

돋보기에서 FE까지 현미경의 변천사 – 생명과학적 관점에서 –

박 창 현*, 염 미 정, 엄 창 섭¹
고려대학교 의과대학 전자현미경실, ¹해부학교실

History of Microscope from the Magnifying Glass to the Field Emission Electron Microscope

Chang-Hyun Park*, Mi-Jung Yeom and Chang-Sub Uhm¹

Electron Microscope Facility, ¹Department of Anatomy, Korea University College of Medicine,
Seoul, 136-705 Korea

(Received May 31, 2003; Accepted June 20, 2003)

ABSTRACT

Since the Ptolemaeos' discovery that glass has magnifying power, human desire to see the unseen with naked eyes has lead to the inventions of a series of microscopes. Since the Janssen's first compound microscope in 1595, through the Abbe's non aberration microscopy, various microscopes using different principles are now being used in various biomedical researches. The discovery of electron by Thompson in 1897 has lead to the first invention of microscope using electron as an illumination source, the electron microscope, in 1931. Now we can see the objects as close as 0.05 nm using 1 MV FE TEM constructed in 2000. In this review, the authors reviewed the predecessors' efforts to develop better microscopes.

Key words : Electron microscope, History, Light microscope, Microscope

서 론

1세기 무렵 그리스의 천문학자인 Ptolemaeos에 의하여 유리가 물건을 확대시킨다는 사실이 발견된 이래 넓은 의미에서 현미경으로 간주할 수 있는 돋보기를 시작으로 물체를 확대하여 보려는 노력은 1590년경 Janssen부자에 의해 처음으로 망원경 모양의 광

학현미경이 발명됨으로써 결실을 보게 되었다. 더 크게 확대하여 관찰하려는 욕망은 Abbe에 의하여 광학현미경의 분해능에 한계가 있음이 알려진 이후 짧은 과정의 광원을 찾는 연구들과 전자현미경 이미지의 개선을 위한 일련의 노력들로 나타났다. 수많은 과학자들의 꿈과 노력의 결과는 현재 전계방사형 전자현미경(FE-EM)의 등장까지 이어져 왔으며 앞으로 더 우수한 양질의 현미경의 개발로 이어질 것으로 기대

* Correspondence should be addressed to Dr. Chang-Hyun Park, Electron Microscope Facility, Korea University College of Medicine, 126-1, Anam-Dong 5-Ga, Seongbuk-Ku, Seoul, 136-705 Korea. Ph.: 02-920-6297, FAX: 02-926-9165, E-mail: kmemnol@empal.com
Copyright © 2003 Korean Society of Electron Microscopy

된다. 이 글에서 저자들은 생명과학적 관점에서 광학현미경으로부터 전자현미경 개발에 이르는 중요한 역사적 사건과 개발에 이용된 이론들을 시대별로 살펴봄으로써 전자현미경을 사용하는 분들에게 역사적 발달 과정을 이해하게 함으로써 현재 사용되고 있는 전자현미경의 개략적인 원리를 파악하게 하고 나아가 전자현미경의 활용에 도움을 주고자 하였다.

1. 광학현미경의 발달

1) 유리에서 돋보기까지

공식적으로 인정되는 유리의 제조기록에 관한 문헌이나 자료는 쉽게 접할 수 없는 실정이나 메소포타미아 유적을 발굴할 때 유리에 관한 내용을 발견하였다고 하여 (URL: <http://www.ppg.com>), BC 2500 경의 이집트 유적 발굴시 투명 유리 또는 유리구슬이 출토되었다고 한다 (URL: <http://www.glassonline.com>). 로마의 해군제독이며, 저술가였던 Plinius는 그의 저서인 박물지 (*Histoire Naturalis*)에 유리는 페니키아 상인이 발명하여 제작한 것이라고 기술하고 있다 (URL: <http://100.empas.com>). 유리의 확대력을 그리스의 천문학자였던 K. Ptolemaeos가 최초로 발견한 것으로 알려져 있다 (URL: <http://100.empas.com>). 유리의 발견과 관련된 내용은 Table 1에 정리하였다.

2) 광학현미경의 발달사

Leeuwenhoek가 광학현미경을 발명하기 이전인 1590년경에 네덜란드의 Z. Janssen이 2개의 렌즈로 구성된 망원경 모양의 복합현미경 (Fig. 1)을 세계 최초로 발명하였다 (URL: <http://micro.magnet.fsu.edu>). 이 최초의 현미경의 경통은 3개의 튜브로 구성되어 있고, 대안렌즈(eyepiece lens)는 양면이 볼록한 렌즈를

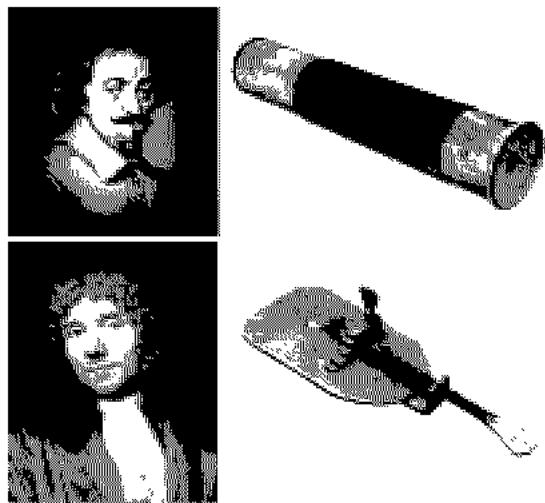


Fig. 1. Z. Janssen and A.V. Leeuwenhoek. The first compound microscope was invented by Z. Janssen in 1595 (upper). Simple microscope developed by A.V. Leeuwenhoek was used to observe various biological specimens (lower).

사용하였으며, 대플렌즈(objective lens)는 한 면만 볼록한 렌즈를 사용하였는데, 색수차로 인하여 고배율 관찰은 어려웠던 것으로 알려져 있다.

현미경 (Microscope)이라는 용어는 이탈리아 사람으로 로마대학에서 의학과 식물학을 강의했던 Johannes Faber (Fig. 2)가 1600년경에 “Microscopium”이라고 명명한데서 기원하였다.

Janssen 이후 물체를 확대하여 관찰하는 데 있어서 이루어진 획기적인 발전은 광학현미경의 아버지라고 알려져 있는 네덜란드의 A.V. Leeuwenhoek에 의해 이루어졌다 (Fig. 1). Leeuwenhoek의 현미경은 구리로 만들어졌고 유리구슬을 이용한 단순현미경 (single lens microscope)으로 염지손가락보다 약간 큰 정도로 작은 크기를 하고 있었는데, 당시에 존재하던 다른 현미경보다 분해능이 뛰어나 그 당시로서는 놀라운 273배 정도의 고배율 관찰이 가능하였다.

