

位相差 / 偏光顕微鏡法及び位相差 / 蛍光顕微鏡法による分析データの収集

実施計画書(案)

1. 目的

解体現場において採取したフィルターをその場で分析しアスベストが漏洩しているかを迅速に確認できる測定方法(以下「迅速測定法」という。)として活用することができるか否かについて検討するため、対象とする測定方法のアスベストの分析精度等に関するデータを収集することを目的とする。

2. 対象とする迅速測定法

- ・位相差 / 偏光顕微鏡法 (アスベストモニタリングマニュアル(第4.0版))
- ・位相差 / 蛍光顕微鏡法 (アスベストモニタリングマニュアル(第4.0版))

3. 試験項目

繊維状粒子及びアスベストの計数

4. 計数者の要件

4.1 位相差 / 偏光顕微鏡法の計数者

計数する者は日本作業環境測定協会が実施している石綿分析技術の評価事業における空気中の石綿計数分析に関するクロスチェックの A ランク保持者でありかつ位相差 / 偏光顕微鏡法での分析に関して熟練している者(例えば、一般社団法人日本環境測定分析協会の偏光顕微鏡講習会の参加者やインストラクターなど)が実施する。

4.2 位相差 / 蛍光顕微鏡法の計数者

計数する者は蛍光顕微鏡法での分析に関して熟練している者が実施する。計数する者は日本作業環境測定協会が実施している石綿分析技術の評価事業における空気中の石綿計数分析に関するクロスチェックの A ランク保持者が望ましい。

5. 試験方法

アスベストモニタリングマニュアル(第4.0版)による位相差顕微鏡法の計数ルールに従い繊維状粒子の計数を行い、繊維が確認された場合は、アスベストモニタリングマニュアル(第4.0版)による偏光顕微鏡法でその繊維が確認できたかどうかを記録し、確認できた場合はアスベストか否かの判定を行った。繊維状粒子の判定については、アスベストモニタリングマニュアル(第4.0版)に基づき判定を行う。

繊維の計数は、倍率を 400 倍(対物レンズ×40、接眼レンズ×10)とし、アイピースグレイティクルの直径 300 μm の円でリロケータブルカバーガラスの 50 個の視野の内、30 視野(捕集量が 1200L の場合に検出下限値が 0.37f/L となる)を観察する。なお、計数者にはあらかじめ解体現場で使用されている石綿に関する情報を伝える。

6. 試験用スライドについて

本試験は、各分析機関が同一のスライドを使用して実施する。ただし、位相差/蛍光顕微鏡については試薬による発色時間に制限があるため、計数時期によっては同一のフィルターにより作成した異なるスライドを観察する。

試験用スライドには、「平成 26 年度アスベスト大気濃度調査業務」においてアスベスト繊維数濃度が $1f/L$ を超過したフィルターの使用を予定する。

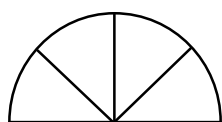
試験用スライドの作成は以下の方法を予定する。

【平成 24 年度に実施した方法】

(3つの現場で1検体ずつ試験用スライドを作成)

試験用スライドは、図 1-1 に示すように1枚のフィルターから $1/8$ 分割されたフィルターを1検体とし、1検体分を作成する。これを3つの現場で作成し(3検体となる)、分析機関は3機関とし、3検体を3機関で回して測定する。

保管用フィルターの分割
($1/8$ 円 \times 4 片)



迅速法に供する検体
($1/8$ 円)



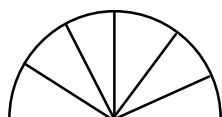
図 1-1 検体の概要

【別案】

(1つの現場の1枚のフィルターから3検体分の試験用スライドを作成)

試験用スライドは、図 1-2 に示すように1枚のフィルターから $1/12$ 分割したフィルターを1検体とし、3検体分を作成する。分析機関は3機関とし、3検体を3機関で回して測定する。

保管用フィルターの分割
($1/12$ 円 \times 6 片)



迅速法に供する検体
($1/12$ 円)



