

## 공기 중 석면표준시료를 이용한 전처리 방법 비교 연구

### Comparative study of clearing methods for air-borne asbestos analysis

이광용<sup>1\*</sup> · 신정아<sup>1</sup> · 정지연<sup>2</sup> · 이인섭<sup>1</sup> · 박두용<sup>3</sup>

Gwang Yong Yi<sup>1\*</sup> · Jeong Ah Shin<sup>1</sup> · Jee Yeon Jeong<sup>2</sup> · In Seop Lee<sup>1</sup> · Doo Yong Park<sup>3</sup>

<sup>1</sup>한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원, <sup>2</sup>용인대학교, <sup>3</sup>한성대학교

<sup>1</sup>Occupational Safety & Health Reserch Institute, KOSHA

<sup>2</sup>Department of Occupational and Environmental Health, Young In University

<sup>3</sup>Department of Mechanical Systems Engineering, Hansung University

#### ABSTRACT

**Objectives:** Acetone/triacetine method for clearing cellulose ester membrane (CEM) filter has been a popular method for air-borne asbestos analysis. However, as a weakness of this method, it is time consuming to analyses asbestos samples after sampling. Crystalclear method can be used to analyses asbestos samples promptly after sampling. Although a strength of crystal clear method exists, there was little valid studied for the method. This study was conducted to compare acetone/triacetine method with crystalclear one for analysing asbestos sample.

**Methods:** Test samples made in three different concentration ranges(low, medium and high concentration) were analysed by phase contrast microscopy after acetone/triacetine and crystalclear method treatment respectively.

**Results:** We did not find statistical difference in analysed results between two methods, which were conducted in three different concentrations ranges.

**Conclusions:** We concluded that crystalclear method can be used as clearing method for air-borne asbestos analysis instead of acetone/triacetine method.

**Key words :** Asbestos, Acetone/triacetine method, Clearing method

## I. 서 론

위상차현미경을 이용한 공기 중 석면시료 분석은 다양한 요인들이 분석결과에 영향을 줄 수 있다. 영향을 주는 요인을 보면 분석자의 숙련도, 시료 채취과정, 채취된 분진의 양, 분진의 성상, 분진입자 크기, 분진 색, 전처리 방법, 위상차현미경의 해상도 등을 들 수 있다(Le Guen, 1981). 이러한 요인 중 어느 한 부분도 소홀히 할 수 없지만 최우선적으로 해결해야 하는 부분은 분석자의 숙련도이다. 위상차현미경을 이용하여 분석자의 숙련도를 높이기 위해서는 표준시료와 현장시료를 분리하여 숙련도를 향상시켜야 된다. 석면분석에 있어서 간과되어서는 안 될 중요한 부분은 위상차현미경의 해상도이다. 현재 우리나라에서 사용되고 있는 현미경의 대부분은 최신의 장비로서 HSE/NPL test slide를 이용하여 해상도를

평가하면 5-7 밴드(Line width : 0.44-0.25 $\mu$ m)까지 분석이 가능한 장비로 어떤 것을 사용해도 충분하다. 그러나 일부 장비는 해상도가 떨어져 사용이 불가능한 제품도 있는 것이 현실이다. 마지막으로 고려되어야 할 부분이 시료 전처리이다. 미국국립산업안전보건연구원(NIOSH)를 비롯한 대부분의 분석방법에서는 아세톤/트리아세틴(acetone/triacetin) 방법을 이용하여 시료를 전처리하고 있다. 아세톤/트리아세틴 방법은 아세톤 증기화장치(Acetone vaporizer) 또는 삼각플라스크와 가열판(hot plate)을 사용하여 전처리하기 때문에 아세톤이 여과지를 투명화시키는 과정에서 석면섬유의 손실을 유발할 수 있는 단점이 있다(NIOSH, 1994; Le Guen, 1981). 이러한 전처리 과정에서 단점을 보완하고 보다 간편하게 공기중 석면시료를 전처리하기 위해 만들어진 용액이 Crystalclear(Vorongoto, Korea)이다. Crystalclear을 이용한 전처리방법은 아세톤 증기화 장치 등 전처리 장비가 필요 없기 때문에 장소에 구애받지 않고 어떤 장소에서도 시료를 투명화 할 수 있으며, 섬유의 손실 가능성이 적고, 시료 전처리 후 즉시 위상차현미경으로 분석이 가능하기 때문에 전처리에 소요기간이 매우 짧은 장점을 가지고 있었다. 그러나 이러한 장점에도 불구하고 Crystalclear 방법

\*Corresponding author: Yi Gwang Yong  
인천시 부평구 구산동 34-6  
한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원  
Tel: 032-510-0806, Fax: 032-518-0864  
E-mail: yigy@nate.com  
Received: 2011. 2. 25, Revised: 2011. 6. 10.  
Accepted: 2011. 6. 17.

