

## 환경대기 중 석면측정용 현미경법 -

2016

### 위상차현미경법

(Phase Contrast Microscope Method in Asbestos Measurement)

## 1.0 개요

### 1.1 목적

이 시험방법은 대기환경 중 석면의 농도 측정 방법을 규정함으로써 석면배출을 감시 및 억제하고자 하는데 그 목적이 있다. 대기 중 부유먼지 중의 석면섬유를 위상차현미경을 주 시험방법으로 한다.

### 1.2 적용범위

**1.2.1** 이 시험방법은 대기중의 실내에 석면을 사용하고 있는 건축내 또는 일정한 공간 내에 석면 함유되어 있는 건축물 폐기시 비산되는 부유먼지 중의 석면의 분석방법에 대하여 규정한다.

**1.2.2** 위상차 현미경법 (PCM, phase contrast microscopy)을 이용한 현미경 표본은 아세톤-트리아세틴법, 디메틸프탈레이트-디에틸옥살레이트법으로 제작한다. 위상차의 검출한계는  $1/10 \sim 1/1,000 \lambda$  사이이다.

표 1. 위상차현미경법의 식별방법, 측정범위, 정량범위, 측정계수

식별 방법	측정범위 ( $\mu\text{m}$ )	정량범위	측정계수
단섬유	5 이상	길이와 폭의 비가 3:1 이상인 섬유	1
가지가 벌어진 섬유	5 이상	길이와 폭의 비가 3:1 이상인 섬유	1
형클어져 다발을 이루고 있는 섬유	5 이상	길이와 폭의 비가 3:1 이상인 섬유	섬유개수
입자가 부착하고 있는 섬유	5 이상	입자의 폭이 $3\mu\text{m}$ 넘지 않는 섬유	1
섬유가 크리티컬 시야의 경계선에 물린 경우	5 이상	- 시야 안 - 한쪽 끝 - 경계선에 물려있음	1 1/2 0
위의 식별방법에 따라 판정하기 힘든 경우	5 이상	다른 시야로 바꾸어 식별	0
다발을 이루고 있는 섬유가 그레티컬 시야의 1/6이상인 경우	5 이상	다른 시야로 바꾸어 식별	0

### 1.3 간섭물질

#### 1.3.1 간섭성빛

위상차가 일정해서 간섭을 일으킬 수 있는 빛. 빛은 파장과 주기가 모두 짧아서 간섭성을 띠려면 하나의 광원에서 갈라진 두 갈래의 빛일 경우에만 가능하다.

#### 1.3.2 물리적 간섭

후광 (halo)이나 차광 (shading)은 관찰을 방해하기도 한다. 초점이 정확하지 않고 콘트라스트가 역전되는 경우도 있다.

## 2.0 용어정의

### 2.1 위상차 현미경

**2.1.1** 굴절을 또는 두께가 부분적으로 다른 무색투명한 물체의 각 부분의 투과광 사이에 생기는 위상차를 화상면에서 명암의 차로 바꾸어, 구조를 보기 쉽도록 한 현미경이다.

**2.1.2** 위상차현미경을 사용하여 섬유상으로 보이는 입자를 계수하고 같은 입자를 보통의 생물현미경으로 바꾸어 계수하여, 그 계수치들의 차를 구하면 굴절율이 거의 1.5인 섬유상의 입자 즉 석면이라고 추정할 수 있는 입자를 계수할 수가 있게 된다.

**2.1.3** 석면먼지의 농도표시는 20 ℃, 1 기압 상태의 기체 1 mL 중에 함유된 석면섬유의 개수 (개/mL)로 표시한다.

**2.1.4** 대기 중 석면은 강제 흡인 장치를 통해 여과장치에 채취한 후 위상차현미경으로 계수하여 석면 농도를 산출한다.

## **2.2 멤브레인필터**

셀룰로오스 에스테르를 원료로 한 얇은 다공성의 막으로 구멍의 지름은 평균 (0.01 ~ 10)  $\mu\text{m}$ 의 것이 있다. 이 멤브레인필터의 특징은 입자상 물질의 포집율이 매우 높고, 특히 필터의 표면에서 먼지의 포집이 이루어지기 때문에, 포집한 입자를 광학현미경으로 계수하기에 편리하다.

