광학현미경을 이용한 1, 3, 10 μm 폴리스티렌구의 평균지름측정.

Average diameter mesurement of 1, 3, 10 μm polystyrene sphere with optical microscope

정기영, 송원영, 박병천°, 강주식°, 오범환

인하대학교 전자재료공학과, 한국표준과학연구원°

e-mail : g9711137@inhavision.inha.ac.kr

입자의 크기 범위는 인간의 건강과 관련된 부분만으로 제한해도 매우 넓다. 예를 들어 의학용 분말의 경우는 10~300 ㎛이고, 공기중 먼지는 1~100 ㎛, 박테리아는 0.3~30 ㎛, 꽃가루는 0.1~30 ㎛, 적혈구는 7~9 ㎛정도의 크기를 갖는다. 따라서 1 ㎛에서 30 ㎛사이의 입자는 앞에 언급한 부분의 연구에 중요하며 정확한 크기를 측정할 수 있어야 한다[1] 입자의 측정을 위해서는 입자계수기를 사용하는데 정기적으로 표준입자를 측정해 교정한다. 이때 표준입자란 표준기관 또는 표준입자제조회사에서 제조된 정확히 알려진 크기를 가지는 구형입자를 말하고, 계통오차를 최소화하기 위하여 표준입자는 측정기의 본래 측정대상인 입자의 모양, 밀도, 광학적 성질등이 같은 것이 좋다. 폴리스티렌구는 크기 분산이 적고 형태가 일정하여 표준입자로 사용된다. 이번 폴리스티렌구 측정에 사용한 방법은 직경이 1 ㎛ 이상인 표준입자의 크기측정에 가장 적합한 광학현미경 측정법 중에서 미국의 표준기관인 NIST(National Instituet of Standards and Technology)에서 개발한 중심거리측정법[2]을 개선하여 측정시간을 줄이면서 더 낮은 불확도로 측정될 있도록 하였다.

중심거리측정법(Center Distance Finding)은 붙어있는 두 입자 중심점간의 거리를 측정함으로써 입자의 지름을 측정하는 방법이다. 입자간에 형성될 수 있는 air-gap을 배제하기 위해서 입자의 현탁액을 slide glass에 떨어뜨려 건조시키면 표면장력에 의해서 이웃한 입자들이 서로 끌어당겨 배열을 이루게 된다. 투과식 광학현미경에서 평행한 입사광은 입자열 위에 초점열을 형성하며 CCD 카메라로 초점열의 영상을 받아 컴퓨터에 입력한다. Global image라는 영상처리 프로그램으로 초점들의 중심을 찾고 붙어있는 다른 입자의 중심까지 거리를 CCD 카메라의 화소크기(pixel)를 단위로 계산한다. 이와 같은 실험을 많은 입자열에 대하여 계산한 결과를 평균하여 입자의 평균지름을 구한다.

측정시에 현미경을 사용하기 때문에 렌즈에 의한 구면수차로 렌즈중심에서의 입자지름보다 바깥쪽에서의 입자지름이 더 길게 측정된다. 그러므로 상의 왜곡오차를 보정해 주어야 한다. 먼저 가로축과 세로축의 입자열을 측정하고 입자의 지름만큼 이동시켜 측정해서 길이차를 구하여 배율차이비(C)를 찾아내고, 화면의 가로축으로 입자를 한쪽끝에서 다른쪽으로 이송대를 이동시켜 실제거리를 레이져 간섭계로 측정하고 확대된 거리를 화소크기를 측정하여 중심배율을 계산하여 측정식에 이용한다. 그림 2는 렌즈중심으로 부터 거리에 따른 상의 왜곡을 실제거리에 따른 화소의 수자로 표시한 것이다.

$$M_o = \frac{L}{L_o}\left(1 - \frac{CL_o^2}{6\Delta}\right) \qquad \text{-------(1)}$$

식 (1)은 실제 이동거리(L)와 화면상의 이동거리(Lo)를 측정하여 중심배율(Mo)를 계산한 식이다.

$$L = \int_0^{L_o} M(x)dx \approx M_o L_o\left(1 + \frac{CL_o^2}{6\Delta}\right) \qquad \text{-------(2)}$$

식 (2)는 중심배율(Mo)와 중심입자거리(Lo)로 실제 보정된 거리를 계산하는 식이다.

본 실험에는 현미경의 배율을 100배로 고정하여 1, 3, 10 μm 폴리스티렌구를 측정하고 측정결과를 비교하였다.