이 기존의 방법과 석면분석결과에 차이가 있는지 여부를 검증 또는 비교·평가한 연구결과가 없는 실정이다. 이에, 본 연구에서는 석면분석 정도관리용 표준시료 개발연구를 통해 제작된 갈석면(amosite)와 백석면(chrysotile) 시료를 이용하여 전처리방법(아세톤/트리아세틴 방법; Crystalclear 방법)에 따른 석면분석결과에 차이가 있는지 여부를 비교평가를 실시하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 표준시료

공기 중 석면시료 전처리 방법 간의 비교 평가를 위해 갈석면과 백석면이 함유된 45개(9개 농도수준 X 5개/농도수준=45개 시료)의 표준시료를 제조하여 연구에 사용하였다(이광용 등, 2009a; 이광용 등, 2009b). 각각의 석면 표준시료는 1/2로 절단하여 각각 아세톤/트리아세틴 방법과 전처리용액 방법으로 시료를 전처리하는 방법을 사용하였다(NIOSH, 1994). 아세톤/트리아세틴 방법은 1/2씩 절단된 45개 시료를 동일한 조건에서 전처리하여 상온에 보관하며 10일 동안 석면의 종류와 농도수준별로 구분하여 분석하였으며, Crystalclear를 이용한 석면표준시료 전처리는 석면분석을 실시하기 직전에 전처리하여 분석하였다.

### 2. 시료전처리 및 분석방법

#### 1) 아세톤/트리아세틴(Acetone/Triacetone) 방법

아세톤 증기화 장치 또는 삼각플라스크와 가열판을 이용하여 아세톤 증기를 발생시켜 슬라이드글라스 위에 1/2 또는 1/4로 자른 MCE 여과지를 올려 투명화 시킨 후, 트리아세틴으로 여과지의 표면을 전처리하여 위상차현미경(ECLIPSE 80i, Nikon, Japan)을 이용하여 NIOSH Method 7400의 "A" 규정(counting rule A)에 따라 계수하였다(NIOSH, 1994).

#### 2) Crystalclear 방법

슬라이드글라스 위에 Crystalclear 용액 일정량(여과지의 크기에 따라 50-100 $\mu$ l)을 떨어뜨린다. 1/2 또는 1/4 크기로 자른 MCE 여과지를 빠른 시간에 Crystalclear 용액 위에 올린 후 커버 글라스를 덮어 전처리하여 위상차현미경(DM2500, LEICA, Germany)을 이용하여 NIOSH Method 7400의 "A" 규정(counting rule A)에 따라 계수하였다(NIOSH, 1994).

연구에 사용된 위상차현미경은 LEICA(Germany)사의 DM2500 모델과 NIKON(Japan)사의 ECLIPSE 80i 모델을 사용하였으며, 위상차현미경은 HSE/NPL test slide를 이용하여 6번 밴드(Line width: 0.36 $\mu$ m)와 7번 밴드(Line width: 0.25 $\mu$ m)가 보이도록 제조사에서 제시하는 방법에 따라 Köhler Illumination을 실시하여 최상의 상태로 세팅한 후 시료를 분석하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 갈석면(amosite)

갈석면 표준시료는 농도수준에 따라 저농도(Level 1-3), 중간농도(Level 4-6), 고농도(Level 7-9) 수준으로 제조하여 전처리 방법에 따라 각각 5개의 시료를 분석하여 평가한 결과 Table 1과 같다. 제조된 시료의 농도수준은 고용노동부 석면조사 및 정도관리규정(고용노동부, 2009)에 따라 1,200L의 공기를 채취하였다고 가정할 때, 석면섬유 농도는 저농도(100-170개/mm<sup>2</sup>) 수준은 공기중 농도로 0.03-0.05개/cc이며, 중간농도(230-290개/mm<sup>2</sup>) 수준은 0.07-0.09개/cc, 그리고 고농도(440-690개/mm<sup>2</sup>) 수준은 0.14-0.22개/cc이다.

