

アスベストモニタリング マニュアル（第4.0版）

平成 22 年 6 月

環境省 水・大気環境局 大気環境課

はじめに

本マニュアルは、環境大気中のアスベスト濃度を測定する上の技術的指針として、昭和60年3月に作成し、平成5年12月及び平成19年5月に改訂を行ったが、従来のアスベストのモニタリング方法は、我が国において使用されていた石綿の大部分がクリソタイルであったことから、位相差顕微鏡法で総繊維数を計数した後、生物顕微鏡法でクリソタイルを除いた繊維数を計数し、両者の差を求めることによって石綿繊維数を測定していた。

そして、平成19年5月の改訂時においては、参考法として「分散染色法」、「分析走査電子顕微鏡法（A-SEM法）」及び「分析透過電子顕微鏡法（A-TEM法）」を追加し、総繊維数が多い場合、石膏等、クリソタイルに近い屈折率を持つアスベスト以外の繊維の影響を受ける可能性がある場合、又はあらかじめクリソタイル以外のアスベスト繊維が使用されている事が確認されている場合には、参考法により確認を行っていた。

しかし近年、アスベストによる健康影響が社会問題化したことや、石綿製品の製造が原則として禁止される等の社会的情勢の変化を受け、石綿製品製造工場が全て廃止されたため、アスベストの発生源としての石綿製品製造工場は存在しなくなった。

今後は、クリソタイル以外のアスベスト繊維が使用されている可能性もある解体現場等が主な発生源となる。そのため、クリソタイルを中心とする従来の測定方法を見直し、位相差顕微鏡法により総繊維の計数を行ったあと、比較的濃度が高い場合には電子顕微鏡法で確認を行うこととし、場合によっては最初から電子顕微鏡で位相差顕微鏡法と同等のサイズのアスベストを計数することもできるように策定した。また、分散染色法については、微細なアスベストを精度良く計測しにくいということが判明したため、本マニュアルから除外した。一方、解体現場等は早いものではその工期が数時間で終わってしまうものもあり、飛散防止のための迅速な測定が必要とされていることから、解体現場において迅速に測定ができる方法の検討を行った。

今回の改正における迅速な測定方法の部分は、現時点で従来の方法と比較して、必ずしも十分な知見が確立されていない部分もあり、また、同一のフィルターを各測定方法で測定しクロスチェックを行ったところ、定量的な観点からは十分な一致は見られなかった。しかし、解体現場等からアスベストが漏洩しているかどうかを確認する方法としては有効であると考えられるため、地方公共団体等からの要望も強いという事情を考慮して紹介という形で取り上げることとした。

今後、さらなる知見の充実や技術の進歩に向け、光学顕微鏡法、電子顕微鏡法等によって得られた測定結果の評価等も含め、引き続き検討することとしている。

平成21年度 環境省アスベスト大気濃度調査検討会 委員名簿
(五十音順、敬称略)

神山 宣彦 (座長)	東洋大学経済学部経済学科 教授
小坂 浩	元 兵庫県立健康環境科学研究所 センター 大気環境部 主任研究員
小西 淑人	元 (社)日本作業環境測定協会 調査研究部 部長 北里大学医療衛生学部 非常勤講師
平野 耕一郎	横浜市環境科学研究所 嘱託 (元主任研究員)

事務局 (株) 日新環境調査センター

— 目 次 —

はじめに

第 1 部 総論	1
1. 1 アスベストの測定	1
1. 1. 1 一般環境	1
1. 1. 2 解体現場等	1
1. 2 測定計画	1
1. 2. 1 測定の流れ	1
1. 2. 2 事前調査	2
1. 2. 3 測定計画の策定	3
第 2 部 一般環境におけるアスベストの測定方法	4
2. 1 試料の捕集方法	4
2. 1. 1 測定地点及び測定箇所の設定	4
2. 1. 2 捕集用装置及び器具	5
2. 1. 3 捕集条件	7
2. 1. 4 捕集にあたっての注意事項	8
2. 2 繊維数濃度の算出	8
2. 3 測定方法各論	9
2. 3. 1 測定手順	9
2. 3. 2 位相差顕微鏡法（PCM法）	11
2. 3. 3 分析走査電子顕微鏡法（A-SEM法）	22
参考資料 アスベスト繊維及び類似繊維のSEM画像及びEDXスペクトル	31
2. 3. 4 分析透過電子顕微鏡法（A-TEM法）	38
第 3 部 解体現場等におけるアスベストの測定方法	50
3. 1 試料の捕集方法	50
3. 1. 1 測定地点及び測定箇所の設定	50
3. 1. 2 捕集用装置及び器具	50
3. 1. 3 捕集条件	50
3. 1. 4 捕集にあたっての注意事項	51
3. 2 繊維数濃度の算出	51
3. 3 解体現場における測定方法各論	52
3. 3. 1 測定手順	52
3. 3. 2 位相差顕微鏡法（PCM法）	52
3. 3. 3 分析走査電子顕微鏡法（A-SEM法）	52

3. 3. 4	分析透過電子顕微鏡法（A-T E M法）	5 2
	参考資料 解現場における迅速な測定方法の紹介	5 4
	1 試料の捕集方法	5 4
	2 測定法の概要	5 4
	例 1 位相差/偏光顕微鏡法	5 6
	例 2 蛍光顕微鏡法	6 4
	例 3 可搬型等の分析走査電子顕微鏡法	7 3
	例 4 繊維状粒子自動測定器による測定	7 4

第1部 総論

1. 1 アスベストの測定

本マニュアルは、環境大気中のアスベスト繊維数の濃度を測定する上での技術的指針として作成されたものである。「アスベスト繊維」とは、蛇紋石系アスベストのクリソタイル（白石綿）や角閃石系アスベストのアモサイト（茶石綿）、クロシドライト（青石綿等）、トレモライト、アクチノライト及びアンソフィライトの6種類の繊維状鉱物で、繊維形状や屈折率等の物理的特性や化学組成や結晶構造などから識別することができる。

本マニュアルにおける基本的なアスベスト繊維数濃度の測定には、解体現場等が我が国におけるアスベスト繊維の主要な発生源であることに鑑み、解体現場等以外の測定地域（以下「一般環境」という。）と解体現場等でそれぞれ異なる方法を策定した。

1. 1. 1 一般環境

一般環境のアスベスト濃度は、近年、濃度レベルが低下してきており、総繊維でも概ね0.5 f/L以下のレベルで推移している。しかし、今後はクリソタイルのみならずアモサイトやクロシドライトなどのアスベストが使用されている可能性のある解体現場等が主な発生源となることから、一般環境でもクリソタイルを含めた全てのアスベストを測定対象とするために、従来の生物顕微鏡法で計数し、位相差顕微鏡法による計数値との差を求める方法に替えて、まず、位相差顕微鏡法で総繊維を計測し、やや高い値（目安としては1 f/L超とする）が計測されたサンプルについては、分析走査電子顕微鏡等によりアスベストを同定して計数することとし、場合によっては最初から電子顕微鏡で位相差顕微鏡法と同等のサイズのアスベストを計数することも推奨することとした。

1. 1. 2 解体現場等

一般環境における測定方法に加え、解体現場等においては、迅速な測定が求められることから、アスベストの同定と計数が現場で出来る方法として「位相差／偏光顕微鏡法」、「可搬型等の分析走査電子顕微鏡法」、「蛍光顕微鏡法」を紹介した。また、アスベストの同定ができる測定方法ではないが、大略の総繊維数が把握できる方法として「繊維状粒子自動測定器による測定」も紹介した。

1. 2 測定計画

1. 2. 1 測定の流れ

一般環境及び解体現場等における測定方法の概略を次ページに示した。なお、解体現場のアスベスト除去作業が数時間で終わってしまうため、今回紹介する解体現場における迅速な測定方法はアスベストの大気への汚染状況を直ちに把握したい場合に行うものとする。

なお、一般環境の測定方法は第2部で、解体現場等の測定方法は第3部において記載する。

<p>【一般環境】</p> <p>1) 従来の方法を踏まえたもの</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 位相差顕微鏡で計測 ※総繊維数 </div> <p style="text-align: center;">↓ 総繊維数が「1 f/L」を超えた場合</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 電子顕微鏡で計測 ※アスベストを同定 </div> <p>※ 「位相差顕微鏡→電子顕微鏡」の他に、<u>直接、電子顕微鏡で分析しても良い。</u></p>	<p>【解体現場等】</p> <p>1) 従来の方法を踏まえたもの</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 位相差顕微鏡で計測 ※総繊維数 </div> <p style="text-align: center;">↓ 総繊維数が「1 f/L」を超えた場合</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 電子顕微鏡で計測 ※アスベストを同定 </div> <p>※ 「位相差顕微鏡→電子顕微鏡」の他に、<u>直接、電子顕微鏡で分析しても良い。</u></p> <hr style="border-top: 1px dashed black;"/> <p>2) 迅速な測定が可能な方法の紹介</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 位相差／偏光顕微鏡法 ・ 蛍光顕微鏡法 ・ 可搬型等の分析走査電子顕微鏡法 ・ 繊維状粒子自動測定器による測定
--	---

1. 2. 2 事前調査

環境大気中のアスベスト繊維数濃度を測定するにあたっては、事前に次に掲げる測定地域の周辺環境に関する情報を可能な範囲で収集し、測定計画の策定に利用する。

(1) 試料の測定に関わる情報

- ① 測定地点周辺の利用状況及び周辺のアスベスト発生源等の概況
- ② 建築物・工作物を解体・改造・補修する作業現場（以下「建築物等の解体現場等」という。）については、建築物の築年数及び建材に含有するアスベスト繊維の種類や石膏ボードの使用の有無等
- ③ 廃棄物処分場等周辺地域については、廃棄されたアスベストの種類
- ④ 住宅地域については、測定地点周辺での建築物（住宅を含む）の解体、改修等の施工状況
- ⑤ 測定地点における、過去のアスベスト測定結果

(2) 測定箇所及び捕集時間帯の設定に関わる情報

- ① 測定地点の主風向：測定地点の最寄りの気象官署（測候所等）やアメダス局のデータから、年間の風向頻度、風向別平均風速、及び捕集時期の1ヶ月程度の主風向を確認
- ② 道路周辺の測定を行う場合は、時間あたりの交通量：資料または実測等で確認
- ③ 建築物等の解体現場等など、1日あたりの作業時間が限定される地点で測定を行

う場合は、測定対象となる施設の作業時間：当該施設の管理者等に確認

(3) その他、測定に必要な情報

1. 2. 3 測定計画の策定

1. 2. 2で確認した情報に基づき、測定箇所、捕集時間帯及び捕集方法を設定する。測定箇所は、測定地点の区分ごとの定めと主風向のデータから、大まかな位置を設定する。また、捕集時間は、交通量のように時間帯で変動が大きい場合や、作業時間が限定される施設周辺での測定の場合は、最もアスベスト繊維が確認される可能性のある時間帯が含まれるように設定する。

第2部 一般環境におけるアスベストの測定方法

2. 1 試料の捕集方法

2. 1. 1 測定地点及び測定箇所の設定

(1) 測定地点

測定地点は、表1のとおりとする。

表1 測定地点の区分

区 分	該当する施設、地域
一般環境	① 旧アスベスト製品製造工場・事業場周辺地域 ② 蛇紋岩地域 ③ 旧アスベスト取扱工場・事業場散在地域 ④ 廃棄物処分場等周辺地域 ⑤ 高速道路沿線地域 ⑥ 幹線道路沿線地域
一般環境 (バックグラウンド地域)	⑦ 内陸山間地域 ⑧ 離島地域 ⑨ 住宅地域 ⑩ 商工業地域 ⑪ 農業地域

(2) 測定箇所の設定

測定箇所は、次の事項を考慮して設定する。

A. 一般環境

① 旧アスベスト製品製造工場・事業場周辺地域

特定粉じん発生施設を設置していた工場又は事業場の敷地境界線付近で、主風向の風下側の2箇所とする。2箇所間の距離は、原則として100mから200mとする。フィルターホルダーは工場又は事業場の方向に向ける。

② 蛇紋岩地域

蛇紋岩採石場から最も近い一般の住宅のある地域の2箇所とする。2箇所間の距離は、原則として100mから300mとする。フィルターホルダーは採石場の方向に向ける。

③ 旧アスベスト取扱工場・事業場散在地域

小規模のアスベスト製品製造事業所等が散在していた地域内で主要車道路肩から約50m以上離し、かつ特定の固定発生源の影響を直接受けない2箇所とする。

④ 廃棄物処分場等周辺地域

廃棄物処分場等の敷地境界線付近で、主風向の風下側の2箇所とする。2箇所間の距離は、原則として100mから200mとする。フィルターホルダーは廃棄物処分場等の方向に向ける。なお、試料の捕集は、事業場の稼働日を考慮して行う。

⑤ 高速道路沿線地域 ⑥ 幹線道路沿線地域

路肩と、道路から垂直方向に約 20m 離れた、主風向の風下側の 2 箇所とする。なお、現場状況により垂直方向に測定箇所を設定できない場合や、風下側に設定できない場合は、測定箇所をずらしてもよい。フィルターホルダーは道路の方向に向ける。

B. 一般環境（バックグラウンド地域）

⑦ 内陸山間地域 ⑧ 離島地域

地域の環境濃度を代表する地点で、かつ付近に障害物の少ない 2 箇所を選定する。2 箇所間の距離は数 10m から数 100m とする。フィルターホルダーは主風向の風上の方向に向ける。

⑨ 住宅地域 ⑩ 商工業地域 ⑪ 農業地域

地域の環境濃度を代表する地点で、主要車道路肩から 50m 以上離れた 2 箇所とする。2 箇所間の距離は 100m から 200m とし、かつ地域内の固定発生源の影響を受けない箇所（工場等から 50m、可能なら 100m 以上離れた箇所）とする。フィルターホルダーは最も近い主要車道の方向に向ける。

2. 1. 2 捕集用装置及び器具

(1) フィルター

直径 47mm、平均孔径 $0.8\mu\text{m}$ の円形白色のセルロースエステル製メンブランフィルターを使用する。メンブランフィルターは、繊維の計数の妨げにならないように、格子が印刷されていないものを使用する。

なお、A-SEM法のうち、ポリカーボネートフィルター法で測定を実施する場合は、直径 47mm、平均孔径 $0.8\mu\text{m}$ のポリカーボネートフィルターを用いる。なお、フィルターは静電防止のため、原則として金又はカーボンを蒸着したものを使用する。

(2) フィルターホルダー

直径 47mm の円形ろ紙用のホルダーで有効ろ紙直径が 35mm となるオープンフェース型のものを使用する。ホルダーは、カウル付きのものを使用することが望ましい。カウルを装着することにより、水滴の付着を防止できるとともに、試料捕集面の空気の流れを安定させることができる。カウルの長さは、有効ろ紙直径の 0.5~2.5 倍が望ましい（図 1 参照）。

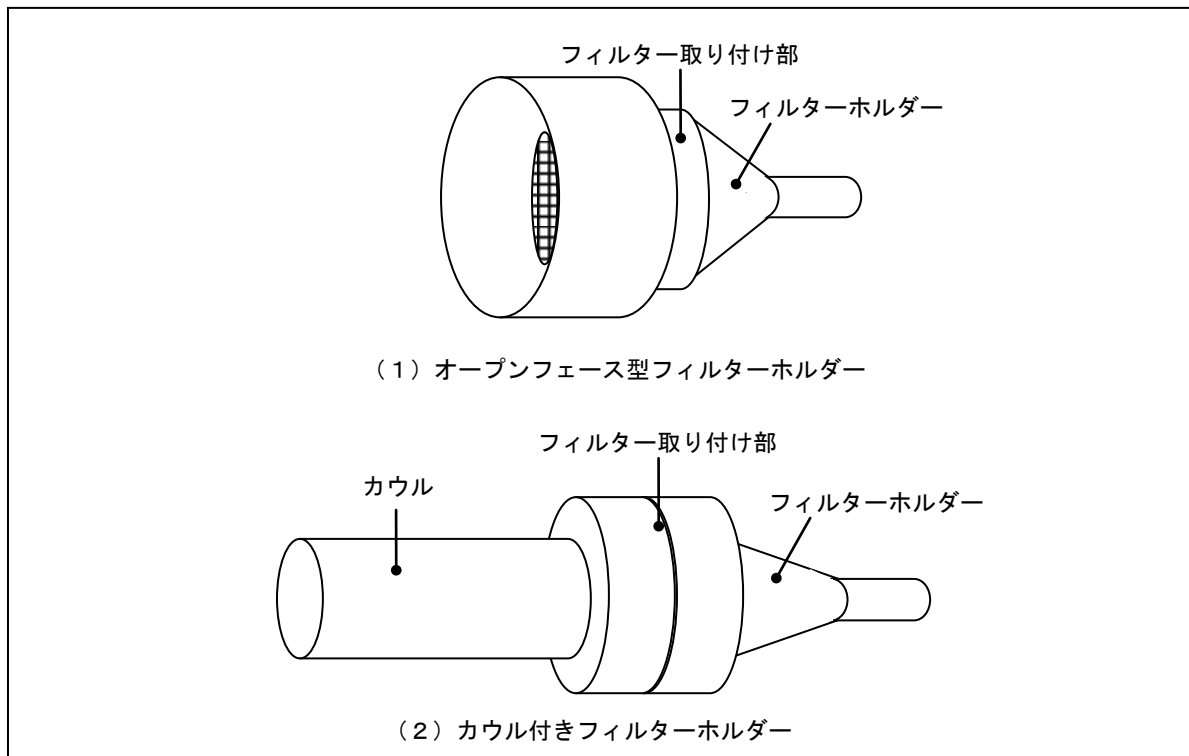


図1 フィルターホルダー

(3) 吸引ポンプ及び流量計

吸引ポンプには、フィルターをホルダーに装着した状態で、2. 1. 3 (2) 項に規定する吸引流量が得られ、かつ、同項で規定する捕集時間において脈動を生じることなく連続運転に耐えられる電動式吸引ポンプを使用する。流量計は、基準流量計によって校正されたフロート型面積流量計を用いるがマスフローコントローラーの使用が望ましい。なお、マスフローコントローラーと吸引ポンプが一体となった自動測定装置を使用してもよい。

(4) 連結管

フィルターホルダー、流量計及び吸引ポンプを連結する管（ゴムホース）は、捕集中の吸引圧力に耐えるものを使用し、連結管の接続部に漏れがないか事前に確認する。

(5) フィルター保管容器及び収納箱

試料を捕集したフィルターの保管及び輸送に使用する。捕集した面が汚れないように、捕集面を上向きにしてケースに固定できるものが望ましい。また、保管・運搬時は静電気が生じないように、木製の収納箱にケースを保管するのが適当である。

なお、密封可能なフタ付きのフィルターホルダーは、捕集後にホルダーのフタをして輸送し、試験室でフィルターをケースに移すことができるため便利である。

(6) 捕集装置の構成

捕集装置の構成の一例を図2に示す。

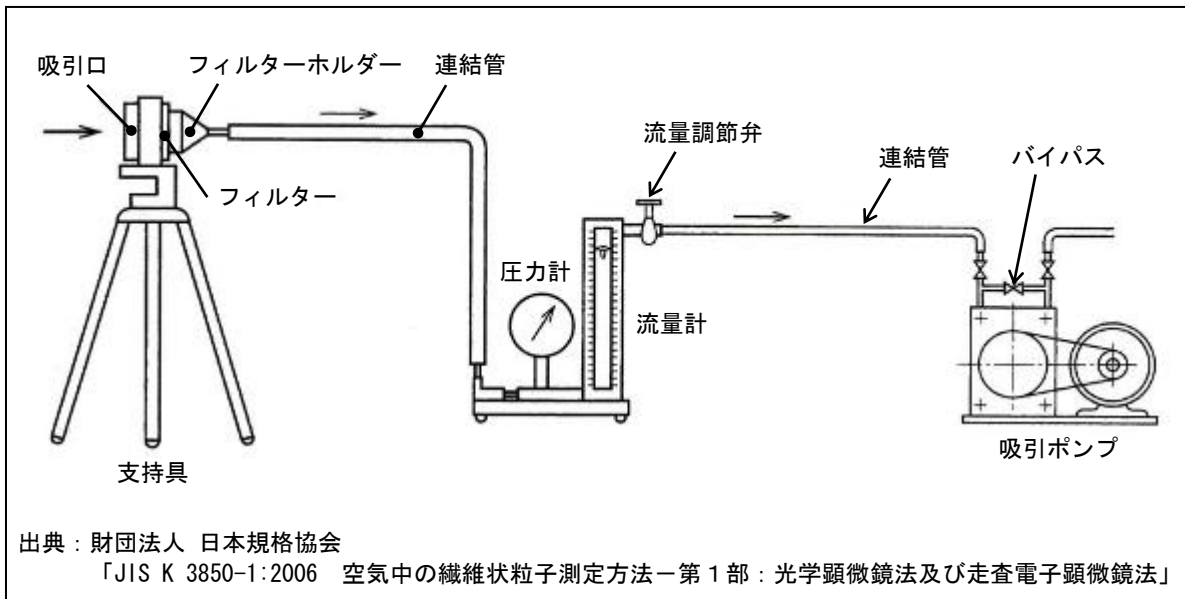


図2 捕集装置の構成の一例

2. 1. 3 捕集条件

(1) 捕集回数

一般環境においては、捕集回数3回を一連の測定とする。特に理由がない限り、平日昼間（10時～16時）の連続する3日間とすることが望ましい。なお、廃棄物処分場等の周辺で測定を行う場合は、稼働日等も考慮する。

(2) 吸引流量、捕集時間及び捕集空気量

有効ろ紙直径が35mmの捕集用ろ紙を用い、吸引流量10L/minで連続4時間空気を捕集（2400L）することを原則とする。なお、A-SEM法のうち、ポリカーボネートフィルター法で測定を実施する場合は、測定精度の向上のために捕集時間を粉じん量に合わせて適宜増やしてもよい。

(3) 捕集高さ

原則として地上1.5m以上2.0m以内とする。なお、測定箇所周辺の障害物等の影響が考えられる場合などは、適宜捕集する高さを設定してもよい。

(4) 測定箇所の決定

測定計画の際に主風向の情報から設定した大まかな位置と、風向に対する周辺の障害物等の影響等を考慮して測定箇所を決定する。なお、メンブランフィルターとポリカーボネートフィルターとを並行で捕集を行う場合は、2台の装置の設置高さ、ホルダーの向きを同一にし、2台の装置が互いに影響を及ぼさないように設置する。

(5) 気象条件

前日又は当日が強風、降雨等の場合は原則として捕集を避けること。主風向を勘案して測定箇所

所を設定した場合には、当該主風向時に測定することが望ましい。なお、捕集開始後に降雨があった場合には、傘等の「おい」を工夫し、フィルターや電源・吸引ポンプに雨滴が当たることがないようにする。なお、大雨や強風等により適切な捕集ができないと判断された場合には、連続ではなく、捕集可能な3日間としてもよい。

2. 1. 4 捕集にあたっての注意事項

流量計は、捕集空気量を正しく評価するため、予め校正されていることが必要である。もし、捕集量が多すぎると粒子が重なり合って、顕微鏡によるアスベスト繊維の計数が困難になる。捕集量が 0.3 mg/cm^2 を超えるとアスベスト繊維の見落としがあることが認められており、この現象の影響を受けないようにするには、 0.3 mg/cm^2 以上の粉じんを捕集することがないように捕集時間を調整する必要がある。

環境大気中の粒径 $10 \mu\text{m}$ 以上の粒子を含めた総粉じん濃度は、高い時でも 0.5 mg/m^3 程度と考えられる。そこで総粉じん濃度を 0.5 mg/m^3 と仮定し、吸引流量 10 L/min で試料を捕集するとすれば、フィルター上の表面密度が 0.3 mg/cm^2 になるには、9.6時間を要することとなる。

したがって、吸引流量を 10 L/min とすると、捕集時間が9時間以下であれば重なりによる影響を受けることは少ないと考えられる。ただし、車道路肩等でディーゼル排気中のカーボン粒子等の影響がある場合には、これ以下でも計数不能になることがある。

試料捕集時間を4時間とした場合、前述のとおり、一般的には粒子の重なりによる影響はまず考えにくいですが、捕集した粉じん量が多くなると思われる場合には、捕集時間を適宜分割してフィルターを交換し、合計4時間の捕集（2400 Lの捕集）を行うこと。この場合、4時間を均等に分割することが望ましい（2時間×2回、1時間20分×3回、1時間×4回）。また、フィルター交換の目安として、フィルターの着色が認められる場合は必ず交換を実施するものとする。但し、1回の捕集にフィルターを5枚以上使用すると、フィルター交換に起因する誤差が生じると考えられるので、1回の測定に使用するフィルターは原則として4枚までとする。その他、デジタル粉じん計を利用して浮遊中の粉じん量を推定して、前述の頻度で交換を実施する。

捕集中は、捕集装置にリークが発生しないように十分に注意する。捕集装置にリークが発生した場合は、その試料を棄却しなければならない。

捕集終了後、フィルターをケースに保管する。なお、保管容器がプラスチック製の場合には、取扱いによっては静電気が起こり、フィルター上の粒子が容器表面に吸付けられることがあるので注意が必要である。このようなときには、予め保管容器に静電気防止剤を噴霧し、乾燥させたものを使用することが望ましいが、呼吸を吹きかけて静電気を除去するのもひとつの方法である。

2. 2 繊維数濃度の算出

捕集した試料は速やかに前処理、繊維の計数を行う。計数後は、繊維数、フィルターの面積、計数した視野の面積、吸引量等の情報から繊維数濃度を算出する。なお、一般環境においては、3回捕集を一連の測定としているため、各回の繊維数濃度を平均したものを、当該地域の繊維数濃度とする。なお、平均する際は、繊維数濃度が気象条件等により変動し、対数正規分布を示すことから、幾何平均を利用する。

2. 3 測定方法各論

2. 3. 1 測定手順

一般環境で採取した試料の測定手順は図3にあるとおりである。電子顕微鏡法はA-S E M法、A-T E M法のいずれでも良いものとする。

位相差顕微鏡法で総繊維数を計数し、原則として総繊維数が 1 f/L を超過したものについては電子顕微鏡法により確認を行うこととし、場合によっては最初から電子顕微鏡で位相差顕微鏡法で計測できるものと同等サイズの繊維を計数することもできるように策定した。また、位相差顕微鏡で計数した総繊維数が 1 f/L を超過した場合、低温灰化を行い、有機繊維を除去してもよい。

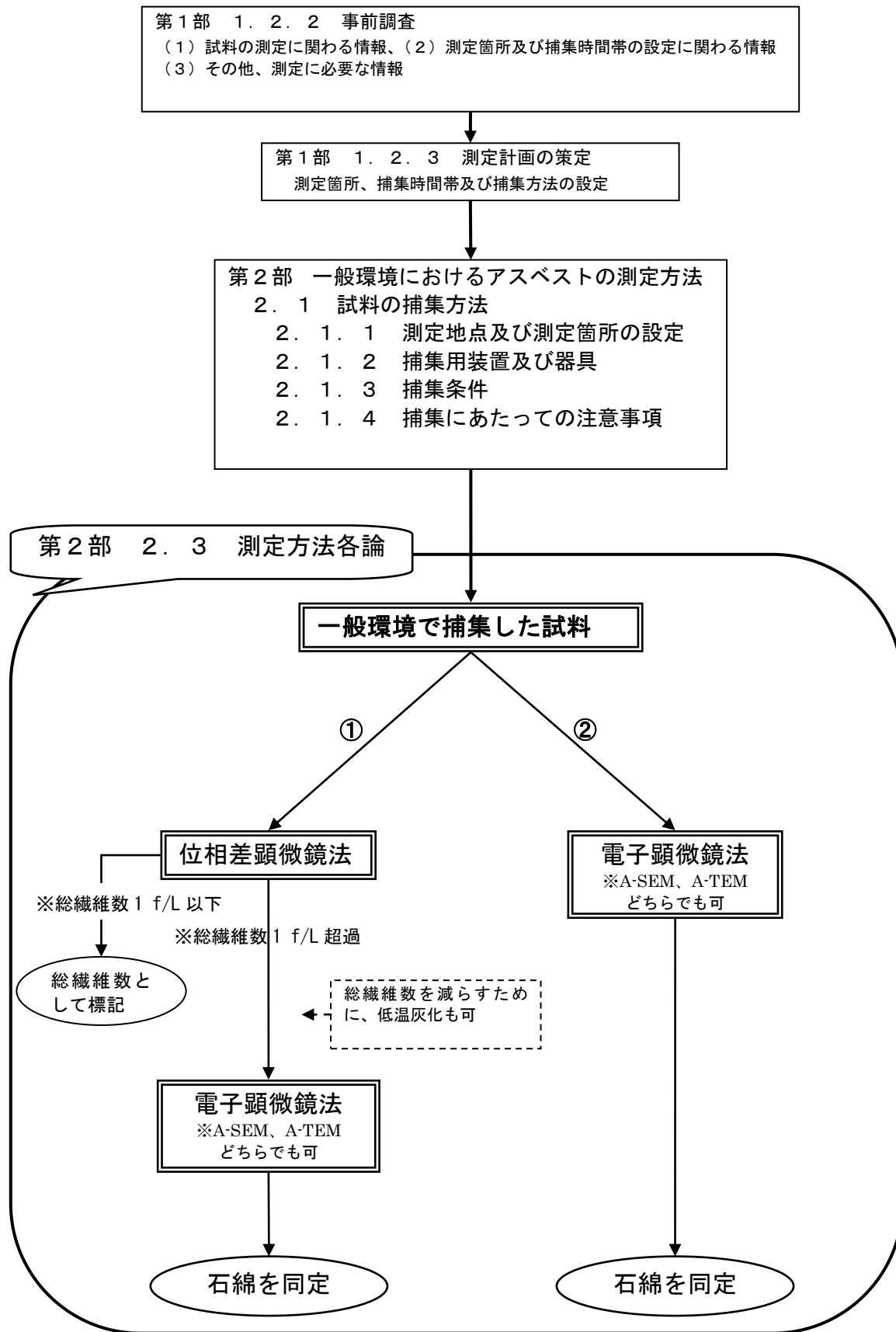


図3 一般環境における測定フロー

2. 3. 2 位相差顕微鏡法（PCM法）

位相差顕微鏡は、接眼レンズの倍率 10 倍以上、対物レンズの開口数 0.65 以上及び倍率 40 倍で、アイピースグレイティクル（大円：300 μ m）を装着したものをを用いる。透明化した試料について、位相差顕微鏡を用いて 1 視野ごとに繊維状粒子を確認、計数する。試料の透明化には、アセトンを使用し、浸液としてトリアセチンを用いる。