## **3.0 분석기기 및 기구**

### **3.1 위상차 현미경**

#### **3.1.1 아세톤 증기 발생장치**

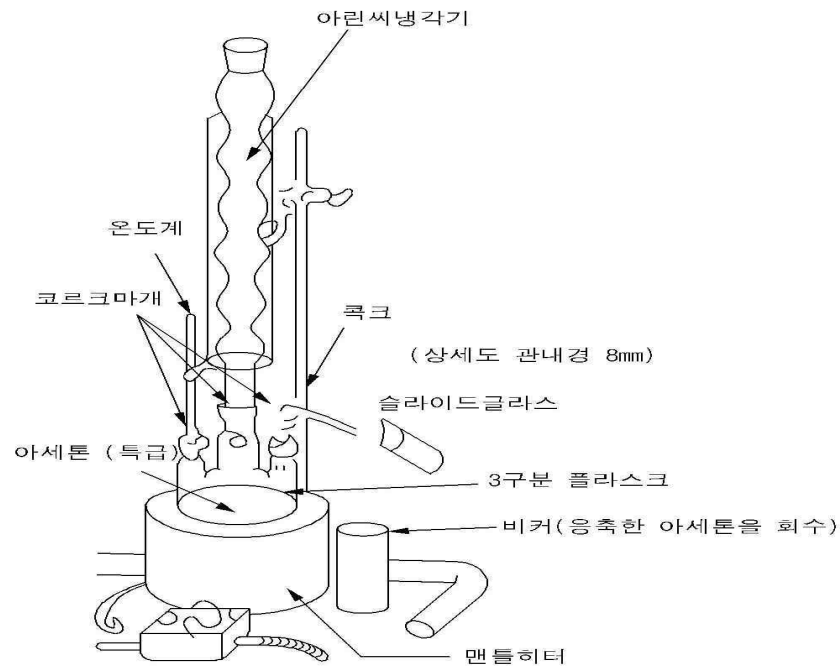


그림 1. 아세톤증기 발생장치의 예

### 3.1.2 삼구볼플라스크

(250 ~ 500) mL 용량, 갈아맞춤형

### 3.1.3 유리관

수평으로부터 (20 ~ 30)° 각도로 목이 구부러진 마개가 달린 유리관. 내경 8 mm, 길이 (16 ~ 22) mm

### 3.1.4 냉각기

아린씨 냉각기

### 3.1.5 맨틀히터

하단부 열 공급장치

### 3.1.6 온도계

일반 습식온도계

### 3.1.7 코르크마개

실험용 코르크마개

### 3.1.8 비커

응축한 아세톤 회수용

### 3.1.9 슬라이드글라스

중성세제의 용액에 담가 표면에 묻은 오물을 충분히 제거한 후 물로 잘 씻고, 정제수로 충분히 세정하여 알코올에 담근 후에 깨끗한 가제로 닦아서 슬라이드 글라스의 격납상자에 넣어둔다. 슬라이드글라스나 커버글라스를 닦는 가제는 중성세제의 용액으로 끓인 후, 물로 잘 씻고 오물이 묻지 않도록 하여 건조시킨 것을 사용한다. 또는 에틸 에테르와 에틸알콜을 동량으로 혼합한 에테르알콜을 렌즈 페이퍼에 소량 묻혀서 사용하여도 된다. 슬라이드 글라스의 가장자리에 측정조건 등을 기입하는 레벨을 붙여두면 좋다.

### 3.1.10 커버글라스

크롬황산에 하루 이상 담가 두었다가 정제수로 세정하여 알코올에 담근 다음 깨끗한 가제로 닦고, 적당한 크기의 살레에 넣어 둔다.

### 3.1.11 피펫

용량 5  $\mu$ L의 마이크로 피펫

### 3.1.12 칼 또는 가위

시료 채취용 및 분석용 가위

### 3.1.13 핀셋

시료 여과지용 핀셋

### 3.1.14 표본보관용 케이스

대기 중에 노출되지 않는 시료 보관용 케이스

## 4.0 시약 및 표본제작방법

### 4.1 아세톤-트리아세틴법

#### 4.1.1 아세톤 ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ , acetone, 분자량:58.08)

유기용매, 화학식은  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ . 순수한 아세톤은 약간 냄새가 나며 무색의 가연성 액체로 끓는점은  $56.5^\circ\text{C}$ 이다.

#### 4.1.2 트리아세틴 (글리세롤 트리아세테이트; $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_6$ , glycerol triacetate, 분자량: 218.12)

아세트산의 함유율이 약 62 % 이상 되는 아세테이트 함유. 녹는점이 약  $300^\circ\text{C}$ 로 다른 아세테이트 함유보다 높다.