1665년에는 Robert Hooke가 처음으로 세포를 관찰하였는데, 이때 사용한 현미경은 일종의 집속렌즈 (condenser lens system)의 개념을 최초로 도입한 것으로 볼 수 있는데, 램프로 불을 켜 후 일차적으로 물을 넣는 둥근 플라스크 (flask)로 빛을 모은 후 다시

Table 1. 유리의 발견

년대	내용
BC	유리의 제조 및 발견 : 정확히 모름
BC4500	유리 기록 발견 : 메소포타미아
BC2500	유리 발견 : 투명 유리 또는 유리 구슬 (이집트)
1C	유리제조기록 : 플리니우스의 박물지 (<i>Plinius Secundus</i> , 로마)에 소개
2C	유리의 확대력 발견 : K. Ptolemaeos (그리스 천문학자)

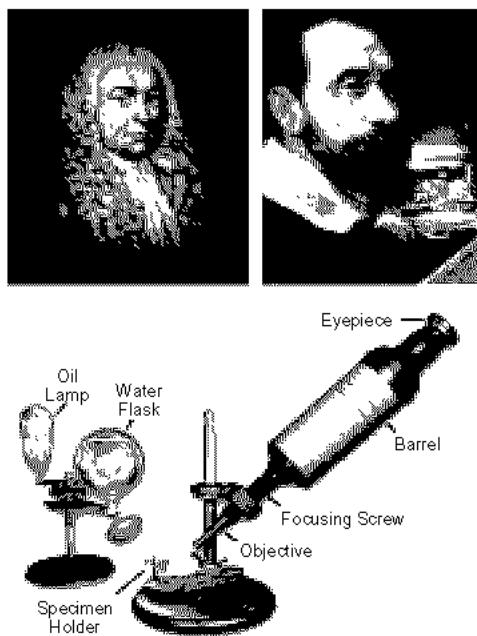


Fig. 2. Robert Hooke and Johannes Faber. Robert Hooke (upper left) first introduced the concept of condenser lens system (lower diagram). Johannes Faber (upper right) first used the term "microscopium".

볼록렌즈로 빛을 모아서 시료대에 비추는 시스템을 사용하였다(Fig. 2).

이후, 현미경은 비약적으로 발전하여 1733년에 영국인인 Chester M. Hall이 색지움렌즈(achromat lens)를 개발하였고, 이를 다시 1758년에 John Dollond가 개선시켰다. 1830년에는 J.J. Lister가 광학현미경의 또 다른 난제였던 구면수차(spherical aberration)를 제거한 비구면렌즈를 개발하였다. Lister는 색수차(chromatic aberration)와 구면수차를 동시에 제거한 렌즈를 조합한 현미경을 제작하여 최초로 적혈구를 관찰하는데 성공하였다. 이러한 공로로 와인 업자이며, 아마추어 현미경학자이었던 Lister는 영국 국립학술원의 종신회원이 되는 영광을 누리게 되었다.

분해능의 개념은 1830년경 Airy 경의 Airy disc의 발견으로부터 시작되었다. 호수 또는 물 표면에 돌을 던질 경우 돌이 떨어진 점을 중심으로 주변에 둥근 물결이 발생하듯이 빛이 작은 구멍을 통과할 때 주위에 원(ring)이 생기는 현상 즉 회절패턴(diffraction

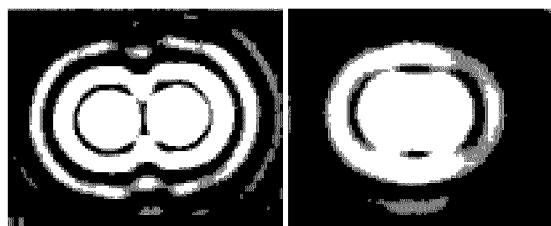
pattern)을 Airy 경의 이름을 따서 Airy disk라 부르게 되었다. Airy disk 현상을 설명하면 두 점이 근접할 때 중심으로부터 첫 번째 어두운 원이 맞닿는 부위까지 두 점이 분해되었다고 말할 수 있으며, 중심이 서로 교차되거나 닿는 순간부터는 두 점을 분해할 수 없게 된다(Figs. 3 & 4). 이러한 현상을 현미경에 적용하면 물체를 관찰할 때 배율을 올릴수록 물체가 흐려져 결국에는 식별이 어렵게 된다는 것을 의미하는 것으로 고배율 관찰이 가능한 현미경을 제작하는 데 한계가 있음을 의미하는 것이다. 이러한 분해능에 관한 이론은 Lord Rayleigh에 의하여 개념(Rayleigh's criterion)이 정립되었고, Abbe에 의하여 수식화 되었다. 1872년에 Abbe Sine Condition이라 불리는 결상조건이 정의되어 개구수(Numerical Aperture) = $NA = ns \sin \alpha$ 라는 공식이 만들어졌고, 최종적으로 현미경의 분해능을 나타내는 공식인 $d = \frac{\lambda}{2n \cdot \sin \alpha}$ 이 완성되었

다(Meek, 1976; Wischnitzer, 1989) (Figs. 3 & 4).

고배율에서 나타나는 분해능의 한계를 극복하려는 노력의 일환으로 1885년 이탈리아의 Giovanni Amici는 시료와 대물렌즈 사이의 유침 오일(immersion oil)을 사용하면 분해능을 증가 시킬 수 있다는 개념을 도입하였다. 흥미롭게도 Amici 자신은 water-immersion objective를 개발하였다. Oil immersion lens는 1886년 Ernst Abbe가 Carl Zeiss, Otto Schott 등과 함께 개발하였고(Fig. 4), 이들은 이와 함께 apochromat lens도 개발하여 무수차 현미경에 도전하였으나 배율을 무한정 올릴 수는 없었다.

광학현미경의 분해능을 저해하는 요인으로 색수차와 구면수차 외에 가시광선의 긴 파장(평균 550 nm)이 새로운 문제점으로 대두 되었다. 가시광선의 긴 파장이 광학현미경의 분해능의 한계 ($d = \lambda/2NA = 0.2 \mu\text{m}$)를 결정짓는다는 사실의 발견은 가시광선보다 짧은 파장의 다른 광원을 이용하여야만 분해능을 상승시킬 수 있다는 것을 깨닫게 하였다. 이에 따라 Abbe에 의한 분해능의 한계 발견 이후의 시대는 짧은 광원을 찾는 노력들이 전개된 시기였다.