位相差顕微鏡法において、石膏やその他のアスベスト繊維等が混入する可能性がある場合は、測定結果の確認が必要になる。事前調査、試料捕集時の現場状況の確認及び過去のデータとの比較は、石膏やその他のアスベスト繊維等の混入の可能性を検証する上で重要である。また、細い繊維は見落とす可能性があるため、十分に注意が必要である。

（1）試料の前処理

1) 標本作製の準備

① スライドガラス及びカバーガラスの洗浄

標本の作製に使用するスライドガラス^{※1}及びカバーガラス^{※2}は、使用する前に表面に付着している汚れを除去しておく。洗浄の方法としては、中性洗剤の溶液に浸し、超音波洗浄装置等を用いて表面に付着した汚れを除去した後よく水洗いし、次に精製水で十分すすぎ、アルコールに浸してから清浄なカーゼで拭く。スライドガラスは格納箱に納め、カバーガラスは、適当な大きさのシャーレの中へ入れておく。なお、スライドガラスやカバーガラスを拭くガーゼは中性洗剤の溶液で煮沸してからよく水洗いし、汚れがつかないようにして乾燥させたものをを用いる。スライドガラスの一端に測定条件等を記入するラベルを貼っておくか片側すりガラスのものが望ましい。

※1：日本工業規格 R 3703 に定める顕微鏡用スライドガラス（標準形）

※2：日本工業規格 R 3702 に定める顕微鏡用カバーガラス（厚さ：No.1-S、使用する対物レンズにより指定されたもの）

2) フィルターの切断

捕集したフィルターは、汚染するおそれのない清浄な室内で保管容器から取り出し、切断する。位相差顕微鏡法にはフィルターを切断した 1/4 片を利用し、残りの 3/4 は速やかに保管容器に戻す（図 4 参照）。フィルターの切断にはメスやカッターの刃を使うとよい。フィルターの二次汚染を防ぐためには切断の度に新しい刃を使うのがよいが、繰り返し使う場合は刃をじゅうぶん清浄にする必要がある（二次汚染を防ぐには新しいメスの刃を、手前に引くようにしてフィルターを切るのではなく、刃の弧に沿って先端から根元へ転がすように切るとよい）。また切断の際にフィルターが裏返って捕集面がわからなくなることがあるので、予めフィルターの端に印を付けて捕集面を確認出来るようにしておくことよい。フィルターの切断の際は、捕集した繊維が落ちたり、切り離れた切片が落ちた際に裏返ったりしないよう、できる限り机や台に近い位置で、平行にして静かに、かつ割れないように注意して切断する。また、静電気が発生して、切断したフィルターが鉄に付着してしまうことがあるので、鉄を使用する場合にはセラ

ミック製の鋏を使用するなど、十分な注意が必要である。

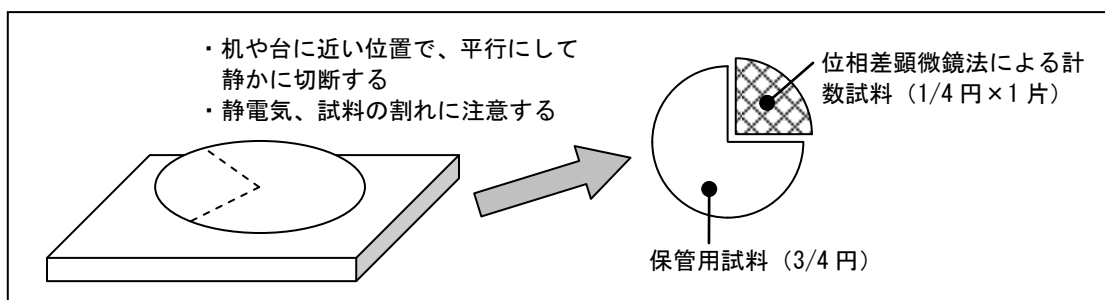


図4 フィルター分割方法の一例（位相差顕微鏡法）

3) 透明化処理

試料をスライドガラスに載せ、アセトン・トリアセチン法により透明化処理を行う。

① アセトンとトリアセチンを用いる方法

捕集面を下にしてメンブランフィルター（1/4 片）をスライドガラスの上へのせ、アセトン蒸気発生装置によって発生させたアセトン蒸気にあてる。アセトン注入は出来るだけゆっくり行ない、アセトン蒸気の急激な噴出がないようにすること。フィルターは蒸気にあると直ちに透明になる。透明になったフィルターの中央に、マイクロシリンジなどを用いてトリアセチン2~3 滴を滴下し、その上からカバーガラスを斜めにした状態からゆっくり落として固定する（図5 参照）。カバーガラスを載せる際には気泡が入らないように注意しなければならない。滴下するトリアセチンの量が少ないとカバーガラスがはがれる原因になる。またトリアセチンがカバーガラスからはみ出すほど多いと、スライドガラスを保存中に繊維が移動することがあるので注意が必要である。

常温では、標本作製後数時間以上経過すると、完全に透明になる。また、50°C程度のホットプレート上で加温すると5~10 分で完全に透明になる。加温温度が高過ぎたり加温時間が長過ぎると気泡が生じるので注意しなければならない。なお、アセトン蒸気発生装置で使用するアセトンの量は比較的少なく、アセトン蒸気の漏れはほとんどないが、換気の良い場所で使用することが望ましい。

顕微鏡観察時にフィルターの位置を確認し易いようにスライドガラスの裏側に油性ペンでフィルターの輪郭を付ける。

顕微鏡観察をする場合は、標本作製後24 時間経過したもののほうがより明瞭に観察をすることができる。また、本方法で作製した標本は、1 ヶ月程度保存することが可能である。

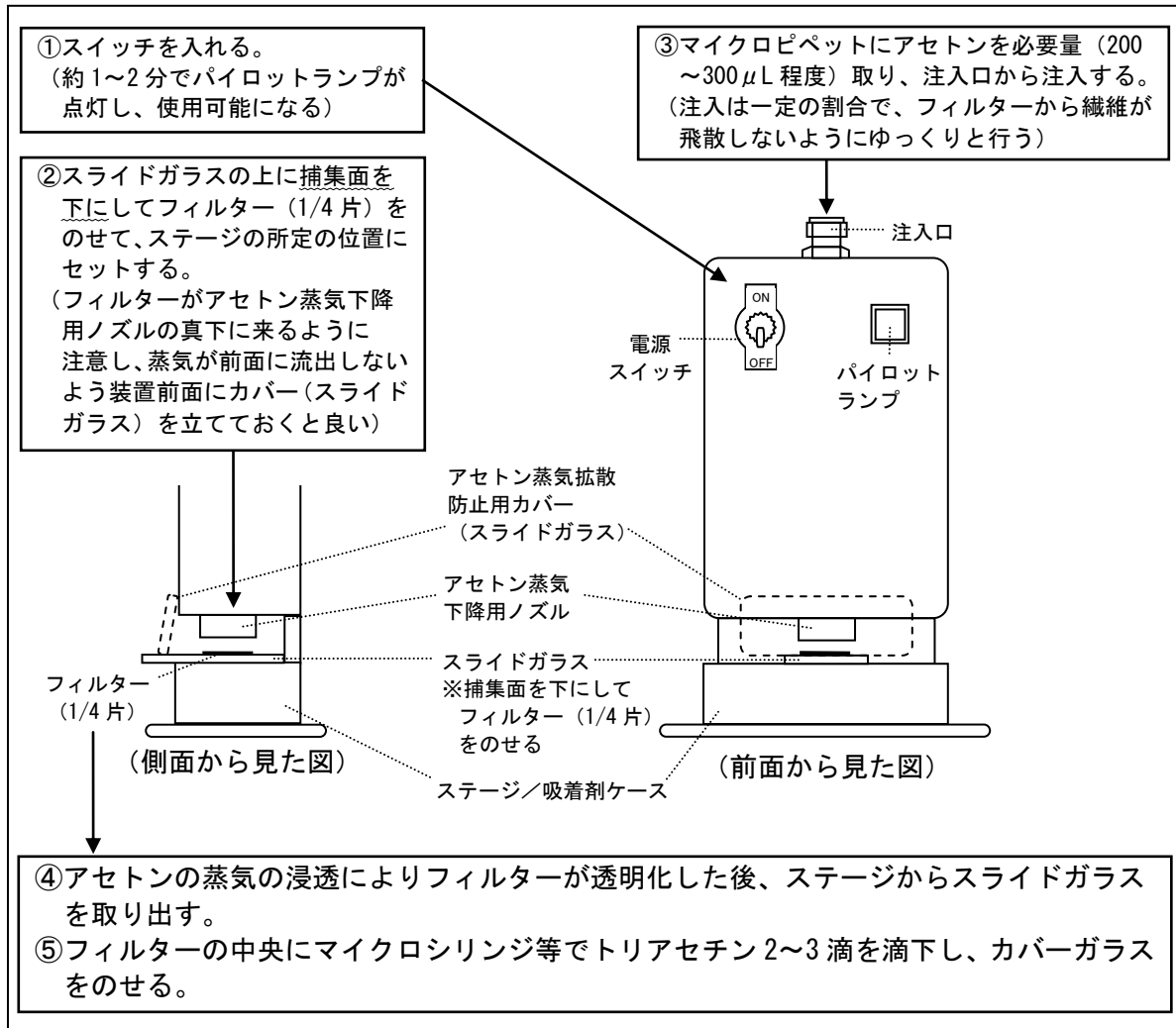


図5 アセトン/トリアセチンを用いる場合の標本作製の流れ

参考 アセトン/トリアセチンで作製された試料標本よりも長期に保存が必要な場合は、DMF-ユーパラル法^{※3}がある。

DMF-ユーパラル法による顕微鏡標本の作り方

- DMF (Dimethyl formamide) 35%、水 50%、酢酸 15%の混合比で DMF 溶液を作製する (DMF 溶液は変質するので使用時に少量作製するほうがよい)。
- スライドガラス上にカバーガラスを置き、その上に約 1/4 にカットしたフィルターを捕集面を下向きにして置く (一辺 24mm のカバーガラスを使用する)。フィルター全面を濡らすように DMF 溶液をマイクロピペットで滴下する。
- フィルターを透明化するため、スライドガラスを 60°C のホットプレート上で 30 分間加温する (酢酸の臭いがしなくなるのを目安にしてもよい)。
- フィルターが透明化したら、フィルターの 1/2 から 2/3 が覆われる程度の量のユーパラルをフィルター上に滴下する。
- カバーガラスを持ち上げ、素早く裏返して (ユーパラルを滴下した面を下向きにする)

清浄なスライドガラス上にゆっくり置く。カバーガラス表面を押し下してはいけない。

- f) ユーパラルを固めるためスライドガラスを約 60°Cのホットプレート上で 30 分間加温する。

※3 : Le Guen, J.M.M., et al. : Clearing and Mounting Techniques for the Evaluation of Asbestos Fibres by Membrane Filter Method, Ann. Occup. Hyg., Vol. 24, No. 3, pp273-280, 1981

注) DMFは人体に有害であり、管理濃度が 10ppm となっているため、取扱いには十分注意が必要である。

(2) 試料の計数

1) 顕微鏡の調整

位相差顕微鏡の調整手順の一例を以下に示す。

① 調整の準備

- (a) 位相差顕微鏡に対物レンズ (10 倍及び 40 倍)、接眼レンズ及び位相差用ターレットコンデンサーをセットする。
- (b) ターレットコンデンサーを明視野観察 (通常は目盛「0」) に合わせる。
- (c) 対物レンズを 10 倍とし、標本をステージに載せピントを合わせる。

② 眼幅の調整

- (d) 双眼スリーブを動かして左右の視野が一つに重なって見えるように眼幅を調整する。

③ 視度の補正

- (e) アイピースグレイティクル^{※4}が入っている接眼レンズの視度補正環を回して、アイピースグレイティクルの目盛りがはっきり見えるようにする。
- (f) そのまま片目で試料中の粒子に焦点合わせ微動ハンドルでピントを合わせる。
- (g) 次に反対の眼で、焦点合わせ微動ハンドルを操作するのではなく、接眼レンズの視度補正環を回してピントを合わせる。

④ 視野絞りの調整

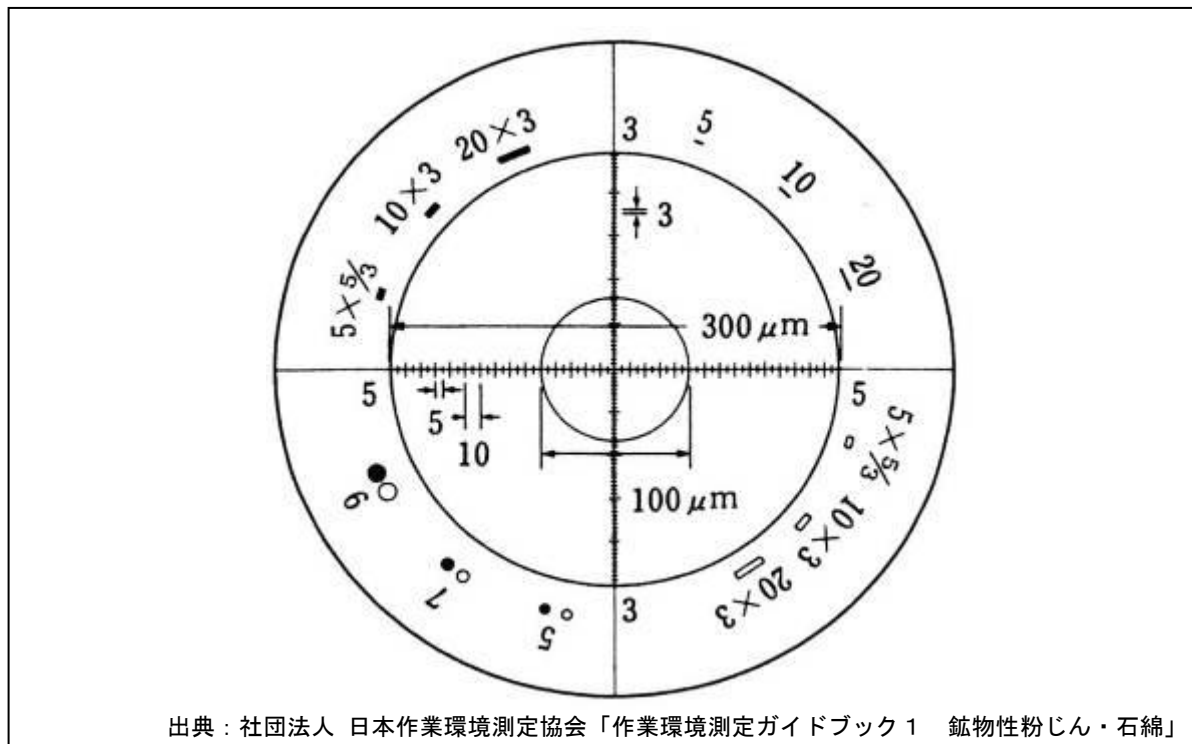
- (h) 視野絞りを最小とする。
- (i) コンデンサーを上下に調整し、視野絞り像を標本面に結像させる。
- (j) コンデンサー芯出しねじにより、視野絞り像と視野を同心にする。
- (k) 対物レンズ及びターレットコンデンサーを 40 倍とし、視野絞り像が視野の大きさとほぼ同じになるように調整する。

⑤ ターレットコンデンサー及び位相差用リング絞りの芯出し

- (l) ターレットコンデンサーの開口絞り面にランプのフィラメント像が結像するようにランプの位置を調整する。
- (m) 対物レンズ及びターレットコンデンサーを 10 倍とし、接眼レンズの一方を芯出し望遠鏡に変え、ターレットコンデンサーのリングにピントを合わせる。
- (n) 位相差用リング絞りの像を位相板のリングに合わせる。
- (o) 40 倍対物レンズについてもリング状絞りと位相板を一致させる。

※4：顕微鏡の接眼レンズに装着する円形の透明ガラス板で、視野範囲や基準目盛など、観測される繊維の計数に際して必要な情報が確認できるもの。本測定では大円 $300\mu\text{m}$ のものを使用する（図6参照）。

注）顕微鏡の調整方法は、社団法人 日本作業環境測定協会「作業環境測定ガイドブック1 鉱物性粉じん・石綿」に詳しい記述があるので、必要に応じて参照するとよい。



出典：社団法人 日本作業環境測定協会「作業環境測定ガイドブック1 鉱物性粉じん・石綿」

図6 アイピースグレイトィクルの一例

2) 計数の準備

接眼レンズの中にアイピースグレイトィクルを装着し、載物台に対物測微計（図7参照）をのせて検鏡する。対物レンズ×40、接眼レンズ×10 のとき、アイピースグレイトィクルの最小の目盛は $5\mu\text{m}$ になるように刻まれているので、この寸法を対物測微計の目盛（ $10\mu\text{m}$ ）によって確認する。

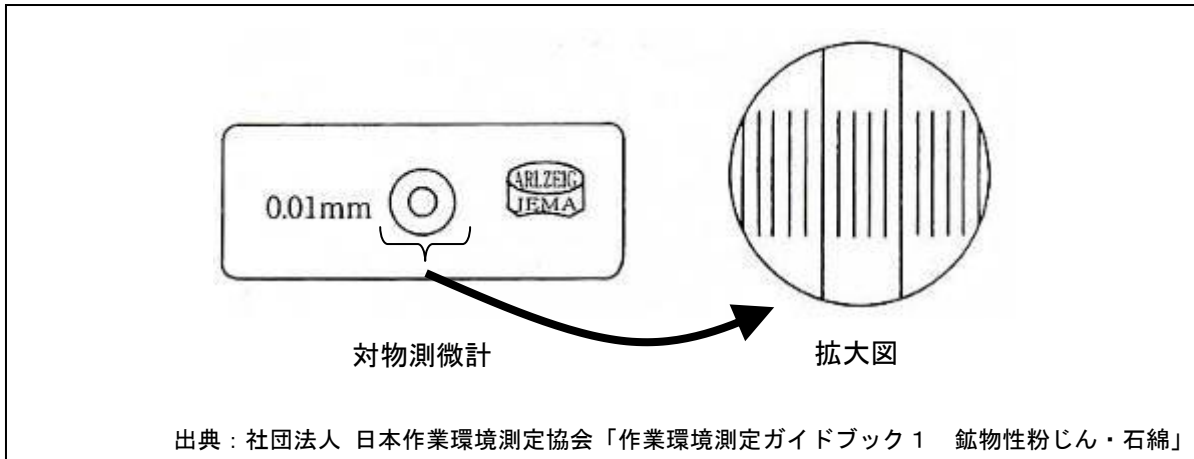


図7 対物測微計

3) 計数対象繊維

長さ $5\mu\text{m}$ 以上、幅（直径） $3\mu\text{m}$ 未満で、かつ長さとの幅の比（アスペクト比）が $3:1$ 以上の繊維状物質を計数の対象とする。

4) 計数の手順

計数を始める前に、低倍率（100 倍程度）の位相差顕微鏡でフィルター上に粉じんがほぼ均一に捕集されていることを確認してから、倍率を 400 倍にして計数を行う。

顕微鏡視野内のアイピースグレイティクルの大円（直径 $300\mu\text{m}$ ）を 1 視野の範囲とし、この範囲内に存在する対象繊維を計数する。1 視野の計数が終了したら、ステージを移動させて次々と別の視野を計数する。ステージの移動は、フィルターの有効ろ過範囲の中心部分から外周部分に直線上に行い、外周部分の有効ろ過範囲の端に達しても必要な計数視野を満たしていない場合は、それまでに計数していた範囲に重ならないように注意して、外周部分から中心部分に直線上にステージを移動させる。なお、フィルターの切断ライン付近は試料の汚染又は損失をしている可能性があるため、ラインから 2mm 程度離れたところで計数を行うこと（図 8 参照）。

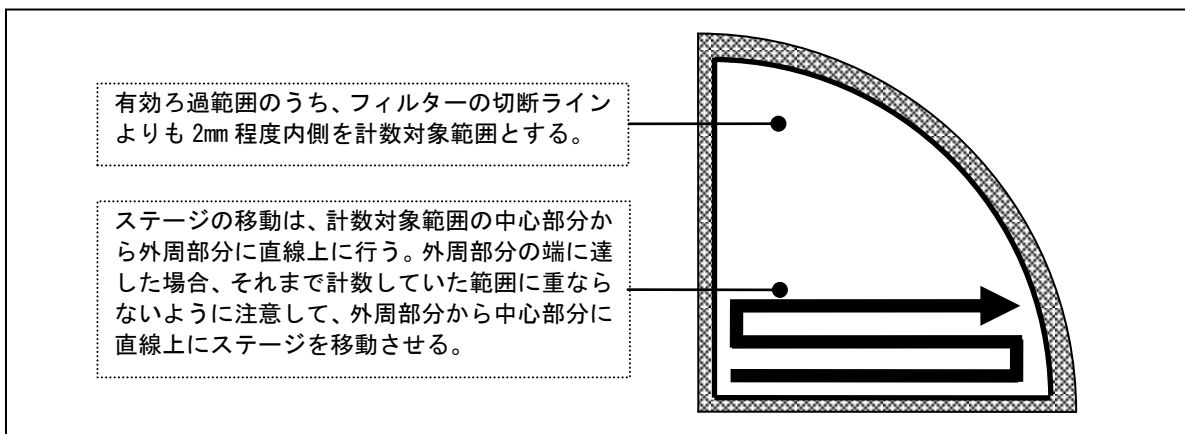


図8 フィルターの計数対象範囲及びステージの移動方向

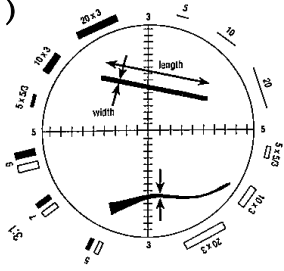
繊維の計数は、検鏡した視野の数が 100 視野になるまで、あるいは繊維数が 200 本以上になるまで行う（繊維数が 200 本に達した場合、その視野は最後まで計数すること）。なお、100 視野を計数したときの検出下限値は、0.056f/L となる。また、計数繊維数（200 本）は、標準誤差が約±7%となるように定めている。

5) 繊維数の判定

- ① 単繊維の場合：上記3) で定義した繊維を 1 本と数える。(i)
- ② 単繊維でカールしている場合：繊維の直線部分を目安にしてカールに沿って真の長さをはかって判定する。(i)
- ③ 枝分かれした繊維の場合：1 本の繊維から枝分かれしている繊維は全体で 1 本と数える。(vi)
- ④ からまっている場合：
 - (a) 数本の繊維が交差している場合は、交差しているそれぞれの繊維を 1 本と数える。(vii)
 - (b) 繊維がからまって正確な数を読みとることができない場合はその繊維は数えない。(ix)
 - (c) からまっている各繊維が、一本の繊維と見なせるくらい寄り集まっている場合は 1 本として計数する。(iii)
- ⑤ 粒子が付着している繊維の場合：粒子を無視して計数する。繊維の長さについては繊維が見える部分の長さを求め、粒子に隠れて見えない部分の長さは求めない。但し、繊維の両端が粒子に隠れず、1 本につながって見える場合は、粒子に隠れている部分も含めて長さを求める。(iii)、(viii)、(x)
- ⑥ 一本の繊維の幅が一定で無い場合：幅の平均が $3\mu\text{m}$ 未満ならば計数する。この場合、付着物の膨らみは無視し、平均的な幅を以て繊維の幅とする。なお、疑わしい場合は、幅は $3\mu\text{m}$ 未満とみなす。(i)
- ⑦ 計数視野範囲の境界内に繊維状粒子の両端が入っている場合は 1 本と数え、境界内に片方の端しか入っていない場合は、1/2 本と数える。(ii) (iv)
- ⑧ 繊維状粒子の両端が計数視野範囲の境界外にある場合は、計数しない。(iv) (ix)

繊維数の判断に係る一例を図9に示す。

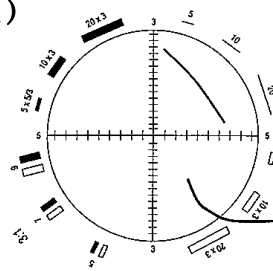
(i)



1本:
長さ、幅、アスペクト比の
基準を満たす

1本:
幅は平均となる場所を
はかる

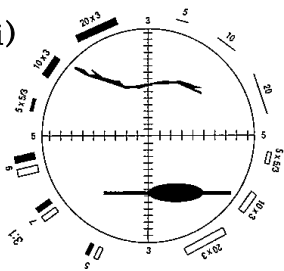
(ii)



1本:
全体が計数範囲内

1/2本:
片方の端だけ計数
範囲内

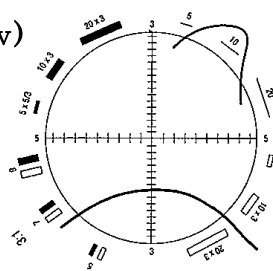
(iii)



1本

1本:
幅を見る場合は付着し
た粒子や膨らみはは無
視する

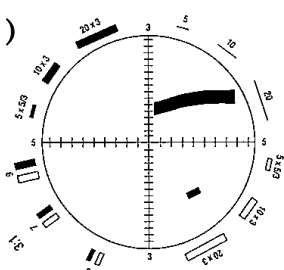
(iv)



1本:
両端が計数範囲内

0本:
両端が計数範囲外

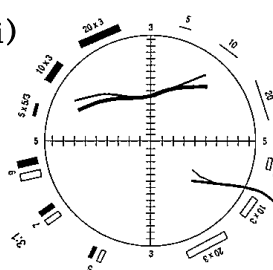
(v)



0本:幅が大きすぎる

0本:
アスペクト比が3未満

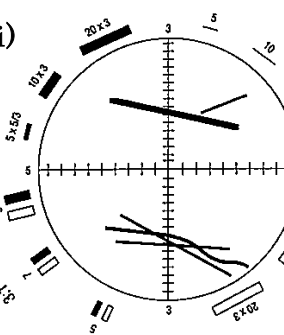
(vi)



1本:枝分かれ

1/2本:
枝分かれした片方
だけ計数範囲内

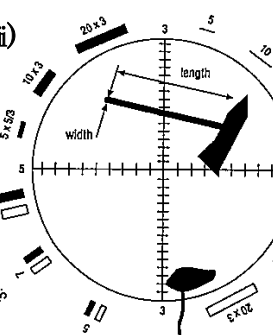
(vii)



2本

3本

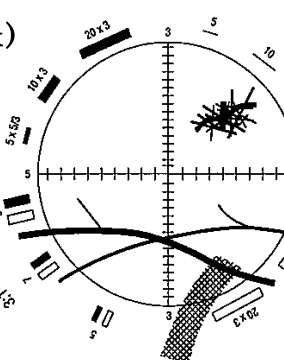
(viii)



1本

1/2本

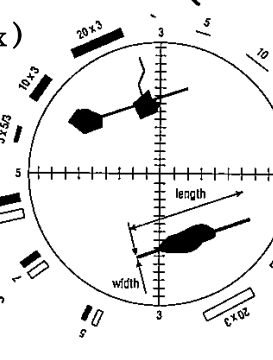
(ix)



0本

0本

(x)



2本

1本

WHO 85661

図9 繊維数の判定

6) 計数にあたっての注意

① 計数の対象となる粒子

計数の対象となる粒子は長さ $5\mu\text{m}$ 以上、幅 $3\mu\text{m}$ 未満で、かつ長さとの比（アスペクト比）が $3:1$ 以上の繊維状物質である。計数に際し、長さの物さしとしてアイピースグレイトリカルを利用して円の直径と線の長さを肉眼的に比較する場合には、錯視の関係で誤差を生ずることがあるので、この点を注意しながら計数する必要がある。