#### 4.1.3 래커 (lacquer) 또는 바니쉬 (nail polish)

4.1.3.1 섬유소나 합성수지 용액에 수지, 가소제, 안료 따위를 섞은 도료. 쉽게 마르고 오래가는 특징이 있다.

#### 4.1.3.2 매니큐어액

별도의 언급이 없으면 시약은 유해금속 측정용 및 분석용을 사용한다.

## 4.2 디메틸프탈레이트 - 디에틸옥살레이트법

**4.2.1** 디메틸프탈레이트 ( $C_6H_4(COOH)_2$ , dimethyl phthalate, 분자량: 116.14)와 디에틸 옥살레이트 ( $(C_2H_5)_2C_2O_4$ , diethyl oxalate, 분자량: 146.14)를 1:1로 혼합한 용액속에 새 멤브레인 필터를 0.05 g/mL의 비율로 가하여 용해시키고, (25 ~ 50) mL 정도의 뚜껑이 있는 병에 보존한다.

**4.2.2** 이 용액은 조제 후, 수개월 이상 지나면 투명도가 나빠지거나 또는 불순물이 보일 수 있으므로 제조 후 1 개월 이상 지난 것은 사용하지 않는 것이 좋다.

**4.2.3** 온도가 낮을 때에는 다소 투명도가 나빠질 수도 있으므로, 약간 가온하여 사용한다.

## 4.3 표본제작방법

### 4.3.1 아세톤 - 트리아세틴법

아세톤은 가연성 액체이므로 인화되지 않도록 주의하고, 아세톤증기는 인체에 유해하므로, 아세톤의 가열은 반드시 발화 등의 염려가 없도록 설계된 후드를 설치한 통풍실에서 하며, 드리프트 챔버 내에서 실시하는 것이 바람직하다.

**4.3.1.1** 깨끗한 슬라이드글라스나 커버글라스를 준비한다.

**4.3.1.2** 아세톤증기 발생장치의 플라스크에 (40 ~ 60) mL 의 아세톤을 넣는다.

**4.3.1.3** 냉각기에 냉각수를 흘린다.

**4.3.1.4** 맨틀히터에 전원을 넣고, 아세톤의 비등점 (56.5 °C)까지 서서히 가열시킨다.

**4.3.1.5** 시료채취한 멤브레인필터를 2 등분하고, 포집한 면을 위로 하여 슬라이드글라스의 위에 얹는다.

**4.3.1.6** 위상차현미경에서는 표본의 일부분을 계측하게 되므로, 멤브레인 필터의 크기

에 따라 4 등분하여도 상관이 없으며, 정확하게 2 등분이나 4 등분이 되어 있지 않아도 계수치에는 영향을 미치지 않는다.

**4.3.1.7** 여과지를 절단할 때, 찢어지거나 정전기가 발생하여 포집한 석면섬유중의 일부가 유실될 가능성이 있으므로 충분한 주의가 필요하다.

**4.3.1.8** 아세톤 증기가 충분히 발생하고 있는 것을 확인한 후, 증기배출수의 마개를 열어서 5 ~ 6 초간 방치한다.

**4.3.1.9** 아세톤의 증기 배출구로부터 (15 ~ 25) mm 떨어진 위치에서 멤브레인필터를 얹은 슬라이드 글라스를 아세톤 증기 속으로 서서히 이동시켜 멤브레인필터면에 아세톤 증기가 균일하게 접촉하도록 하면, 멤브레인필터는 (2 ~ 5) 초 사이에 투명하게 된다. 액체상의 아세톤이 멤브레인필터면에 떨어지지 않도록 하기 위하여 주기적으로 가제 등을 사용하여 배출구를 닦아야 한다.

**4.3.1.10** 가능한 빨리 마이크로 피펫을 사용하여 트리아세틴을 (3 ~ 3.5)  $\mu\text{L}$  (2 ~ 3 방울) 멤브레인 필터의 중심부에 적하하고, 그 위에 커버글라스를 덮는다.

- 커버글라스를 덮을 때에는 가능한 한 기포가 발생하지 않도록 주의하면서 서서히 멤브레인필터 위에 얹고, 핀셋으로 가볍게 누른다.

- 기포가 너무 많이 형성되거나 트리아세틴의 양이 부족하면 수분 후에 커버글라스가 떨어지게 된다.

