할 수 있었다. (그림 5 B&C, 6 B&C). Amosite와 crocidolite는 모두 주성분이 Si와 Fe이었으나 amosite에는 Mg와 Mn이 소량 함유되어 있었고 (그림 5C) crocidolite는 Na와 Mg를 소량 함유하고 있었다 (그림 6C). Crocidolite에는 특징적으로 Na가 나타나기 때문에 amosite와 쉽게 구별이 되었다.

Tremolite와 actinolite는 비교적 짧은 fiber로 이루어져 있었고 (그림 7A, 8A) EDX spectrum의 peak가 유사하였고 주성분은 Si와 Mg, Ca이었으며 Fe를 소량 함유하였다 (그림 7C, 8C). 그러나 tremolite보다 actinolite가 Fe의 함유량이 상대적으로 높았고 각각 독특한 전자회절상을 가지고 있어 구별할 수 있었다 (그림 7B, 8B).

Anthophyllite는 fiber가 굵고 길이가 비교적 짧았다 (그림 9A). 주성분은 Si와 Mg이며 Fe를 소량 함유하고 있어 chrysotile과 구성성분은 같았으나 그 성분비에서 많은 차이가 나고 (그림 9C) hollow tube 구조의 부재로 chrysotile과 구별할 수 있었으며 전자회절상도 고유의 구조를 보여주고 있었다 (그림 9B).

원소구성비의 기준치 설정을 위해 각 석면종류별로 20개의 fiber를 무작위로 추출하여 EDX로 분석하여 원소구성비를 일본나고야위생연구소 (Nagoya City Public Health Research Institute, NCPHRI)의 원소구성비 (Sakai et al., 1991)와 비교하여 표 2에 나타내었다. Chrysotile은 Mg $52.0 \pm 3.5\%$, Si $45.9 \pm 3.4\%$, 그리고 Fe를 $2.1 \pm 0.9\%$ 함유하고 있었다. Amosite는 Si

$54.2 \pm 3.8\%$, Fe $38.6 \pm 3.2\%$, Mg $5.7 \pm 1.2\%$, 그리고 Mn을 $1.5 \pm 0.5\%$ 함유하였다. Crocidolite는 Si $57.8 \pm 3.8\%$, Fe $33.5 \pm 4.4\%$, Na $6.7 \pm 2.6\%$, 그리고 Mg를 $2.0 \pm 1.2\%$ 함유하여 amosite와 유사한 성분비를 보여주고 있으나 구성원소에서 약간의 차이가 있었다. Tremolite는 Si $57.9 \pm 3.2\%$, Mg $27.2 \pm 2.8\%$, Ca $14.2 \pm 1.8\%$, 그리고 Fe를 $0.6 \pm 0.4\%$ 함유하였다. Actinolite는 Si $58.8 \pm 3.7\%$, Mg $22.2 \pm 3.0\%$, Ca $13.0 \pm 2.4\%$, 그리고 Fe를 $5.9 \pm 1.2\%$ 함유하고 있어 구성성분은 tremolite와 같았으나 Fe가 비교적 많이 함유되었다. Anthophyllite는 Si가 $62.2 \pm 2.5\%$, Mg가 $30.7 \pm 2.7\%$, 그리고 Fe를 $7.1 \pm 1.9\%$ 함유하였다. T-test를 이용하여 일본 나고야시립위생연구소의 기준치와 비교분석한 결과 Amosite의 Si, Mn, Fe와 Crocidolite의 Si, Anthophyllite의 Si 원소에서 다소 유의한 차이가 나타났다.

IV. 고 찰

본 연구에서는 국내 최초로 TEM-EDX를 이용한 석면분석방법을 정립하고자 하였다. 이 방법의 정립을 위해서는 우리가 보유하고 있는 TEM-EDX 장비를 이용해 표준석면시료를 분석하여 각 석면의 형태, 원소구성비, 전자회절상을 얻어 앞으로의 석면분석에서의 기준치로 사용하고 자 하였다. 이번엔 분석한 석면의 원소구성비는 이미 발표된 외국논문자료와 약간의 차이가 있었으나 분석기기와 석면표준품의 차이라고 생각되었다. 이렇게 TEM-EDX를 이용한 석면분석방법으로 미량의 석면이 존재하는 시료나 여러 종류의 석면이 혼합되어 있는 시료와 같이 국내에서는 분석하기 힘든 시료들을 더욱 정확하게 분석할 수 있게 된 것은 괄목할 만한 성과라고 할 수 있다. 이 결과는 앞으로의 석면대체물질, 작업환경측정시료

Table 2. Elemental composition of standard asbestos.