② ピントの微調整

顕微鏡で粒子を観測する場合、視野の周辺の粒子にピントを合わせると中央の粒子はピントがずれ、逆に中央の粒子にピントを合わせると視野周辺にある粒子はピントがずれてしまうことが普通である。このため、常に微動ハンドルを調節して、計数する部位にピントを合わせながら計数することが重要である。なお、位相差顕微鏡を用いても極めて見えにくい粒子もある。このような粒子は微動ハンドルを動かすことによって、見えたり見えなくなったりする。粒子が見えたり見えなくなったりすると計数者の注意が喚起され、比較の見落としが少なくなる。

7) フィルターブランク

測定誤差の原因となるようなフィルターブランク値が認められる場合もあるので、適宜、サンプリングに使用したものと同一ロットのフィルターについて、捕集したフィルターと同様の手順で標本作製し、同数の計数視野について計数を行い、フィルターブランク値を求め、補正を行うことが望ましい。

(3) 繊維数濃度の計算

1) 総繊維数濃度

一般環境中に浮遊している計数対象に該当する総繊維数濃度は次式から求められる。

$$F_T = A \times (N_P - N_B) / (a \times n \times V)$$

$$\left(\begin{array}{l} F_T : \text{総繊維数濃度 (f/L)} \\ A : \text{メンブランフィルターの有効面積 (mm}^2\text{)} \\ N_P : \text{位相差顕微鏡で計数した繊維数 (f)} \\ N_B : \text{フィルターブランク値 (f)} \\ a : \text{視野範囲 (アイピースグレイティクル) の面積 (mm}^2\text{)} \\ n : \text{計数した視野数} \\ V : \text{吸引空気量 (L)} \end{array} \right)$$

(例) アイピースグレイティクルの直径が $300 \mu\text{m}$ の場合、1 視野の面積は 0.07065mm^2 となる。有効ろ紙直径が 35mm のとき、メンブランフィルターの有効ろ過面の面積は 961.625mm^2 であるから、捕集量 2400L 、位相差顕微鏡で 100 視野を計数して 30 繊維が確認された場合、フィルターブランク値を 0 とすると、総繊維数濃度は上式から 1.7f/L となる。

なお、複数枚のろ紙を使用した時は、各ろ紙の計数繊維数から求められた繊維数濃度を時間加重（捕集量加重）平均して得られた値を繊維数濃度の値とする。

2) 測定値の有効数字等

測定値の有効数字は原則として 2 桁とし、3 桁目以下は切り捨てること。

3) 幾何平均の算出

一般環境においては、3 回捕集を一連の測定としているため、各回の繊維数濃度を幾何平均したものを、当該地点の繊維数濃度とする。

3 回捕集の幾何平均による繊維数濃度は、次式で求められる。

$$F_G = (F_1 \times F_2 \times F_3)^{1/3}$$

$$\left(\begin{array}{l} F_G : \text{3 回捕集の幾何平均による繊維数濃度 (f/L)} \\ F_1 : \text{捕集 1 日目の繊維数濃度 (f/L)} \\ F_2 : \text{捕集 2 日目の繊維数濃度 (f/L)} \\ F_3 : \text{捕集 3 日目の繊維数濃度 (f/L)} \end{array} \right)$$

なお、幾何平均による繊維数濃度は次の方法でも求められる。

$$F_G = \text{e x p} \{ (\log F_1 + \log F_2 + \log F_3) / 3 \}$$

この式では、各回の繊維数濃度の対数をとったもの ($\log F_1$ 、 $\log F_2$ 、 $\log F_3$) の平均値を

求め、この指数を求めることによって幾何平均を算出する。

幾何平均を求める際、繊維が不検出（ND）だった試料は、100視野を計数して繊維が1本確認されたと仮定して繊維数濃度を算出し（検出下限値を与えて）、幾何平均の算出を行う。また、3回の捕集全てで不検出だった場合は、繊維数濃度は検出下限値未満とする。

2. 3. 3 分析走査電子顕微鏡法（A-SEM法）

使用する走査電子顕微鏡（SEM）は、エネルギー分散形X線分析装置（EDX）をもち、加速電圧15kV程度を満たすものとする。また、計数対象繊維（長さ $5\mu\text{m}$ 以上、幅 $0.2\mu\text{m}$ 以上 $3\mu\text{m}$ 未満、アスペクト比3以上）の観察及び同定が可能なものとする。計数は、幅 $0.2\mu\text{m}$ の繊維が確実に確認できる倍率で行う。なお、装置の長時間の安定性を考慮してフィールドエミッション型のSEMを利用することが望ましい。

なお、計数する際の観察画面倍率に対するスケールの正確さは、繊維数濃度及び繊維寸法の測定結果に直接影響するため、必要に応じて標準寸法を示す電子顕微鏡用標準試料（標準マイクロスケール）などの倍率校正用標準試料を用いて倍率校正を行う。SEMの倍率は多くのメーカーが試料とプリントアウトした紙面の比率で表していることが多い。例えば、SEMの装置が2000倍と表示していても、実際のモニター画面上の倍率は10000倍となっていたりする。

捕集した試料の前処理方法は、次の3種類の中から選択する。

- A. メンブランフィルター／低温灰化法
- B. メンブランフィルター／カーボンペースト含浸法
- C. ポリカーボネートフィルター法

A、B法は位相差顕微鏡法と同じ試料を使用することができるという利点がある。C法はメンブランフィルターと並行で捕集を行う必要があるが、前処理が簡単で電子顕微鏡像も見やすい。また、A法は低温灰化により有機繊維が除去されるため、観察される繊維は無機繊維となるが、B、C法は灰化処理を行わないため、有機繊維も観察される。前処理方法の選択にあたっては、これらの特徴の他に、測定の目的及び保有する設備・機器等を考慮する必要がある。

（1）試料の前処理

1）フィルターの切断

捕集したフィルターは、汚染するおそれのない清浄な室内で保管容器から取り出し、切断する。位相差顕微鏡法にはフィルターを切断した1/4片を利用し、残りの3/4は速やかに保管容器に戻す（図4参照）。フィルターの切断にはメスやカッターの刃を使うとよい。フィルターの二次汚染を防ぐためには切断の度に新しい刃を使うのがよいが、繰り返し使う場合は刃を十分清浄にする必要がある（二次汚染を防ぐには新しいメスの刃を、手前に引くようにしてフィルターを切るのではなく、刃の弧に沿って先端から根元へ転がすように切るとよい）。また切断の際にフィルターが裏返って捕集面がわからなくなることがあるので、予めフィルターの端に印を付けて捕集面を確認出来るようにしておくことよい。フィルターの切断の際は、捕集した繊維が落ちたり、切り離れた切片が落ちた際に裏返ったりしないよう、できる限り机や台に近い位置で、平行にして静かに、かつ割れないように注意して切断する。また、静電気が発生して、切断したフィルターが鉄に付着してしまうことがあるので、鉄を使用する場合にはセラミック製の鉄を使用するなど、十分な注意が必要である。

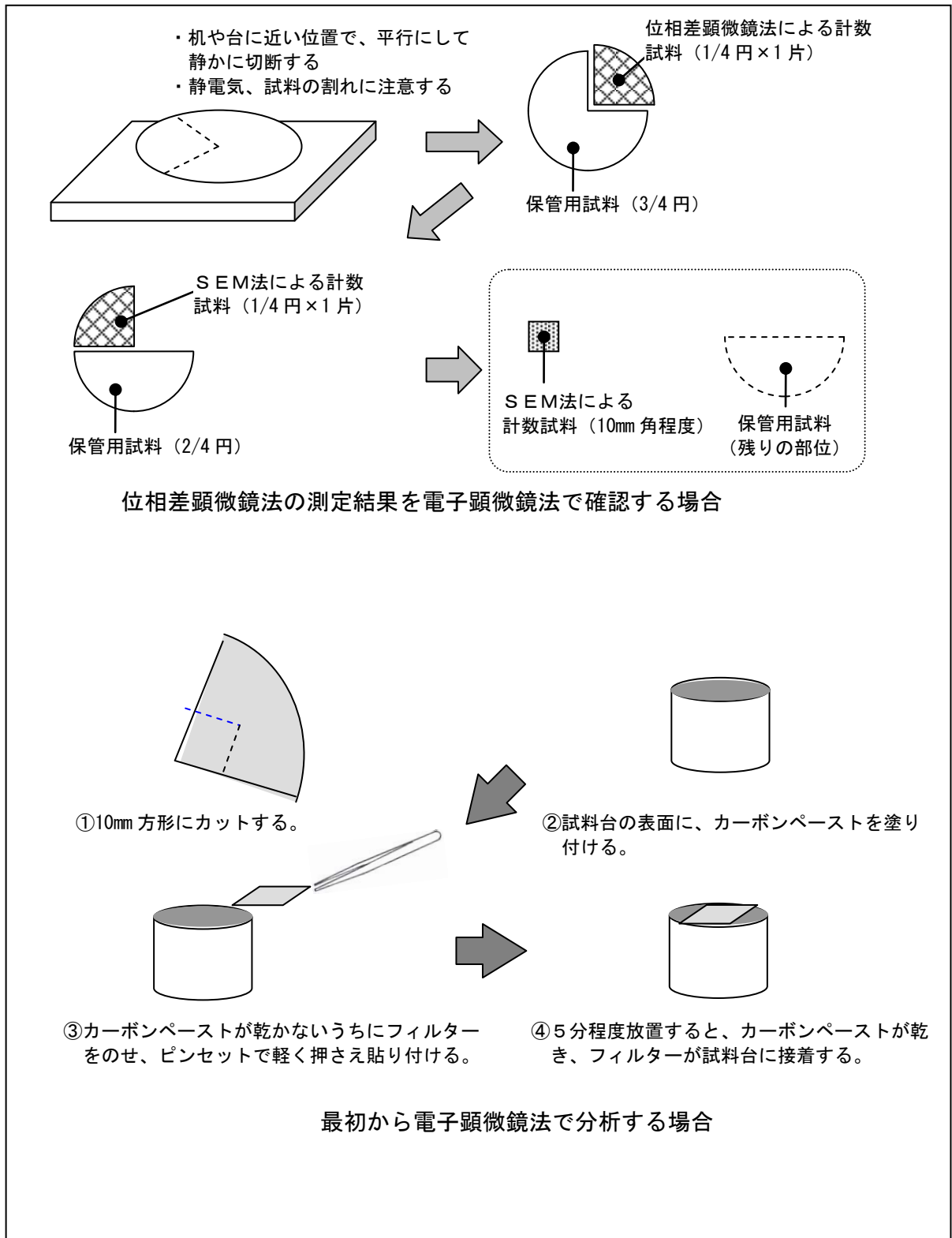


図 10 フィルターの分割方法及び標本作製の流れの一例

2) 標本の作製

(1) の1) で切断したフィルターを、図10のように10mm角程度に切り取る。なお、フィルターの切断の際は、捕集した繊維が落ちたり、切断したフィルターが落ちた際に裏返ったりしないよう、できる限り机や台に近い位置で、平行にして静かに、かつ割れないように注意して切断する。また、静電気が発生して、切断したフィルターが鋏に付着してしまうことがあるので、鋏を使う場合はセラミック鋏を使用するなど、十分な注意が必要である。

黄銅、アルミニウム製又はカーボン製のSEM試料台に導電性カーボン両面テープを10mm角に切って接着し、その上に試料フィルターの捕集面が上になるように置き、固定する。

A. メンブランフィルター／低温灰化法

- 1) (1) の1) で切断したフィルターを、10mm角程度に切り取って、金蒸着を施したスライドガラス又はニッケル板に、捕集面を下側にして載せ、これをアセトン蒸気発生装置によってアセトン蒸気を発生させて接着する。なお、フィルターの切断の際は、捕集した繊維が落ちたり、切断したフィルターが落ちた際に裏返ったりしないよう、できる限り机や台に近い位置で、平行にして静かに、かつ割れないように注意して切断する。また、静電気が発生して、切断したフィルターが鋏に付着してしまうことがあるので、鋏を使う場合はセラミック鋏を使用するなど、十分な注意が必要である。
- 2) フィルターを接着したスライドガラス又はニッケル板を低温灰化装置で灰化し、フィルター及びその他有機物などを除去する。
- 3) 黄銅、アルミニウム製又はカーボン製のSEM試料台に導電性カーボン両面テープを10mm角程度に切って接着し、その上に灰化処理を終えたスライドガラス又はニッケル板を、試料を接着した面が上になるように置き、固定する。
- 4) 固定したスライドガラス又はニッケル板と試料台の間の導電性を確保するため、板の縁にカーボンペーストを塗って導電性処理を行い、乾燥させ、カーボン蒸着又は金蒸着を施し、観察標本とする。

B. メンブランフィルター／カーボンペースト含浸法

- 1) 水溶性のカーボンペーストと水を1:1程度の割合で混合し、のり程度の粘度に調製する。なお、このペーストは薄めすぎると試料台にフィルターが接着されにくくなる。なお、カーボンペーストと水の最適な割合は、メーカーや保存状態により異なるので、最初に検討しておくことが望ましい。
- 2) (1) の1) で切断したフィルターを、図10のように切り取る。試料台の上にカーボンペーストを竹串やヘラ等で塗布し、そこに切り取ったフィルターを捕集面が上になるように貼り付けることで、フィルターの裏側からカーボンペーストが含浸するとともに試料台に接着される。なお、フィルターが乾燥していて試料台に貼り付きにくい場合や、カーボンペーストがフィルターに含浸接着しにくい場合は、含水させた紙などの上にフィルターを置き、予めフィルターを湿らせてから試料台に貼り付ける。
- 3) フィルターにカーボンペーストが十分に含浸接着した後、フィルターの四隅にカーボン

ペーストを付けて接着させる。なお、試料台に油分等が付着していると接着がうまくいかない時があるので、操作前にアセトン等を含浸させたガーゼなどで試料台の表面を拭くなどの配慮が必要である。なお、カーボンテープで貼り付けると、試料面に凹凸が生じて測定に影響を及ぼす可能性があるため、カーボンペーストの使用を推奨する。

- 4) フィルターを接着した後、室温で30分以上乾燥させる。フィルターの表面の導電性を確保するため、イオンスパッタリング装置などを用いて金-パラジウム蒸着、白金-パラジウム蒸着、金蒸着又はカーボン蒸着を施し、観察標本とする。

C. ポリカーボネートフィルター法

- 1) SEM試料台に7~10mm 角の導電性カーボン両面テープを接着し、その上に捕集したポリカーボネートフィルターを図10のように10mm 角に切り取って、捕集面を上にして接着する。
- 2) フィルターの端にカーボンペーストを塗って導電性処理を行い、乾燥させ、カーボン蒸着又は金蒸着を施し、観察標本とする。

(2) 繊維の計数

モニター画面上に見られる像から繊維形態を識別する。計数対象に該当する繊維は全て長さ・幅を記録し、さらにEDX検出装置を用いて繊維の種類を同定する。

- 1) 計数対象繊維：次の条件に当てはまる全ての繊維状粒子を計数対象とする。

長さ	: 5 μ m 以上
幅	: 0.2 μ m 以上 3 μ m 未満
アスペクト比	: 3 以上 (長さ/幅 \geq 3)

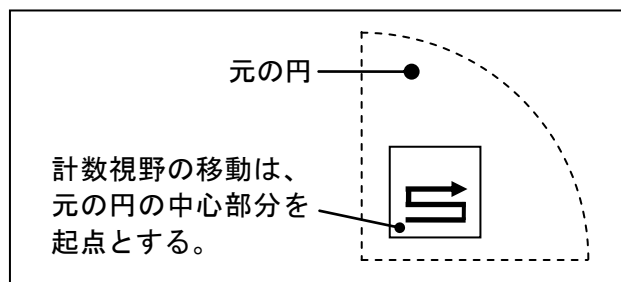
- 2) アスベストの同定：計数対象繊維は、全てEDX検出装置を用いて構成成分を確認し、次の5つの区分に識別する。

- ① クリソタイル
- ② アモサイト
- ③ クロシドライト
- ④ その他の角閃石系アスベスト (アンソフィライト、トレモライト、アクチノライト)
- ⑤ その他の繊維 (硫酸カルシウム、ロックウール、グラスウール等)

なお、アスベストの種類ごとに特徴的なEDXスペクトルを示すので、ほとんどの場合、スペクトルからアスベストの種類が同定できる。アスベストのEDXスペクトルの例を参考資料に示す。

3) 観察条件：位相差顕微鏡法で観察できる繊維と同等の大きさのものを計数する場合は、次の条件で観察を行う。

- 加速電圧 : 15kV 程度
- 倍率 : 幅 $0.2\mu\text{m}$ の繊維が確実に計数できること
※ EDX分析時などは、必要に応じて倍率を 10000~50000 倍に適宜上げて観察を行う。
- 計数範囲 : 1 視野あたりの計数範囲を、①基準格子等の標準試料を用いた方形枠または②モニター画面を利用して設定する。
※ モニター画面を利用する場合は、機器の倍率と画面上の見かけの倍率が異なる可能性があるため、標準マイクロスケール等を用いて視野範囲を正確に計測する必要がある。また、計数時の倍率は固定する必要がある。
- 計数視野の移動 : 計数視野の移動は下図のように行う。なお、切断ラインから 2mm 程度までは、試料の汚染又は損失をしている可能性があるため、計数を行わないこと。



4) 計数の手順

計数を始める前に、低倍率 (100 倍程度) の SEM でフィルター上に粉じんがほぼ均一に捕集されていることを確認してから、 $0.2\mu\text{m}$ の繊維が確実に計測できる倍率で計数を行う。

(例) 倍率 1000 倍の SEM 画面を 1 視野の範囲とし、この範囲内に存在する対象繊維を計数する。1 視野の計数が終了したら、ステージを移動させて次々と別の視野を計数する。ステージの移動は、フィルターの有効ろ過範囲の中心部分から外周部分に直線上に行い、外周部分の有効ろ過範囲の端に達しても必要な計数視野を満たしていない場合は、それまでに計数していた範囲に重ならないように注意して、外周部分から上下に直線上にステージを移動させる。なお、フィルターの切断ライン付近は試料の汚染又は損失をしている可能性があるため、ラインから離れたところで計数を行うこと (図 1 1 参照)。

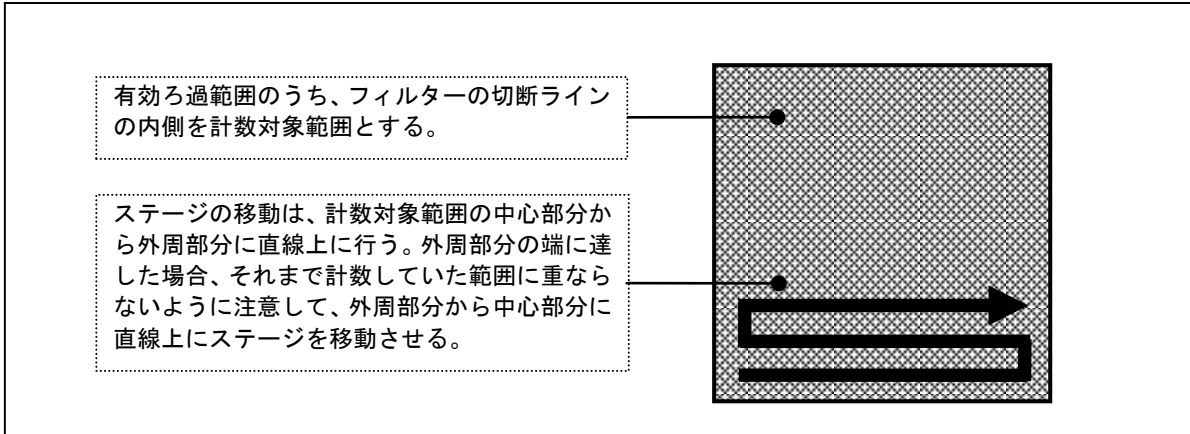


図 1 1 フィルターの計数対象範囲及びステージの移動方向

(例)倍率 1000 倍においてモニター画面上の 1 視野面積が 0.010536 mm^2 である SEM の場合、繊維の計数は、検鏡した視野の数が 300 視野になるまで、あるいは繊維数が 40 本以上になるまで行う（繊維数が 40 本に達した場合、その視野は最後まで計数すること）。ただし、アスベストが 1 L あたり 10 本以上計数された場合は、計数視野数をその視野としてもよい。なお、300 視野を計数したときの検出下限値は、 0.12 f/L となる。

5) 計数視野数及び計数繊維数 :

設定した計数範囲の領域を 1 視野として、計数が必要な視野数を、視野範囲の面積及び要求される検出下限値から、以下の式によって計算する。なお、検出下限は、位相差顕微鏡法と同等程度であることが望ましいが、測定の実態に応じて要求される検出下限値を適宜設定してよい。

$$n_E = A / (a_E \times V \times S)$$

(n_E	: 必要な計数視野数
	A	: フィルターの有効面積 (mm^2)
	a_E	: 視野範囲の面積 (mm^2)
	V	: 吸引空気量 (L)
	S	: 要求される検出下限値 (f/L)
)		

なお、上の式を用いて決定した計数視野数によらず、アスベスト繊維を 200 本以上計数した場合は、標準誤差の観点から十分に精度が確保されると考えられるため、計数を終了してもよい（アスベスト繊維が 200 本に達した場合、その視野は最後まで計数すること。）。

6) 繊維状粒子の数の判定 :

種々の形態及び集合状態で観察される繊維状粒子の数の判定は、基本的に位相差顕微鏡法と同様に行う。なお、個々の視野において、計数視野範囲からはみ出た繊維については、視

野画面の右側及び底部からはみ出したもの以外の繊維は全て計数する。また、画面上で繊維の両端が確認できない繊維は計数しない（図12参照）。

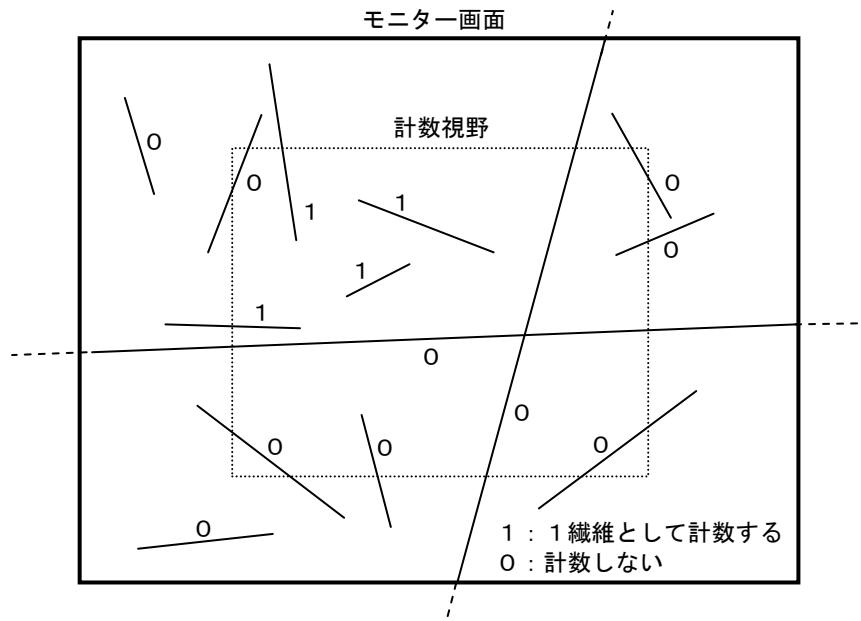


図12 はみ出した繊維の計数方法例

7) 繊維数の判定（英数字は18ページの図9参照）

- ① 単繊維の場合：上記（2）の1）で定義した繊維を1本と数える。（i）
- ② 単繊維でカールしている場合：繊維の直線部分を目安にしてカールに沿って真の長さをはかって判定する。（i）
- ③ 枝分かれした繊維の場合：1本の繊維から枝分かれしている繊維は全体で1本と数える。（vi）
- ④ からまっている場合：
 - (a) 数本の繊維が交差している場合は、交差しているそれぞれの繊維を1本と数える。（vii）
 - (b) 繊維がからまって正確な数を読みとることができない場合はその繊維は数えない。（ix）
 - (c) からまっている各繊維が、一本の繊維と見なせるくらい寄り集まっている場合は1本として計数する。（iii）
- ⑤ 粒子が付着している繊維の場合：粒子を無視して計数する。繊維の長さについては繊維が見える部分の長さを求め、粒子に隠れて見えない部分の長さは求めない。但し、繊維の両端が粒子に隠れず、1本につながって見える場合は、粒子に隠れている部分も含めて長さを求める。（iii）、（viii）、（x）
- ⑥ 一本の繊維の幅が一定で無い場合：幅の平均が $3\mu\text{m}$ 未満ならば計数する。この場合、付着物の膨らみは無視し、平均的な幅を以て繊維の幅とする。なお、疑わしい場合は、幅は $3\mu\text{m}$ 未満とみなす。（i）
- ⑦ 繊維状粒子の両端が計数視野範囲の境界外にある場合は、計数しない。（iv）（ix）

8) 計数にあたっての注意

① 計数の対象となる粒子

計数の対象となる粒子は長さ $5\mu\text{m}$ 以上、幅 $3\mu\text{m}$ 未満で、かつ長さとの幅の比（アスペクト比）が 3 : 1 以上の繊維状物質である。

② 焦点などの微調整

SEMで粒子を観測する場合、常に微動ハンドルを調節して、計数する部位にピントを合わせながら計数することが重要である。

9) フィルターブランク

測定誤差の原因となるようなフィルターブランク値が認められる場合もあるので、適宜、サンプリングに使用したものと同一ロットのフィルターについて、捕集したフィルターと同様の手順で標本を作製し、同数の計数視野について計数を行い、フィルターブランク値を求め、補正を行うことが望ましい。

10) 繊維数濃度の算出

① 繊維数濃度

次式によって繊維数濃度を算出する。

$$F_A = A \times (N_S - N_B) / (a_E \times n \times V)$$

F_A	: 繊維数濃度 (f/L)
A	: フィルターの有効面積 (mm^2)
N_S	: SEMで計数した繊維数 (f)
N_B	: ブランク値 (f)
a_E	: 視野範囲の面積 (mm^2)
n	: 計数した視野数
V	: 吸引空気量 (L)

(例) 倍率 1000 倍においてモニター画面上の 1 視野面積が 0.010536 mm^2 である SEM を仮定する。有効ろ紙直径が 35mm のとき、メンブランフィルターの有効ろ過面の面積は 961.625 mm^2 であるから、捕集流量 1200L 、SEM で 1000 視野を計数して 10 繊維が確認された場合、フィルターブランク値を 0 とすると、繊維数濃度は上式から 0.76 f/L となる。

なお、複数枚のろ紙を使用した時は、各ろ紙の計数繊維数から求められた繊維数濃度を時間加重（捕集量加重）平均して得られた値を繊維数濃度の値とする。

(例) 上記と同様の条件で計数し、300 視野を計数して SEM で 30 繊維が確認された場合、アスベストの繊維数濃度は 7.61 f/L となる。

また、200 視野を計数して繊維が 1 本あったと仮定したときの繊維数濃度は、 0.38 f/L となり、これが検出下限であり、定量限界は 1.01 f/L となる。

② 測定値の有効数字等

測定値の有効数字は原則として 2 桁とし、3 桁目以下は切り捨てること。

③ 幾何平均の算出

一般環境の地域においては、3回捕集を一連の測定としているため、各回の繊維数濃度を幾何平均したものを、当該地域の繊維数濃度とする。

3回捕集の幾何平均による繊維数濃度は、次式で求められる。

$$F_G = (F_1 \times F_2 \times F_3)^{1/3}$$

F_G	:	3回捕集の幾何平均による繊維数濃度 (f/L)
F_1	:	捕集1日目の繊維数濃度 (f/L)
F_2	:	捕集2日目の繊維数濃度 (f/L)
F_3	:	捕集3日目の繊維数濃度 (f/L)

なお、幾何平均による繊維数濃度は次の方法でも求められる。

$$F_G = \exp \{ (\log F_1 + \log F_2 + \log F_3) / 3 \}$$

この式では、各回の繊維数濃度の対数をとったもの ($\log F_1$ 、 $\log F_2$ 、 $\log F_3$) の平均値を求め、この指数を求めることによって幾何平均を算出する。

幾何平均を求める際、繊維が不検出 (ND) だった試料は、繊維が1本確認されたと仮定して繊維数濃度を算出し (検出下限値を与えて)、幾何平均の算出を行う。また、3回の捕集全てで不検出だった場合は、繊維数濃度は検出下限値未満とする。

