

携帯型蛍光顕微鏡によるアスベスト検査とその精度検証

広島大学大学院統合生命科学研究所

黒田 章夫, 西村 智基, 石田 丈典

<要旨>

簡便で迅速に飛散アスベストの測定が可能な蛍光顕微鏡法は、解体現場などでの飛散監視に最も適した測定方法である。さらに携帯型蛍光顕微鏡と組み合わせることで非常に利便性・現実性が高いモニタリング手法となった。今回、携帯型蛍光顕微鏡を用いて実際に解体現場などにおいて測定を実施し、その効果が確認された。また合わせて、電子顕微鏡による測定と比較計測を行ったところ、同等の精度で測定可能であることが分かった。

1. はじめに

アスベスト使用の可能性のある民間の既存建築物は、鉄骨、鉄筋コンクリート造りのものだけで280万棟、木造も合わせると3600万棟にも及ぶ¹⁾。このような中、現在、手ばらしなどの作業基準はあるものの、隔離養生もなく行われているレベル3建材使用現場での飛散も懸念されている。平成29年7月に改訂された『アスベストモニタリングマニュアル第4.1版』（環境省）では、位相差モードで検出された繊維を、蛍光モードでアスベストか否かを判定しながら計測する位相差／蛍光顕微鏡法が、解体現場での漏洩監視のための迅速測定法として位置付けられた²⁾。同方法は電子顕微鏡によらずアスベストの判定が可能な画期的な方法となった。また同マニュアルにおいては参考法として、「可搬型蛍光顕微鏡法」が紹介されている。同方法は、タブレット型端末を利用した小型の蛍光顕微鏡により、アスベストを測定するもので、位相差観察を行わず、蛍光繊維の形状と蛍光でアスベストを判定する方法である。可搬型蛍光顕微鏡は特に持ち運びが容易なことから、熊本地震（2016年）の被災地において、解体現場での飛散アスベストの調査に利用されている³⁾。今回、携帯型蛍光顕微鏡と電子顕微鏡法との比較計測を行

い、その測定精度を検証した。また携帯型顕微鏡を用いて、我々が行った現場測定の実施例と効果について報告する。

2. 方法

2-1. 携帯型蛍光顕微鏡と電子顕微鏡による比較計測（精度検証）

試料については、解体・除去現場などで取得された建材をX線回折（XRD）法による分析用に粉碎したものをを用いた。用いた建材試料の内容は、建材5種、吹き付け材3種（内クリソタイル含有3種、アモサイト含有2種、クロシドライト含有3種）計8種である（表1）。XRD法によるそれぞれの試料の

表1 試料内容

	試料種別	含有アスベスト		試料ろ過量 ($\mu\text{g}/\text{filter}$)	推定アスベスト量 ($\mu\text{g}/\text{filter}$)
		アスベスト種別	含有率 (wt%)		
1	建材	アモサイト	3.3	100	3.3
2	吹き付け材	クロシドライト	39.7	50	19.85
3	建材	クリソタイル	2.7	100	2.7
4	建材	クリソタイル	9.2	100	9.2
5	建材	クロシドライト	34.4	1	0.344
6	吹き付け材	クロシドライト	49.3	1	0.493
7	建材	アモサイト	8.3	1	0.083
8	吹き付け材	クリソタイル	10.6	1	0.106

※含有率はX線回折法（XRD）による分析値を示す。

アスベスト含有率測定結果を表1に示す。計数用のフィルター試料の調製については、これらの粉碎試料を数mgずつ量り取り、精製水で希釈分散したものを、ニトロセルロースメンブレンフィルター上にろ過し、調製した。予備検討として1mgをろ過した試料を携帯型蛍光顕微鏡で観察すると、一視野当たりの繊維数が多すぎ正確に計数することが不可能であった。そのため比較計測に用いる試料としては、さらに1/10～1/1000に希釈し最終的なフィルター上の試料重量が1μg～100μgとなるように調製した。これらのフィルターを分割し、それぞれの顕微鏡用に前処理を行い、測定に使用した。