- 커버글라스와 접촉하는 멤브레인필터의 가장자리 부분에 트리아세틴이 많이 남아 있으면, 가장자리에서 석면섬유의 이동이 일어난다.

**4.3.1.11** 래커나 바니쉬 등을 사용하여 커버글라스의 가장자리를 슬라이드글라스와 접촉시킨다.

**4.3.1.12** 투명화가 늦으면 슬라이드를 표면온도 50  $^{\circ}\text{C}$ 의 가열판 위에서 투명화가 될 때까지 약 15 분 동안 가열한다.

**4.3.1.13** 측정장소 및 측정조건 등을 기입하여 슬라이드글라스의 가장자리에 부착한다.

**4.3.1.14** 만든 표본은 표본을 넣어두는 케이스 등에 보관한다.



#### 4.3.2 디메틸프탈레이트 - 디에틸옥살레이트법

4.3.2.1 표본을 오염시킬 염려가 없는 실내에서 먼지를 채취한 멤브레인필터를 시료 보관용 용기에서 꺼내어 2 등분한다.

4.3.2.2 슬라이드글라스의 중심부에 디메틸프탈레이트-디에틸옥살레이트 용액을 (0.03 ~ 0.05) mL (1 방울) 떨어뜨린다.

4.3.2.3 그 위에 2 등분한 멤브레인필터를 포집한 면을 위로하여 조용히 얹는다.

4.3.2.4 멤브레인필터가 약간 투명해진 다음에 커버글라스를 그 위에 얹고 핀셋으로 가볍게 누른다. 이 때 기포가 들어가지 않도록 주의한다.

4.3.2.5 약 30 분간 방치하면 용액에 접한 부분은 완전히 투명하게 된다.

4.3.2.6 측정장소 및 조건 등을 라벨에 기입하여 슬라이드글라스 가장자리에 부착한다.

4.3.2.7 만든 표본은 표본을 넣어두는 케이스 등에 보관한다.

### 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 실제조건 하에서 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 원칙으로 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 8시 ~ 오후 7시) 10 L/min 으로 1 시간 측정

## 5.2 시료채취장치

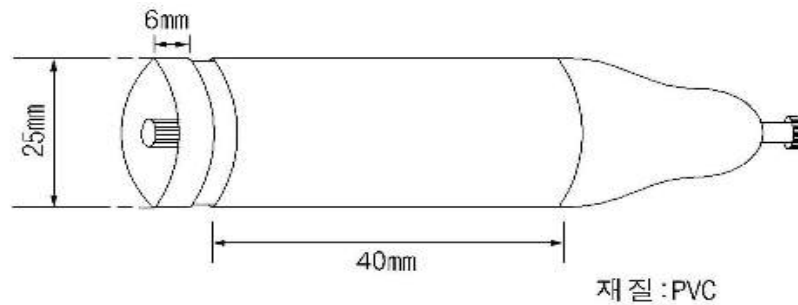
### 5.2.1 시료채취분석기기 및 기구

#### 5.2.1.1 멤브레인필터

셀룰로오스에스테르제 (Cellulose ester) 또는 셀룰로오스나이트레이트제 (Cellulose nitrocellulose) pore size (0.8 ~ 1.2)  $\mu\text{m}$ , 직경 25 mm 또는 47 mm

#### 5.2.1.2 개방형 멤브레인필터홀더

원형의 멤브레인필터를 지지하여 주는 장치로서 아래 그림 2와 같이 40 mm의 집풍기를 홀더에 정착된 것



open face형 필터홀더 (직경 25mm 멤브레인 필터의 경우)

그림 2. 멤브레인 필터

### 5.2.1.3 흡인 펌프

20 L/min로 공기를 흡인할 수 있는 로터리펌프 또는 다이어프램 펌프는 시료채취관, 시료채취장치, 흡인기체 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 흡인을 시작하고부터 약 10 분 후에 진공계 또는 마노미터로 차압을 측정하여 흡인유량을 정확히 보정한다.