(Atomic%, Average \pm standard deviation)

Name	Element	¹⁾ KOSHA (n=20)	²⁾ NCPHRI (n=20)
Chrysotile	Mg	52.0 \pm 3.5	52.1 \pm 2.8
	Si	45.9 \pm 3.4	46.4 \pm 3.0
	Fe	2.1 \pm 0.9	1.7 \pm 0.7
Amosite	Mg	5.7 \pm 1.2	4.9 \pm 1.1
	Si	54.2 \pm 3.8*	42.9 \pm 1.4
	Mn	1.5 \pm 0.5*	4.0 \pm 0.8
	Fe	38.6 \pm 3.2*	48.2 \pm 1.4
Crocidolite	Na	6.7 \pm 2.6	8.4 \pm 1.2
	Mg	2.0 \pm 1.2	—
	Si	57.8 \pm 3.8*	45.0 \pm 2.4
	Fe	33.5 \pm 4.4	24.1 \pm 2.0
Tremolite	Mg	27.2 \pm 2.8	28.0 \pm 2.3
	Si	57.9 \pm 3.2	54.4 \pm 2.0
	Ca	14.2 \pm 1.8	16.5 \pm 2.5
	Fe	0.6 \pm 0.4	1.0 \pm 1.2
Actinolite	Mg	22.2 \pm 3.0	24.1 \pm 2.0
	Si	58.8 \pm 3.7	51.1 \pm 3.4
	Ca	13.0 \pm 2.4	15.0 \pm 1.6
	Fe	5.9 \pm 1.2	8.9 \pm 1.3
Anthophyllite	Mg	30.7 \pm 2.7	34.2 \pm 1.7
	Si	62.2 \pm 2.5*	55.8 \pm 1.5
	Fe	7.1 \pm 1.9	9.0 \pm 2.5

1) KOSHA, Korea Occupational Safety & Health Agency, Occupational Safety & Health Research Institute, Center for Occupational Toxicology