携帯型蛍光顕微鏡による測定：観察試料の調製については、吸収パッドの上にフィルター小片を置き、蛍光試薬（アスベスター Air2, シリコンバイオ社製）を滴下することで染色処理を行った後、スライドガラス上に移し、カバーガラスをのせた。これを観察サンプルとし、携帯型蛍光顕微鏡（iFM, シリコンバイオ社製）を使って観察を行った（表2, 図1）。

電子顕微鏡による測定：電界放出型走査型電子顕微鏡（FE-SEM）（Sigma VP, カール・ツァイス社製）及びエネルギー分散型X線分析装置（EDX）

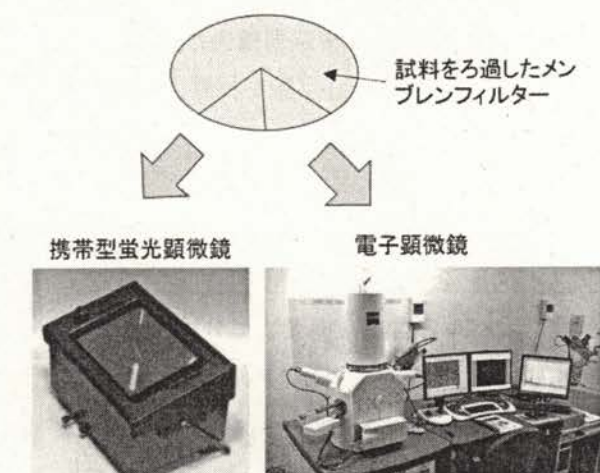


図1 携帯型蛍光顕微鏡と電子顕微鏡による比較計測

（Quantax, ブルカー社製）を用いて測定を行った。フィルター小片をカーボンテープを貼った試料台の上のせ、白金スパッターリングにより導電処理を行った。計数時の観察倍率は1000倍とし、0.2μm幅以上の繊維が検出できることを確認した。EDXによる分析及び写真撮影時には適宜高倍率を用いた（表2, 図1）。

計数結果の比較方法については、携帯型蛍光顕微鏡及び電子顕微鏡によりそれぞれの試料を1回ずつ

表2 比較測定測定法概要

測定法	蛍光顕微鏡法	電子顕微鏡法
顕微鏡	携帯型蛍光顕微鏡 iFM、Siliconbio	電界放出型走査型電子顕微鏡 Sigma VP、Carl Zeiss
試料調製	蛍光試薬 (アスベスターAir2、 Siliconbio)	白金スパッターリング
観察倍率	x 300	x 1000
加速電圧	-	15kv
視野面積	0.152mm ² (390μm x 390μm)	0.0078mm ² (104μm x 75μm)
計数ルール	アスベストモニタリングマニュアル第4.1版、環境省	

計数し、次の式に従って単位面積当たりの検出繊維数を算出し、比較した。単位面積当たりの繊維数 (f/mm^2) は、検出本数 (f) / (観察視野面積 (mm^2) × 視野数)、として算出した。

2-2. 携帯型蛍光顕微鏡による現場測定

アスベスト除去現場（レベル1，レベル2）や解体現場（レベル3含む）、廃棄物処分場などにおいて、大気を吸引し、メンブレン・フィルター（AAWP0130，ミリポア社製）上に浮遊粒子を採取した。作業中に飛散の有無を知ることができるよう、サンプリングは短時間（7～30分）で行った。ポンプは個人暴露調査用のミニポンプ（MP-2N，柴田科学社製）を使用した。流量を1.5L/分に調整し、10～45Lの大気を吸引した。大気吸引後直ちにアスベスト蛍光染色試薬キット（アスベスター Air2，シリコンバイオ社製）による染色処理を行い、その場において携帯型蛍光顕微鏡（iFM，シリコンバイオ社製）を用いて、アスベストの測定を行った。染色処理方法は『アスベストモニタリングマニュアル第4.0版』記載の蛍光顕微鏡法を参考し、現場測定用に改良された方法を用いた⁴⁾（図2）。