(参考資料) アスベスト繊維及び類似繊維のSEM像及びEDXスペクトル

A-SEM法によるアスベスト繊維及び類似繊維のSEM像(二次電子像)、BSE像(反射電子像)及びEDXスペクトルを示す。なお、測定条件は次のとおり。

EDXスペクトルは、A-SEM法、A-TEM法でほぼ同様のパターンを示すので、電子顕微鏡で大気環境中のアスベスト繊維数濃度を測定する際の参考とされたい。

<測定条件>

・ 反射電子像およびEDX分析：

加速電圧 15kV

倍率 ×1000

真空度 30Pa

・ 二次電子像測定：

加速電圧 15kV

倍率 ×1000

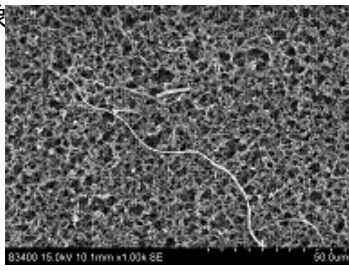
カーボン蒸着

<SEM像及びEDXスペクトル>

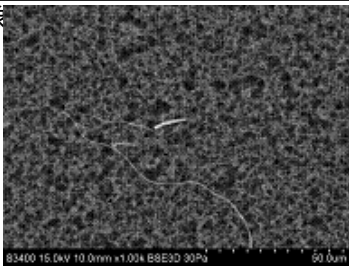
繊維種	繊維の情報（産地等）
1. アスベスト繊維	
（1）クリソタイル	UICC（国際対ガン連合）試料「クリソタイルB」
（2）アモサイト	UICC 試料
（3）クロシドライト	UICC 試料
（4）アンソフィライト	アフガニスタン産
（5）トレモライト/アクチノライト	熊本県山鹿産
2. アスベスト類似繊維	/
（6）ロックウール	
（7）グラスファイバー	
（8）セラミック繊維	
（9）石膏（硫酸カルシウム）	
（10）パルプ	
（11）ワラストナイト	
（12）塩基性硫酸マグネシウム	
（13）チタン酸カリウム	

(1) クリソタイル

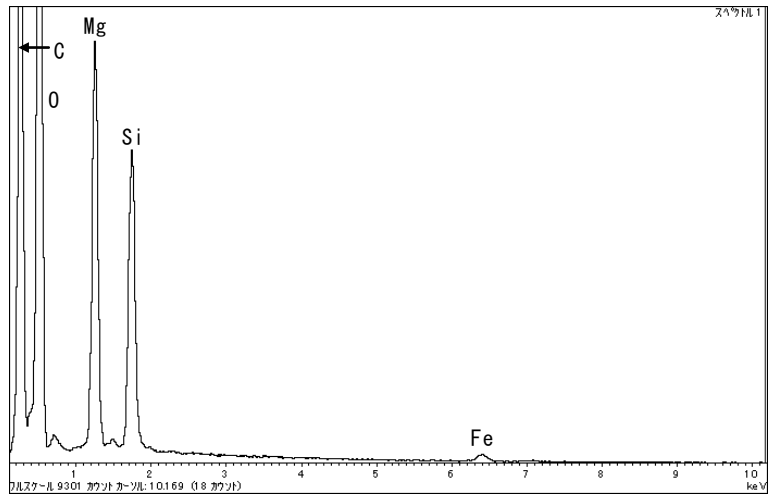
SEM 像



BSE 像

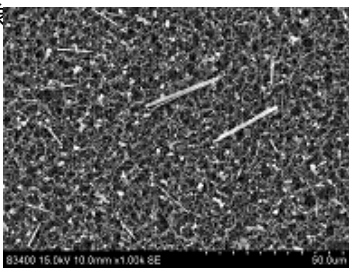


EDXスペクトル

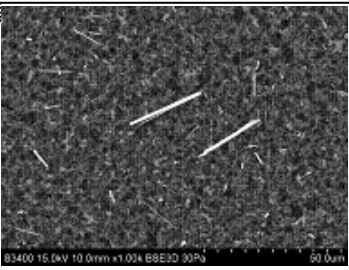


(2) アモサイト

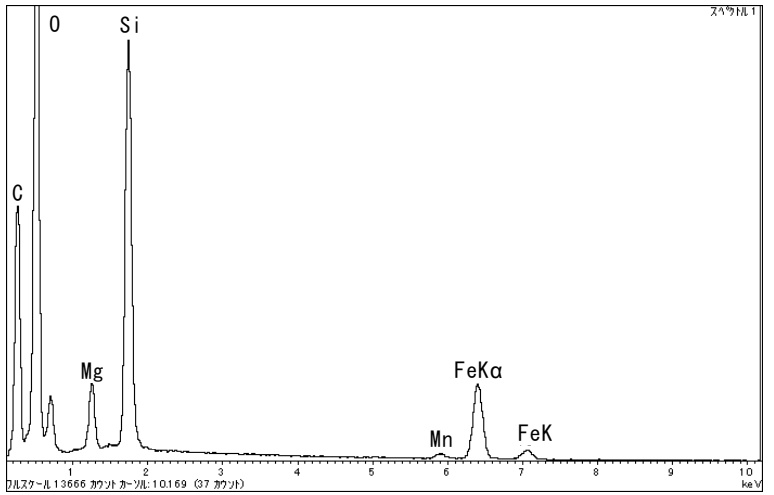
SEM 像



BSE 像

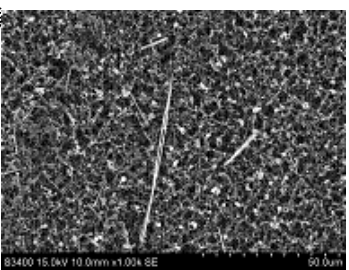


EDXスペクトル

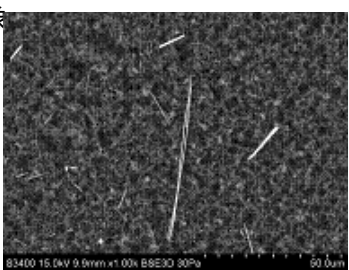


(3) クロシドライト

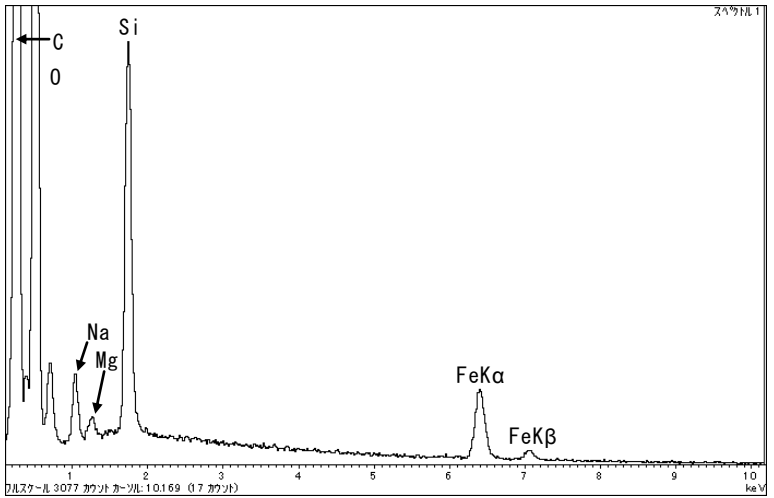
SEM 像



BSE 像

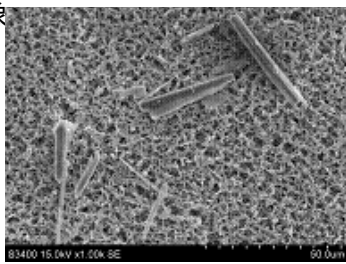


EDXスペクトル

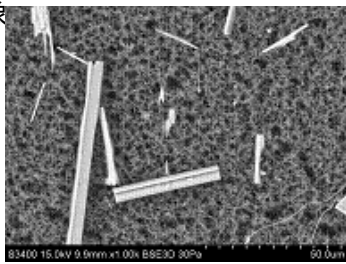


(4) アンソフィライト

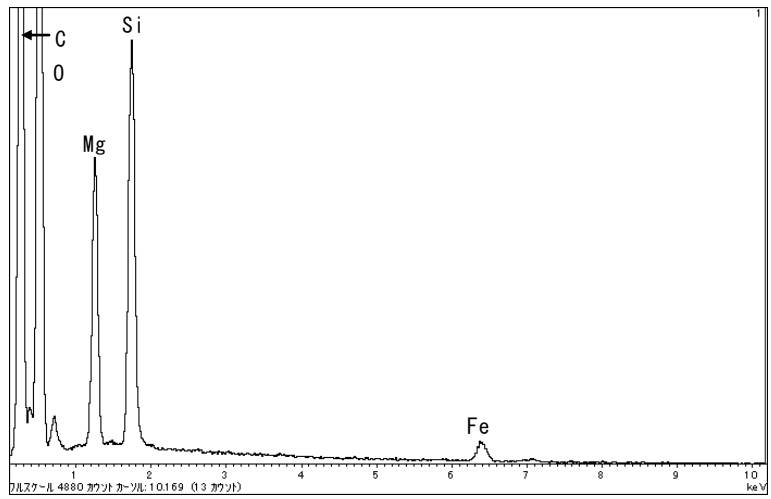
SEM 像



BSE 像

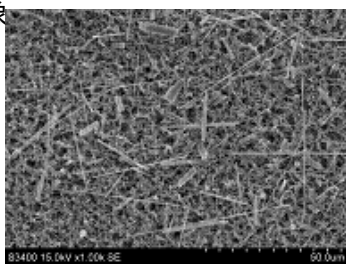


EDXスペクトル

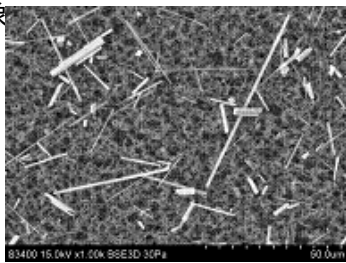


(5) トレモライト/アクチノライト

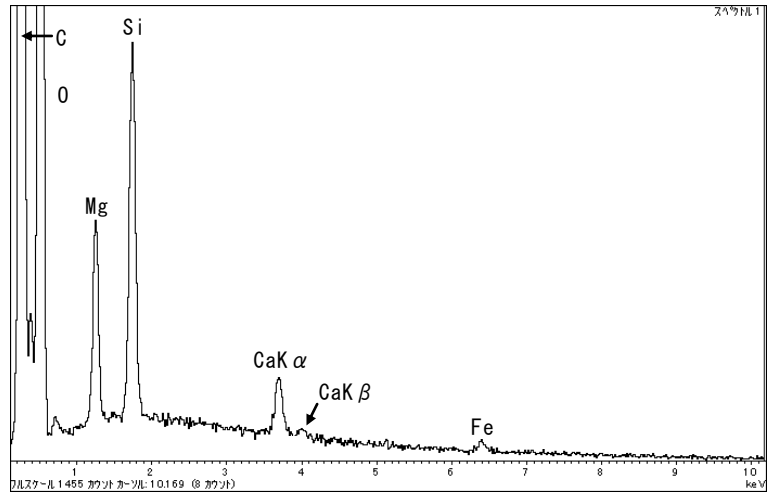
SEM 像



BSE 像

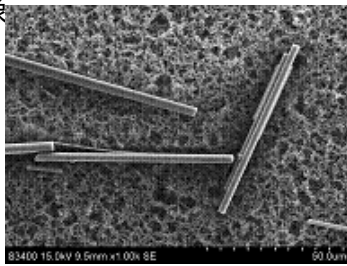


EDXスペクトル

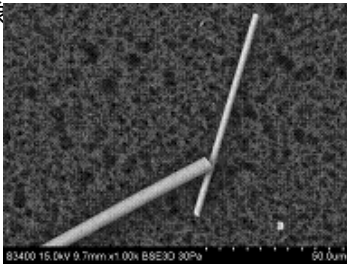


(6) ロックウール

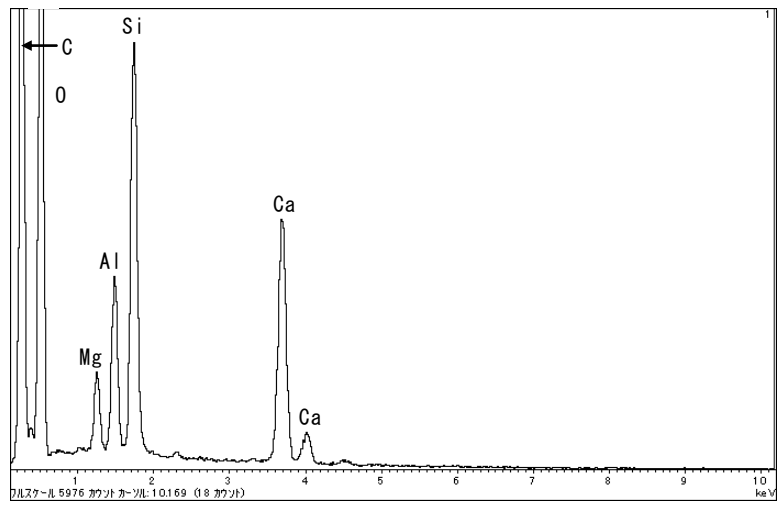
SEM 像



BSE 像

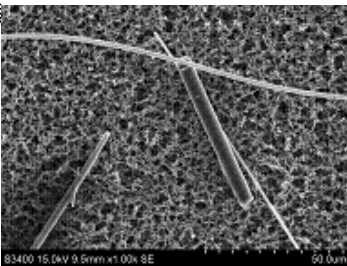


EDXスペクトル

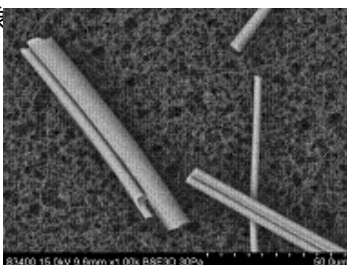


(7) グラスファイバー

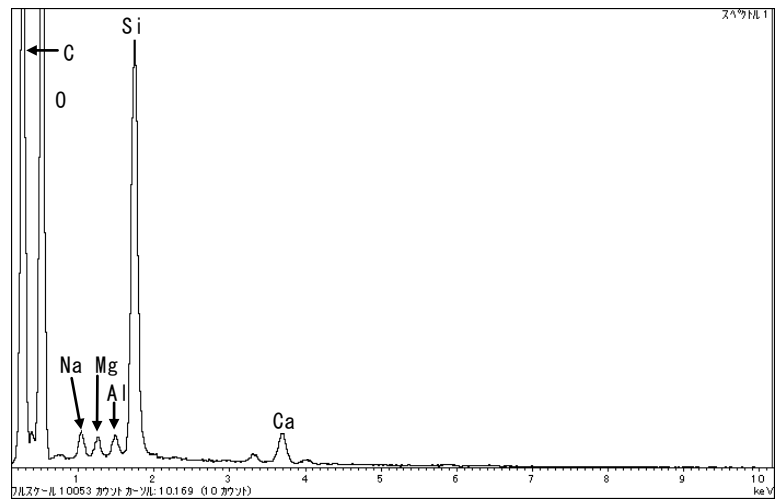
SEM 像



BSE 像

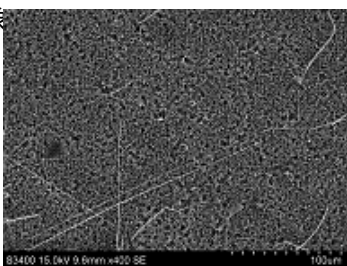


EDXスペクトル

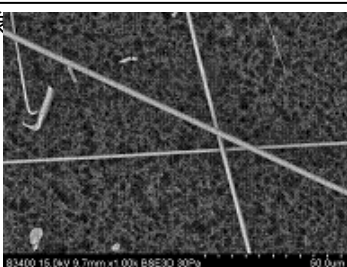


(8) セラミック繊維

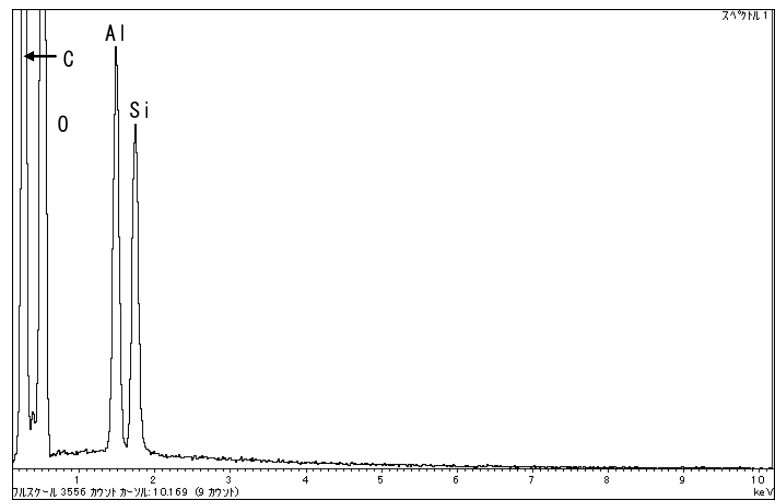
SEM 像



BSE 像

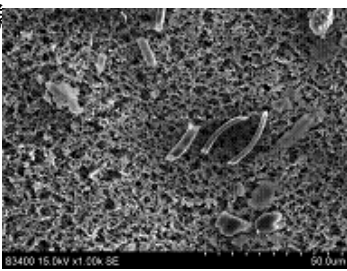


EDXスペクトル

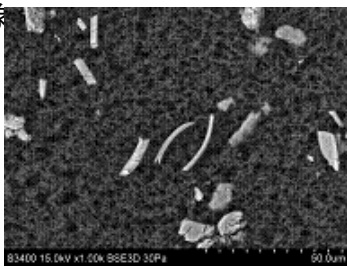


(9) 石膏 (硫酸カルシウム)

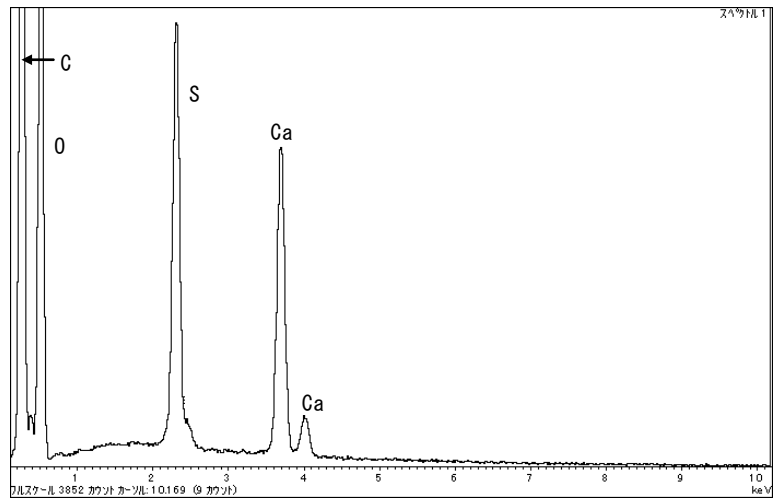
SEM 像



BSE 像

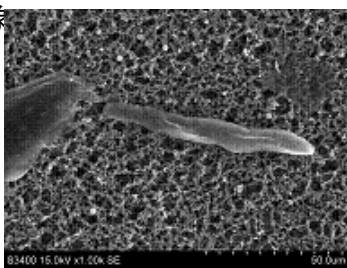


EDXスペクトル

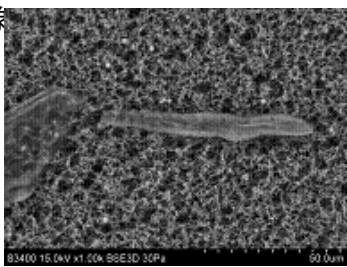


(10) パルプ

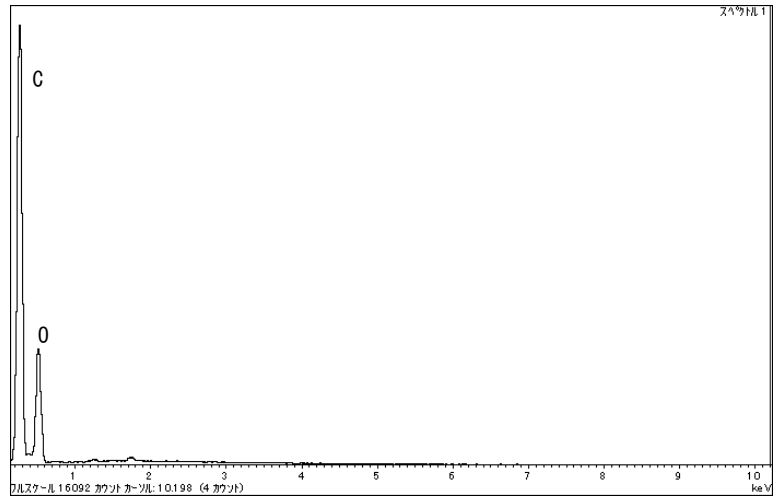
SEM 像



BSE 像

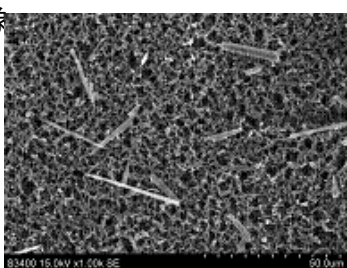


EDXスペクトル

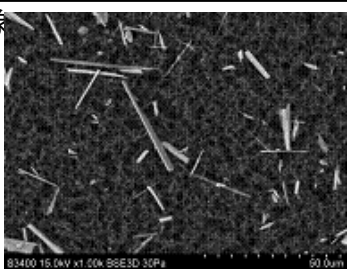


(11) ワラストナイト

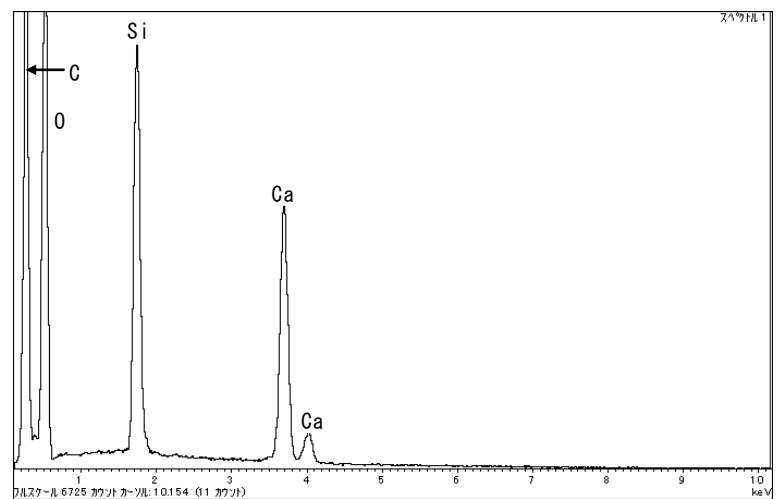
SEM 像



BSE 像

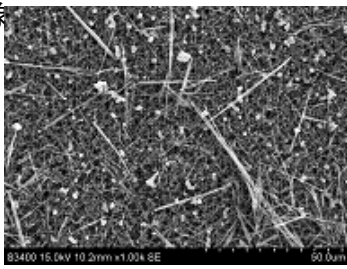


EDXスペクトル

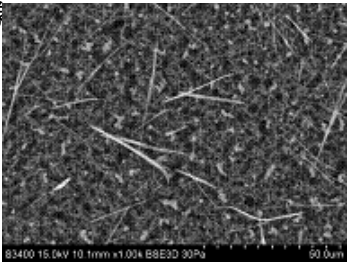


(12) 塩基性硫酸マグネシウム

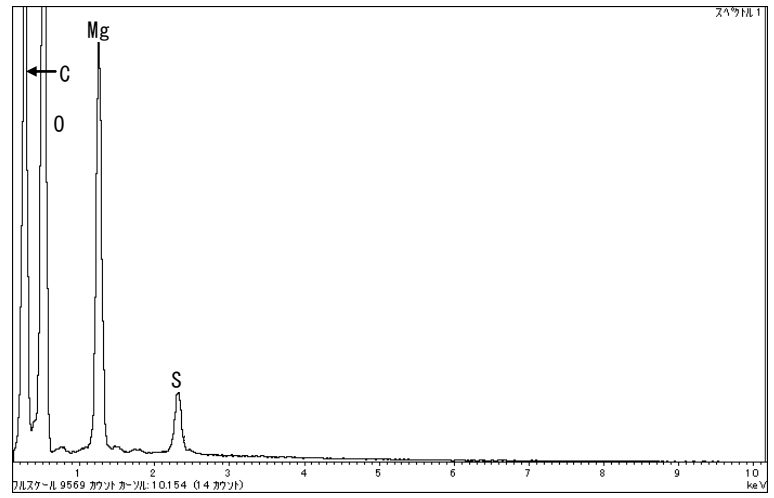
SEM 像



BSE 像

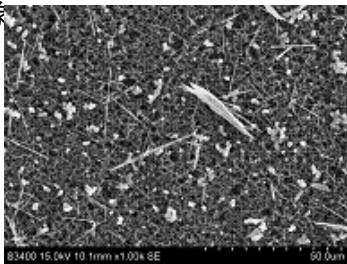


EDXスペクトル

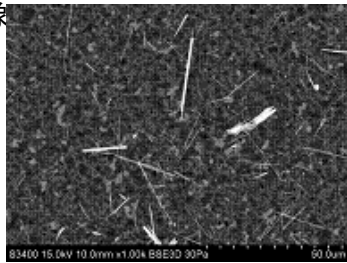


(13) チタン酸カリウム

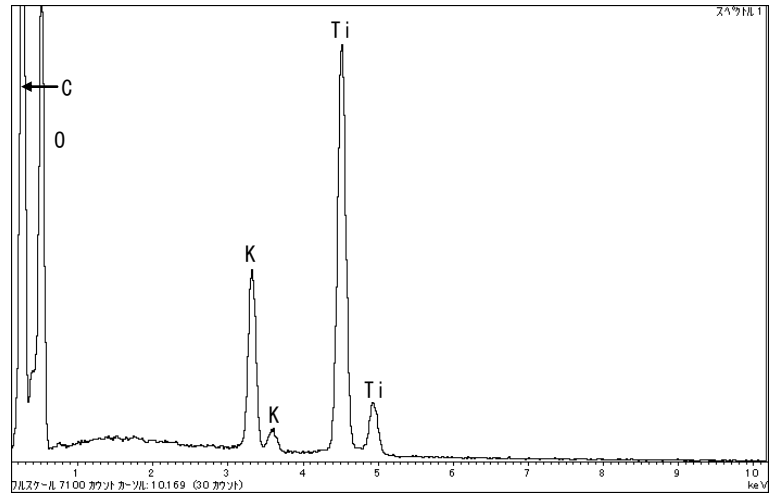
SEM 像



BSE 像



EDXスペクトル



2. 3. 4 分析透過電子顕微鏡法 (A-TEM)

A-TEMによる大気中のアスベスト測定方法は、一定容量の大気を通過させたメンブランフィルターをTEM標本に変換して、そのTEM標本に存在しているアスベストをTEMで計数するものである。TEM標本の作製方法には、アスベストを含む粉じんがメンブランフィルター上に捕集されたままの状態をTEM標本に変換する方法(TEM-1法)と、捕集したフィルター上の粉じんを別のフィルター(ニュークリポアフィルター)に移し、そのニュークリポアフィルターの一部をTEM標本に変換する方法(TEM-2法)とがある。

TEM-1法は、メンブランフィルターに捕集された試料状態が保持されたTEM標本となっているので、メンブランフィルターと1:1の対応がつけやすい。TEM-2法は、最初のメンブランフィルターの面積と次のニュークリポアフィルターのろ過面積の比率によって、濃縮(場合によっては希釈)が可能であり、一般大気のような低濃度アスベストをある程度濃縮した標本で計測を効率的に行えるという特徴を持つ。以下、TEM-1法とTEM-2法の詳細を記載する。

(1) TEM標本の作製方法

1) TEM-1法

- ① 試料捕集を行ったメンブランフィルターを捕集粉じん面をスライドガラス側に向けてスライドガラスに載せ、アセトン蒸気発生装置によってアセトン蒸気を発生させて接着する。
 - ② 低温灰化装置でフィルターその他有機物などを灰化する。
参考：灰化は、3個の試料管をもつ場合、約300W 1時間程度で完了する。
 - ③ 灰化後の試料部分の周囲をセロハンテープで縁取りし、試料部分とテープの両方の上にポリビニルアルコール(以下「PVA」という。)溶液を滴下し、楊枝の先などで広げて乾燥させる。乾燥は約55°Cの空気乾燥器中で2~3時間又は室温で1昼夜放置する。
備考1. PVA溶液には、重合度2000のPVA粉末を約100mlの精製ろ過水に約8%になるように加え、約80°Cの振とう温浴で約8時間振とうして溶解し、さらに約10,000回/minの高速で1時間遠心処理した上澄み液を用いる。
2. セロハンテープは、幅13mm程度のPVA溶液と接着性のよいものを用いる。
 - ④ 乾燥後、PVA膜をセロハンテープごととはぎ取り、反転して同じスライドガラスに新たなセロハンテープで固定する。
 - ⑤ その上に、カーボン蒸着装置によってカーボン蒸着を厚めに施す。カーボン膜の厚さは、50~100nm程度の厚めが望ましい。
 - ⑥ 替え刃メスでカーボン蒸着面に軽く3mmの升目を入れ、セロハンテープごと500mlビーカーの熱水に浮かべる。
 - ⑦ 2-3時間放置してPVA膜を完全に溶解・除去した後、浮いている3mm角のカーボン膜を試料支持メッシュ(Ni製がよい)で1枚ずつすくいあげ、乾燥してTEM標本とする。
参考 PVA膜の溶解を完全にするためには、できるだけ高温の熱水に適切な時間浮かべておくのが望ましい。そのために、ビーカーをマントル・ヒータに入れて熱水の冷却を防ぐ程度に低電圧で熱をかけるとよい結果が得られる。マントル・ヒータがない場合は、発泡スチロールの保温ケースをつくって断熱するだけでも効果がある。
- TEM-1法のメンブランフィルターからTEM標本への変換方法の概念図を次に示す。