광학현미경을 상용화하기 위한 노력은 처음으로 1846년 Carl Zeiss가 Carl Zeiss사를 창립함으로서 구체화되었으며, 1876년 Carl Reichert가 Reichert사를



$$d = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha}$$

Fig. 3. Two important concepts in understanding resolution. Upper left figure shows two Airy disks just contact, leaving pin holes still separated, meaning that they are resolved. The pin holes of two disks on the upper right overlap each other, thus two disks are unresolved. Resolution is often represented by the equation given at lower part; a hand-written equation by Abbe.



Fig. 4. Scientists contributed to the development of light microscopes. Lister (upper left), Airy (upper right), Zeiss (lower left), and Abbe (lower right).

창립하는 등 현미경 제작사들이 많이 만들어지기 시작하였다.

Table 2. 광학현미경 개발 및 개선과 관련된 중요 사건

년 대	내 용
1595	Zacharias Janssen(네덜란드)이 복합현미경 발명
1660	Johannes Faber(이탈리아)가 Microscope(Microscopium)란 용어 명명
1660	Antonie van Leeuwenhoek(네덜란드)가 단순 현미경 발명
1665	Robert Hooke의 현미경제작 및 Cell 발견, 고전적 condensor lens system 도입
1733	Chester M Hall(영국)이 achromat 개발
1830	Joseph Jackson Lister(영국)가 비구면 렌즈 개발
1836	Sir George Biddell Airy(독일), Airy disk 발견
1846	Carl Zeiss 회사 창립
1855	Giovanni Amici(Italia)가 water-immersion objective 발견
1876	Reichert 회사 창립 (Carl Reichert)
1886	Ernst Abbe가 광학현미경의 분해능의 한계 발견과 apochromat, oil-immersion lens 개발

광학현미경의 개발과 관련된 중요한 사건은 Table 2에 정리하였다.

2. 전자현미경의 발달

1) 전자현미경이 발명될 때까지

전자현미경의 발명과 관련된 초기 과학자들은 대부분 노벨상을 수상하는 영광을 차지하였다. 1895년 독일 출신의 Roentgen(Fig. 5)이 최초로 짧은 파장을 갖는 X-ray를 발견하게 되나 X-ray는 직진성이어서 현미경의 발전에는 도움을 주지 못하였다. 1897년 독일 출신의 Thomson 경(Fig. 5)이 음극선(electron)을 발견하였고 (Thomson, 1906), 1926년 Hans Busch는 이 전자의 자계에 의한 렌즈 작용을 이론화하여 현미경의 새로운 광원으로 전자를 사용하게 하는 계기를 마련하였다. 이 때문에 새로운 현미경의 이름이 전자현미경으로 명명되었다. 전자에 대한 렌즈작용은 자계(magnet field)를 사용하여 전자의 이동 경로를 휘게 하여 마치 볼록렌즈가 빛을 모으듯이 전자를 모아주는 현상과 관련이 있다. 즉, coil에 흐르는 전류를 변환시킴으로써 전자렌즈의 focal length를 변화시키는 것이 가능해진 것이다.

Busch가 전자렌즈에 관한 이론을 발표하기 2년 전

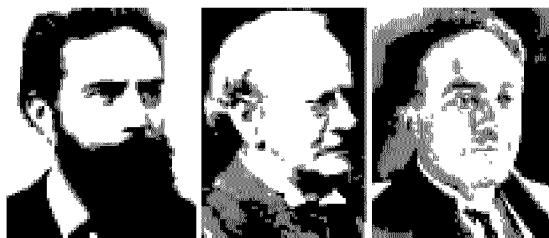


Fig. 5. Scientists discovered major theories used in the electron microscopy. Roentgen (left), Thomson (middle), and de Broglie (right).

Table 3. 전자현미경 개발을 위한 기초 이론의 발달

년 대	내 용
1895	W. Roentgen(독일)이 X-ray 발견
1897	Sir J.J. Thomson(독일)이 Electron 발견
1924	Louis de Broglie(프랑스)가 전자파동설 제안
1926	Hans Busch가 전자에 대한 자계의 렌즈작용 이론화
1931	Max Knoll & Ernst Ruska의 TEM 발명 ($\times 17.4$)

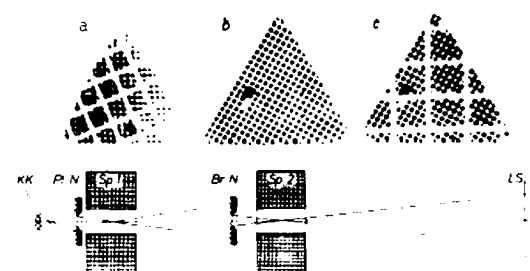
인 1924년 de Broglie(프랑스, Fig. 5)가 전자파동설을 제안하였는데, 전자파의 드브로이파장은 $\lambda = \frac{h}{p}$ (h 는 프랭크상수, $p = mv$ 는 전자의 운동량)이다. 이 공식에서 다시 수식을 유도 정리하여 $\lambda = \frac{1.226}{\sqrt{V}}$ 이라는 공식이 탄생되어 현재 전자현미경에서 사용되는 전자의 파장의 계산이 가능하게 되었다(de Broglie, 1929).

1931년 독일의 Knoll과 그의 제자였던 Ruska가 드디어 전자현미경을 발명하였는데, 공식적으로 발표한 바에 의하면 17.4배까지 관찰이 가능하였다고 한다. 당시 Ruska는 배금 그리드와 황동 그리드 두개를 사용하여 관찰하였는데 전자에 의한 열 때문에 그리드가 불타버려 17.4배 이상에서의 관찰은 불가능하였다고 한다. Knoll과 Ruska는 광학현미경의 배율보다 배율이 낮은 현미경을 전자현미경이라고 부르지 않기로 결정했다고 한다(Ruska, 1986).

전자현미경 개발에 사용된 각종 이론의 발달 과정은 Table 3에 정리하였다.