5.2.2.7 포집종료 시각을 기록하고 흡인공기량을 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  $\mu\text{m}$ 보다 긴 섬유 또는 묽음에 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 계

수되고 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 호트리짐
- 섬유성 구조의 해석에서 현미경 학자 사이의 차이 (variation)
- 섬유를 확인하는 검출과 확인하는 능력에서 현미경 학자 사이의 차이

이 분석 방법을 사용한 단일 구조 농도 측정에서 평균에 대한 95 % 신뢰도 구간은 100 구조가 10 개의 그리드 구멍에서 측정되었을 때  $\pm 25$  %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 내부정도관리를 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 기구 및 장치

7.1.1 배율 10 배의 대안렌즈 및 10 배와 40 배 이상의 대물렌즈를 가진 위상차 현미경 또는 간접위상차 현미경

7.1.2 접안 그라티쿨 (eyepiece graticule)

7.1.3 대물측미계 또는 스테이지마이크로미터 최저 10  $\mu\text{m}$ 까지 표시되어 있는 것이어야 한다.

#### 7.2 식별방법

포집한 먼지 중에 길이 5  $\mu\text{m}$  이상이고, 길이와 폭의 비가 3:1 이상인 섬유를 석면섬유로서 계수한다.

##### 7.2.1 단섬유인 경우

7.2.1.1 길이 5  $\mu\text{m}$  이상인 섬유는 1개로 판정한다.

7.2.1.2 구부러져 있는 섬유는 곡선에 따라 전체 길이를 재어서 판정한다.