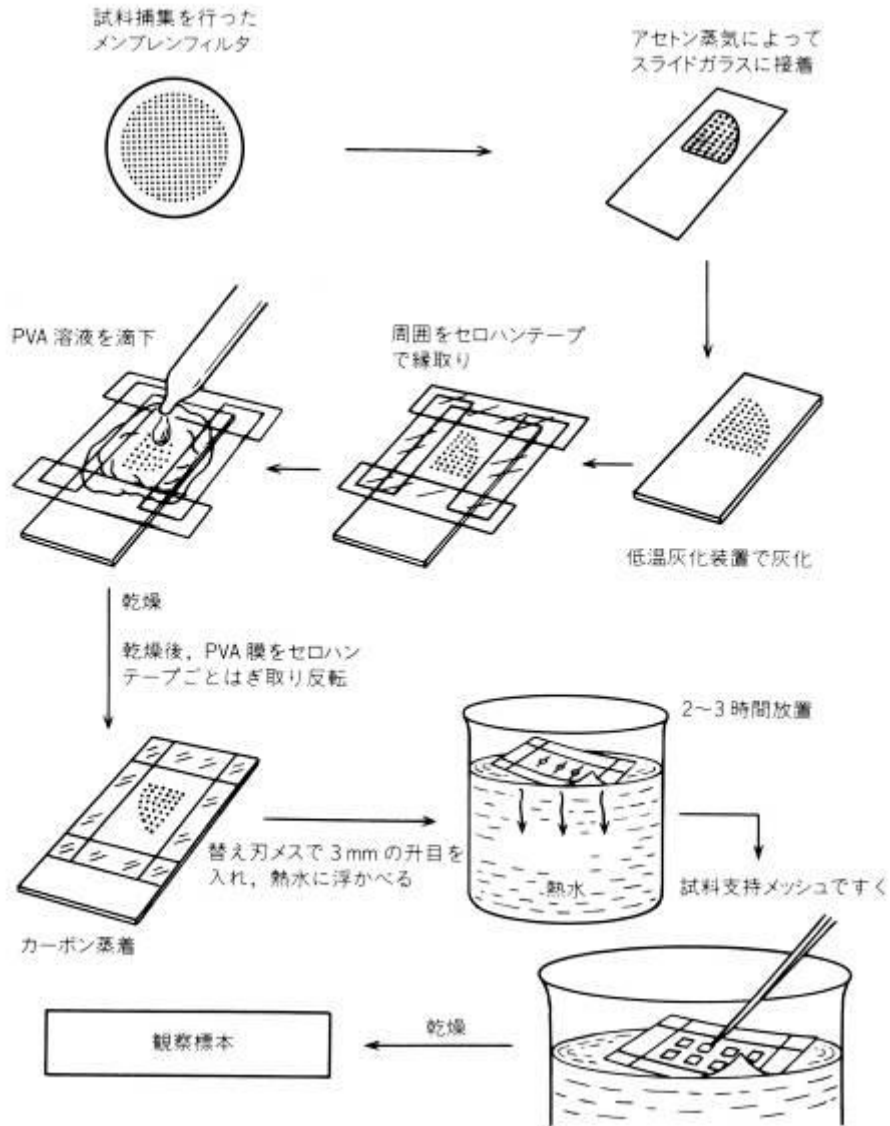


図 13. TEM-1 法の TEM 標本の作製方法

2) TEM-2 法

- ① 試料捕集したメンブランフィルターを、粉じん面をスライドガラスに向けて載せ、アセトン蒸気発生装置によって発生させたアセトン蒸気を吹き付けて接着する。
- ② 低温灰化装置で、フィルターなどを灰化する。
- ③ スライドガラス上に残った粉じんを、新しい片刃かみそり^{※5}でこそぎ取り、100ml コニカルビーカー中に移す。移すときに、片刃かみそりにこそぎ取られた粉じんを、洗びんのイソプロピルアルコールを吹き付けてコニカルビーカー中に洗い流す。最後に、イソプロピルアルコールを 50~80ml 程度になるように加える。

※5：新しい片刃かみそりは、パラフィンや油分が付着しているので、キシレンとエタノールで除去してから使用する。油分などが付着していると、かみそりにこそぎ取った粉じんがイソプロピルアルコールを吹き付けても落ちないことがあるので、注意を要する。

備考 イソプロピルアルコールは、あらかじめ孔径 $0.45\mu\text{m}$ のメンブランフィルターでろ

過しておいたものを用いる。

- ④ 超音波細胞破壊器（投入棒型）又は水浴型超音波洗浄器を用いて粉じんを軽く分散させ^{※6}、その液を吸引ろ過器を用いてポリカーボネートフィルター上に吸引ろ過する^{※7}。
※6：コニカルビーカー中の粉じんの超音波分散は、1分以内の短時間で済ますことが重要で、長時間超音波分散を施すと、アスベスト繊維のサイズ変化や構造破壊などが生じることがあるので、できるだけ避けること。
※7：ポリカーボネートフィルター上に吸引ろ過する際、粉じんを均一にろ過するとともにろ過器からの汚染を防止するために、新しいメンブレンフィルターを下敷きにする
とよい。
- ⑤ そのポリカーボネートフィルターの周囲を両面テープなどで固定し^{※8}、厚めにカーボン蒸着を施す。
※8：カーボン蒸着を施すために、ポリカーボネートフィルターの周囲を両面テープで固定する。そのために、両面テープをはったろ紙（直径100mm）にポリカーボネートフィルターの直径（25mm）よりやや小さめの円形の穴をいくつか開け、その穴にポリカーボネートフィルターを均等にはり付けるとよい。
- ⑥ カーボン蒸着を施したポリカーボネートフィルターから3mm角片を切り取り、それをクロロホルムを満たしたシャーレ中に作ったステンレス金網で覆った台上に置いた試料支持メッシュの上に、ポリカーボネートフィルターを下側にして1枚ずつ、1試料あたり4~5枚置く。
- ⑦ そのまま数時間から1昼夜室温で放置して、ポリカーボネートフィルターを溶かし去り、カーボン膜の残ったメッシュをTEM観察標本とする。

図14にTEM-2法のTEM標本作製方法の概念図を示す。

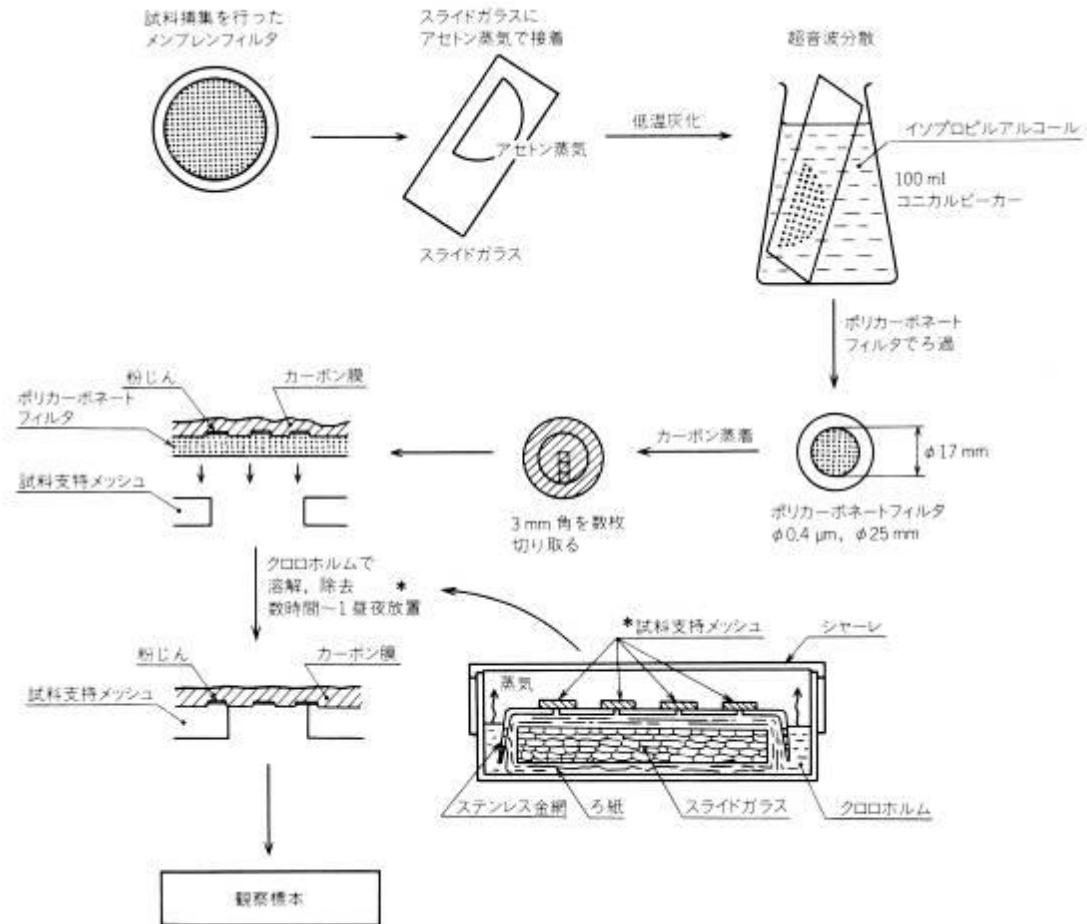


図 1 4. TEM-2 法の TEM 標本の作製方法

(2) 計数方法

蛍光板上に投影された像を見て、繊維の形態、構造などを判断し、必要に応じて繊維の EDX スペクトルを調べて、それらの種類を同定しながら該当するサイズのアスベストを計数する。

1) 計数繊維の決定

計数繊維の決定に当たっては、あらかじめ計数繊維の最小の大きさ(下限サイズ)を決めておき、そのサイズ以上の繊維について種類の同定を行い、アスベストであれば計数する。

① 位相差顕微鏡による繊維状粒子と同等の大きさの繊維を測定する場合は、SEM 及び TEM のいずれの方法によっても計数が可能である。

② 幅 $3\mu\text{m}$ 未満で長さ $5\mu\text{m}$ 以下の繊維状粒子を測定に含めて繊維数濃度を求める場合は、計数繊維の下限サイズを明示する必要がある。

備考 例えば、計測繊維のサイズを“長さ $1\mu\text{m}$ 以上、幅 $0.01\mu\text{m}$ 以上 $3\mu\text{m}$ 未満の繊維”のように示す。

2) アスベストの同定

アスベストの同定は、(2)の1)で決定した計数サイズの繊維について、アスベストかそれ以外の繊維かを判定し、もしアスベストならその種類を同定する。

- ① EDXスペクトルによる判定：SEM又はTEMで電子線を細く絞って繊維に照射して発生する特性X線をEDX検出器で受けてEDXスペクトルを得る。アスベストの種類ごとに特徴的なスペクトルを示すので、大抵はEDXスペクトルからアスベストの種類を決定できる。アスベストのEDXスペクトルを図15に示す。

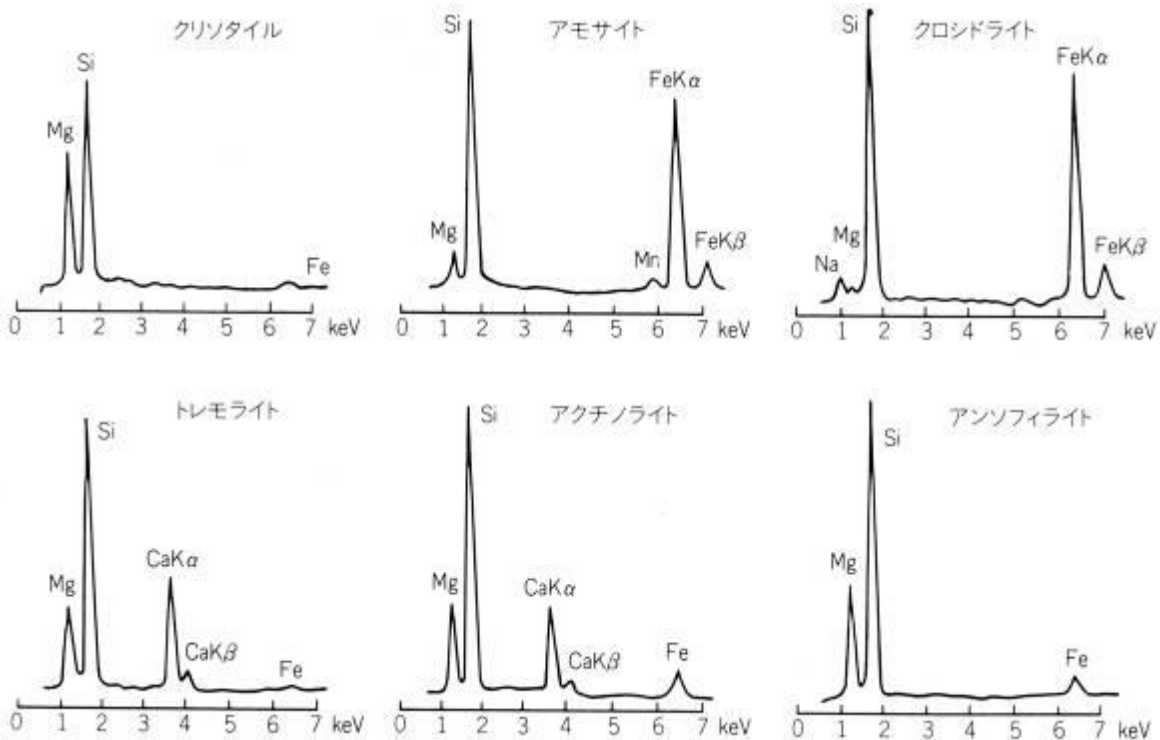


図15. アスベスト6種のEDXスペクトル図

- ② 形態からの判定：透過電子顕微鏡で観察してアスベストの種類を繊維の形態から判定できるのは、一般にはクリソタイルが挙げられる。クリソタイルは、太さ10~20nmの中空のストロー状繊維又はその集合した束状繊維として観察される。それ以外のアスベストは、形態のみではかなり困難である。
- ③ 電子線回折(ED)からの同定：TEMでは、通常電子線回折が行える。この電子線回折を蛍光板上で観察して、クリソタイルか角閃石アスベストかの判定ができる。しかし、角閃石の中のどのアスベストかの判定は、電子線回折パターンのみからはかなり難しい。

図16-1、16-2にクリソタイルとアモサイトの電子線回折パターンの例を示す。

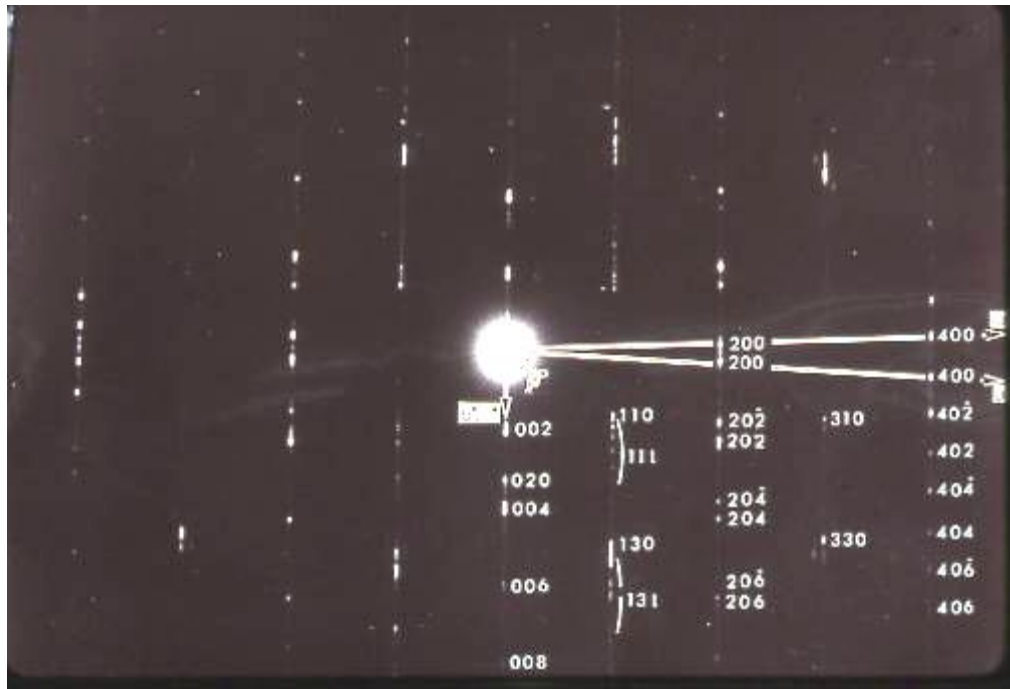


図 16-1. クリソタイルの電子線回折パターン

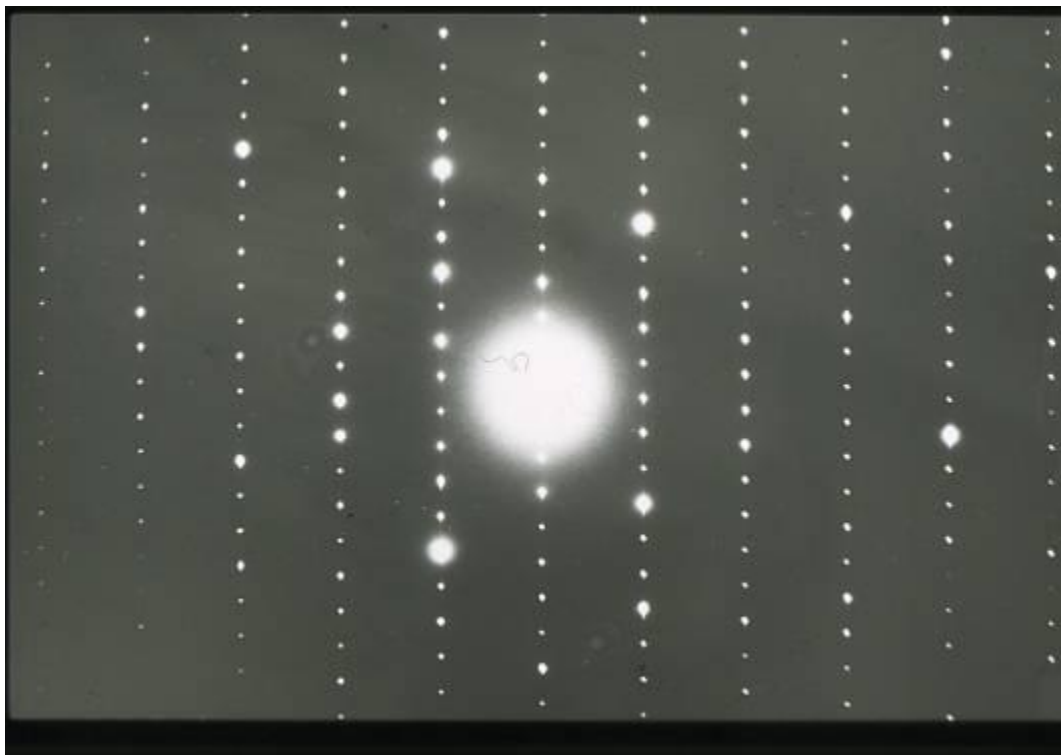


図 16-2. 角閃石アスベスト（アモサイト）の電子線回折パターン

3) 観察条件

- ① 位相差顕微鏡で観察する繊維と同等の大きさ（幅 $3\mu\text{m}$ 未満、長さ $5\mu\text{m}$ 以上、アスペクト比 3 以上）のアスベストを計数する場合：加速電圧 $80\sim 120\text{kV}$ 、倍率 $1000\sim 2000$ で行う。ただし、同定のために行う EDX 分析時には、必要に応じて倍率を $10000\sim 20000$ に上げて

観察を行う。

- ② 幅 $3\mu\text{m}$ 未満で長さ $5\mu\text{m}$ 以下、アスペクト比 3 以上の繊維を含めて計数する場合：加速電圧 $80\sim 120\text{kV}$ 、倍率 $10000\sim 40000$ 倍で行い、観察できる繊維幅の最小値を、 0.1mm とか $0.5\mu\text{m}$ というように明記しておく。

4) 計数視野数及び計数繊維数

- ① 位相差顕微鏡で観察できる同等の大きさの繊維を計数する場合：観察標本に用いた 200 メッシュの試料支持メッシュの 1 網目面積は、約 $100\times 100\mu\text{m}$ であり、同様に 100 メッシュは約 $225\times 225\mu\text{m}$ である。そのような面積をもつ網目を計数視野の一単位として、何網目計数するか、又は計数繊維総数を何本にするかを、試料捕集フィルターの面積や総吸引空気量、必要とする定量下限値などを考慮して決定する。

一般には計数視野数は、式 (1) によって決定する。

- ② 幅 $3\mu\text{m}$ 未満で長さ $5\mu\text{m}$ 以下、アスペクト比 3 以上の繊維を含めて計数する場合：観察標本の 1 網目を計数視野の単位として、何網目計数するか、又は計数繊維総数を何本にするかを、試料捕集フィルターの面積や総吸引空気量、必要とする定量下限値などを考慮して決定する。

一般には計数視野数は、式 (1) によって決定する。

$$n = \frac{A}{a \times Q \times S} \quad \text{—————式 (1)}$$

ここに、 n ：必要な計数網目数

A ：フィルター有効ろ過面積 (mm^2)

a ：1 網目の面積 (mm^2)

Q ：総吸引空気量 (L)

S ：必要な定量下限値 (f/L 又は f/cm^3)

備考 ただし、これは一応の目安であって、必要とする繊維数濃度の定量下限及び標準誤差によって、必要な計数網目数又は計数繊維数を設定することが重要である。

5) 繊維状粒子の数の判定

種々の形態や集合状態で観察される繊維状粒子の数の判定は、基本的には位相差顕微鏡法の規定と同様に行う。

6) 繊維数濃度の算出

繊維数濃度は、式 (2) によって算出する。

$$C_F = \frac{A \times (N - N_b)}{a \times n \times Q} \quad \text{—————式 (2)}$$

ここに、 C_F ：繊維数濃度 (f/L 又は f/cm^3)

N ：計数総繊維数 (f)

N_b ：ブランク値 (f)

7) 定量下限値

- ① 定量下限値：定量下限値は、計数網目数又は観察視野数と総吸引空気量に反比例して小

さくなる。その関係式は、式 (3) で表される。

$$S = 2.645 \times \frac{A}{a \times n \times Q} \quad \text{———式 (3)}$$

参考 有効径 36mm のフィルターに吸引空気量 300L、600L 及び 1200L を捕集した場合についての計数網目数 (200 メッシュの場合) の定量下限値の関係を図 17 に示す。この図から、例えば、10L/分で 1 時間空気捕集を行った場合に、観察試料の 10 網目を計数したとすると、その定量下限値は約 16f/L (0.016f/cm³) と求めることができる。

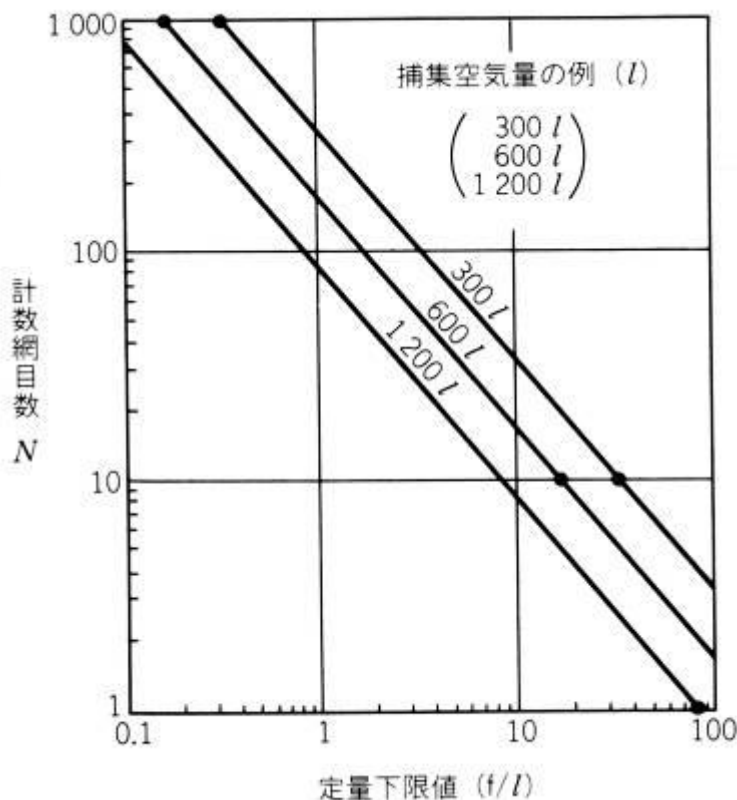


図 17. 計測網目数と定量下限値の関係図

8) 標本作製のコツ

① カーボン蒸着

カーボン蒸着膜の特性は、「機械的強度や耐電子線強度が高い」、「耐熱性、耐酸性、耐アルカリ性」、「蒸着膜の表面及び内部には特異な構造をもたない」、などである。

カーボン蒸着膜を作製するための市販のカーボン棒は、直径 5mm でカーボンの一端を細く削り、電流が流れるとき局部的に抵抗をもたせ、この抵抗によって発生する熱でカーボンを蒸着させる。真空中で蒸着膜を作製した後は、1 回 1 回先端を削る必要がある。

また、蒸着膜の膜厚は、脇に白いタイルを置き、その上に DP オイルを一滴おいて置き、オイルの所はカーボン膜が付かないので、その部分と蒸着膜の色を比較しながら蒸着を行えば、ほぼ同じ厚さに蒸着できる。

② 低温灰化法

低温灰化法は SEM と TEM のいろいろな部分で採用されている。いずれも粉じん捕集

メンブランフィルターをアセトン蒸気によってスライドガラスに接着し、酸素プラズマを発生する低温灰化装置に入れてメンブランフィルターそのものと捕集粉じん中の有機物などを100°C程度の低温で除去するもので、灰化後のスライドガラスにはアスベスト繊維など無機物質が残される。

この場合、フィルター灰化中に粒子が飛散しないようにフィルター上の粒子をスライドガラスにしっかりと接着させることが重要である。そのため、フィルターの粒子面をスライドガラス側に向けて接着することが重要である。

供給パワー(ワット数)と試料の灰化温度の関係は、ほぼ比例するので、あまり温度を上昇させないためには酸素量を十分供給し、なるべく低いワット数で灰化時間を長くするとよい。ただし、灰化時間はクリソタイルなど試料の損傷・変質を最小限に抑えるために、必要最小限にすることも要求される。通常、30分から1時間程度で終了させるのがよい。

低温灰化装置の試料管は、灰化中の試料への汚染(コンタミネーション)を防ぐために常に清浄に保つことが肝要である。試料処理の前後にブローで清浄ガスを吹き付けて試料管内部の粉じんを吹き飛ばしてクリーニングする。また、灰化後に空気を試料管に導入するとき、室内の粉じんを試料管に導入させないためにリークバルブの前にもろ過フィルターを装着しておくことも必要な汚染防止策である。灰化後のスライドガラスは、表面が活性化していて空気中の粉じんを吸着しやすい状態になっているので、素早くガラス製シャーレに保管し、そのまま運搬するようにする。プラスチック製シャーレは、静電気などの影響で粉じんを呼びやすいので、なるべく使用を避けたほうがよい。

9) 計数の要領

① 計数繊維の決定

測定対象の繊維(計数繊維)の「種類」及び「サイズ」の範囲の二つを最初に決めなくてはならない。電子顕微鏡法では、走査型電子顕微鏡(SEM)でも透過型電子顕微鏡(TEM)でも、繊維の長さとは幅はかなり正確に測定することができる。位相差顕微鏡法では、ある一定の試料作製法と観察倍率を規定すれば、見える繊維の最小サイズはほぼ一様に決まってしまうので、“長さ5 μ m以上で幅3 μ m未満、アスペクト比が3以上”というのが、一般的な測定対象繊維の定義である。電子顕微鏡法においては、その定義と同様にして繊維を計数すると、観察倍率によっては繊維の最小サイズ(特に幅)が位相差顕微鏡よりずっと細かいものまで見えることになり、計数すべき最小サイズをあらかじめ決めておかないと、観察倍率に依存して観察可能な繊維を全部計数することになり、どこまで細かい繊維が見える状態で計数したのかによって繊維数の測定結果に不正確さが生じてしまう。場合によっては、不必要な計数努力をすることにもなりかねない。