図 1-2 検体の概要

6.1 位相差 / 偏光顕微鏡法 試験用スライド

試験用スライドは株式会社環境管理センター（以下「環境管理センター」という。）がアスベストモニタリングマニュアル（第4.0版）にあるDMF - ユーパラル法により作成する。なおカバーガラスには約300μmの視野が5行10列並びで50個印字されたものを使用する。作成する試験用スライドは図-2に示すような様子になる。

計測視野は、アイピースグレイティクルの直径300μmの円で30視野（観察倍率：400倍）とし、50個印字された視野のうち30視野を指定する（例 図-3）。観察する30視野は、気泡等の混入により観察に適していない箇所を除き、かつ観察する範囲ができるだけ広くなるように選択する。

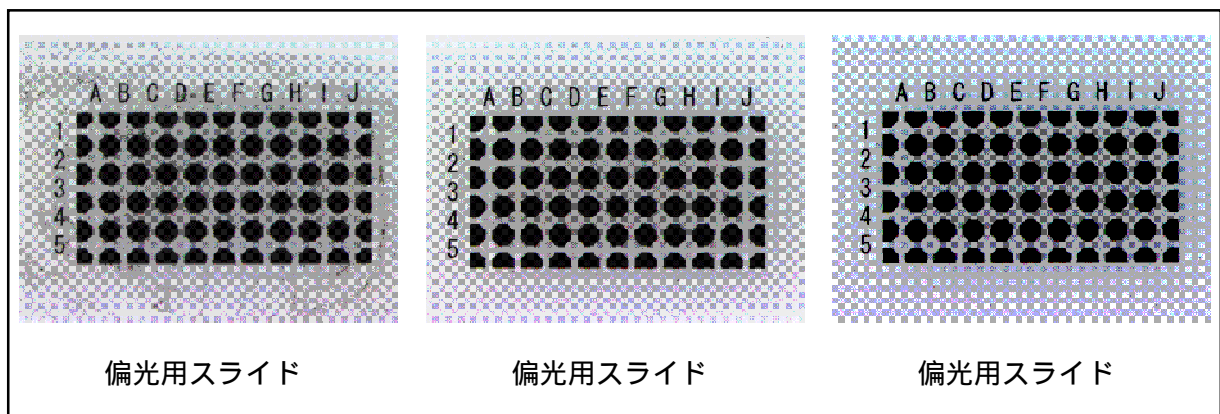


図-2 作成した位相差 / 偏光顕微鏡法の試験用スライド（実体顕微鏡写真） <例>

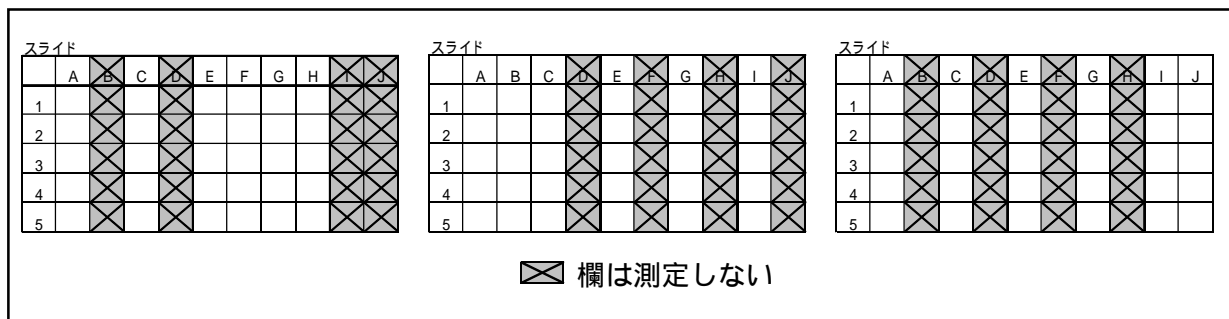


図-3 位相差 / 偏光顕微鏡法の試験用スライドの指定視野 <例>

6.2 位相差 / 蛍光顕微鏡法 試験用スライド

位相差 / 偏光顕微鏡と同様に試験用スライドはアスベストモニタリングマニュアル（第4.0版）に準じて作成し、カバーガラスには約300μmの視野が5行10列並びで50個印字されたものを使用した。