### 7.2.1.3 길이와 폭의 비가 3:1 이상인 섬유는 1 개로 판정한다.

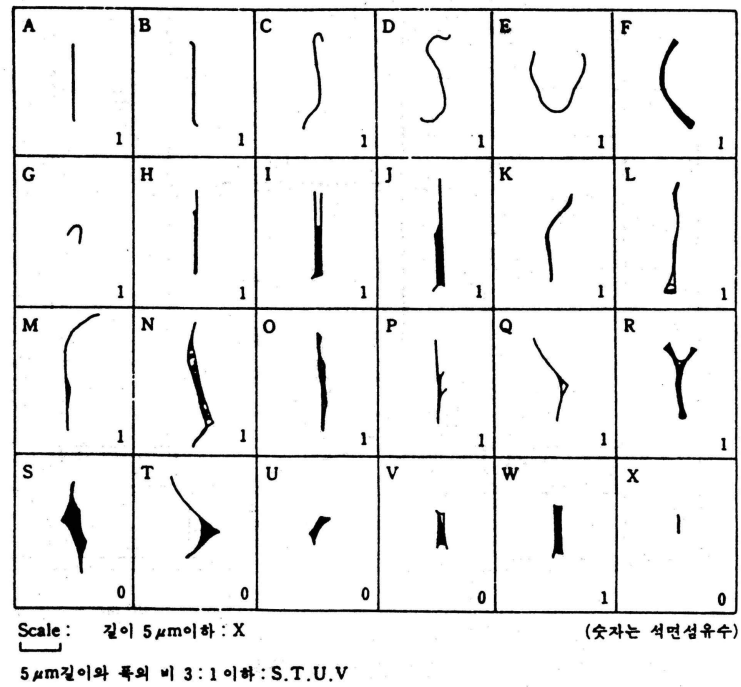


그림 3. 단섬유인 경우의 식별 결과

### 7.2.2 가지가 벌어진 섬유의 경우

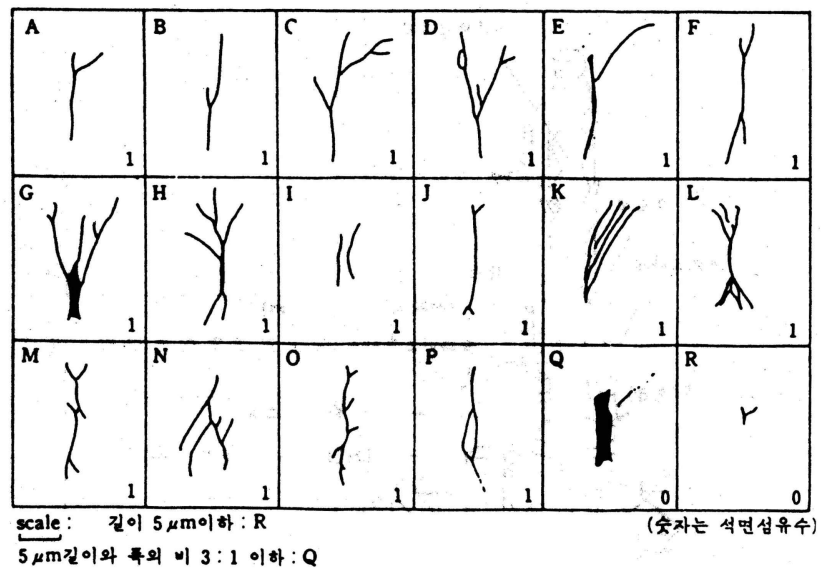


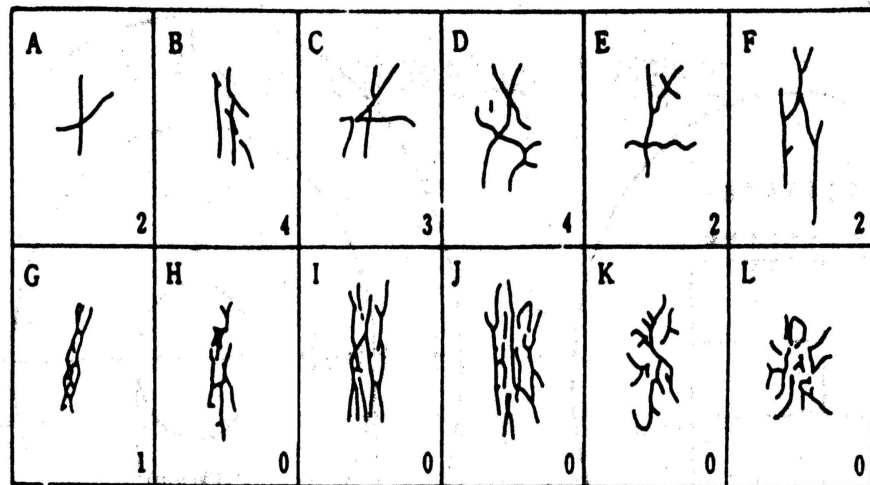
그림 4. 가지가 벌어진 섬유인 경우의 식별 결과

7.2.2.1 1 개의 섬유로부터 떨어져 있는 경우에는 1개의 단섬유로 인정하고 7.2.1의 규정에 따라 판정한다.

### 7.2.3 형클어져 다발을 이루고 있는 경우

7.2.3.1 여러 개의 섬유가 교차하고 있는 경우는 교차하고 있는 각각의 섬유를 단섬유로 인정하고, 7.2.1의 규정에 따라 판정한다.

7.2.3.2 섬유가 형클어져 정확한 수를 헤아리기 힘들 때에는 0 개로 판정한다.



scale :

(숫자는 식별섬유수)

5 $\mu$ m 정확한 계수를 할 수 없음 : H,I,J,K,L

그림 5. 섬유가 형클어진 다발로 되어 있는 경우의 식별결과

### 7.2.4 입자가 부착하고 있는 경우

7.2.4.1 입자의 폭이 3  $\mu$ m를 넘는 것은 0 개로 판정한다.



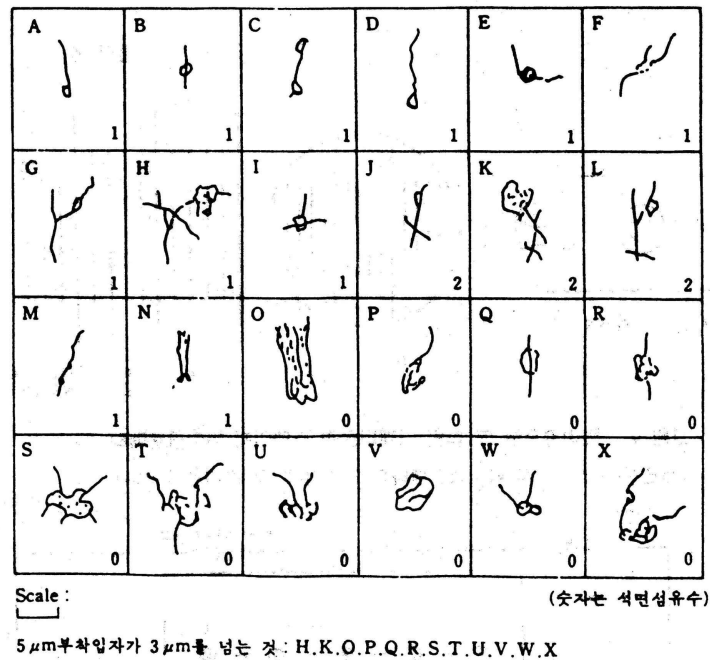


그림 6. 섬유에 입자가 부착하고 있는 경우의 식별 결과

#### 7.2.5 섬유가 그래티쿨 시야의 경계선에 물린 경우

7.2.5.1 그래티쿨 시야 안으로 완전히 5  $\mu$ m 이상 들어와 있는 섬유는 1 개로 인정한다.