2) Ruska 등의 연구개발에 의한 magnification의 변화

Ruska와 Knoll은 최초로 전자현미경을 발명한 후 형편없는 배율에 크게 낙담하였다. 처음 발명된 전자현미경의 배율이 낮았던 주요 이유는 2가지였는데, 첫째는 시료에 전자를 흡수시켜 contrast를 얻으려 하였기 때문에 irradiation level을 높게 할 수 밖에 없었는데, 그 결과 흡수된 전자에 의해 열이 발생되어 시료를 연소시킬 수 있다는 사실을 간과한 것이며, 둘째는 전자렌즈의 초점거리의 문제이었다. 이들이 전자현미경을 발명한 1931년보다 7년 전에 de Broglie가 전자의 파장을 계산하는 공식을 이미 발표하였지만 Ruska 등은 그 사실을 모르고 있었던 것으로 알려진다. de Broglie의 공식인 $\lambda = \frac{1.226}{\sqrt{V}}$ 에 의하면 전자의 파장은 가시광선보다 10^5 배 정도 짧다는 계산이



The first experimental proof, total magnification $\times 17.4$ 1931

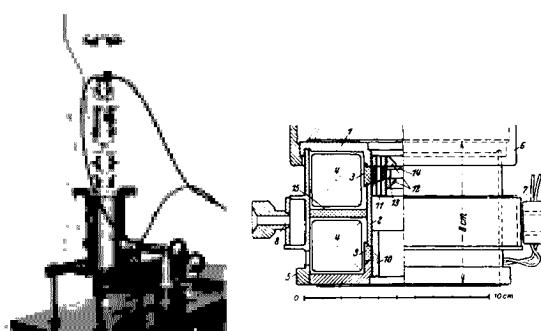


Fig. 6. First electron microscope made by Knoll and Ruska (lower left). The upper figure shows the first experimental proof that electron-irradiated specimens can be imaged using electron lenses. Lower left is the Knoll's first electron microscope. The design of the pole piece is shown (lower right).

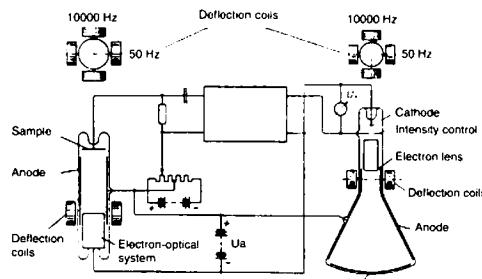


Fig. 7. Drs. Knoll (upper right) and Ruska (upper left), and Knoll's design of scanning electron microscope.

나오므로 렌즈의 초점거리 (focal length)도 그에 비례하여 짧게 설계되었어야만 하는데 Ruska 등은 이러한 사실을 몰라서 실수를 했던 것이다(Figs. 6 & 7).

이들 문제점을 해결하고자 1933년 pole piece를 개발하여 초점거리와 조사면적 (beam spot size)을 줄일 수 있었고 그 결과 12,000배의 배율을 얻을 수 있게 되었다. 이 과정에서 시료의 두께를 얇게 하면 흡수 전자(electron by absorption)가 아니라 산란전자(electron by diffraction)만을 사용해도 충분한 contrast를 가지는 상을 형성시킬 수 있다는 결정적인 사실을 알게 되었다. 따라서 시료의 두께를 얇게 제작하여 시료의 손상을 줄이면서도 고배율의 이미지를 얻을 수 있게 되어 첫 번째 문제도 해결되었다(Ruska, 1986).

1938년에는 투사렌즈(projection lens)를 이용하고, 시료교환실(specimen exchange chamber)에 사전배기장치(공기차단장치, airlock system)를 설치하고, 사진

Table 4. 전자현미경의 배율의 증가시키기 위한 노력

년도	배율	구성요소
1931	17.4 ×	집속렌즈, 대물렌즈
1933	12,000 ×	대물렌즈에 pole piece 적용
1938	30,000 ×	집속렌즈, 대물렌즈에 pole piece, 투사렌즈, 사진판, 시료방의 사전배기장치
1954	100,000 ×	2단 집속렌즈를 도입하여 시료에 대한 열영향 방지

판(photoplate)을 도입하여 30,000배의 배율을 실현하였다. 100,000배 이상의 고배율 관찰은 1954년에 집속렌즈(condenser lens)를 2단으로 설계하여 시료에 조사되는 면적을 대폭 줄임으로써 가능하게 되었는데, 이 때에도 처음 시도했을 때에는 두 번째 집속렌즈를 통과한 시료상이 너무 어두워서 관찰하기 어려웠다고 한다. 이는 경통내부에 남아있는 잔여가스분자(residual gas molecule)에 의한 탄소층의 형성으로서의 관찰이 방해되어 나타나는 현상이었는데, 시료돌레를 액화공기(liquid air)를 이용하여 냉각시켜줌으로써 해결할 수 있었다고 한다(Ruska, 1986). 이것은 현재 전자현미경에 사용되는 액체질소를 이용하는 cold trap과 유사한 것으로 판단된다. Ruska 박사는 전자현미경을 발명한 공로와 끊임없는 성능개선에 기여한 공헌이 인정되어 전자현미경을 발명한지 55년 만인 1986년 80세라는 고령의 나이에 노벨 물리학상을 수상하였다.

전자현미경의 확대력을 개발시키기 위한 노력은 Table 4에 정리하였다.

3) 최초 생물시료의 관찰부터 고압전자현미경의 개발까지

1934년 B.L. Marton(벨기에)이 최초로 생물시료를 관찰하는데 성공하였다(Marton, 1934). Marton이 사용한 시료는 끈끈이 주걱(*Drosera intermedia*)의 잎을 15 μm 두께로 잘라서 450배 정도로 관찰하였는데, 지금에 봐서는 무엇인지 식별조차하기 힘든 사진이나, microtome이 제대로 개발되지 않았던 그 당시로서는 획기적인 사건이라고 할 수 있다(Fig. 8). 생물시료의 미세구조를 실제적으로 관찰할 수 있게 된 것은 전자현미경의 발달과 더불어 1950년대에 이루어진 포매체의 개발과 정밀하게 시료를 절단할 수 있는

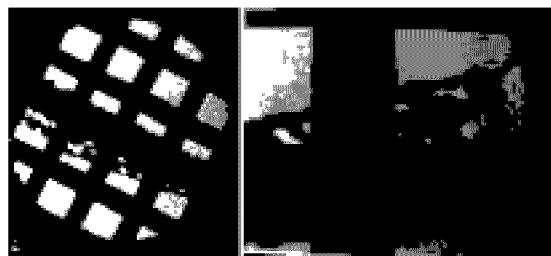


Fig. 8. Electron microscopic images by Marton taken for the first time from the biological samples.