1 ㎛ (입자 중심거리 132개 측정) 0.9489±0.0156㎛
→ 제조사(Duke)의 측정값 0.993 ±0.021㎛

3 ㎛ (입자 중심거리 132개 측정) 2.9196±0.0314㎛
→ 제조사(Duke)의 측정값 3.004 ±0.029㎛

10 ㎛ (입자 중심거리 99개 측정) 9.8385±0.0585㎛
→ 제조사(Duke)의 측정값 9.975 ±0.061㎛

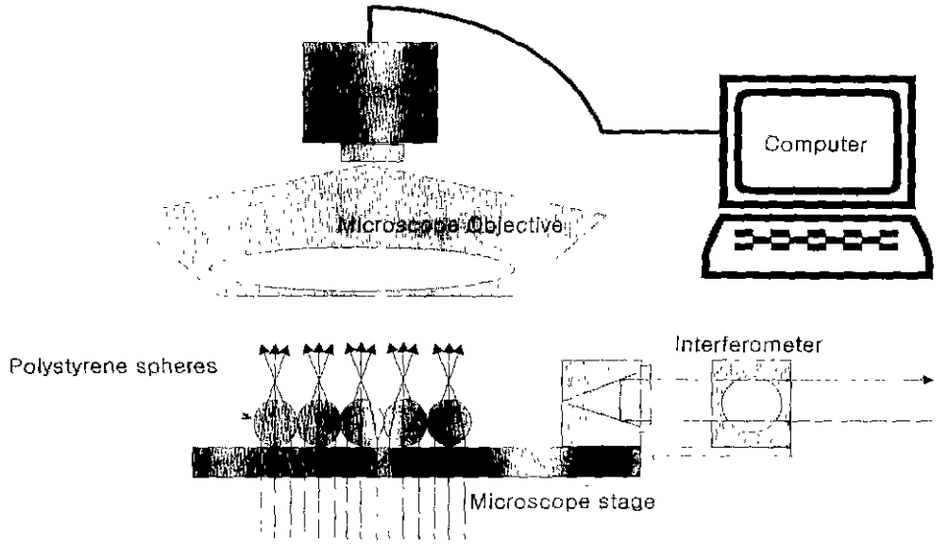
현재 측정결과 제조사의 인증값보다 작게 측정되었다. 이 원인은 중심배율 교정시에 생기는 오차로 간섭계로 입자의 이동거리를 측정할때 온도에 의한 측정값의 분산이 크고, 이송대의 위치 이동시 완전히 고정되지 않고 움직여 측정값이 변하여 정확한 위치측정이 어려워 발생하는 것으로 보인다.

실험에 사용한 현미경은 Leiz사 제품으로 100배의 대물렌즈를 사용하고, 광원은 금성사의 fiber optic illuminator에서 방사된 빛을 렌즈를 통과시켜 평행광에 가깝게 만들어 측정하였다. CCD 카메라는 SONY사의 흑백 510 × 492 pixel 소자를 사용한 것이다. 입자의 상은 glaber board를 통해서 640×480 pixel 크기로 CCD 카메라에서 전송받아 Global lab image software를 사용하여 처리하였다. 상의 거리를 측정하기 위한 교정기기는 Zygo사의 간섭계를 사용하였고 정밀도는 0.00247㎛이다.

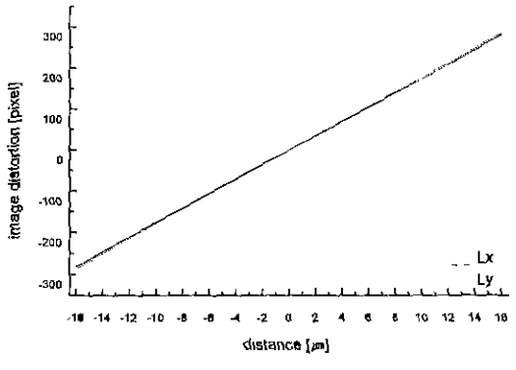
참고문헌

(1) A.W. Hartman, Standards for particle size, National Instituet of Standards and Technology(1987).

(2) A.W. Hartman et al., Certification of NIST SRM 1962: 3 ㎛ Diameter Polystyrene Spheres, Journal od research of the NIST (1992)



↑ figure 1. The Center Distance Finding Techinique.



← figure 2. image distortion curve