電子顕微鏡法では、一般に位相差顕微鏡よりかなり細かいものまで観察できる。例えば、アスペクト比3以上の条件を満たしている長さ5 μ mで0.1 μ mの繊維も0.05 μ mの繊維も共に数千倍の観察倍率のTEMで蛍光板の上で確認できるサイズである。このサイズの繊維は位相差顕微鏡法では全く観察できない細さの繊維である。そのため、電子顕微鏡では、位相差顕微鏡とは別に計数繊維の幅(特に最小計数繊維幅)の規定が必要である。

(a) 位相差顕微鏡と同等サイズの繊維の計数：電子顕微鏡法でも位相差顕微鏡で計数している繊維サイズと同等の繊維を計数することがある。従来の種々の研究報告から、最近の優れた分解能をもつ位相差顕微鏡及び試料処理方法の下では、幅約0.2 μ m程度までの

繊維は観察できるようになっていると考えられている。

一方、実際に位相差顕微鏡と電子顕微鏡の両方法による測定結果を比較してみると、位相差顕微鏡はたかだか $0.3\sim 0.4\mu\text{m}$ 程度の繊維幅のアスベストまでしか検出していないという報告もある。

現在、位相差顕微鏡による測定値と完全に一致させることは難しいが、一応、電子顕微鏡では長さ $5\mu\text{m}$ 以上、幅 $3\mu\text{m}$ 未満で $0.2\mu\text{m}$ 以上の繊維を測定すると、その計数結果は位相差顕微鏡の結果とほぼ同じ程度の値になると考えられる。

走査型電子顕微鏡法でも、この“位相差顕微鏡で観察できる同等の大きさの繊維”のアスベスト繊維数濃度を測定することは十分可能である。しかし、走査型電子顕微鏡法でこれ以下の細さの繊維を含む計数を日常的に行うにはかなり困難な作業となるので、それ以下の繊維を含む測定は、透過型電子顕微鏡によるほうがよい。

- (b) 位相差顕微鏡で検出できない細い繊維を含む計数：上記のように長さ $5\mu\text{m}$ 以上、幅 $3\mu\text{m}$ 未満で $0.2\mu\text{m}$ 以上の繊維を“位相差顕微鏡と同等サイズの繊維”として、それ以下のサイズの繊維を測定に含めて繊維数濃度を求める場合がある。その場合は、“長さ $1\mu\text{m}$ 以上、幅 $3\mu\text{m}$ 未満で $0.01\mu\text{m}$ 以上の繊維”のように、計数繊維のサイズ下限値を明示しなくてはならない。サイズ下限値を明示しないと、どこまで短い又は細い繊維を計数に含めたのか不明で、測定値の相互比較や特定のサイズの割合を求めることなどができなくなる。

② アスベストの同定

- (a) EDXスペクトルによる判定：EDX検出器を装着した分析透過電子顕微鏡（A-TEM）によってアスベスト 1本1本の元素組成を知ることができる。現在では、種々の補正計算のプログラムも開発され、1本1本のアスベストのEDXスペクトルから化学組成の定量分析もできるようになっている。しかし、アスベストの種類・同定が目的の場合は、その定性分析すなわちEDXスペクトルを得るだけで十分である。

EDXスペクトルのピーク強度は、同一の繊維でも若干変化することがあるが、アスベストの構成元素はあまり変わらないので、スペクトル全体のパターンはアスベストの種類ごとに図15とほぼ同様なパターンを示す。すなわち、SiとMgのピークだけが検出された場合、クリソタイルとアンソフィライトの可能性が高い。Mgの強度がSiの強度に比べて半分以下の場合、アンソフィライトの可能性が高い。この情報と次項の形態と電子線回折の情報を合わせると、完全に両者が同定できる。また、Si、Fe及びMgの組合せがアモサイト、それに弱いNaのピークが付加されたものがクロシドライト、Si、Mg及びCaの組合せがトレモライトで、それにFeが付加されたものがアクチノライトである。

アモサイトやクロシドライトなど角せん(閃)石系アスベストの識別は、形態と電子線回折だけからは難しいが、このようにEDXスペクトルからは容易に識別判定できる。さらに、EDXスペクトルは、電子線を細く絞って試料に照射しているので、直径 $10\sim 20\text{nm}$ 程度の極めて狭い領域の元素組成を検出している。したがって、繊維が何本か重なって集合していても、それらの1本1本からEDXスペクトルを得て識別することができる。

- (b) 形態からの判定：アスベスト繊維をTEMで詳細に観察すると、まずクリソタイルと角せん石系アスベストのアモサイトやクロシドライトとは同じ繊維状形態でも大きく異なることが分かる。クリソタイルは、1万倍以上の観察で繊維の中心部が繊維方向に沿っ

てやや明るいコントラストを示すのを蛍光板上ではっきり認めることができる。このコントラストは、クリソタイルが中空管状の結晶形態をもっていることに起因している。したがって、透過型電子顕微鏡の数万倍程度の倍率で中空状繊維が観察された場合、クリソタイルである可能性が高いといえる。

また、一般にクリソタイルの繊維は、角閃石系アスベストより細く、直径 $0.05\mu\text{m}$ 以下の繊維であることが多い。クリソタイルの太いものは、TEM でよく見ると必ず細い繊維の集合体の束であることが分かる。この性質も形態によるクリソタイル同定の重要な情報である。ただし、クリソタイルと似た繊維形態をもつものに、粘土鉱物の 1 種の管状ハロイサイトがあるので、場合によっては、EDX スペクトルを見て決めなくてはならない。管状ハロイサイトはアスベストではなく、花こう岩の風化地帯や関東地方に分布する火山灰層（関東ローム層）などに一般的によく見られる。クリソタイルの形態的特徴である中空管状形態を目印に同定した場合、唯一誤認するおそれのある鉱物がこのハロイサイトである。EDX スペクトルによる同定を組み合わせれば、この誤認は防げる。すなわち、両者の EDX スペクトルは、クリソタイルが Si と Mg のピークを示すのに対して、ハロイサイトは Si と Al のピークの組合せを示す。したがって、Mg 又は Al のピークが Si とともに出現することを目印に識別できる。

③ 観察条件

(a) TEM で位相差顕微鏡と同等の大きさの繊維を計数する場合：TEM で繊維状粒子の計数を行うとき、加速電圧は 100kV 前後が適当である。一般に TEM の場合、加速電圧の上昇に伴って像コントラストは同一の対物絞りを使用した場合は低下する。加速電圧が高いほど電子線の試料透過能力は増すので、やや厚い試料も観察できるという有利さがでてくるが、反対に像のコントラストが低下するという不利も生じる。像コントラストの低下は、ある程度対物絞りの穴径の小さいものを使用することで防げる。しかし、あまり小さい絞りを使うと観察視野がカットされるので、そうした対策にも限界がある。このような理由から、加速電圧の設定は 100kV 程度が適当であるが、 150kV や 200kV ではいけないというものではない。加速電圧と像コントラスト及び試料透過能の関係をよく理解して、コントラストの低い細い繊維も見落とすことのないように観察・計数することが重要である。

加速電圧が決まると次に観察倍率の設定であるが、まず表記の位相差顕微鏡と同等のサイズの繊維を計数する場合は、 $1000\sim 2000$ 倍の TEM での低倍率で行うと能率的である。TEM の $1000\sim 2000$ 倍程度の像は、十分なコントラストをもっている。 1000 倍で観察したとき蛍光板上では、 $5\mu\text{m}$ の長さの試料が 5mm の長さ、幅 $0.2\mu\text{m}$ の繊維は 0.2mm の幅でそれぞれ見えることになり、ともにルーチンワークでも十分検出できるサイズである。もちろん、これより高い倍率で計数を行うのもよいが、倍率が高いほど視野面積が小さくなるので、必要な観察視野面積を観察するのに労力がかかり過ぎることになり、目的と労力の関係から選択すべきである。

(b) TEM で幅 $3\mu\text{m}$ 未満で長さ $5\mu\text{m}$ 以下の繊維を含めて計数する場合：この場合は、どこまで細かい繊維を計数に含めるかをまず明記しなくてはならない。観察倍率と蛍光板上での大きさの関係は図 18 に示すようになる。すなわち、ルーチンワークで蛍光板上の像の存在を確認できるのが 0.5mm 程度とすると、 $0.1\mu\text{m}$ の大きさの試料が 0.5mm に見

える倍率は、5000倍である。クリソタイルの単繊維は、普通 $0.02\sim 0.04\mu\text{m}$ 程度である。その大きさを蛍光板上で直接見るためには、数万倍以上の倍率が必要であることが図18からも分かる。1000~5000倍の倍率にして、蛍光板上の像を電子顕微鏡に付属しているルーペ(通常、数倍~10倍程度)を使用して観察する方法でも、これら $0.02\sim 0.04\mu\text{m}$ 径のクリソタイル単繊維の計数が可能である。いずれにしても、表記の幅 $3\mu\text{m}$ 未満で長さ $5\mu\text{m}$ 以下の細かい繊維を計数に含める場合は、どこまで細い繊維又は細かい粒子が蛍光板上で観察できるかを、あらかじめ確認しておき、その必要な倍率以上の倍率で計数することが重要である。

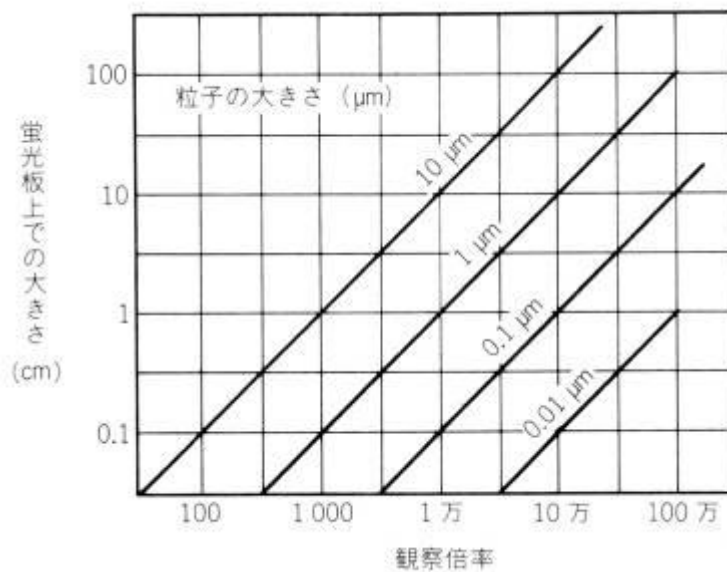


図18. 観察倍率と蛍光板上での大きさの関係

第3部 解体現場等におけるアスベストの測定方法

3. 1 試料の捕集方法

3. 1. 1 測定地点及び測定箇所の設定

(1) 測定地点

測定地点は表2のとおりとする。

表2 測定地点の区分

地点区分	該当する施設、地域
解体現場等	① 特定建築材料が使用されている建築物等の解体現場等 ② 石綿含有成形板等を扱う建築物等の解体現場等

(2) 測定箇所の設定

測定箇所は、次の事項を考慮して設定する。

解体現場等

- ① 特定建築材料が使用されている建築物等の解体現場等
- ② 石綿含有成形板等を扱う建築物等の解体現場等

作業が実施される施設（排出源）の直近で、多数の人の通行等がある場所（敷地境界でなくても良い）の4箇所（排出源をはさんで、主風向の風上・風下の2箇所と主風向に垂直な2箇所）とする。測定箇所は、排出源からできる限り等距離で、排出源から遮る障害物の少ない箇所を選定することを原則とし、敷地の形状、敷地内の排出源の位置等を考慮して、作業現場から一般環境への負荷の状況を把握するのに適した場所を選定することが望ましい。なお、ホルダーは、排出源の方向に向ける。

エレベーター内等の吹き付けアスベスト除去等、除去区域が建築物等の一部であり、養生の外で不特定多数の人が活動している場合には、施設の外部で測定することが望ましくないため、養生の外で不特定多数の人が往来する場所を敷地境界と見なして測定点を設定する。

また、作業員が出入りする際に、石綿が直接外部に飛散しないように設けられた室（以下、「前室」という）の入口の外側及び集じん・排気装置の外部への排気口（以下、「排気口」という）付近の近傍にそれぞれ最低1箇所測定すること。ホルダーは、排出源の方向に向ける。

3. 1. 2 捕集用装置及び器具

※「2. 1. 2 捕集用装置及び器具」に準ずる。

3. 1. 3 捕集条件

(1) 捕集回数

捕集回数はその作業が実施される1回（1日間）とする。

(2) 吸引流量、捕集時間及び捕集空気量

有効ろ紙直径が35mmの捕集用ろ紙を用い、吸引流量10L/minで連続4時間空気を捕集（2400L）することを原則とするが作業が捕集時間内に終了しても、連続4時間捕集を行う。

(3) 捕集高さ

原則として地上 1.5m以上 2.0m以内とする。測定点周辺の障害物等の影響が考えられる場合などは、適宜捕集する高さを設定してもよい。仮に、排気口が低い場合等は適宜適切な高さに設定する。なお、排気口が2階以上の高さの窓等から出されている場合は直近の敷地境界を測定箇所としてもよい。

(4) 測定点の決定

測定計画の際に主風向の情報から設定した大まかな位置と、風向に対する周辺の障害物等の影響等を考慮して測定点を決定する。なお、メンブランフィルターとポリカーボネートフィルターとを並行で捕集を行う場合は、2台の装置の設置高さ、ホルダーの向きを同一にし、2台の装置が互いに影響を及ぼさないように設置する。

3. 1. 4 捕集にあたっての注意事項

測定箇所が屋外の場合、降雨に備えてカウルを使用する事が望ましい。なお、フィルターホルダーとカウルは使用前に清掃する。フィルター上への粒子沈着量が多過ぎると顕微鏡観察が難しくなるので、粉じん濃度が高くなる可能性がある前室の入口の外側の測定箇所では粒子沈着量に注意すること。

なお、測定開始前に除去対象アスベストの種類を確認すること。また、除去対象のバルク試料等を事前に位相差及び偏光顕微鏡で観察しておくことが望ましい。

3. 2 繊維数濃度の算出

※8 ページの「2. 2 繊維数濃度の算出」に準ずる。

3. 3 解体現場における測定方法各論

3. 3. 1 測定手順

解体現場等で採取した試料の測定手順は図19にあるとおりであり、測定手順そのものは一般環境のそれとほぼ同様である。電子顕微鏡法はA-SEM法、A-TEM法のいずれも良いものとする。

位相差顕微鏡法で総繊維数を計数し、原則として総繊維数が1 f/Lを超過したものについては電子顕微鏡法により確認を行うこととし、場合によっては最初から電子顕微鏡で位相差顕微鏡法で計測できるものと同等サイズの繊維を計数することもできるように策定した。また、位相差顕微鏡で計数した総繊維数が1 f/Lを超過した場合、低温灰化を行い有機繊維を除去してもよい。

3. 3. 2 位相差顕微鏡法（PCM法）

3. 3. 3 分析走査電子顕微鏡法（A-SEM法）

3. 3. 4 分析透過電子顕微鏡法（A-TEM法）

※11 ページの「2. 3. 2 位相差顕微鏡法（PCM法）」～38 ページの「2. 3. 4 分析透過電子顕微鏡法（A-TEM法）」に準ずる。

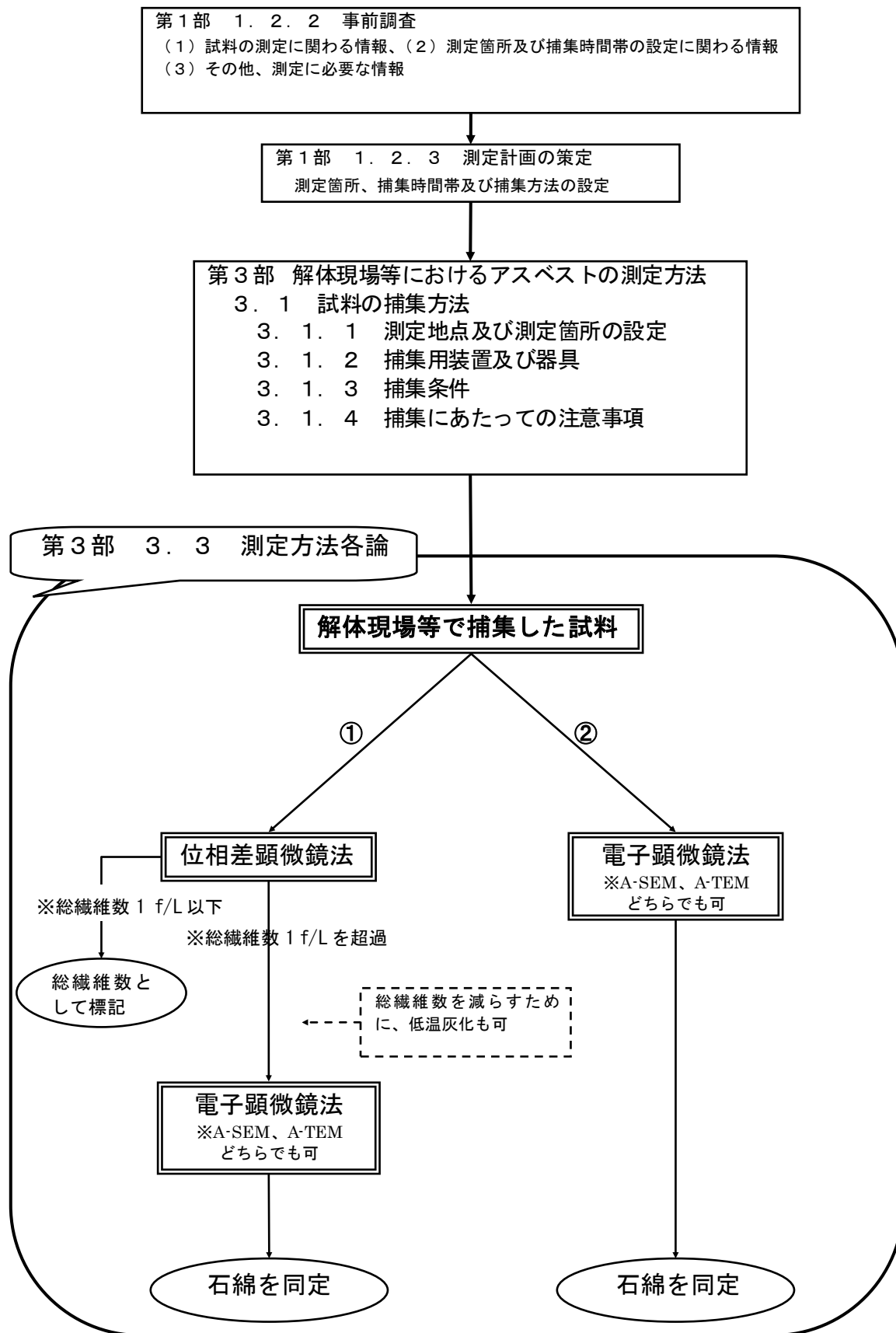


図19 解体現場における通常の測定フロー

(参考資料) 解体現場等における迅速な測定方法の紹介

これまで解体現場における測定方法について述べたが、この方法は試料の捕集時間が4時間であるうえに、採取した検体を持ち帰って分析する方法であり、結果が出るまでにはかなりの時間を要する。

一方、解体現場等は工期が数時間から数日間で終了してしまう場合も多いことから、飛散防止のためには、迅速な行政指導が可能となる方法が存在することが望ましい。

そこで解体現場等における迅速な測定方法の例として、図20の通り、「位相差／偏光顕微鏡法」、「蛍光顕微鏡法」、「可搬型等の分析走査電子顕微鏡法」、「繊維状粒子自動測定器による測定」の4つの方法を記載した。解体現場等に測定機器を持ち込み、その場で測定を行うことでアスベストが漏洩しているかどうかを確認することが望ましい。しかし、解体現場等においては測定を行うことができる場所がどうしても確保できない場合、又は解体現場の近くに研究所等の設備が整った施設がある場合など様々な状況が想定されるため、実際の測定に関しては、現場の状況を勘案し、柔軟に対応すること。

1 試料の捕集方法

3. 1の試料の捕集方法に準ずる。但し、「測定箇所の設定」に関しては、前室及び排出口を重視するものとし、「吸引流量、捕集時間及び捕集空気量」に関しては、原則として捕集時間は除去作業開始直後から30分間、吸引流量は10L/minとする(吸引空気量:300L)。

2 測定法の概要

「位相差／偏光顕微鏡法」は位相差顕微鏡によって計数された繊維状粒子について偏光顕微鏡による観測でアスベストと非アスベストに分別し、環境大気中のアスベスト濃度を測定する手法である。本測定法はターレットと対物レンズの切り替えだけで偏光法と位相差法を同時に行えるという利点があるものの、偏光顕微鏡は日本では普及していないため、今後、分析担当者の訓練が必要である。

蛍光顕微鏡法はアスベストと特異的に結合する蛍光タンパク質を介する事によって、アスベストを蛍光させる測定を行う方法である。この方法によってクリソタイル及び他の角閃石系のアスベストを同定することが可能であるとともに、ロックウールなどの非アスベスト繊維と識別してクリソタイルおよび角閃石アスベストを同定することが可能である。ただし、存在は少ないもののアスベスト以外の繊維(セラミック繊維、炭化ケイ素ウイスキー、酸化チタンウイスキー、ワラストナイト等)にも蛍光タンパクが結合し、角閃石アスベストとの識別が難しい場合があるので注意が必要である。

可搬型等の分析走査電子顕微鏡法は、位相差顕微鏡法等を超える精度を有する上に、EDXによりアスベストを同定できる利点があるが、装置が他の方法と比較して高額である。

繊維状粒子自動測定器による測定は総繊維濃度をリアルタイムで把握できるという利点を有するものの、他の測定方法との相関性などの課題が残っている。

上記の各測定方法にはそれぞれ長所、短所がある。現時点で従来の方法と比較して、必ずしも十分な知見が確立されていない部分もあり、また、同一のフィルターを各測定方法で測定しクロスチ

エックを行ったところ、定量的な観点からは十分な一致は見られなかった。しかし、解体現場等からアスベストが漏洩しているかどうかを確認する方法としては有効であると考えられるため、地方公共団体等からの要望も強いという事情を考慮して、本マニュアルにおいては紹介という形で取り上げることとした。

今後、さらなる知見の充実や技術の進歩に向け、所要の改訂について引き続き検討することとしている。

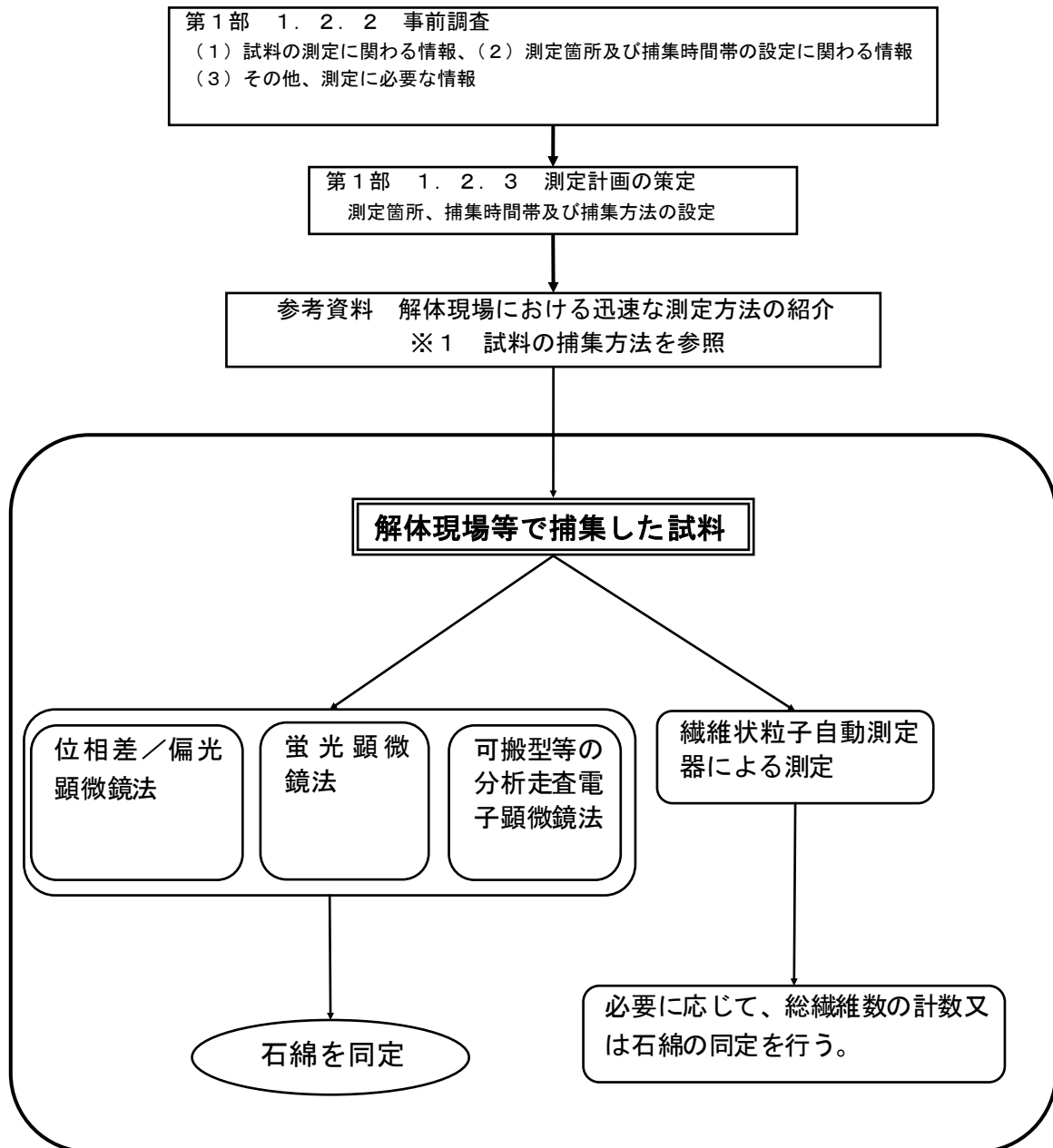


図20 解体現場における迅速な測定フロー

例 1 位相差／偏光顕微鏡法

偏光顕微鏡は物質の光学的性質を観測するための諸装置を備えた顕微鏡で、鉱物学の分野では鉱物の識別・同定のための有力な手段の一つとなっている。本測定法は、位相差顕微鏡によって計数された繊維状粒子について偏光顕微鏡による観測でアスベストと非アスベストに分別し環境大気中アスベスト濃度を測定する手法である。分析には位相差顕微鏡用コンデンサを装着した偏光顕微鏡を使う。同顕微鏡のレボルバに位相差用と偏光用の対物レンズを装着すると、ターレットと対物レンズの切り替えだけで視野を変えることなく位相差観察と偏光観察を行なうことができる。顕微鏡は、ターレットと対物レンズの切り替えだけで偏光法と位相差法を同時に行える「位相差／偏光顕微鏡」を使う。偏光顕微鏡には分解能の限界があり観測対象は $1\mu\text{m}$ 以上の径の繊維とされているが、対物レンズや光源強度の改良によって最近では $1\mu\text{m}$ 以下の径の繊維についてもその光学的性質の観測が可能になっている。

解体現場等では周辺環境へのアスベスト飛散防止のために迅速なアスベスト濃度測定が求められる。現場での分析（オンサイト分析）が可能で、サンプリング開始から 1 時間前後で飛散の有無を判定出来る本測定法は飛散防止対策に有効な手法となる。また解体現場等では除去工事前の吹き付け材中アスベスト含有検査によって除去対象アスベストの種類についての情報が得られるので、分析者は飛散の可能性のあるアスベストの種類を予め知ることが出来、それは分析精度の向上に資するものとなる。

なお、本測定法には偏光顕微鏡による観測のための基礎知識（複屈折、多色性、消光と消光角、伸長性の正負の観測）と分析のためのトレーニングが必要である。また、測定結果の精度維持のためには継続的な精度管理の実施が必要である。

（1）試料の捕集及び前処理

試料の捕集については、「1 試料の捕集方法」また試料の前処理については 11 ページの「2. 3. 2 （1）試料の前処理」に準ずる。

（2）繊維の計数

1) アスベスト分析用の位相差／偏光顕微鏡の仕様

透過ケーラー照明が可能な偏光顕微鏡であって、下記の条件を満たすもの。

- ① JIS B7251 に規定する偏光顕微鏡の基準系を備えている。
- ② 透過照明光源（ハロゲン 100W以上）と昼光色フィルタを備えている。
- ③ 対物レンズは、偏光観察用 10 倍（開口数 0.25 以上）と 40 倍（開口数 0.65 以上）、及び位相差用 10 倍及び 40 倍（開口数 0.75）を備えている。
- ④ 接眼レンズは 10 倍、または 15 倍を備え、十字線を刻んだ計測用のアイピースグレーティクルを備えている。
- ⑤ レボルバは、各対物レンズの光軸中心を、アイピースグレーティクルの十字線の中心に調整できる芯だし調整機構を備えている。
- ⑥ ステージ（載物台）は 360° 回転でき、JIS R3703 に規定するスライドガラス（標準形）が 1