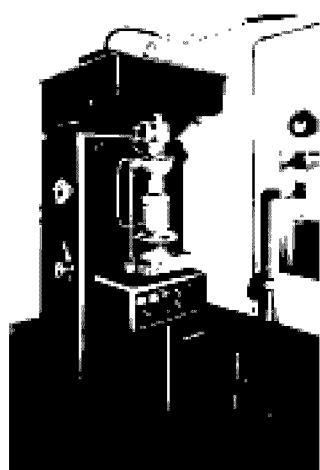


Fig. 9. First commercial TEM made by Siemens (upper left).

ultramicrotome의 개발 때문이다.

이 후 전자현미경의 상용화가 급속도로 진행되어 1939년에 Simens사(독일)에서 세계 최초로 투과전자현미경(TEM)을 시판하게 되었다(Fig. 9). 미국에서는 미국의 RCA사가 1940년 TEM을 개발하였으며, 아시아에서는 Hitachi사(일본)에서 1941년 HU-1이라는 TEM을 개발하기에 이르렀다(Inomata, 1997). Philips사에서는 1949년에 분해능이 5 nm인 EM100이라는 모델을 제작하였다.

주사전자현미경(SEM)은 TEM을 발명한 Knoll이 1935년에 전자선속 스캐너(electron beam scanner)를 제작하였는데(Fig. 7), 이는 집속렌즈를 사용하지 않았을 뿐 현재의 주사전자현미경과 유사한 것이었다. 이와 함께 Knoll은 이미지의 콘트라스트 기전 즉, 2

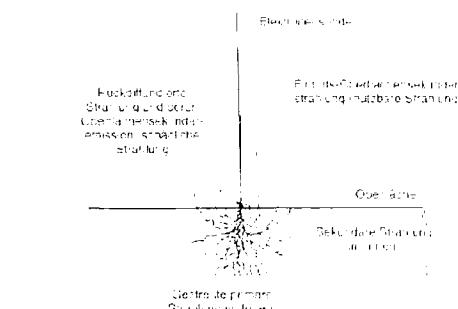
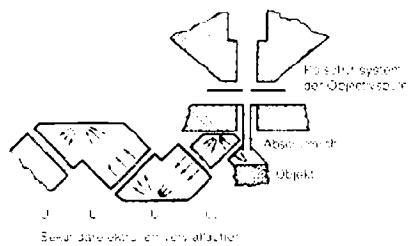


Fig. 10. Diagrams of Ardenne's secondary electron detector and secondary electron generation from specimen surface.

차전자 계수와 분포 양상을 밝혔다. 1938년 M. von Ardenne(독일)가 TEM에서 두꺼운 시료를 관찰할 때 대물렌즈에서 색수차의 영향을 줄이기 위한 시도로 주사 방법을 채택한 전자현미경을 제작하였다. Ardenne는 이와 함께 SEM에 이중편향주사방법(double deflection scanning)과 전자증폭기(electron multiplier)를 적용할 것을 제안하였다. Ardenne는 실험을 통하여 1 keV 혹은 50 keV의 가속전압을 사용하여 좋은 해상도(resolution)를 얻을 수 있었다. 1 keV인 경우 주로 반사전자(back scattered electron)가 조사 지역보다 조금 넓은 지역에서 발생되기 때문에 해상도에 영향을 주지 않았고, 50 keV인 경우 이차전자(secondary electron)가 조사 지역보다 훨씬 더 넓은 지역에서 발생되기 때문에 해상도에는 영향을 주지 않으나 background가 늘어나기 때문에 contrast가 감소하는 단점이 있다는 사실을 밝혔다(Figs. 10 & 11). 한 가지 안타까운 일은 Ardenne가 제작한 SEM은 1944년 베를린 공습 때 파괴되었고, 전후에 von Ardenne는 전공 분야를 바꾸어 더 이상 전자현미경 개발에 관여하지

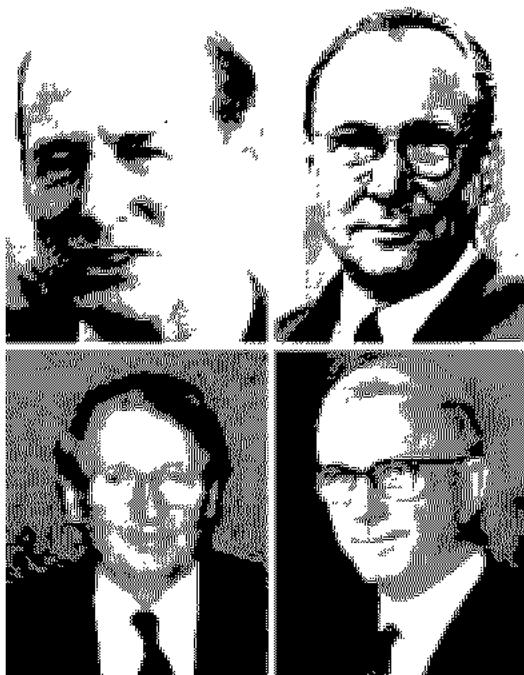


Fig. 11. Contributors to the invention of SEM. Ardenne (upper left), Zworykin (upper right), McMullan (lower left), and Oatley (lower right).

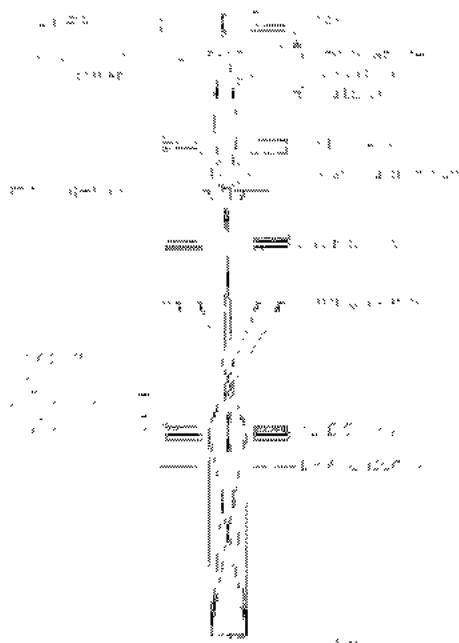


Fig. 12. Diagram of the SEM by Zworykin. The four electrostatic lenses were used to obtain 8,000 magnification.

않았다는 것이다(McMullan, 1995).