前回同様に、国立大学法人広島大学 黒田章夫教授に本物件への参画を依頼する場合には、試験用スライドは黒田教授あるいはその指示を受けたものが作成する（国立大学法人広島大学は以下「広島大学」という）。作成する試験用スライドは図-4に示すような様子になる。

計測視野は、アイピースグレイティクルの直径300μmの円でリロケータブルカバーガラスの50個の視野の内、30視野もしくは、観察可能な全ての視野について計測する。

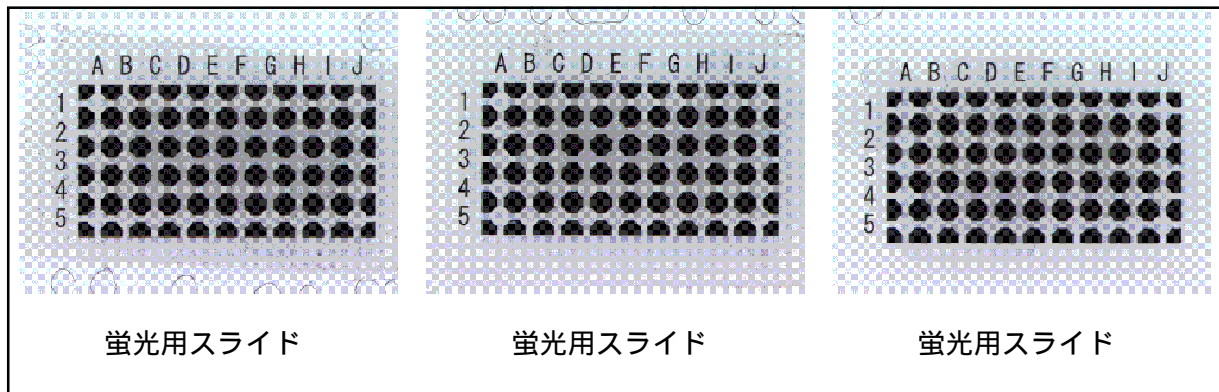


図 - 4 作成した位相差 / 蛍光顕微鏡法の試験用スライド (実体顕微鏡写真) < 例 >

7 . 試験用スライドの試験スケジュール

試験用スライドは、アスベスト繊維数濃度が $1f/L$ を超過した地点のフィルターより作成する。位相差 / 偏光顕微鏡用の試験用スライドは環境管理センター又は各分析機関より宅配便にて送付する。位相差 / 蛍光顕微鏡用の試験用スライドは広島大学又は各分析機関より宅配便にて送付する。試験スケジュールについては、別途相談とする。

8 . 各分析機関における試験の実施方法 (手順) について

各分析機関に連絡した本試験の実施方法 (手順) 及び記録方法を以下に示す。

8 . 1 位相差 / 偏光顕微鏡法 実施方法 (手順)

- (1) 試験に使用する位相差 / 偏光顕微鏡を適切な状態になるよう調整する。
- (2) 倍率を 400 倍 (対物レンズ $\times 40$ 、接眼レンズ $\times 10$) とし、アイピースグレイティクルの直径 300 μm の円をリロケータブル・スライドの指定視野の円に合わせる。
アイピースグレイティクルの円の合わせ方については、8 . 3 に示す。
- (3) アスベストモニタリングマニュアル (第 4.0 版) による位相差微鏡法 (PCM 法) に従い、指定視野における繊維状粒子の計数を行った。繊維状粒子が確認された場合は、偏光顕微鏡法でその繊維状粒子がアスベストか否かの判定を行う。
なお、アスベストモニタリングマニュアル (第 4.0 版) に記載はないが、繊維の評価にセナルモンコンペンセータ、ブレースケーラコンペンセータを用いてもよい。
- (4) 計数した結果は別紙 1 に取りまとめると共に、視野内で繊維状粒子がどのように見えたかを記録票 (別紙 2) に図示する。なお、確認された繊維の存在場所、長さ等はなるべく忠実に再現して記録票へ記入し、偏光顕微鏡法で確認された繊維の種別も記録票へ記入する。

8.2 位相差/蛍光顕微鏡法 実施方法(手順)