枚以上装着でき、移動できる。また、回転の角度が測れる。

- ⑦ コンデンサは、使用する対物レンズのいずれよりも開口数が大きく、開口絞りを備えている。かつ、位相差用の対物レンズに対応でき、芯だし調整可能なリング絞りが組み込まれている。
- ⑧ 照明側にポラライザ（偏光子）を、観察側に挿脱可能なアナライザ（検光子）を備え、振動方向を互いに 90° に調整可能で、アイピースグレーティクル上の十字線の方向に合わせる事ができる。
- ⑨ 遅軸方向が表示され、挿脱可能でリターデーションが 530nm ないし 550nm の位相板（鋭敏色検板）を備えている。

2) 顕微鏡の調整（偏光顕微鏡）

顕微鏡の調整のうち「位相差顕微鏡」については「2. 3. 2 (2) 試料の計数 1) 顕微鏡の調整」に順ずる。

- ① 眼幅および接眼レンズの視度補正については位相差顕微鏡と同じ。
- ② 視野絞りの調整
 - (a) プレパラートを載せ対物レンズを 10 倍にして試料にピントを合わせる。視野絞りを最小にしてコンデンサーを上下調整し視野絞り像のピントを合わせる。
 - (b) コンデンサー芯出しネジで視野絞り像と視野を同心にする。
 - (c) 対物レンズを 40 倍に変えて、(a)・(b)の操作を繰り返し次に視野絞りを視野に外接するように調節する。
- ③ 対物レンズの芯出し

偏光顕微鏡ではステージを回転させて繊維状粒子を観測することに重要な意味がある。回転させた時回転の中心が変動すると観測に支障が生じるので、対物レンズ用の芯出しネジでステージの回転中心の調整を行う。迅速な観測を行うためには、ステージを回転しても視野の中心（十字線上）の粒子が移動しないように調整することが必須である。

 - (a) 対物レンズを 10 倍にする。視野の中心（十字線上）に任意の粒子 A を持ってきてステージを回転させる。中心調整が出来ていれば粒子は中心から動かない。回転につれて粒子 A が中心から離れる場合、360 度回転させる間にもっとも離れる位置で回転を止める。対物レンズ用の芯出しネジ（2 本ある）を廻して粒子 A を中心に持ってくる。再度ステージを回転させて粒子の動きを調べる、中心から離れる場合はもっとも離れた位置から中心へ戻す。粒子 A が中心から動かなくなるまでこの操作を続ける。
 - (b) 次に対物レンズを 40 倍にして同じ操作を行う。
 - (c) 芯だし機構付きの回転ステージが付属している顕微鏡の場合は、上記(a)の調整を回転ステージの芯だし調整で行い、(b)の調整を対物レンズ芯だしネジで行う。
- ④ 偏光板の直交ニコル（クロスニコル）調整（対物レンズは 40 倍のまま行う）
 - (a) 通常ポラライザは、偏光の振動方向が視野内の十字線の水平線に平行になるように取り付けられている。従って、アナライザの角度目盛を「0」に合わせておけばアナライザによる偏光の振動方向は十字線の垂直線と平行になり直交ニコル観察が出来る。
 - (b) ポラライザが可動の場合は、アナライザを光路に入れ角度目盛を「0」に合わせる。次

にプレパラートをブランク位置（試料が何もない位置）にして視野が最も暗くなるようポラライザを回転させる。さらに接眼レンズをスリーブから抜き、対物レンズの瞳面を見てアイソ ज्याアの十字の交点が生面を中心にあることを確認する。

⑤ グレイティクルについて

通常、位相差／偏光顕微鏡には接眼レンズに偏光顕微鏡観察用の十字線が固定されている。位相差顕微鏡での繊維計数には $300\mu\text{m}$ の円のあるグレイティクル（位相差顕微鏡用グレイティクル）が必要なので同グレイティクルを装着した接眼レンズを用意し偏光顕微鏡用接眼レンズと交換して繊維計数を行なう。位相差顕微鏡用グレイティクルの十字線を水平・垂直の方位に合わせるには、直消光であることが既知の結晶（例えばアモサイト繊維）を水平または垂直の消光位に置きその繊維の伸長方向にグレイティクルの十字線を合わせるとよい。接眼レンズが固定出来ず回転しやすい場合は十字線の方位を合わせたあと粘着テープで本体に固定する。

3) 位相差法による繊維の計数と偏光法による同定

本項は、まず位相差顕微鏡で繊維を確認した後、偏光顕微鏡で同定を行うという操作を繰り返すことで繊維の計数と同定を行う一連の手法を解説したものである。

① 計数手順（図 2 1 の位相差／偏光顕微鏡概略図を参照）

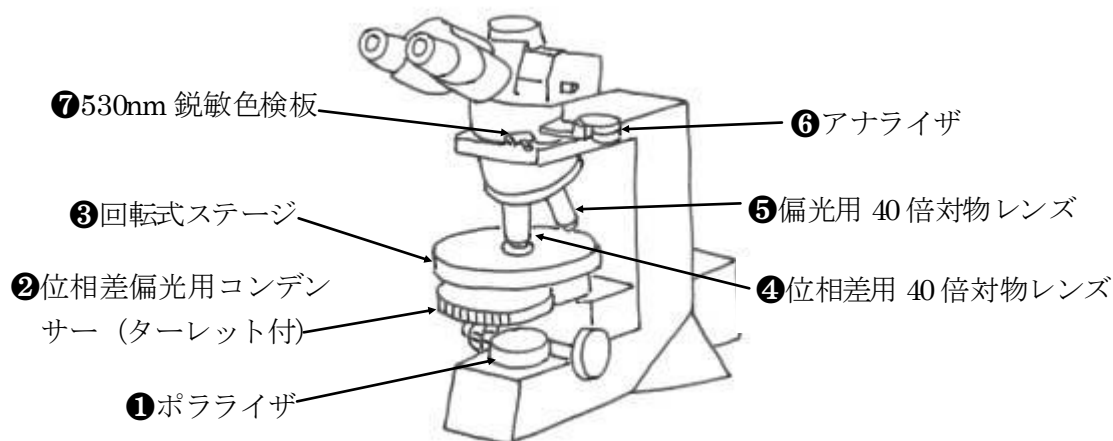
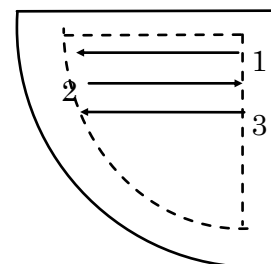


図. 2 1 偏光顕微鏡をベースにした位相差／偏光顕微鏡の概略図

(a) アナライザ（図 2 1 の⑥）を光路からはずしステージ（③）に標本を載せて、まず位相差法で繊維を計数する。対物レンズを位相差用 40 倍（④）にしてコンデンサターレット（②）を 40 倍対物レンズに対応する位置（通常「PH2」）にする。焦点を捕集面に合わせて繊維の計数を始める。なお、グリーンフィルターを使用するのが望ましい。



(b) 繊維計数ルールは、(1)長さ： $\geq 5\mu\text{m}$ 、(2)径： $< 3\mu\text{m}$ 、(3)アスペクト比： ≥ 3 、を満たす繊維を計数することとする。また事前に確認した除去対象アスベストの種類に関する情報（「3. 1. 4 捕集にあたっての注意事項」参照）をもとに繊維の形態についても留意しながら計数す

る。

- (c) グレイティクルの $300\mu\text{m}$ の円内の繊維を計数する。なお、計数は前頁の図のような視野の移動によって行う。フィルター切断線及び粒子付着領域の外縁から 1mm 以内は計数しないこととする。図のような視野の移動を行うためにはスライドガラスの側面またはフィルター切断線を東西方向に方位させなければならない。

視野内で切断線を東西方向に方位させた状態にしてステージ (③) 外縁の目盛で角度を確認しておく、ステージを回転させた時でもスライドガラスの方位を元の状態に戻すことができる。

- (d) 計数視野数は 50 視野とする。なお、50 視野を計数したときの検出下限値は、 0.9 f/L となる。

② 繊維の種類の間定

位相差法で計数すべき繊維を見つける度に偏光法によってその繊維についてアスベスト・非アスベストの判別を行う。偏光法によって観測出来る繊維の光学的性質については別添 1 に示す。アスベストの種類については、形態と光学的性質の観測からクリソタイルと角閃石系アスベストの分別が可能で、光学的性質の観測からクロシドライトを他の角閃石と分別することが可能である。

- (a) 位相差法で計数すべき繊維が見つかったら繊維の位置を記録紙 (別添 2 の 1 に例示) に書き込む。次に視野はそのまま、角閃石系アスベストのような直線状の繊維の場合は斜め 45 度の方位 (右上がり・左上がりのどちらでもよい。アスベストの場合この位置を対角位という) になるようにステージ (③) を回転させる。クリソタイルのように曲率を持っている繊維は繊維の一部が斜めになるように方位させる。対物レンズの芯出しが正確に出来ていれば繊維を視野の中心に移動させなくても偏光法の観察が可能である。

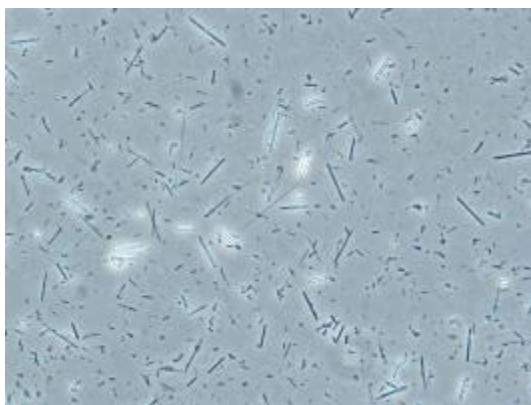


写真 1. アモサイトの位相差像

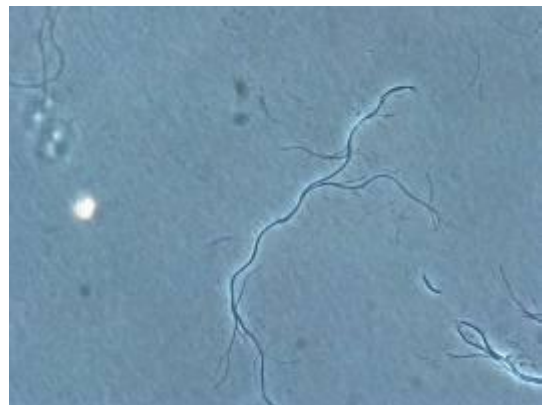


写真 2. クリソタイルの位相差像

- (b) 続いて偏光法による観測を行うためターレット (②) を明視野の状態 (目盛「0」) にして対物レンズを偏光用 40 倍 (⑤) に変え、角度目盛を「0」に合わせたアナライザ (⑥) を光路に入れて直交ニコルにする。「(a)」における対象繊維がアスベストまたは結晶性粒子なら繊維は灰色～白の干渉色を示す。ステージを回転させて繊維の明暗の変化を監察する。ロックウールやグラスウール等の非結晶質なら繊維は明るくならないが、結晶性の付着粒子によ

り一部が明るくなる場合があるので注意が必要である。また高分子繊維も非結晶質であるが複屈折の性質があるため明るくなるので注意が必要である。なお、直交ニコルにした時視野が暗すぎると繊維が判別出来ないのでコンデンサ絞り(②の下部にある)を調節すると背景が明るくなり繊維が見やすい状態になる。「繊維が見やすい状態」には個人差があるので背景と繊維とのコントラストを分析者がもっとも見やすい状態にしたのちに繊維にピントを合わせる。

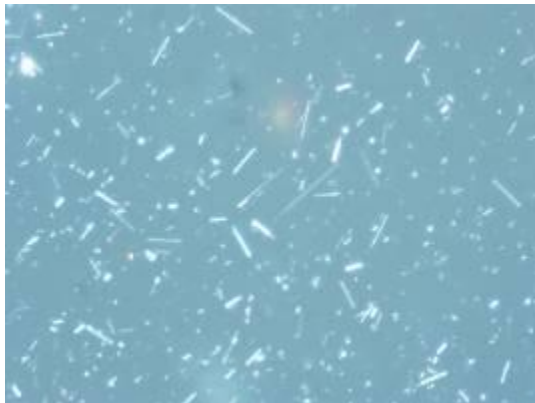


写真 3. 「写真 1.」の直交ニコル像



写真 4. 「写真 2.」の直交ニコル像

- (c) 直交ニコルの状態で鋭敏色検板(⑦)を光路に入れると、先に直消光を確認した繊維の伸長性の正負(「別添 1」参照)が確認出来る。バルク状では 6 種のアスベストのうちクロシドライトは伸長性が負でそれ以外は伸長性が正であるが、フィルター上ではクロシドライトも伸長性が正になることがあるので注意が必要である。
- (d) クロシドライトを他の角閃石系アスベストと分別する方法として、直交ニコルの状態からアナライザを反時計方向に 5 度ずらせて繊維の多色性を調べるという方法がある(別添 1 参照)。



写真 5. クロシドライトの多色性。右上がりの対角位では明るくなるが、左上がりの対角位では暗青色になる。

- (e) アスベスト・非アスベストの判別は、上記に示した繊維の光学的特性の観測及び繊維の形態観察から総合的に判定する。

- (f) 繊維を計数した視野番号、その視野の計数繊維数、及びそれぞれの繊維の分別判定の根拠となった光学的性質と判定結果（アスベストと判定した場合は「1本」と記入し、種類についても記入）を記録シート（別添2の2に例示）に記入する。
- (g) 偏光法による繊維の観測のためステージの回転や繊維の視野中心への移動を行った場合は、視野を元の状態に戻さなければならない。
- (h) 「(a)」の視野の繊維の種類の同定が終わるとアナライザ(⑥)を光路からはずしコンデンサターレット(②)を「PH2」にし対物レンズを位相差用40倍(④)にする。繊維の位置を書き込んだ記録紙を見て視野を元の状態に戻し、位相差顕微鏡による繊維の計数を次の視野について行う。

(3) アスベスト繊維数濃度の算出

アスベスト繊維数濃度は次式によって求める。

$$F_{as} = A \times N_{as} / a \times n \times V \cdots \cdots (i)$$

上式において F_{as} : アスベスト繊維数濃度 (f/L)

A : メンブランフィルターの有効面積 (mm²)

N_{as} : 位相差法で計数した繊維のうち偏光法でアスベストと判定した繊維数 (本)

a : 計数視野 (グレイティクルの円) の面積 (mm²)

n : 計数した視野数

V : 吸引空気量 (L)

(4) 検出下限値

① (i) 式から計算した検出下限値

50視野計数した時1本のアスベスト繊維が検出された場合を濃度の検出下限とすると、検出下限値 E は (i) 式に A=962mm²、a=0.071mm²、n=50、V=300L、 $N_{as}=1$ を代入して得られる ; $E = 0.9 f / L$ 。

別添 1. 偏光顕微鏡によって観測出来る繊維の光学的性質

偏光顕微鏡によって観察出来るアスベストと非アスベスト繊維の性状について以下に示す。

・多色性 (Pleochroism)

アスベストのうちクリソタイル、アモサイト、トレモライト、及びアンソフィライトはポラライザ(下方の偏光板)だけの偏光による観察(単ニコル観察)ではほとんど無色である。クロシドライトは本来強い光吸収特性を持っており、試料台を回転させて繊維を視野中で水平方向に方位させると暗い青色(dark blue)を呈し、垂直方向に方位させると淡い青灰色(pale blue-grey)を呈する。アクチノライトは水平方向に方位させると淡い緑色(pale green)を呈する。しかし、フィルター中のアスベスト(空気サンプル)は繊維径が数ミクロン以下のものが多いためそれらの特性を観察することは困難である。但しクロシドライトに対してはもっと感度の良い検査法がある。アナライザ(上方の偏光板)を挿入して、さらにアナライザの角度を垂直方向から反時計

回りに 5 度ずらす。その状態でステージを回転させて繊維を右上がりの対角位（視野中の方位を上を北として表わすと「北東—南西」の方位）にすると繊維は黄色を呈する。次に繊維を左上がりの対角位（「北西—南東」の方位）に回転させると繊維は暗い青色を呈する。このような色の变化を示す繊維を「多色性がある」という。アモサイト・トレモライトはどちらの対角位でも黄色のまま多色性は示さないのでクロシドライトとアモサイト・トレモライトとの分別が可能である。

・複屈折

物質内の光学的性質が方向にかかわらず同じである場合その物質は光学的に等方であるという。ロックウール・グラスウール等の非結晶質の物質は光学的等方体である。一方、方向によって光の速度、屈折率、吸収等の光学的性質が異なる物質もあり、これらは光学的異方体と呼ぶ。アスベストは光学的異方体である。光学的異方体の中に光が入ると速度の異なる 2 つの偏光に分かれて進む。この現象を複屈折という。2 つの光には速度の差があるので物質を通過する際に光路差が生じる。これをレターデーションと呼ぶ。レターデーションの大きさは光学的異方体の厚さと 2 つの屈折率の差の大きさの積によって決まり、長さの単位（通常 nm）で表わされる。また 2 つの光によって生じる干渉もレターデーションの大きさによって決まる。ミシェル-レヴィ干渉色図表はレターデーションの大きさと干渉色の関係を示している。光学的異方体の干渉色は直交ニコル（ポライザとアナライザを光路に入れた状態）での観察でわかる。空気中のアスベスト繊維や他の鉱物繊維は径が細いため干渉波は灰色～白を呈する。ステージを 360 度回転させて繊維の方向を変えると繊維は 4 回明暗の変化を繰り返して灰色～白の色合いを呈する。

光学的等方体のロックウールやグラスウールでは、ポライザによって一方向に偏光された入射光（視野の水平方向に振動する光）は物体内でも同じ振動をするだけである。顕微鏡上部のアナライザでは視野の垂直方向に振動する光だけが通過するので、光学的等方体を通過した光はカットされ物体がどの方向を向いても暗いままである。この性質を利用してロックウール・グラスウールの判別が可能である。

・消光角

クリソタイル、アモサイト、クロシドライト及びアンソフィライトは直消光で、トレモライト及びアクチノライトは直消光もしくは直消光に近い（直消光から 5 度以内）。繊維状でない蛇紋石または角閃石のへき開粒子は斜消光を示す。5 度以上の斜消光を示す繊維はアスベストではない^{※9}。但し、アモサイト、クロシドライト、トレモライト、アクチノライト等単斜晶系のへき開粒子はある特定の結晶面（{100}面）を下にして方位した場合直消光を示すので注意が必要である。また斜方晶系のアンソフィライトはアスベストもへき開粒子も直消光を示す。石膏とワラストナイトは斜消光である。

・伸長性の正負

繊維の伸長方向の屈折率が径方向の屈折率より大きい場合「伸長性が正」という（その逆は「伸長性が負」）。クロシドライトは伸長性：負で、それ以外のアスベストは伸長性：正である^{※10}。伸長性の正負は顕微鏡上部の「鋭敏色検板」を挿入して観測する。

アスベスト代替品であるワラストナイトは方位によって伸長性が変わるので、ワラストナイトが多く捕集されたフィルターでは類似の形態の繊維状粒子が正と負の伸長性を示すことが観察さ

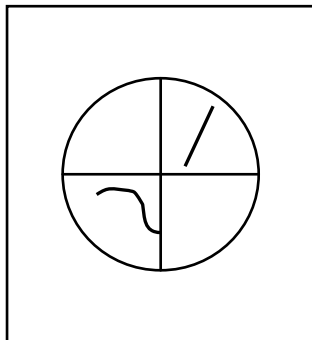
れる。その現象をもとに分別判定が可能になる。

※9：アスベストの消光角について McCrone は、クリソタイル・アンソフィライトについては0度、アモサイト・トレモライト・アクチノライトについては0～4度、クロシドライトについては0～5度としている。(W. C. McCrone 著「ASBESTOS IDENTIFICATION」(1988)等より)

※10：クロシドライトはフィルター上では伸長性が正となることがあるので注意が必要である。なお、その理由は明らかでない。

別添 2. 記録紙の例

1. 繊維の位置の記録紙の一例



2. 記録シートの一例

測定現場名:			測定日時:		
測定点:			吹き付け材の種類:		
視野番号	視野ごとの繊維数	偏光分析した本数	判定の根拠となった性状	アスベスト本数	アスベストの種類
2	1	1	針状、光学的等方	0	(ロックウール)
5	2	1	針状、直消光、伸長:正、多色性:変化なし	1	アモサイト
			1 針状、光学的等方	0	(ロックウール)
7	1	1	針状、直消光、伸長:正、多色性:変化あり	1	クロシド
11	1	1	針状、直消光、伸長:正、多色性:変化なし	1	アモサイト
15	2	1	針状、斜消光、伸長:正	0	(ワラストナイト)
			1 針状、光学的等方	0	(ロックウール)
.....					
21	1	1	細い曲線状、直消光、伸長:正	1	クリソタイル
35	1	1	短冊状、斜消光	0	(石膏)
50	1	1	針状、光学的等方	0	(ロックウール)
合計	50	10	10	4	

注：視野番号7のクロシドライトの「判定の根拠」の欄で伸長性：正となっていることについては別添1の※10を参照のこと。

例2 蛍光顕微鏡法

蛍光顕微鏡法は、蛍光物質で修飾したアスベスト結合タンパク質を用いて、微細なアスベスト繊維を検出する手法として近年開発された方法である。

アスベスト結合タンパク質はクリソタイルに特異的なタンパク質と角閃石系アスベストに広く結合するタンパク質の2種類を利用する。それぞれ蛍光色の違う蛍光物質で修飾すれば、色によってクリソタイルか、角閃石系のアスベストであるかのある程度の識別がつく。ロックウールなどの非アスベスト繊維と識別してクリソタイルおよび角閃石アスベストを同定することが可能である。ただし、存在は少ないもののアスベスト以外の繊維（セラミック繊維、炭化ケイ素ウイスキー、酸化チタンウイスキー、ワラストナイト等）にも蛍光タンパクが結合し、角閃石アスベストとの識別が難しい場合があるので注意が必要である。

試料捕集にはメンブランフィルターを使用するため、位相差顕微鏡法と共通のフィルターを利用することができる。フィルターの灰化処理の必要はない。

(1) 測定方法

使用する蛍光顕微鏡は、蛍光フィルターユニットを装備した落射型蛍光顕微鏡を用いる。励起光の光源は水銀ランプ(100W 超高压水銀ランプ仕様)、あるいはLEDのものを用いる。接眼レンズは倍率10倍、対物レンズは開口数0.65以上で倍率40倍とし、目視計数ではアイピースグレイティクル(大円: 300 μ m)を装着したのものを用いる。捕集したメンブランフィルターに蛍光タンパク質を滴下することにより、試料を調整する。

1) 試料の前処理(蛍光染色)

- ① 捕集したメンブランフィルターを切り取り、1/8片を利用する(11ページ 2.3.2(1)2)項参照)
- ② 切断したフィルターにPre-wash液1、Pre-wash液2を滴下し、続いてアスベスト蛍光染色試薬を滴下する(図2.2)。

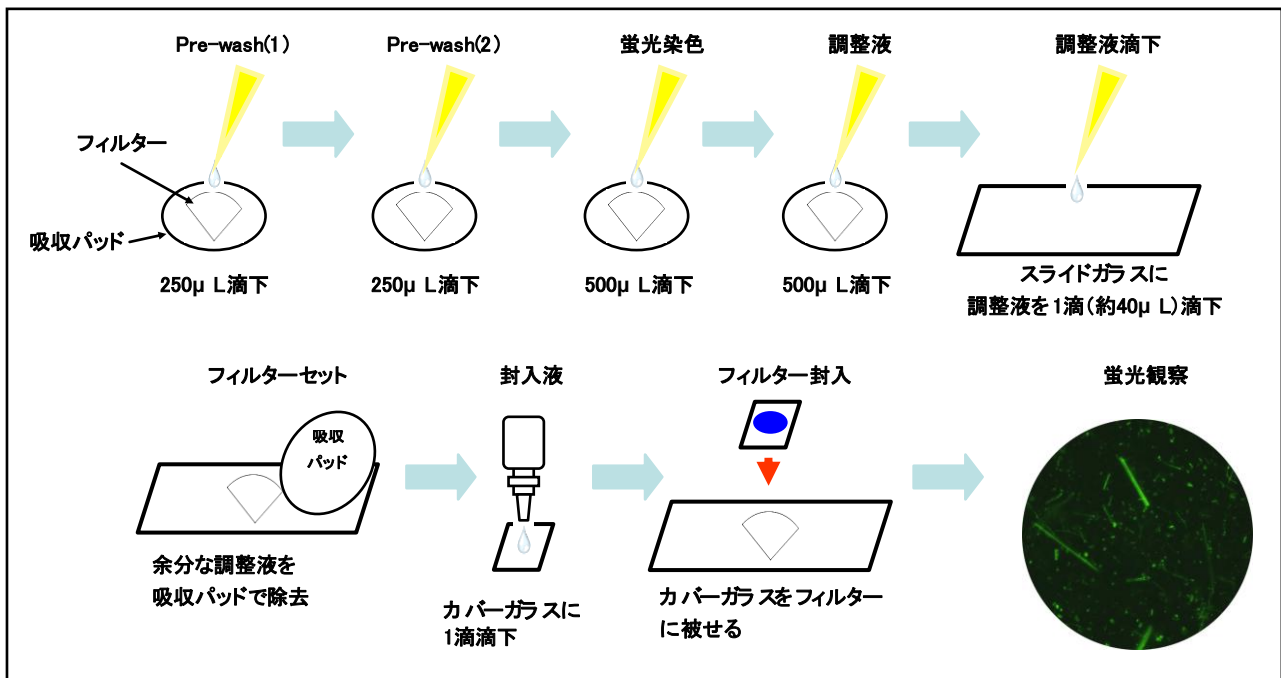


図2.2 蛍光顕微鏡法の操作方法

- ③ 調整液をフィルター並びにスライドガラスにも滴下し、大気捕集フィルターの捕集面を上にしてスライドガラスに乗せる。
- ④ 封入液をカバーガラスとフィルターの間に挟み込んで試料を作成する。
- ⑤ 蛍光顕微鏡を用い、繊維の計測を行う。

※スライドガラス及びカバーガラスは無蛍光のものが推奨される。

※アスベスト蛍光染色試薬は2010年3月現在、DSファーマメディカル社、シリコンバイオ社から販売されている。

(2) アスベストおよび非アスベスト繊維の同定

表3に繊維の蛍光色を示す。自動計数ではデジタルカメラを用いて1視野毎に画像を取得、自動計測ソフトで解析を行い、繊維状粒子の確認及び自動計数を行う。

表3 蛍光タンパク質の特異性と繊維の蛍光色

	繊維の種類	DksA ^{※1 1}	GatZ ^{※1 1}	色調 ^{※1 2}
アスベスト繊維	クリソタイル	+	+/-	橙～赤
	クロシドライト	-	+	黄緑～緑
	アモサイト	-	+	黄緑～緑
	アンソフィライト	-	+	黄緑～緑
	トレモライト	-	+	黄緑～緑
アスベスト以外の繊維	ガラスウール	-	-	-
	極細ガラス繊維	-	+	黄緑～緑
	ロックウール	-	-	-
	耐火性繊維 (RF1:セラミック、非晶質)	-	-	-
	耐火性繊維 (RF2:セラミック、非晶質)	-	-	-
	ケイ酸アルミ繊維 (RF3:セラミック、結晶質)	-	+	黄緑～緑
	チタン酸カリウムウイスキー	-	-	-
	炭化ケイ素ウイスキー	+	+	黄緑～緑
	酸化チタンウイスキー	-	+/-	黄緑～緑
ワラストナイト	-	+	黄緑～緑	

※1 1: 使用するアスベスト結合タンパク質はクリソタイルに特異的に結合するDksAと角閃石アスベストに結合するGatZタンパク質の2種類を利用する。例えば、DksAをCy3(550nm付近で励起され、570nm付近の赤色の蛍光を呈する化合物)で修飾したもの(DksA-Cy3)と、GatZをFITC(495nm付近で励起され、520nm付近の緑色の蛍光を呈する化合物)で修飾したもの(GatZ-FITC)を用いれば、クリソタイルは赤色蛍光、角閃石アスベストは緑色蛍光を呈する。また、両アスベストの識別が必要でない場合、DksAとGatZの両方をFITCで修飾したものをを用いてもかまわない。

※1 2: 蛍光フィルターや光源の種類によって、若干色調が変わってくるため、測定前に標準物質を用いて蛍光色を確認しておくことも有効である。標準繊維を用いた場合の画像を参考資料1に示す。感度に関しても蛍光フィルターや光源の種類によって若干変わってくるが、一例を参考資料2に記す。

(3) 繊維の計数

1) 蛍光顕微鏡の調整

蛍光顕微鏡の調整は使用する蛍光顕微鏡の取扱説明書に従い行うこと。

2) 計数の準備

位相差顕微鏡法と同様に、接眼レンズの中にアイピースグレイティクルを装着し、ステージ

に対物測微計をのせて検鏡する（15 ページ 2. 3. 2（2）2）項参照）。

3）計数対象繊維

長さ $5\mu\text{m}$ 以上、幅（直径） $3\mu\text{m}$ 未満で、かつ長さとの比（アスペクト比）が 3 : 1 以上の繊維状物質を計数の対象とする。