한편 미국대학에서는 러시아에서 미국으로 이민간 Vladimir Kosma Zworykin이 1938년부터 RCA에서 SEM의 개발연구를 하였는데 초기에는 미국 TV 표준 규격인 441 line과 30 frames/sec를 기준으로 영상을 얻고 열이온관영상증폭기(thermionic tube video amplifier)로 증폭하였으나, 신호대잡음비가 10 정도 되도록 하려면 신호전류가 3×10^{-8} A이어야 하는데, 이러한 전류는 탐침의 크기가 1 μm 가 되어야만 하기 때문에 실제적인 제작은 어려웠다. 따라서, 이러한 잡음의 문제를 해결하기 위하여 Zworykin은 우선 고진공 상태에서 전계방사형 전자총(field emission gun)을 사용하고(Zworykin et al., 1942) 8,000배까지 확대된 이미지를 얻을 수 있었으나 잡음의 문제가 완전히 해결된 것은 아니었다. 이에 Zworykin은 높을 적인 전자검출기(electron detector)와 저속주사(slow scan)를 적용하기로 하여 집속렌즈에 3개의 정전렌즈(three

electrostatic lens)와 음극선관(CRT)을 사용하고, 광전증배관(photo multiplier)과 인광물질(phosphor)을 결합한 검출기(detector)와 구경조리개(aperture)를 적용하는 등 획기적인 개선을 이루었다(Zworykin et al., 1942). 이때 Zworykin은 전자총을 10 kV로 가속하였는데 그 이유는 시료의 표면에서 방출되는 이차전자를 사용하여 충분한 콘트라스트를 얻기 위한 입사전자에너지로 800 eV를 정해놓고 현미경을 제작하였기 때문이다. 즉, 10 kV로 전자총에서 주사된 전자는 전자렌즈를 통과하면서 분산되어 최종적으로 인광판(phosphor screen)에는 9.2 keV가 도달하기 때문에 시료에는 800 eV만이 도달할 것으로 생각하였기 때문이다. 그러나, 시료표면의 오염과 원하는 만큼의 진공 상태를 만들지 못하여 얻어진 상의 콘트라스트는 기대에 미치지 못하였다(Figs. 11 & 12). 이외에 Zworykin은 주사진폭을 변화시키면 배율을 변화시킬 수 있다는 사실을 발견하였다(Zworykin et al., 1942).

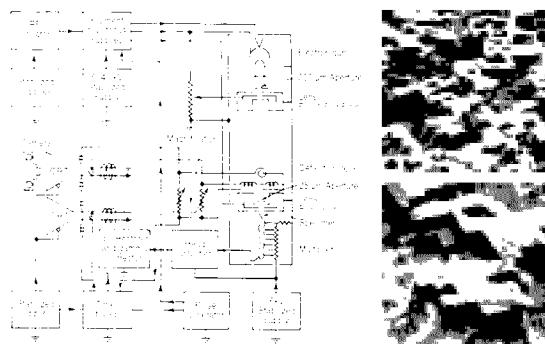


Fig. 13. McMullan's diagram of SEM and first 3-dimensional image obtained from SEM.

콘트라스트의 문제점은 영국 Cambridge의 Charles Oatley의 학생으로 박사학위 프로젝트로 SEM을 개발하던 McMullan에 의해 해결되었다. McMullan은 입사선속 에너지를 높임으로써 콘트라스트를 높일 수 있다고 생각하였는데, 입사선속에너지를 높이는 것은 진공도에 의하여 크게 좌우되는 것이었다. 당시의 기술로는 McMullan이 원하던 만큼의 고진공 상태를 만들 수 없어서 시료의 관찰각을 30° 로 크게 하여 반사전자를 제거함으로써 시료 표면에서의 이차전자 방출을 증가시키려는 시도를 하게 된다. 그 결과 초점심도를 크게 하는데 성공하여 현대 SEM 이미지의 표준인 입체상을 만들어내는데 성공하였다. 이러한 방법으로 얻어진 분해능은 50 nm의 획기적인 것이었다. 후에 McMullan은 편향코일(deflection coil)을 경통 속에 설치하였다. Zworykin의 SEM과의 가장 두드러진 차이는 높은 입사선속에너지(15~20 kV)와

상의 형성에 주로 산란전자를 이용하는 점이다 (McMullan, 1995) (Figs. 11 & 13).

콘트라스트를 증가시키려는 노력은 Oatley의 동료였던 K.C.A. Smith에 의해서도 진행되었는데, 이들은 비점교정장치(stigmator)와 경사시료대(tilting sample stage)를 개선하고 전자증폭기(electron multiplier)를 시료 가까이에 위치시킴으로써 저에너지의 이차전자를 수집하는 효율을 올리고, 시료에 금속 코팅을 함으로써 (metalized insulating sample) 수증기 속에 포함된 곰팡이 포자 등 비전도성 물질의 상을 얻는데 성공하였다. 이를 계기로 비로소 현대적인 SEM에서 얻을 수 있는 상을 얻을 수 있게 된다(Smith & Oatley, 1955). 주사전자현미경의 이미지 획득을 위한 발전과정을 Table 5에 정리하였다.

SEM의 상용화는 Oatley의 노력에 의해 처음으로 결실을 보게된다. 1962년 영국의 Cambridge Instrument Company에서 “Stereoscan”이라는 상용 SEM이 처음으로 제작되어 1964년에 미국의 Dupont Chemical Corporation에 설치 운용되게 된다(Oatley, 1982; McMullan, 1995). 1966년에는 일본의 JEOL사에서 SEM (JSM-1, 분해능 50 nm)을 시판하게 되었다. 1969년에는 SEM의 분해능도 15 nm(모델명 HSM-2, Hitachi)까지 발전하였다(Figs. 11 & 14).

고압전자현미경(HVEM)은 1965년에 가속전압이 500 kV인 고압전자현미경(모델 HU-500)이 Hitachi 사에서 처음으로 개발되었다(Fig. 15). 이를 계기로 두꺼운 시료를 관찰할 수 있게 되어 분해능이 높으면서도 좀 더 많은 정보를 얻는 것이 가능하여졌다. 1966년에는 JEOL(모델명 JEM-1000)사와 Hitachi 사

Table 5. 주사전자현미경의 이미지를 개선시키기 위한 노력

년도	연구자	주사속도	주사선속 적정	특기사항
1935	Knoll	200 lines, 50 frames/sec	100 μm	전자주사선속 스캐너 방식, 렌즈를 사용하지 않음
1938	Ardenne	20 min	10 nm	TEM과 같이 필름을 투과된 전자에 직접 노출시킴
1942	Zworykin	10 min	50 nm	가속전압 10 kV, 4단 정전렌즈 사용, CRT 사용
1952	McMullan	5 min	50 nm	가속전압 15~20 kV, 시료의 관찰각을 증가시켜 실제적인 3차원 이미지 획득
1955	Smith		25 nm	McMullan 현미경 개선, 금속 코팅 방법 도입으로 생물시료 관찰
1965	Pease & Nixon*		5 nm	high resolution의 개념 도입

* Pease & Nixon (1965). 다른 연구자는 본문의 설명 참조.