2) NCPHRI, Nagoya City Public Health Research Institute

* indicates $p < 0.05$

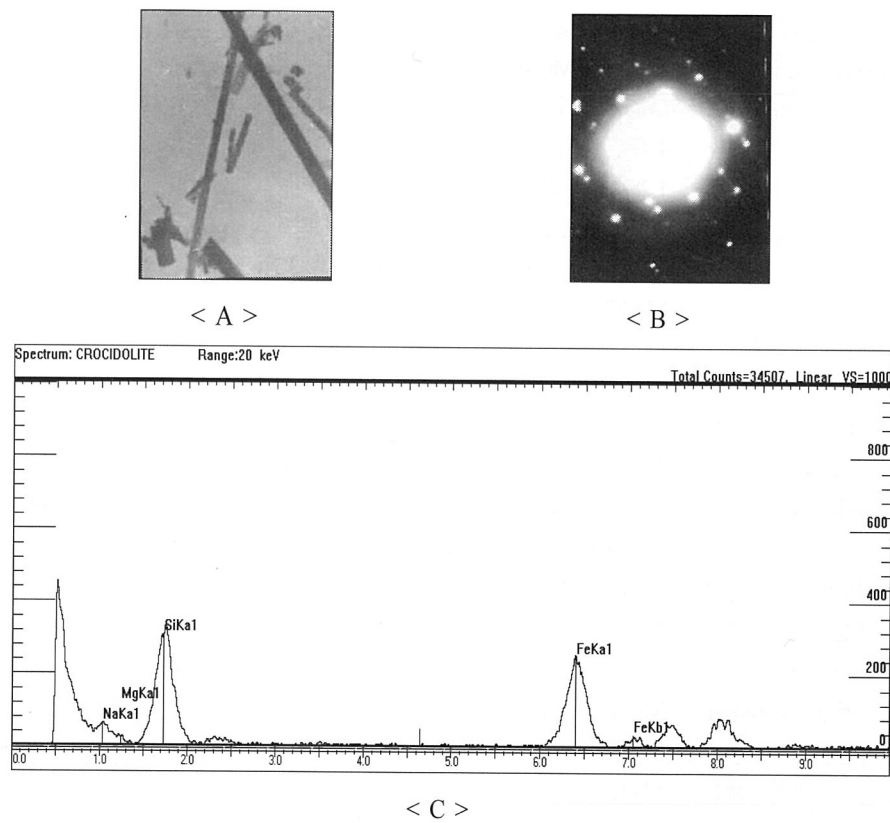


Fig 5. Crocidolite. A, fiber ($\times 10,000$); B, Electron Diffraction (camera length 1.2m); C, EDX spectrum

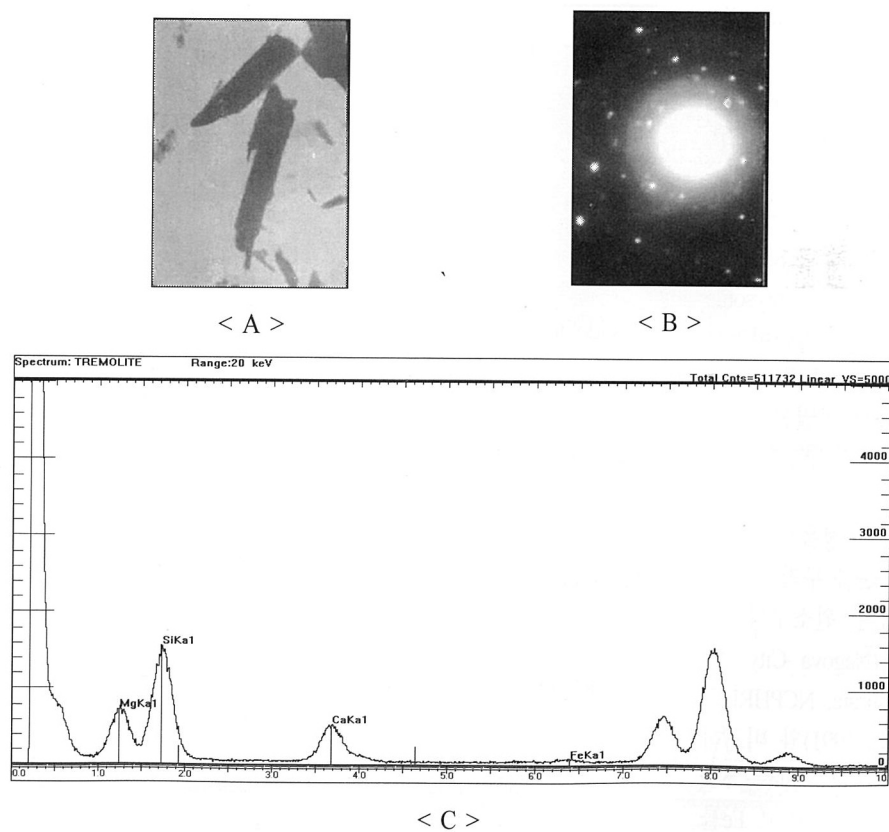


Fig 6. Tremolite. A, fiber ($\times 10,000$); B, Electron Diffraction (camera length 1.2m); C, EDX spectrum