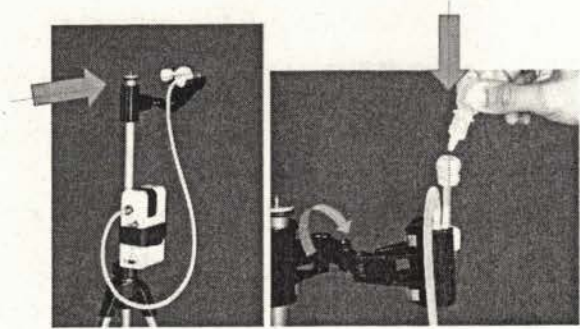


図2 サンプリング及び前処理用器材。サンプリング時はホルダーを水平方向に向け、染色時はフィルターを上に向けそのまま試薬を滴下して用いる。

3. 結果と考察

3-1. 携帯型蛍光顕微鏡と電子顕微鏡による比較計測（精度検証）

観察視野の違いにより繊維数に差が生じることが懸念されることから相関性の検証では、リロケータブルスライドのように全く同一の視野を計測できることが理想的である。しかし、携帯型蛍光顕微鏡とFE-SEMとでは、そのような方法を取ることが不可能である。そこで今回は、試料ごとに調製した1枚のフィルターを分割してそれぞれの測定を行った。試料調製の際、フィルター上にあるアスベストの本

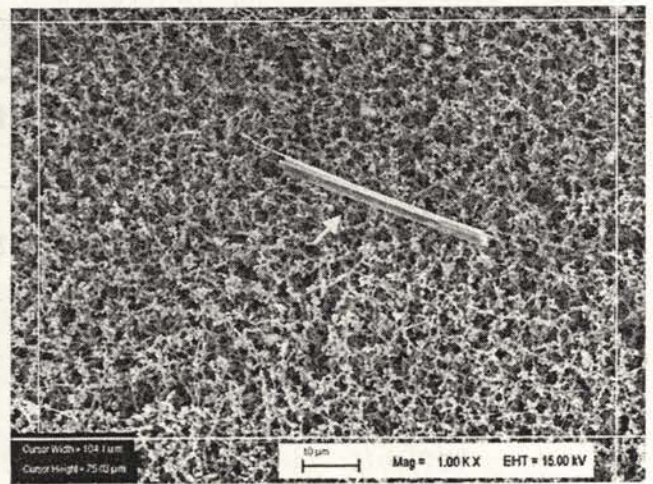
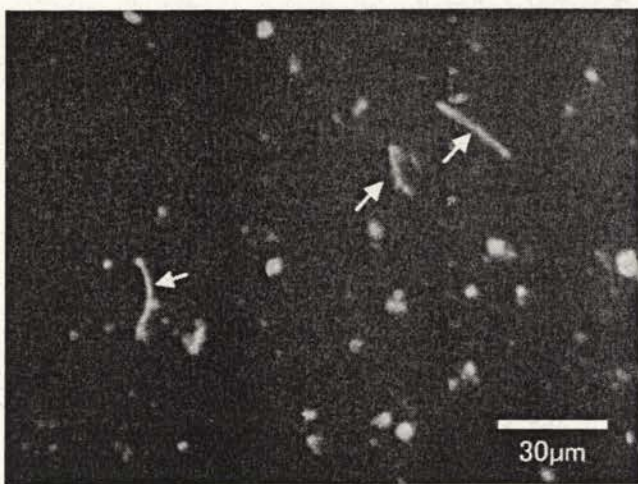