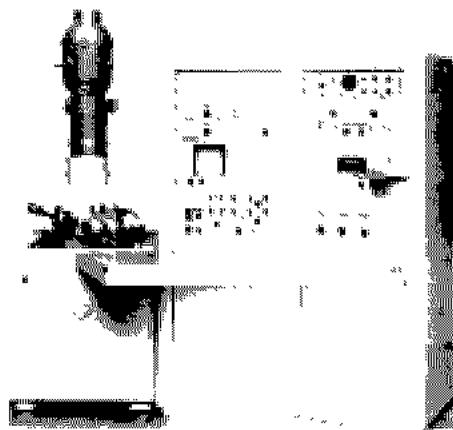


Fig. 14. "Stereoscan", the first commercial SEM made by Cambridge Instrument Company based on the Oatley SEM model.

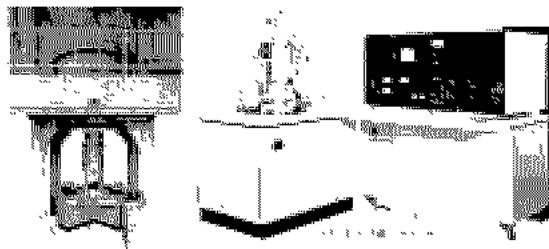


Fig. 15. First commercial High voltage electron microscope (HU 650) made by Hitachi (left) and Hitachi's first commercial FE-SEM (HFS-2) (right).

에서 1 MV 고압전자현미경을 개발 제작하였다. 생명과학분야에 이용되는 전자현미경의 발달과정의 중요 사건은 Table 6에 정리하였다.

4) 초고압전자현미경에서 1 M FE-TEM까지

1970년에는 3.0 MV (Hitachi사의 HU-1000) 초고압 전자현미경이 개발되어 15 μm 정도의 두꺼운 생물시료의 관찰이 가능하게 되었으며, 1972년에는 고분해 능 주사전자현미경이라고 할 수 있는 FE-SEM이 개발 (Hitachi사의 HFS-2)되어 주사전자현미경으로 세포의 내부구조 및 세포소기관 (organelles)의 관찰이 가능하게 되었다 (Fig. 15). 1984년에 꿈의 분해능이라고 여겨졌던 0.1 nm를 돌파하여 0.072 nm의 분해능을

Table 6. 생명과학 분야에 이용되는 전자현미경의 발달 과정

년 대	내 용
1934	B.L. Marton의 생물시료관찰: 최초로 성공
1935	Max Knoll의 SEM 원리제안
1938	M. von Ardenne (독일)의 SEM 발명
1940	일본의 EM 개발-Hitachi에서 HU-1 제작
1942	Vladimir Kosma Zworykin (러시아)의 SEM 개선
1949	네덜란드의 EM 개발-Philips에서 EM100 (5 nm) 제작
1962	영국 Cambridge사의 SEM 상용화
1965	500kV 고압전자현미경 (HVEM) 개발-Hitachi, HU-500
1966	SEM 시판
1966	1MV 고압전자현미경 개발-JEOL과 Hitachi
1969	SEM 발전-15 nm (Hitachi, HSM-2)

갖는 모델 (H-800/200 kV, Hitachi)도 출현하였다. 1986년에는 대풀렌즈의 자속이 가장 강한 곳에 시료를 위치시키고 집속렌즈도 일반 FE-SEM보다 1단 추가한 2단의 집속렌즈를 사용하여 주사전자현미경의 분해능이 0.7 nm 이하의 고분해능을 실현한 In-lens SEM이 개발되어서 coated vesicle 같은 아주 작은 구조도 입체적인 관찰이 가능한 길이 열렸다. 1989년에는 SEM 뿐만이 아니라 TEM도 FE-TEM이 개발되었다. 이후 근대에는 1990년에 specimen chamber의 진공도를 저진공으로 하여, 시료의 charge-up 현상을 방지함으로서 시료에 coating을 하지 않고도 관찰이 가능한 low vacuum 또는 natural SEM이라고 불리는 저 진공 주사전자현미경이 개발되었다 (JEOL 사의 JSM-5400 LV). 1995년 일본 오사카 대학에 높이 14 m, 무게 140 ton, 가속전압이 3.5 MV인 세계 최고의 초고압전자현미경이 설치되었고, 1997년에는 단단한 외피를 갖고 있는 콘총 등이 살아있는 채로 관찰이 가능한 ESEM이 Philips (XL-30)사에 의하여 개발되었다. 2000년에는 역사적인 1 MV FE-TEM의 개발로 분해능이 0.0498 nm까지 실현되었다. 앞으로 미래에는 더욱 우수한 전자현미경이 개발되어 사람의 눈으로 직접 원자 단위의 구조도 관찰이 가능하리라 여겨진다.

최근에 이루어진 전자현미경의 개발 현황은 Table 7에 정리하였다.

Table 7. 최근의 전자현미경 개발 현황

년 대	내 용
1970	3.0 MV 초고압전자현미경 (UHVEM) 개발-Hitachi (H-1000)
1972	FE-SEM 개발-Hitachi (HFS-2), 분해능 5 nm/현재 1 nm
1986	In-lens SEM 개발-Hitachi (S-900), 분해능 0.7 nm/현재 0.5nm
1989	FE-TEM 개발-Hitachi (HF-2000)
1990	LVSEM 또는 NSEM, VPSEM 개발-JEOL (JSM - 5400 LV)
1995	3.5 MV 초고압전자현미경-Hitachi (H-3000)
1997	ESEM 개발-Philips (XL-30)
2000	1 M FE-TEM 개발-Hitachi (H-1000FT)
2003	더 좋은 현미경 개발을 위한 부단한 노력

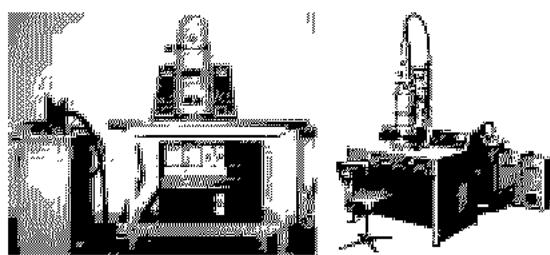


Fig. 16. The first TEM (HM-3) introduced into Korea (left), which was donated to Kyungpook National University. The first purchased TEM (HS-6) in Korea, which was installed at Seongkyunkwan University.