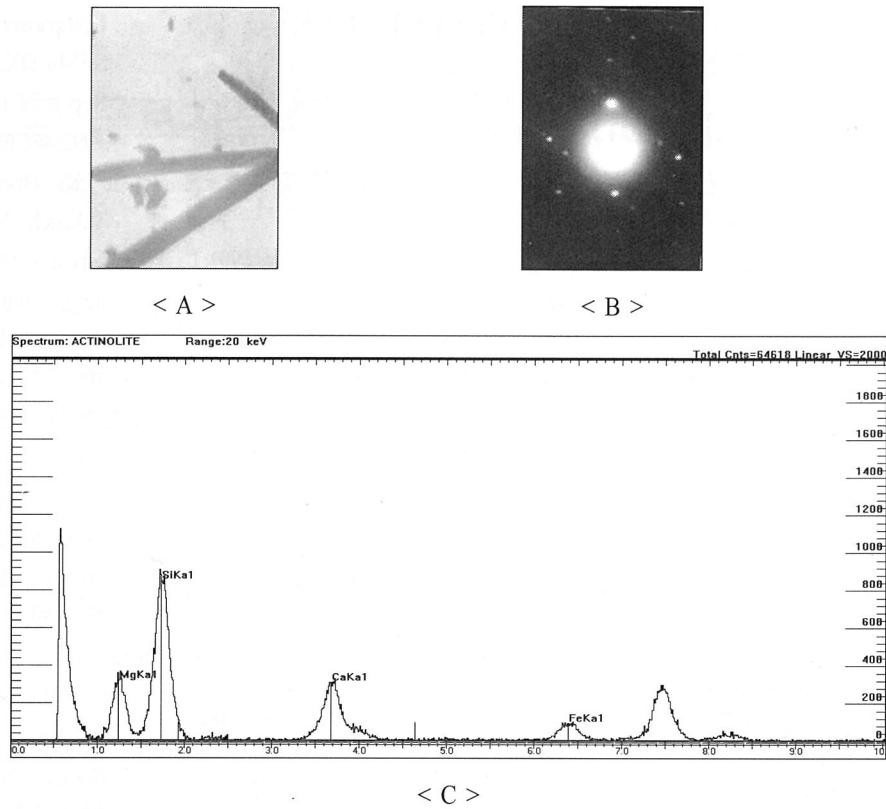


Fig 7. Actinolite. A, fiber ($\times 10,000$); B, Electron Diffraction (camera length 1.2m); C, EDX spectrum

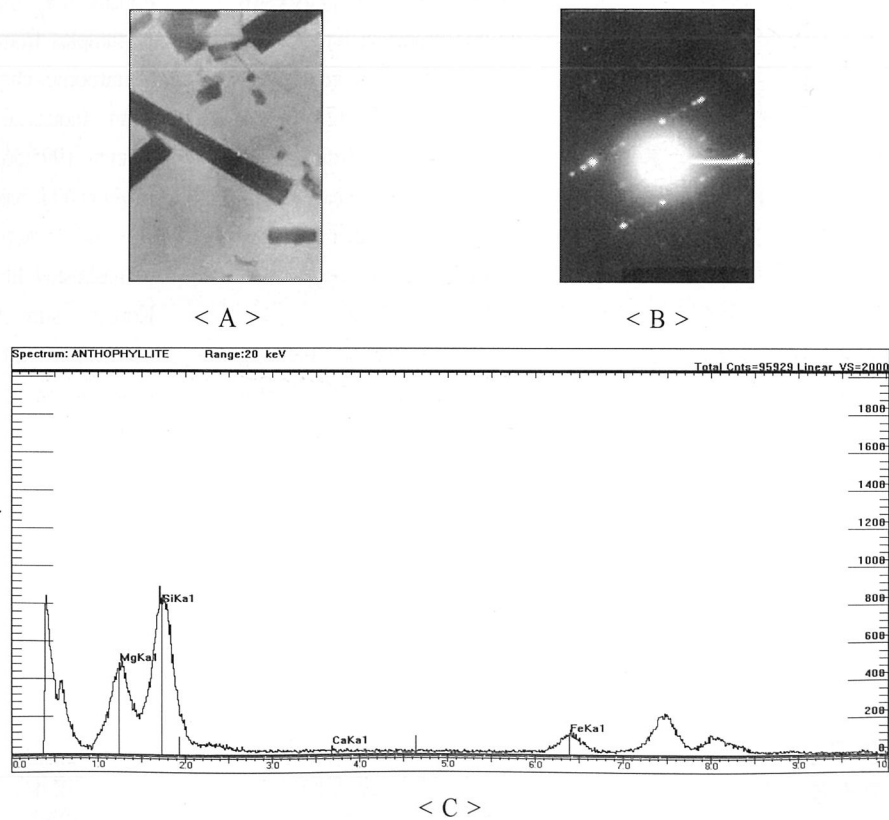


Fig 8. Anthophyllite. A, fiber ($\times 10,000$); B, Electron Diffraction (camera length 1.2m); C, EDX spectrum

및 석면의 폭로에 의한 직업병 진단에 많은 도움을 주리라고 생각된다. 향후 연구 과제로는 효율적인 직업병 진단과 석면에 의한 환경성 질환의 규명을 위하여 폐내에 침착된 석면의 원소구성비 및 특성을 조사하여 폐내 석면의 분석방법을 확립하고자 한다.