図3 携帯型蛍光顕微鏡と電子顕微鏡による観察画像 試料①建材（アモサイト含有）

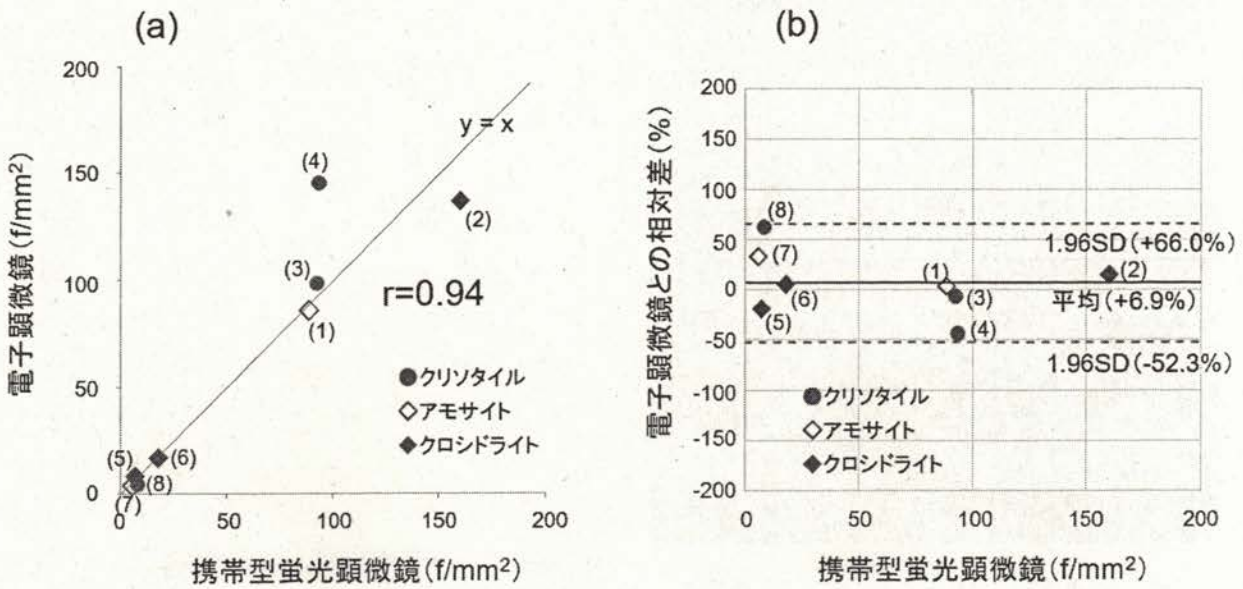


図4 携帯型蛍光顕微鏡及び電子顕微鏡による計測結果の相関。

() 内の数字は表1の試料番号を示す。(a) 両測定による測定結果(観察面積当たりの本数)を比較した。(b) 両測定法による測定結果の相対差を調べた。相対差(%)は、次式により求めた。相対差(%) = (携帯型蛍光顕微鏡による値(f/mm²) - 電子顕微鏡による値(f/mm²)) / 両測定の平均値(f/mm²) × 100。

数が多すぎると、特に視野面積の広い光学顕微鏡では計測が非常に難しくなる。また少なすぎると観察場所の違いによる誤差が大きくなり、相関性の検証が難しくなる。今回、作製した試料では、携帯型蛍光顕微鏡での観察において、一視野当たり平均で1本から24本のアスベストが検出され、適度な量であったと考えられる。またアスベスト3種(クリソタイル、アモサイト、クロシドライト)を含む建材粉砕試料中のいずれの繊維も蛍光で明瞭に観察することが可能であった(図3)。単位面積当たりの繊維数は、携帯型蛍光顕微鏡法及び電子顕微鏡法とも、試料の過量と含有率から推定されるアスベスト量に概ね依存しており、両者による計数結果を比較すると、非常に高い相関($r=0.94$)を持つことが分かった(図4a)。また携帯型蛍光顕微鏡測定結果の電子顕微鏡との相対差(携帯型蛍光顕微鏡による測定-電子顕微鏡による測定/両測定の平均)は±50%程度に収まった(図4b)。またサンプル数が少ないので結論はできないが、濃度やアスベストの種別によ

る特別な偏りも見られなかった。つまり携帯型蛍光顕微鏡は分解能としては0.7μm程度であるが、現場でのアスベスト検査に利用できる検出感度を持つと言える。

3.2. 携帯型蛍光顕微鏡による現場測定

『アスベストモニタリングマニュアル第4.0版』の蛍光顕微鏡法においては、25mm径のフィルターが使用されているが、今回、現場測定用の試料として13mm径フィルターを使用してサンプリングを行った。現場での計測においては、より迅速性が要求される。フィルター径を小さくし、少量の大気を狭小箇所を集めることで、サンプリング時間の短縮と、観察範囲の縮小による計測時間の短縮が可能である。また改良された点としては、フィルターホルダーにメンブレンを挟んだまま前処理(染色)を行うことで、風による試料の紛失事故などを防ぐことができる(図2)。サンプリング器材のホルダーとポンプを利用しながら、分析室のように、実験台の上で