5) 국내 전자현미경 도입 역사 및 현황

국내에서는 과거 Akashi 전자현미경이 마산 수출자 유공단에서 OEM방식으로 제작 수출한 바 있고, 현재는 전자현미경을 개발하는 업체가 있기는 하지만 국내에서 사용되는 대부분의 전자현미경은 외국으로부터 도입된 것이다.

여기에서는 전자현미경이 우리나라에 도입된 현황을 간단히 알아보고자 한다. 우리나라에 도입된 최초의 전자현미경은 1956년에 도입된 Hitachi사의 HM-3로 알려져 왔다(So & Uhm, 1997; Kim, 2002). 이 기 좋은 과거 경북대학교 안영필 교수가 일본에서 유학을 마치고 귀국하면서 일본으로부터 기증받아 설치한 것으로, 경북대학교에 설치 운용되다가 현재는 경

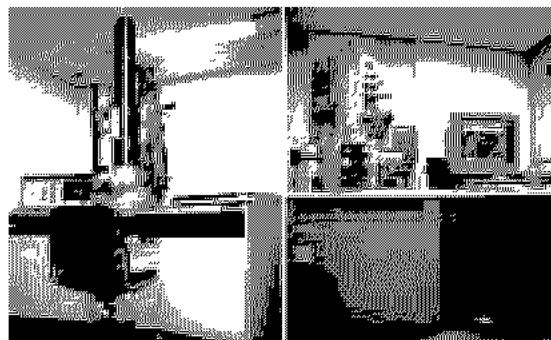


Fig. 17. H-600, the most widely distributed TEM in Korea (left), and the recently introduced SEM (S-4700) into Korea(right).

Table 8. 국내 전자현미경 도입 역사

년 대	내 용
1958	최초 기증도입(경북대학교 안영필 교수) : HM-3, Hitachi
1958	기증도입(육군기술연구소) : SM-C2, Shimazu
1961	국내 최초 도입(성균관대학교 \$18,000) : HS-6, Hitachi
1966	건국대학교에 도입 : TRS-50, Akashi
1968	연세대학교 의과대학 : HU-11-E, Hitachi
2003 현재	1520대 도입

복대학교가 기초과학지원연구원(대전)에 기증하여 보관되고 있다. 연구자 등은 “Hitachi 전자현미경의 반세기”(Inomata, 1997)에 HM-3 모델은 1957년에 개발된 것으로 기록되어 있어서 도입 년도에 대한 의구심을 가지고 있던 차에 최근 기초과학지원연구소에 보관중인 HM-3를 직접 확인한 결과 1958년도에 제작된 제품임을 알게 되었다. 따라서 우리나라 최초 도입년도는 1956년이 아니라 1958년으로 추정된다(Fig. 16).

비슷한 시기에 국방과학연구소의 전신인 육군기술 연구소에 Shimazu사의 SM-C2가 두 번째로 도입되었다. 최초로 구매하여 도입한 모델은 1961년 성균관대학교에서 18,000 달러를 주고 구입한 Hitachi사의 HS-6기종이다(Fig. 16). 이 후 건국대학교 및 연세대학교 의과대학에 도입되었고, 1970년대에 이르러서는 급속히 도입 속도가 증가되어 2003년 현재까지 대략

1,520대 정도가 도입된 것으로 추산되는데, 산업체에 863대, 대학에 397대, 연구소에 140대, 병원에 80대, 기타기관에 40대 정도가 설치 운영 중이다. 국내에 도입된 TEM 기종 중에 가장 많이 설치된 모델은 Hitachi사의 H-600이다(Fig. 17). SEM에 대하여는 자료가 부족하여 그 실태를 정확히 파악하기 힘들다.

국내의 전자현미경 도입사의 중요 사건은 Table 8에 정리하였다.

감사의 글

귀중한 자료를 제공하여 주신 이공교역 관계자들, 비롯한 특별회원 여러분과 주원테크 윤평로 사장님께 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

- de Broglie L: The wave nature of the electron. Nobel lecture, 1929.
- Inomata H: The 50 years of Hitachi Electron Microscope. Hitachi Co., Naka City, Japan, pp. 8~175, 1997.
- Kim WK: Korean Society of Electron Microscopy. In: Science Researches in Korea. Korean Academy of Sciences, Seoul, Korea, pp. 103~112, 2002. (Korean)
- Marton L: Electron Microscopy of Biological Objects. Nature 133 : 911, 1934.
- Meek GA: Practical Electron Microscopy for Biologists. A Wiley Interscience Publication, London, pp. 36~42, 1976.
- McMullan D: Scanning Electron Microscopy 1928~1965. Scanning 17 : 175~185, 1995.
- Oatley CW: The early history of the scanning electron micro-
- scope. J Appl Phys 53 : R1~R13, 1982.
- Pease RFW, Nixon WC: High resolution scanning electron microscopy. J Sci Instrum 42 : 31~35, 1965.
- Publication Committee: Half Century of Hitachi Electron Microscopes. Hitachi, Naka City, Japan, 1997. (Japanese)
- Ruska E: The development of the electron microscope and of electron microscopy. Nobel lecture, 1986.
- Smith KCA, Oatley CW: The scanning electron microscope and its fields of application. Br J Appl Phys 6 : 391~399, 1955.
- So IY, Uhm CS: Celebration Committee for 30th Anniversary of Korean Society of Electron Microscopy: Brief History of 30 Years of the Korean Society of Electron Microscopy. Korean J Electron Microscopy 27(4) : 519~526, 1997. (Korean)
- Thomson JJ: Carriers of negative electricity. Nobel lecture, 1906.
- Wischnitzer S: Introduction to Electron Microscopy. Pergamon Press, New York, pp. 6~14, 1989.
- Zworykin VK, Hillier J, Snyder RL: A scanning electron microscope. ASTM Bull 117 : 15~23, 1942.

<국문초록>

본고에서는 유리의 확대력 발전으로부터 현재까지 이르는 전자현미경과 관련된 중요한 이론 및 개발 과정들을 시대별로 검토하였다. Jansen에 의한 최초의 광학현미경 제작으로부터, 분해능의 한계를 해결하려는 노력들, 짧은 광원을 찾는 노력, 그리고 보다 양질의 해상력과 확대력을 얻으려는 여러 과학자들의 부단한 노력들을 특히 전자현미경 원리 및 TEM과 SEM의 초기 개발 과정에 초점을 맞추어 생명과학적 측면에서 고찰하고, 아울러 우리나라의 전자현미경 도입 과정을 살펴보았다.