4）計数の手順

- ① 計数を始める前に水銀ランプ電源装置のメインスイッチを ON にし、水銀ランプを点灯する（点灯後、5～10 分でアーク像が安定する）。このとき、蛍光顕微鏡のシャッターは閉じておく。LED ライトの場合すぐに観察可能。
- ② 二色の蛍光の場合、Dual Band 対応蛍光フィルターユニットを光路に入れた後、倍率を 400 倍にする。
- ③ シャッターを開き、ピントを合わせた後、アイピースグレイティクルの大円（直径 $300\mu\text{m}$ ）を 1 視野の範囲とし、この範囲内に存在する対象繊維を計数する。
- ④ ステージを移動させる（縦横ランダムに移動）。
- ⑤ 再度、シャッターを開きピントを合わせた後、対象繊維を計数する。種々の形態及び集合状態で観察される繊維状粒子の数の判定は、位相差顕微鏡法と同様に行う（17 ページ、2. 3. 2（1）5）参照）。
- ⑥ 検鏡した視野の数が 50 視野になるまで計数を行う。

5）計数にあたっての注意事項

- ① 蛍光の退色を最小限に留めるため、1 視野あたりの計数は 1 分程度で終了することが望ましい。また計数終了後は直ちにシャッターを閉じた方が望ましい。
- ② 自家蛍光を発する有機繊維やその他の繊維状物質の影響が考えられる場合は、蛍光フィルターユニットを U 励起用（励起波長：330-385nm, 蛍光波長：420nm）などに変更することで確認もできる（FITC は U 励起で励起されない。U 励起で蛍光を発していた場合は自家蛍光であると考えられるので、非アスベストと判定できる）。
- ③ 自家蛍光を有する物質の混入によりバックグラウンドが上昇、コントラストが弱くなり見えにくくなる場合もあるため、この点については十分に注意する必要がある。

(4) 繊維数濃度の算出

前記4) で計数したアスベスト繊維数をもとに、環境大気中に浮遊しているアスベストの繊維数濃度を次式で求める。

$$F_c = A \times N_f / (a \times n \times V)$$

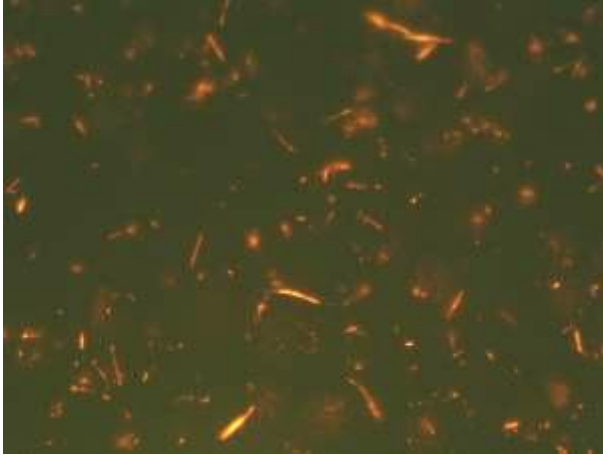
- F_c : アスベスト繊維数濃度 (f/L)
- A : メンブランフィルターの有効面積 (mm²)
- N_f : 蛍光顕微鏡法で計数した繊維数 (f)
- a : 視野範囲 (アイピースグレイティクル) の面積 (mm²)
- n : 計数した視野数
- V : 吸引空気量 (L)

(参考資料)

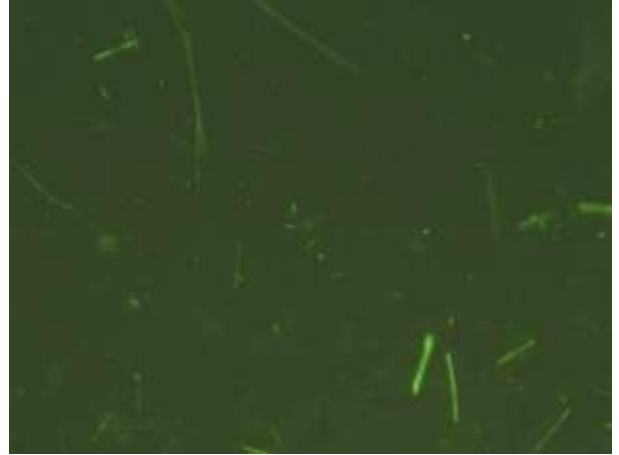
1, 標準繊維の画像

1) アスベスト繊維

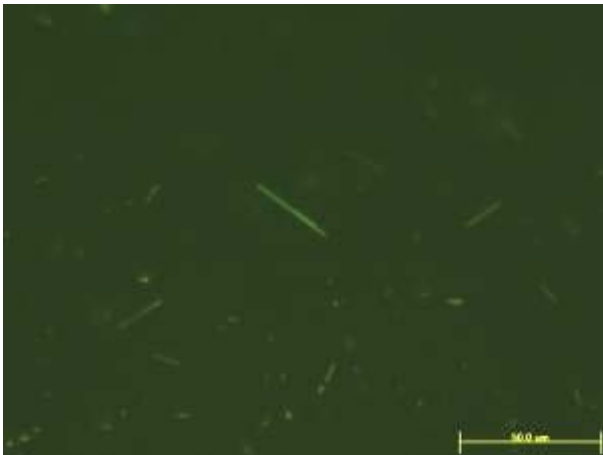
① クリソタイル



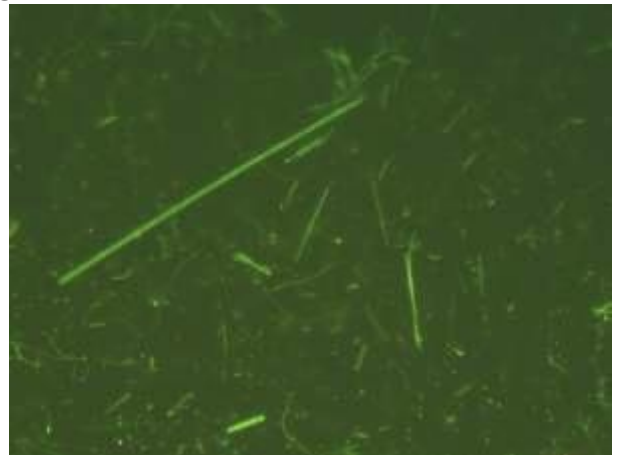
② クロシドライト



③ アモサイト



④ アンソフィライト



⑤ トレモライト



2) アスベスト以外の繊維

① ガラスウール



② 極細ガラス繊維



③ ロックウール



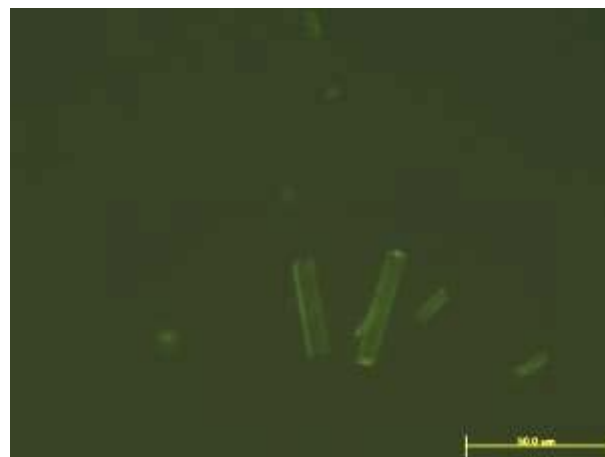
④ 耐火性繊維 (RF1:セラミック、非晶質)



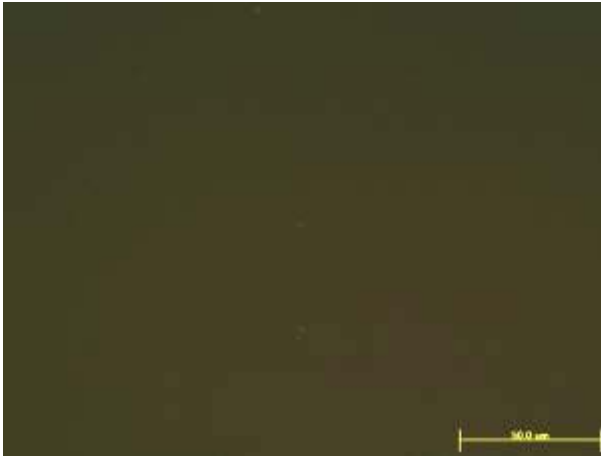
⑤ 耐火性繊維 (RF2:セラミック、非晶質)



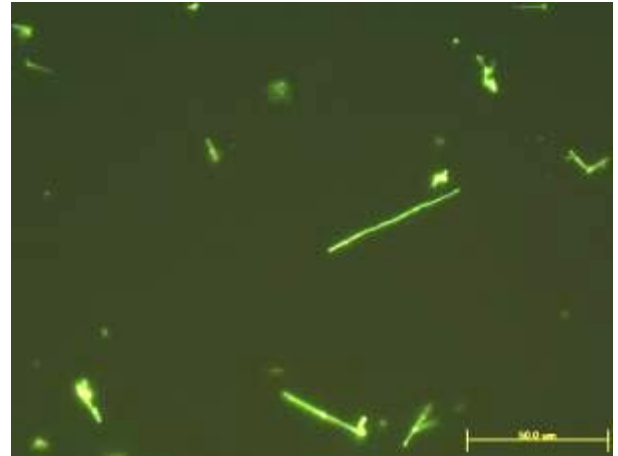
⑥ ケイ酸アルミ繊維 (RF3:セラミック、結晶質)



⑦ チタン酸カリウムウイスカー



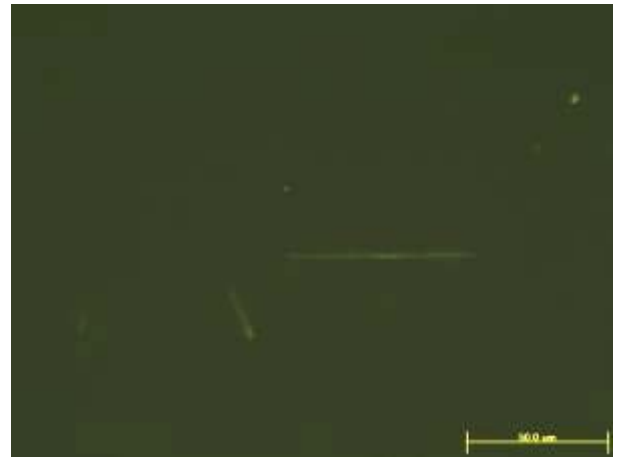
⑧ 炭化ケイ素ウイスカー



⑨ 酸化チタンウイスカー



⑩ ワラストナイト



2. 蛍光顕微鏡法と光学顕微鏡法の感度比較(標準繊維)

表4に蛍光顕微鏡法と光学顕微鏡法との感度の比較の一例を示す。微細なクリソタイルに関して、光学顕微鏡法による計測よりも感度が高いことが分かる。

表4 蛍光顕微鏡法と光学顕微鏡法の感度比較

(a) クリソタイル ^{※JAWE 111}	蛍光 (DksA-Cy3) ^{※13}		光学		蛍光/ 光学 ^{※14}
	視野数	繊維数(本)	視野数	繊維数(本)	
サンプル 1	17	206	50	73	7.03
	14	201.5	50	112	
サンプル 2	15	205	50	94.5	6.92
	19	210.5	50	82	

(b) アモサイト ^{※JAWE 211}	蛍光(GatZ-FITC)		光学		蛍光/ 光学
	視野数	繊維数(本)	視野数	繊維数(本)	
サンプル 1	40	202	38	202	0.96
	37	205	36	202	
サンプル 2	37	205	35	202	0.99
	29	203	30	203	

(c) クロシドライト ^{※JAWE 311}	蛍光(GatZ-FITC)		光学		蛍光/ 光学
	視野数	繊維数(本)	視野数	繊維数(本)	
サンプル 1	30	205.5	29	206	0.99
	29	202	30	204	
サンプル 2	29	201.5	30	200.5	1.05
	30	210	31	205	

※13: 電子顕微鏡法との比較から約 80nm のクリソタイル繊維が検出できている。

※14: 鉱物の産地(太さ分布)の違いによって、比較の数値は異なると考えられる。

例3 可搬型等の分析走査電子顕微鏡法

解体現場等でサンプリングしたサンプルを1～2時間内にアスベストの有無の判定可能な測定ができる可搬型等の分析走査電子顕微鏡（SEM）の条件は、エネルギー分散型X線分析装置（EDX）を装着し、加速電圧15kV程度を満たし、1～2時間程度で位相差顕微鏡で確認ができる繊維と同程度の繊維（概ね長さ $5\mu\text{m}$ 以上、幅 $0.2\mu\text{m}$ 以上 $3\mu\text{m}$ 未満、アスペクト比3以上）の観察及び同定が可能であることとする。

試料の前処理及び試料の計数に関しては、2.3.3の（1）及び（2）に準ずるものとする。

例4 繊維状粒子自動測定器による測定

繊維状粒子自動測定器は浮遊粒子の中から繊維状粒子だけを識別して、それらの繊維数濃度を算出する計測器として、米国で1970年代後半に開発されたものである。この方法はフィルタなどに浮遊状粒子を捕集して計数する方法と異なり、現場の測定場所で簡単に浮遊繊維状粒子の繊維数濃度を知ることができ、建築物等の解体、改修、除去等の工事に伴うアスベスト飛散防止のためのリアルタイム計測や長時間連続監視計測などが可能である。

(1) 繊維状粒子自動測定器の原理

試料空気は吸引ポンプで採気口から内部に導入される。検出部内を通過してサンプリングホルダー、流量センサを通り筐体外部に排気される。検出器には4つの電極からなる高圧部があり、高電圧の直流電圧と交流電圧を重ねて加えた電場の中を繊維状粒子が通過すると振動する。繊維状粒子は、検出部内に照射された半導体レーザー光により散乱光を発生し、散乱光は光センサで検出される。繊維状粒子が振動しながら検出部内を通過すると、散乱光強度がパルス状に変化する。一方、非繊維状粒子は検出部内を通過しても電場の振動による散乱光強度の変化はほとんど現れない。散乱光のパルスは繊維状粒子の繊維が長く太いほどピークが高く、パルス面積は繊維の長さが長いほど大きくなる。散乱光パルスとピーク面積の比により、繊維のアスペクト比(長さ/幅)と長さを設定することで、位相差顕微鏡法による計数分析値と一致する繊維を選別して測定できる。

選別された繊維状粒子はリアルタイムに計測され、カウント数として表示される。また、同時にカウント数の積算値と吸引流量の積算流量から総繊維数濃度が算出される。

計測された濃度は位相差顕微鏡法により得られる繊維数濃度と同様に総繊維数濃度であり、必ずしもアスベスト濃度とは一致しない。そのため、計測器にバックアップフィルタが内蔵されている装置であれば、必要に応じて他の分析方法による確認が可能となる。

(2) バックアップフィルタが内蔵されている繊維状粒子自動測定器

現在、わが国で市販されている繊維状粒子自動測定器のうち、バックアップフィルタが内蔵されているものには4機種があることが確認されている(機種A~Dとする)。これら4機種の共通項目に対する性能の比較を表5に示しておく。

(3) 繊維状粒子自動測定器の較正方法

各機種の較正方法は位相差顕微鏡法(PCM法)の計数値を基準に較正を行っている。

1) 機種Aの較正方法

本装置は、平成3~4年度にかけて当時の環境庁が導入を検討していた米国のMIE社から市販されていたFM-7400と同様に、クリソタイルとアモサイトの2系統の較正チャンネルを有している。

クリソタイルの1次較正には、当時の環境庁の検討会でダストチャンバーに発生させたクリソタイル繊維の長さや太さの分布や形態が、環境大気中に存在するアスベスト繊維に近似できるとして選定された、ジンバブエ共和国産のクリソタイルを粉碎処理したものを使用している。このクリソタイル繊維を内容積約400Lの専用ダストチャンバーに発生させ、0~5000 f/L

の範囲で濃度の異なる 35 ～ 50 点の範囲で P C M法との併行測定を 3 ～ 5 回実施し、表示濃度と P C M法によるクリソタイル繊維数濃度の比較から回帰式を計算し、その傾きから係数を求め P C M法の濃度と 1 対 1 になるように補正した機器を基準器としている。2 次較正も同様のクリソタイルを使用して 1 次較正と同様に発生させ、基準器と被検器の併行測定を行い、被検器の表示濃度が基準器の表示濃度と一致するように補正している。

アモサイトの 1 次較正には南アフリカ共和国 Transvaal 州産のアモサイトを粉碎処理したものを使用して、クリソタイルと同様の方法で 1 次較正、2 次較正を行っている。

基準器は日本で保有しており、米国での機器生産に当たっては、日本からの準器を使用して調整し、日本国内で基準器との 1 次、2 次較正を行っている。

2) 機種 B の較正方法

1 次較正用繊維としてアモサイト (J A W E 2 3 1) を使用し、ダストチャンバーに発生させ、基準器と P C M法との併行測定を行う。

濃度段階は 400 f / L 付近を目安に 1 点測定し、その前後 2 点ずつ計 5 点を P C M法と併行測定して比較する。そこで得られた表示濃度と P C M法によるアモサイト繊維数濃度の比較から回帰式を計算し、その傾きから係数を求め P C M法の濃度と 1 対 1 になるように補正した機器を基準器とする。

次に 2 次較正用繊維として人造鉱物繊維を発生させ、基準器と被検器を同時に併行測定し、そこで得られた基準器の表示濃度と被検器の表示濃度から回帰式を計算し、その傾きから係数を求め基準器の濃度と 1 対 1 になるように補正している。

3) 機種 C の較正方法

1 次較正用繊維としてアモサイト (測定機関から提供してもらった現場試料を使用している。アスベスト濃度は 100%ではなく、他の繊維も混入している可能性あり。) を使用し、ダストチャンバーに発生させ、800f/L 以下の濃度において 30 点～50 点程度、P C M法と表示値の比較測定を行う。そこで得られた表示濃度と P C M法によるアモサイト繊維数濃度の比較から回帰式を計算し、その傾きから係数を求め P C M法の濃度と 1 対 1 になるように補正した機器を基準器とする。

次に 2 次較正用繊維としてチタン酸カリウム (製品名: ティスモ D) をチャンバーに発生させ、500f/L 以下の濃度で 5 点基準器と被検器を同時に併行測定し、そこで得られた基準器の表示濃度と被検器の表示濃度から回帰式を計算し、その傾きから係数を求め基準器の濃度と 1 対 1 になるように補正している。

4) 機種 D の較正方法

1 次較正用繊維としてクリソタイル (J A W E 1 1 1) を使用し、チャンバーに発生させ、100 f / L 以下の濃度で 2 点測定し、P C M法と表示値の比較測定を行う。そこで得られた表示濃度と P C M法によるアモサイト繊維数濃度の比較から回帰式を計算し、その傾きから係数を求め P C M法の濃度と 1 対 1 になるように補正した機器を基準器とする。

次に 2 次較正用繊維としてグラスウールを使用し、グラスウールを発生させ、基準器と被検器を同時に測定し、基準器の表示値に被検器の表示値を合わせるように反射強度を調整する。

最後に、チャンバー内にクリソタイル (JAWE111)、アモサイト (JAWE121) を別々に発生させて、基準器と被検器を同時に測定し、基準器の表示値に被検器の表示値が合うように反射強度を調整する。

(4) サンプリング (計測) 方法

1) 測定箇所の設定

測定点は隔離シートによって密閉された解体現場からの粉じん飛散状況を的確に把握・管理するため、粉じん飛散が最も懸念されるセキュリティゾーンの前室入り口近傍及び排気装置 (負圧除塵装置) の排気口近傍に設定する。排気口が複数存在した場合は、排気量が最も多い 1 箇所を代表地点として設定する。排気口のダクトが 2 階以上の高さの窓等から出されているような場合は排気口のダクトの直下に設定する。

2) 測定装置

繊維状粒子自動測定器による測定には、予めクリソタイル標準繊維で校正され、バックアップとして流路中に白色メンブランフィルター (平均孔径 $0.8\mu\text{m}$) が装着できる装置を使用する。

3) 捕集時間及び捕集空気量等

原則として先ず除去作業開始前に 30 分間、捕集口を地上 1.5m 以上 2.0m 以内の排出源の方向に向け、吸引流量 $2\text{L}/\text{min}$ で繊維状粒子自動測定器を稼動し、表示された繊維状粒子濃度を記録する。次に除去作業開始直後から 30 分間の連続捕集を行い、表示された繊維状粒子濃度を記録する。

集じん・排気装置 (負圧除塵装置) の排気口の測定の場合には、排気口からの風速と繊維状粒子自動測定器の捕集口の面速 (cm/sec) が等速となる位置で測定を実施する。

(各測定器の捕集口の面速は機種 A、機種 B がそれぞれ $236.2\text{ cm}/\text{sec}$ 、 $42.4\text{ cm}/\text{sec}$ 、機種 C が $38.8\text{ cm}/\text{sec}$ 、機種 D が $58.8\text{ cm}/\text{sec}$ である。)

各測定器で 30 分間 (60L) 捕集した場合の検出下限濃度は、機種 A が $1.7\text{ f}/\text{L}$ 、機種 B が $1.3\text{ f}/\text{L}$ 、機種 C が $3.3\text{ f}/\text{L}$ 、機種 D が $0.5\text{ f}/\text{L}$ である。

(5) 測定結果の取り扱い

測定された繊維状粒子濃度測定結果は次のように記載する。

- 1) 作業開始前の繊維状粒子濃度測定結果 : $A\text{ f}/\text{L}$
- 2) 作業中の繊維状粒子濃度測定結果 : $B\text{ f}/\text{L}$
- 3) 作業による繊維状粒子濃度 : $(B - A)\text{ f}/\text{L}$

繊維状粒子自動測定器で測定された濃度 (f/L) は総繊維数濃度であり、位相差顕微鏡 (PCM法) と同様に、当該繊維状粒子がアスベスト繊維であるか否かの判別は出来ない。そこで、作

業による繊維状粒子濃度が目立った増加傾向を示した場合には、繊維状粒子自動測定器のバックアップフィルターを使用して、電子顕微鏡法（A-SEM, A-TEM）等によって当該繊維がアスベスト繊維か否かの確認分析を実施する。

（6）繊維状粒子自動測定器による測定の留意点

繊維状粒子自動測定器による測定は過去の経験から、位相差顕微鏡法による総繊維濃度よりもやや高い濃度として計測される場合が多い。これは、位相差顕微鏡の場合には繊維の形態を1繊維ごとに確認して計数しているのに対して、繊維状粒子自動測定器の場合は繊維の形態によって発生するパルスの取り扱いにより計測対象の繊維を選別するために、安全側にシフトするような調整が行われているためである。

繊維状粒子自動測定器による測定はリアルタイムで繊維状粒子濃度が把握できるという利点があり、解体現場での隔離シートやセキュリティゾーン、負圧除塵装置の排気口からの飛散等に関する管理を迅速に実施可能となるメリットを有するが、各機器の較正方法の統一や、アスベストのみが存在する作業環境以外の場所における使用における、他の測定方法との相関性の検討など今後さらに検討する課題が残っている。

現在、各機種間での較正方法統一のため、各メーカーが協力して共通の較正方法を構築するため、ジンバブエ共和国産の較正用標準クリソタイルを調製し、その繊維を使用した方法が検討されており、それに基づいた各機種の基準器調整が始まっている。

表5. 繊維状粒子自動計測器仕様一覧

製造	A社		B社		C社		D社	
型式	機種A		機種B		機種C		機種D	
原理	光散乱方式を使用しファイバーを一列に並べさらに振幅させる動作の組み合わせを誘発させる電場を発生させ、粒子の中から単独に個々のファイバーを検出する。		高電場での粒子振動による繊維状粒子の散乱光検出		FAM-1の基本原理を使用、ファイバーを高電圧で振動させ、レーザーの散乱パルス波形を解析		He-Neレーザビーム内を通過する粒子の170度後方散乱光を捉え、偏光角度の変化の差で繊維と粒子を識別	
長所	繊維状粒子のみを選別して測定可能 キャリブレーションはクリソタイル、アモサイトの2系統設定されている		繊維状粒子のみを選別して測定可能		繊維状粒子のみを選別して測定可能		繊維状粒子のみを選別して測定可能 総粉じん個数濃度表示可能	
欠点			取り込み試料の一部を検出、流量比で濃度を算出		高温多湿、水酸蒸 (雨天時屋外等)		精度の高い光学系を使用しているため重量が重い	
検出最小長さ	2μm		5μm		5μm (長さ) 以上		0.1μm (直径) × 1μm (長さ)	
最少測定濃度	捕集時間 10分	3.9 本/L	5 本/L		10 本/L		1.50 本/L	
	捕集時間 30分	1.3 本/L	1.7 本/L		3.3 本/L		0.50 本/L	
	捕集時間 60分	0.7 本/L	0.8 本/L		1.7 本/L		0.25 本/L	
	捕集時間 120分	0.3 本/L	0.4 本/L		0.8 本/L		-	
	捕集時間 240分	0.2 本/L	0.2 本/L		0.4 本/L		0.0625 本/L	
	捕集時間 480分	0.1 本/L	0.1 本/L		0.2 本/L			
最大繊維数濃度	5000 本/L		1000 本/L		1000f/L (9999 カウント)		10000 本/L	
捕集流量	2 L/min		2 L/min		2 L/min		2 L/min	
検知可能な最小流量	0.02 L/min		0.1 L/min				2 L/minに固定	
設定可能な運転時間	1分~24時間または連続		9999時間		分単位で連続まで自由に設定可能		積分時間1~90分で設定可能、連続測定回数1~500回	
記録可能な運転時間	1分~24時間		9999時間		1件につき40時間 99件まで記録可能		プリンタ出力の場合 同上 コンピュータ出力の場合 無制限	
設定時間内での記録項目	年・月・日・時・分、最新繊維数濃度、総繊維数 (運転開始から)、平均繊維数濃度 (運転開始から)、捕集経過時間、最高繊維数濃度 (選択された捕集間隔内での)、繊維濃度又は繊維数のグラフは時間間数として表示		カウント数、繊維状粒子濃度換算値 (f/L)、時間 (現在時刻、設定・経過・残時間)、吸引流量、各種異常表示		年・月・日・時・分、測定開始時間測定経過時間		測定開始時刻、設定測定時間、測定回数、繊維状粒子計測数、全粒子計測数、繊維状粒子濃度換算値 (本/L)、全粒子濃度換算値 (本/L)	
測定中の繊維数濃度の表示	直近の繊維数濃度		カウント数 繊維状粒子濃度換算値 (f/L)		10分毎の繊維数及び濃度、直近100分単位のトータル濃度、総繊維数 総トータル濃度 (実稼動時間中)		現在値を2回/秒の更新で液晶に表示	
データの出力方法	USB (テキストファイル形式)		USB、PS-232C、プリンタ、アラーム		USBポート、RS-232C、プリンタ付き		プリンターに印字またはRS232C接続でコンピュータに記録 ※別途専用ソフトウェアが必要	
バックアップフィルター	φ25mmメンブレンフィルター		φ25mmメンブレンフィルター		φ25mmメンブレンフィルター		φ25mmメンブレンフィルター	
電源	100-240VAC、50-60Hz		AC100V		100-240VAC、50-60Hz		AC100V	
バッテリー	持続性4時間 (以上) 充電式バッテリー 5~10Ah NiMH		ニッケル水素蓄電池 (約4時間)		DC12V (約10時間稼動)		無	
寸法	W36.5cm×D28.2cm×H22.4cm		W38cm×D23cm×H24cm		W446mm×D250mm×H222.8mm		W55cm×D41cm×H18.5cm	
重量	7.5Kg (バッテリー含まず)		約5.2kg		8.0kg (ハードケース6.5kg/W512mm×D318mm×H331mm)		約13Kg	
設定可能な平均値の間隔	1~60分		1分または積算時間		設定不可			
データ記録の間隔	1~60分		1~999分		1分から自由に設定可		1~90分 1分単位	
アラーム設定有無	有		無		有		無	
設定可能なアラーム範囲	TWAPEL (8時間中) 及び STEL (0.5時間中)		0.1~999.9 f/L (オフコンタクト出力)		自由に設定可		無	
アラーム音の大きさ設定	90db (機器から1m離れた距離からの測定)		設定不可		内蔵ブザーは変更不可 外部出力端子有り		設定不可	
ディスプレイスクリーン	16.3cm TFTLCD、カータガラス NEMA4/IP65規格		タッチパネル式液晶ディスプレイ (バックライト付)		タッチパネル式 TFT5型カラー液晶ディスプレイ		液晶	
コンピューター	WindowsXP内蔵、500MHzのProcessor付き工業用PC		通信機能あり		USB及びRS232により外部接続 内部専用ソフト		オプション (ソフト込み)	
データ記憶容量	2GB (コンパクトフラッシュ)		データ数5450		1MB		測定結果500件	
USBポート	USB2.0 (×2ヶ所)		有		有		無 (RS232Cから変換可能)	
捕集口の面速	236.2cm/sec		42.4cm/sec		38.8cm/sec		58.8cm/sec	