V. 결 론

석면시료의 정확한 분석방법의 정립을 위해서 chrysotile, amosite, crocidolite, tremolite, actinolite, anthophyllite 의 6종류의 석면표준시료를 각각 형태, 원소구성비, 전자회절상을 분석하였다. 석면 fiber의 형태는 10,000배의 배율에서 관찰하였고 원소구성비는 EDX를 이용하여 분석하였다. 그리고 석면의 분류에 추가적인 기준을 제공하기 위해 전자회절상을 얻어 석면을 평가하였다. 석면표준시료에서 섬유 형태를 가지고 있고 aspect ratio가 3:1 이상인 20개의 fiber를 무작위로 추출하여 EDX와 전자회절상을 얻었다. 각 석면들은 형태적으로 유사한 면을 보여주었으나 chrysotile은 다른 석면과는 달리 독특한 hollow tube 구조를 가지고 있었으며 각 석면들은 고유의 원소조성과 전자회절상을 보여주고 있었다. 이렇게 TEM-EDX를 이용한 석면분석방법으로 석면의 고유의 특성과 분류방법을 확립함으로써 정확한 석면분석이 가능하게 되어 작업장의 환경 측정이나 석면에 노출된 근로자의 직업병 판단을 위한 폐내의 석면분석에 기초자료를 제공하게 될 것이다.

REFERENCES

- 강보영, 신용철, 백남원. 위상차 현미경법을 이용한 공기중 석면농도 분석에서의 정도관리 1991;1(2):221-237
- 백남원, 이영환. 석면취급 사업장 근로자의 석면폭로 특성에 관한 연구 1991;1(2):144-153
- 유성환, 김현욱. 전자현미경을 이용한 건물내 비고형 표면소재의 석면 오염 및 기중 석면농도 특성조사, 한국산업위생학회지 1996;6(2):165-175
- 최정근, 백도명, 백남원, Hisanaga N, Sakai K. 우리나라 일부 광물중 석면섬유의 함유에 대한 조사, 한국산업위생학회지 1998;8(2):254-263
- Hitachi. Electron microscopy, 13th ed. Hitachi Instrument News 1988
- Kohyama N. Analytical electron microscopy for occupational health and environmental science, Journal of Clay Science Society of Japan, 1987;27:88-103
- Kohyama N, Kyono H, Yokoyama K, and Sera Y. Evaluation of low-level asbestos exposure by transbronchial lung biopsy with analytical electron microscopy, J Electron Microscope, 1993;42:315-327
- Kohyama N and Kurimori S. A Total sample preparation method for the measurement of airborne asbestos and other fibers by optical and electron microscopy, Industrial Health 1996;34:185-203.
- NIOSH. Manual of analytical methods, method 7400, 7402, 9002, NIOSH 1994
- Roberson KT, Thomas TC and Sherman LR. Comparison of asbestos air samples by SEM-EDXA and TEM-EDXA, Annual Report of British Occupational Hygiene 1992;36:265-269
- Sakai K, Hisanaga N, Kojima A. and Takeuchi Y. Elemental composition of asbestos fibers recovered from human lung, Annual Report of Nagoya City Public Health Research Institute 1991;37:116-119
- Schlecht PC and Shulman SA. Phase contrast microscopy asbestos fiber counting performance in the proficiency analytical testing program, American Industrial Hygiene Association Journal 1995;56:480-489
- Steel EB and Small JA. Accuracy of transmission electron microscopy for the analysis of asbestos in ambient environments, American Chemical Society 1984;57:209-213
- Verma DK and Clark NE. Relationships between phase contrast microscopy and transmission electron microscopy results of samples from occupational exposure to airborne chrysotile asbestos, American Industrial Hygiene Association Journal 1995;56:866-873
- Yu IJ, Moon YH, Sakai K, Hisanaga N, Park JD and Takeuchi Y. Asbestos and non-asbestos fiber content in lungs of Korean subjects with no known occupational asbestos exposure history, Environment International 1998;3: 293-300