저농도 수준에서 분석값 간의 차이를 나타내는 변이계수 값의 평균은 아세톤/트리아세틴 방법(104.6-172.2개/mm<sup>2</sup>)이 8.9(3.4-12.8)%이었으며, Crystalclear 방법(105.3-173.6개/mm<sup>2</sup>)은 5.0(2.4-7.2)%로 평가되었다.

중간농도 수준에서 변이계수 평균은 아세톤/트리아세틴 방법(232.6-286.9개/mm<sup>2</sup>)이 6.3(3.2-9.7)%이었으며, Crystalclear 방법(239.5-287.0개/mm<sup>2</sup>)은 2.5(0.7-3.9)%로 평가되었다.

고농도 수준에서 변이계수 평균은 아세톤/트리아세틴 방법(440.5-687.5개/mm<sup>2</sup>)이 6.8(2.8-6.1)%이었으며, Crystalclear 방법(449.6-688.8개/mm<sup>2</sup>)은 3.0(2.0-4.3)%로 평가되었다.

석면분석 결과의 정밀도를 나타내는 변이계수 값은 Crystalclear 방법이 아세톤/트리아세틴 방법보다 3농도 수준 모두에서 낮게 평가되었다. 그러나 이러한 정밀도 차이가 두 전처리 방법 간의 분석결과 평균값에 대한 통계적으로 유의한 차이를 유발하는지 여부를 검증하기 위해 t-검정을 실시하였다. t-검정을 실시하기 전 두 자료 집단의 정규성분포를 Kolmogorove-Smirnov 검정으로 확인한 결과 정규분포지 않아(p<0.05), 각 분석값을 대수값으로 전환한 후 정규성 검증을 다시 실시한 결과 정규분포를 하는 것을 확인할 수 있었다(갈석면 아세톤/트리아세틴 방법: p=0.200, 갈석면 Crystalclear 방법: p=0.052). 따라서 대수변환한 자료를 가지고 t-검정을 실시하였으며, 검증결과 두 방법에 따른 석면분석결과 평균값의 유의한 차이는 없는 것으로 평가되었다(p=0.879).

### 2. 백석면(Chrysotile)

백석면 표준시료는 갈석면 표준시료와 동일하게 저농도, 중간농도, 고농도로 제조하였으며 전처리 방법에 따라 각각 5개의 시료를 분석하여 평가한 결과 Table 2와 같다. 제조된 표준시료를 1,200L의 공기를 채취하였다고 얻어진 결과라 가정할 때, 공기중 석면농도로 추정하면 저농도(100-170개/mm<sup>2</sup>) 수준의 시료는 공기중 농도로 0.03-0.06개/cc에 해당하고, 중간농도(235-320개/mm<sup>2</sup>) 수준의 시료는 0.08-0.10개/cc, 그리고 고농도(430-640개/mm<sup>2</sup>) 수준의 시료는 0.14-0.21개/cc이다.

저농도 수준에서 변이계수 평균은 아세톤/트리아세틴

**Table 1.** Analytical results of amosite samples

Levels			No. of Samples	Concentration, fibers/mm <sup>2</sup>	
				Acetone/Triacetone	Crystalclear
Low Concentration	Level 1	Mean(Range)	5	104.6(94.3-116.6)	105.3(101.1-110.1)
		CV(%)		7.8	4.3
	Level 2	Mean(Range)	5	155.5(134.4-179.0)	161.4(145.9-175.4)
		CV(%)		12.8	7.2
	Level 3	Mean(Range)	5	172.2(164.3-177.7)	173.6(170.1-180.1)
		CV(%)		3.4	2.4
Pooled CV(%)		15		8.9	5.0
Midium Concentration	Level 4	Mean(Range)	5	232.6(225.5-236.3)	239.5(237.5-241.8)
		CV(%)		3.2	0.7
	Level 5	Mean(Range)	5	250.8(215.3-282.8)	254.9(239.9-267.2)
		CV(%)		9.7	3.9
	Level 6	Mean(Range)	5	286.9(272.0-299.4)	287.0(279.0-291.0)
		CV(%)		3.7	1.6
Pooled CV(%)		15		6.3	2.5
High Concentration	Level 7	Mean(Range)	5	440.5(421.0-465.0)	449.6(439.2-459.2)
		CV(%)		3.9	2.1
	Level 8	Mean(Range)	5	448.7(406.4-470.1)	463.2(430.6-480.1)
		CV(%)		6.1	4.3
	Level 9	Mean(Range)	5	687.5(670.1-716.6)	688.8(675.2-710.5)
		CV(%)		2.8	2.0
Pooled CV(%)		15		6.8	3.0