7.2.5.2 그래티쿨 시야 안으로 한쪽 끝만 들어와 있는 섬유는 1/2 개로 인정한다.

7.2.5.3 그래티쿨 시야의 경계선에 한꺼번에 너무 많이 몰려 있는 경우에는 0 개로 판정한다.

7.2.6 상기에 열거한 방법들에 따라 판정하기가 힘든 경우에는 해당 시야에서의 판정을 포기하고, 다른 시야로 바꾸어서 다시 식별하도록 한다.

7.2.7 다발을 이루고 있는 섬유가 그래티쿨 시야의 1/6 이상일 때는 해당 시야에서의 판정을 포기하고, 다른 시야로 바꾸어서 재 식별하도록 한다.

### 7.3 계수방법

### 7.3.1 접안 그레티쿨의 보정

사용하는 현미경에 따라 접안 그레티쿨의 종류 및 크기는 다르다.

**7.3.1.1** 접안렌즈에 사용할 접안 그레티쿨을 넣고, 그레티쿨의 선들이 깨끗하고 선명하게 보이도록 조정한다.

**7.3.1.2** 대물렌즈의 배율을 40 배로 한다.

**7.3.1.3** 슬라이드 얹힘대 위에 스테이지 마이크로미터를 놓고, 초점을 맞추어 선들이 선명하게 보이도록 한다.

**7.3.1.4** 그레티쿨을 보정한다

현미경의 시야 중 일부분을 보면 아래 **그림 8**과 같다. 세로선의 간격이  $10\ \mu\text{m}$ 이므로, 이 같이 보이는 경우 그레티쿨에 있는 각 원형중에서 원형 9가 직경  $20\ \mu\text{m}$ , 원형 5가 직경  $5\ \mu\text{m}$ 로 된다. 같은 방법으로 그레티쿨의 시야면적도 정확히 구한다.

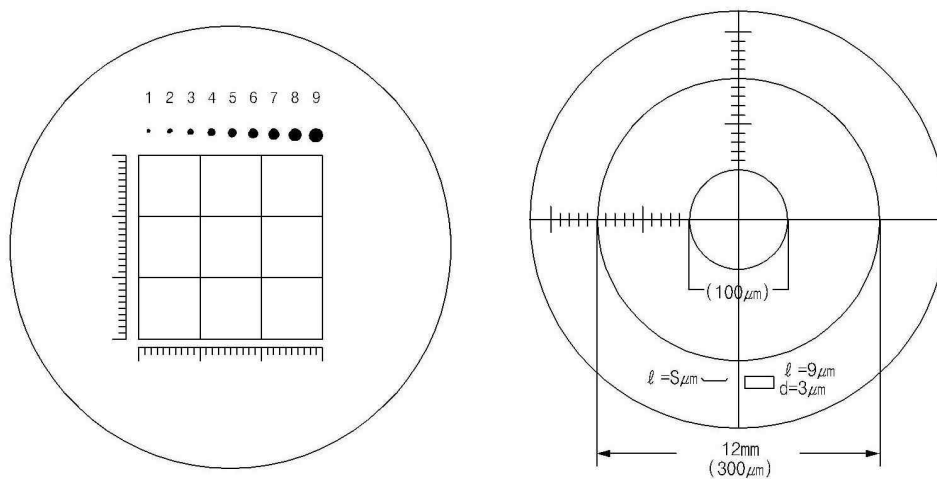


그림 7. 접안 그레티쿨의 예

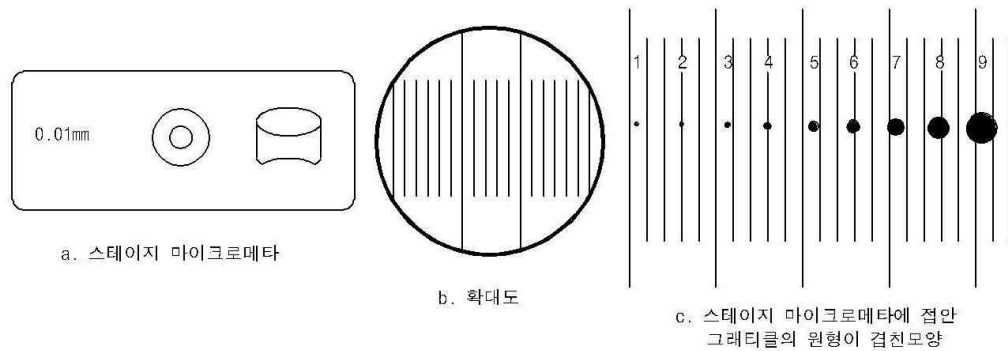


그림 8. 현미경으로 본 접안 그라티클과 스테이지 마이크로미터

(세로선이 스테이지 마이크로미터의 눈금이고, 그 간격은 1  $\mu\text{m}$ )