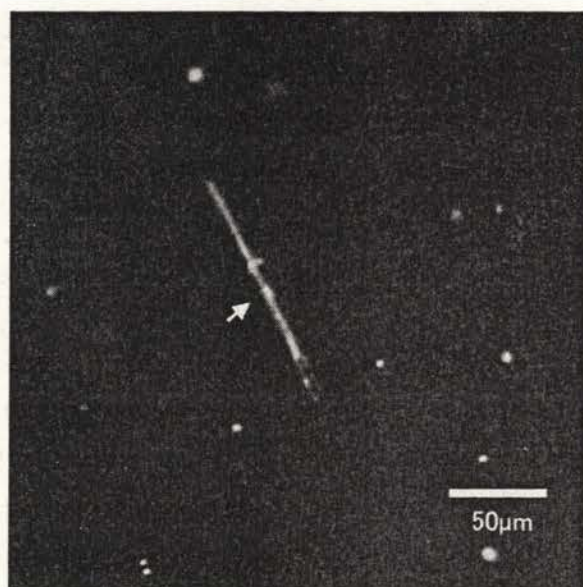


図5 現場測定で観察されたアスベスト繊維。

安定的に作業を行うことができない現場でも、より容易に試料の調製を行うことができた。携帯型蛍光顕微鏡上部においたタブレットの画面に表示される視野面積は、 0.152mm^2 ($390\mu\text{m} \times 390\mu\text{m}$)であった。サンプリングに13mm径(有効ろ過径:10mm)のフィルターを用いたため、フィルター全面を計測すると516視野になる。フィルターの端から端まで蛇行しながら、全面を観察すると約20分であった。いずれの現場でも、サンプリング、前処理、計測の全てを通して、1時間以内に完了することができた。レベル3現場においてもアスベストは検出されたが、概ね1本/L以下の低濃度であった。また試薬による発色とは異なる色の繊維も観察された。これらは自家蛍光を持つ、アスベスト以外の物質と判断された。最も濃度の高かったのは、あるレベル1除去現場の前室前で採取したフィルターで、フィルター全面を計測し、79本のアスベストが散見された(図5)。この時のサンプリング条件は15L(1.5L/分×10分)であったので、5.2本/Lの飛散が確認された。作業者が出入りした際に漏れがあったものと考えられる。後日、持ち帰った別のフィルターを電子顕微鏡で分析したところアモサイトと同定された。現場において顕微鏡で観察された写真を見せながら作業

者に説明したところ、作業者はすぐに現場の改善(養生の修正)を行った。目で繊維を確認できるため説得力があり、また作業中に結果が分かるのですぐに対策を取ることができ、現場管理の手法として大変有効であると考えられた。

4. まとめ

今回の検証結果より、携帯型蛍光顕微鏡法の利用により、(1)電子顕微鏡による測定とも相関性の高い高精度な測定が可能であることが分かった。(2)実際の現場においても迅速かつ簡便に測定できることが確かめられた。また作業者との情報共有手段としても効果が高いことが分かった。この測定法が普及し、多くの現場で活用されることが期待される。