방법(96.9-203.6개/mm<sup>2</sup>)이 10.4(8.4-11.9)%이었으며, Crystalclear 방법(100.3-214.2개/mm<sup>2</sup>)은 6.0(4.5-7.2)%로 평가되었다.

중간농도 수준에서 변이계수 평균은 아세톤/트리아세틴 방법(235.3-321.0개/mm<sup>2</sup>)이 5.4(1.6-7.4)%이었으며, Crystalclear 방법(240.0-327.8개/mm<sup>2</sup>)은 4.1(1.2-5.2)%로 평가되었다.

고농도 수준에서 변이계수 평균은 아세톤/트리아세틴 방법(427.5-640.0개/mm<sup>2</sup>)이 8.9(7.1-10.0)%이었으며, Crystalclear 방법(430.3-652.6개/mm<sup>2</sup>)은 5.0(3.6-6.3)%로 평가되었다.

백석면 역시 3 농도수준 모두 Crystalclear 방법이 아세톤/트리아세틴 방법 보다 변이계수가 좀 더 낮게 평가되었다. 그러나 이러한 정밀도 차이가 두 전처리 방법 간의 분석결과 평균값에 대한 통계적으로 유의한 차이를 유발하는지 여부를 검증하기 위해 t-검정을 실시하였다. t-검정을 실시하기 전 두 자료 집단의 정규성분포를 Kolmogorove-Smirnov 검정으로 확인한 결과 모두 정규분포를 하고 있어서(백석면 아세톤/트리아세틴 방법: p=0.160, 갈석면 Crystalclear 방법: p=0.200) 동 자료를 가지고 t-검정을 실시한 결과, 두 방법에 따른 석면분석결과 평균값의 유의한 차이는 없는 것으로 평가되었다(p=0.858).

두 가지 전처리 방법을 사용한 갈석면과 백석면의 분석결과 값들의 차이를 나타내는 변이계수 값들을 보면 경향은 거의 동일함을 알 수 있다. 그러나 경향은 동일하지만 백석면보다는 갈석면이 두 가지 전처리 방법 모두 변이계수 값이 적다는 것을 알 수 있는데, 그 이유는 갈석면을 포함한 각섬석 계열의 석면이 가지는 화학적 구

조, 직경, 길이, 두께 등의 고유한 특성으로 인하여 백석면에 비해 분석이 용이하기 때문이다. 이러한 경향은 미국 IHPAT Program의 결과에서도 동일하게 나타나고 있다. 갈석면을 대상으로 실시한 182회(Round 182)에서 변이계수 값의 평균은 16.3(11.4-18.9)%로 평가되었고, 백석면을 대상으로 실시한 183회(Round 183)는 모두 시료의 변이계수가 20.0% 동일하게 적용하여 적합범위를 산정하였다. IHPAT Program에서는 약 70-80개소(참여기관의 20-25%)의 기준실험실을 이용하여 평균 및 변이계수 값을 산출한다. 이때 최소 20%를 초과하는 변이계수 값은 20%로 조절하여 적합범위를 제시하고 있다(Schlecht PC and Shulman SA, 1995; AIHA, 2011).

본 연구에서는 숙련된 분석자들을 대상으로 폭 넓게 실험을 실시하지 못한 제한점을 가지고 있다.

#### IV. 결 론

본 연구에서는 갈석면과 백석면 표준시료를 이용하여 아세톤과 트리아세틴을 이용한 전처리 방법과 Crystalclear 방법을 비교 평가한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

가) 갈석면 표준시료 평가결과 아세톤/트리아세틴 방법의 통합변이계수는 저농도 수준에서 8.9%, 중간농도 6.3%, 고농도 6.8%이었으며, Crystalclear 방법은 저농도 5.0%, 중간농도 2.5% 그리고 고농도에서 3.0%이었다.