### 7.3.2 계수조작

7.3.2.1 접안 그라티클의 보정 7.3.1에 따른다.

7.3.2.2 스테이지 마이크로미터를 얹힘대에서 떼내고, 제작한 표본을 얹힘대 위에 놓는다.

7.3.2.3 저배율 (50 ~ 100) 배로 여과지에 포집된 먼지의 균일성을 확인하고 먼지가 불균일하게 포집되어 있는 표본은 버린다.

7.3.2.4 400 배 이상의 배율에서 접안 그라티클에 있는 척도를 사용하여 7.2에 따라 계수한다.

7.3.2.5 계수는 그림 9와 같이 시야를 이동하면서, 임의적으로 시야를 선택하여 섬유수가 200 개 이상이 될 때까지 하고, 1시야 중의 섬유수가 10 개 정도 일 때는 시야 전체의 수를 세어서 약 50 개에 이르기까지 계수한다.

7.3.2.6 위상차 현미경에 따라 계수하고, 섬유가 계수된 동일 시야에 대하여 400 배의 배율에서 생물현미경을 사용하여 다시 계수하여 그 결과를 석면섬유수 측정표에 기록한다.

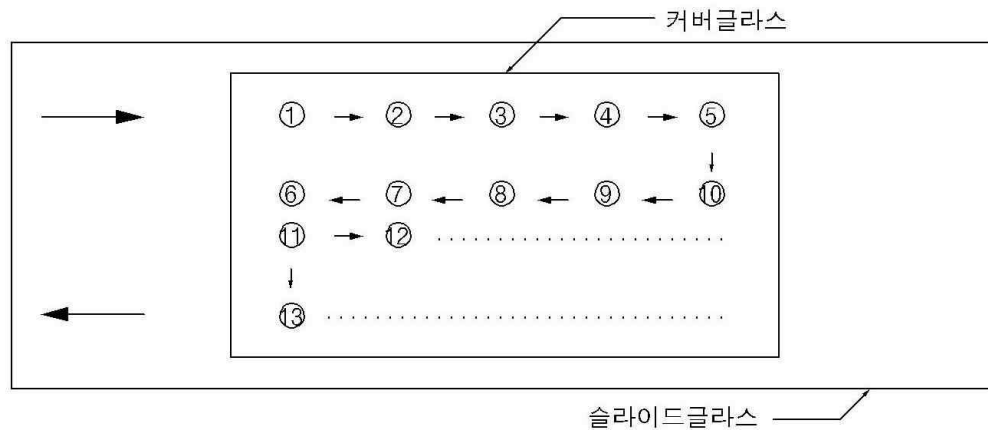


그림 9. 표본의 시야 이동순서

7.3.2.7 계수한 표본에 대하여 다시 계수 하였을 때, 통계학적으로 평가하여 95 % 이상의 재현성을 가져야 한다.

## 8.0 결과보고

### 8.1 농도 계산방법

포집한 시료의 석면농도는 다음의 식에 의하여 구한다.

$$\text{섬유수 (개/mL)} = \frac{A \times (N_1 - N_2)}{a \times V \times n} \times \frac{1}{1,000} \quad (\text{식 1})$$

여기서, A : 유효 포집면적 (cm<sup>2</sup>)

N<sub>1</sub> : 위상차현미경으로 계측한 총 섬유수 (개)

N<sub>2</sub> : 광학현미경으로 계측한 총 섬유수 (개)

a : 현미경으로 계측한 1시야의 면적 (cm<sup>2</sup>)

V : 표준상태로 환산한 채취 공기량 (L)

n : 계수한 시야의 총수 (개)

### 8.2 결과의 표시

대기환경 중의 석면의 농도 측정 결과의 표시 자리수는 소수 넷째 자리까지 구하고, 측정 결과는 소수 셋째 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"