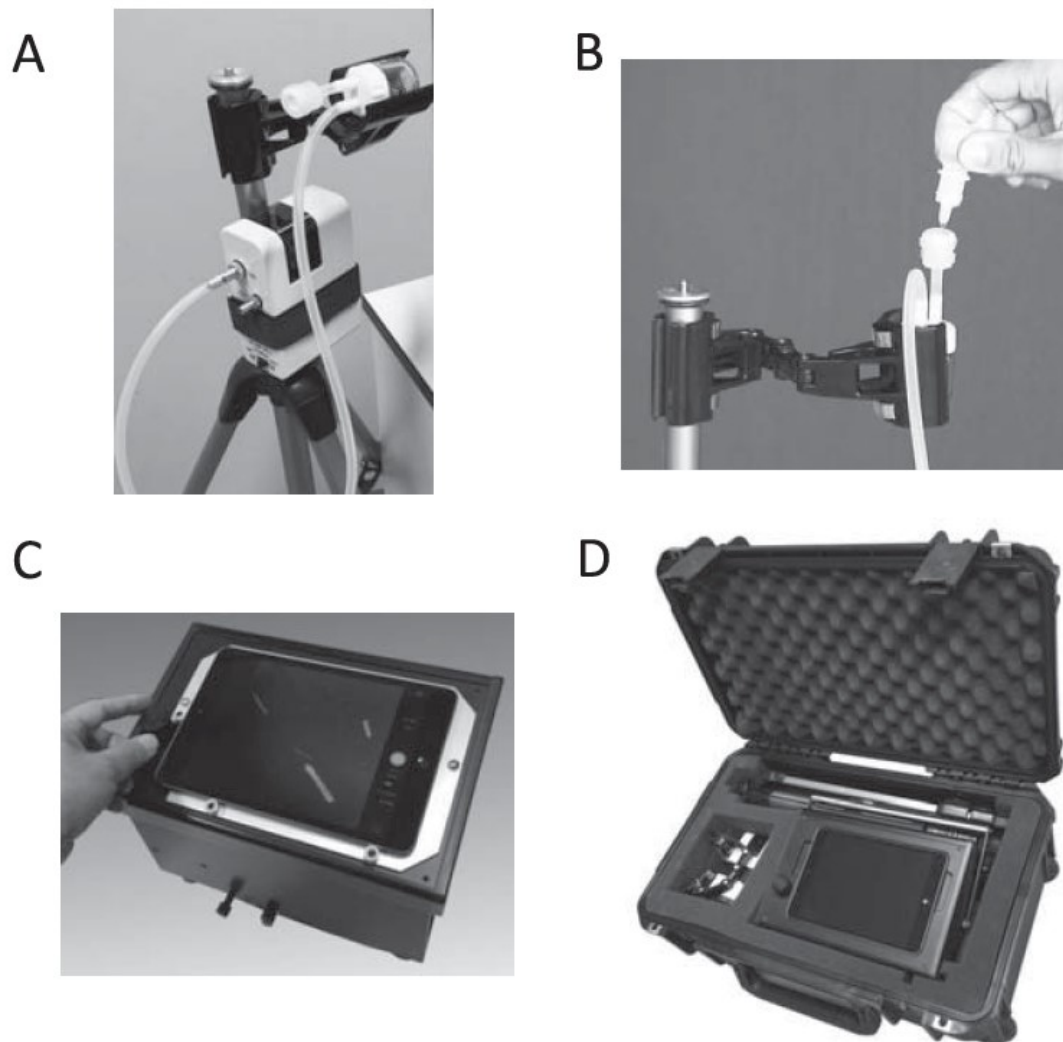
さらに今後の展開としては、人による測定誤差の排除と測定の省力化を究極的に達成できる自動測定装置の完成を目指して取り組んでおり、さらなる利便性の向上が期待できる。

<謝辞>

携帯型蛍光顕微鏡の開発は、環境研究総合推進費(5-1901)による研究成果の一環である。また現在、引き続き同推進費により、蛍光顕微鏡法を利用した自動測定装置の開発を進めている。

引用文献

- 1) 第5回社会資本整備審議会建築分科会アスベスト対策部会資料, 2009;国土交通省
- 2) 環境省アスベストモニタリングマニュアル, 第4.1版, 2017;環境省
- 3) 豊永悟志ら, iPad蛍光顕微鏡を用いた解体現場におけるアスベスト飛散状況調査, 第59回大気環境学会, 2018
- 4) 環境省アスベストモニタリングマニュアル, 第4.0版, 2010;環境省



(A) 大気捕集用のポンプとフィルターホルダー (B) 大気捕集後、フィルターホルダーを垂直に傾け、染色液をフィルターに滴下する。ポンプを用いて染色液を染み込ませる。余分な液体はフィルターホルダー下のトラップで捕捉される (C) 可搬型蛍光顕微鏡の外観 (D) 一式を移動用のキャリアに収納する。使用の様子はシリコンバイオ社のホームページ (<http://siliconbio.co.jp>) で公開されている

図3 可搬型蛍光顕微鏡装置一式

写真出典：廃棄物資源循環学会誌, Vol.31, No.5, pp.345-351, 2020