나) 백석면 표준시료 평가결과 아세톤/트리아세틴 전처리 방법의 통합변이계수는 저농도 수준에서 10.4%, 중간농도 5.4%, 고농도 8.9%이었으며, Crystalclear 방법은

**Table 2.** Analytical results of chrysotile samples

Levels			No. of Samples	Concentration, fibers/mm <sup>2</sup>	
				Acetone/Triacetone	Crystalclear
Low Concentration	Level 1	Mean(Range)	5	96.9(80.9-108.3)	100.3(89.9-105.9)
		CV(%)		10.5	7.2
	Level 2	Mean(Range)	5	125.6(106.4-148.4)	127.0(116.9-130.7)
		CV(%)		11.9	4.5
	Level 3	Mean(Range)	5	203.6(177.4-221.1)	214.2(199.6-229.1)
		CV(%)		8.4	6.0
Pooled CV(%)		15		10.4	6.0
Midium Concentration	Level 4	Mean(Range)	5	235.3(218.4-245.7)	240.0(228.4-256.3)
		CV(%)		5.4	5.2
	Level 5	Mean(Range)	5	290.4(285.4-295.5)	295.2(289.6-298.3)
		CV(%)		1.6	1.2
	Level 6	Mean(Range)	5	321.0(299.4-358.0)	327.8(311.6-349.6)
		CV(%)		7.4	4.6
Pooled CV(%)		15		5.4	4.1
High Concentration	Level 7	Mean(Range)	5	427.5(393.6-461.1)	430.3(412.3-446.9)
		CV(%)		7.1	3.6
	Level 8	Mean(Range)	5	446.6(389.7-513.8)	456.6(423.9-497.2)
		CV(%)		10.0	6.3
	Level 9	Mean(Range)	5	640.0(550.3-701.9)	652.6(607.8-681.4)
		CV(%)		9.4	4.8
Pooled CV(%)		15		8.9	5.0

저농도 6.0%, 중간농도 4.1% 그리고 고농도에서 5.0%이었다.

갈석면과 백석면 모두 Crystalclear 방법이 아세톤/트리 아세틴 방법에 비해 모든 농도수준에서 변이계수 값이 낮게 평가되었으나 두 방법에 따른 석면분석결과의 평균값에 대한 통계적인 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다(amosite p=0.879, chrysotile p=0.858). 이는 석면시료 전처리에 있어서 어느 방법을 사용하더라도 석면분석결과의 차이를 유발하지 않는다는 의미이다. 따라서 Crystalclear 방법의 장점, 즉 현장에서 채취된 시료의 신속한 분석을 위해서는 Crystalclear 방법을 사용하여 분석하는 것도 우수한 석면분석 방법이 될 것으로 판단된다.

**REFERENCES**

고용노동부. 석면조사 및 정도관리규정(노동부고시 제2009-32호). 노동부; 2009. pp 5-6  
 이광용, 이종한, 정지정, 박두용. 석면분석 정도관리용 표준시료 개발연구 I. 한국산업위생학회지 2009a; 19(2): 81-87

이광용, 윤충식, 한진구, 윤문중, 정시정, 이종한, 이인섭, 박두용. 석면분석 정도관리용 표준시료 개발연구 II. 한국산업위생학회지 2009b;19(3):288-296  
 American Industrial Hygiene Association (AIHA). Industrial Hygiene Proficiency Analytical Testing (IHPAT) Program. 2011 Jan-Jun [cited 2011. Jun 23]. Available from: URL:<http://admin.aihat.org/proficiencytestingprograms/iempat/Pages/default.aspx?highlighting=iempat>  
 Le Guen JMM, Galvin S. Clearing and Mounting Techniques for the Evaluation of Asbestos Fibers by the Membrane Filter Method. Ann Occup Hyg 1981; 24(3):273-280  
 National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH). NIOSH method 7400: In manual of Analytical Method. 4th ed. NIOSH;1994  
 Schlecht PC, Shulman SA. Phase Contrast Microscopy Asbestos Fiber Counting Performance in the Proficiency Analytical Testing Program. Am Ind Hyg Assoc J 1995;56:480-489