- (1)試験に使用する位相差/蛍光顕微鏡を適切な状態になるよう調整する。
- (2)倍率を400倍(対物レンズ×40、接眼レンズ×10)とし、アイピースグレイティクルの直径300 μm の円をリロケータブル・スライドの指定視野の円に合わせる。

アイピースグレイティクルの円の合わせ方については、8.3に示す。

- (3)アスベストモニタリングマニュアル(第4.0版)による位相差微鏡法(PCM法)に従い、繊維状粒子の計数を行い、別紙3に取りまとめる。繊維状粒子が確認された場合は、視野内で繊維状粒子がどのように見えたかを記録票(別紙2)に図示する。なお、確認された繊維の存在場所、長さ等はなるべく忠実に再現して記録票へ記入する。その後、蛍光顕微鏡法でその繊維状粒子がアスベストか否かの判定を行い、記録票に記入する。

8.3 アイピースグレイティクルの円の合わせ方

リロケータブル・スライドの各指定視野の円とアイピースグレイティクル直径300 μm の円が微妙に異なるため、本調査ではアイピースグレイティクルの円を指定視野の左上の円弧に合わせるように置くこととする。

8.4 確認繊維の記録方法

- (1)長さ5 μm 以上、幅3 μm 未満で、かつアスペクト比3以上の繊維状粒子をすべて記入する。
- (2)視野の境界にまたがる繊維は境界線と交わっていることが分かるように記入する。

別紙1 位相差 / 偏光顕微鏡法 計数記録シート < 例 >

試料名称		
捕集大気量 (L)	2400	L
フィルターの種類 / 有効ろ過面積	0.8 μmメンブランフィルター	961.625 mm ²
計数の方法	位相差 / 偏光顕微鏡法	
使用した顕微鏡メーカー	ニコン / オリンパス /	
使用した顕微鏡の型式 / 1視野の面積		0.071 mm ²
位相差顕微鏡レンズの型式 / 倍率 / 開口数		0.75 -
偏光顕微鏡レンズの型式 / 倍率 / 開口数		0.75 -
測定者名 / PLM分析の経験年数		年
備考		

視野 こと の 計 数 値	光学 顕 微 鏡 法	PCM	PLM					光学 顕 微 鏡 法	PCM	PLM					
			ク リ ン タ イ ル	加 シ ラ イ ト	ア モ リ バ イ ト、 ト リ バ イ ト、 ア ク ア リ バ イ ト、 ア ソ ウ ラ イ ト	石 綿 の 可 能 性 の あ る 繊 維	そ の 他 繊 維			ク リ ン タ イ ル	加 シ ラ イ ト	ア モ リ バ イ ト、 ト リ バ イ ト、 ア ク ア リ バ イ ト、 ア ソ ウ ラ イ ト	石 綿 の 可 能 性 の あ る 繊 維	そ の 他 繊 維	
A	1						F	1							
	2							2							
	3							3							
	4							4							
	5							5							
B	1						G	1							
	2							2							
	3							3							
	4							4							
	5							5							
C	1						H	1							
	2							2							
	3							3							
	4							4							
	5							5							
D	1						I	1							
	2							2							
	3							3							
	4							4							
	5							5							
E	1						J	1							
	2							2							
	3							3							
	4							4							
	5							5							
				合計(X)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
				フィルム-フランク(Y)											
				総計(Z=X+Y)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	

計数視野数に相当する値

計数日及び計数者

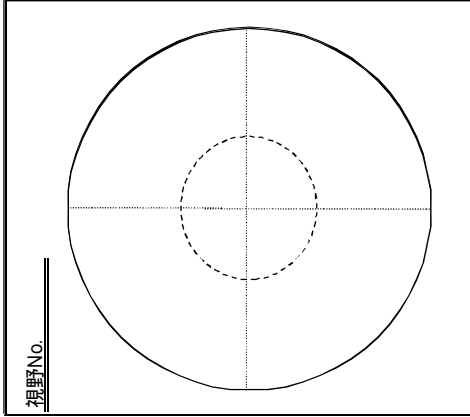
平成 年 月 日

(所属)

別紙2 位相差 / 偏光顕微鏡法 分析記録シート < 例 >

繊維 ID	形状	先端形状	繊維径	PLMの確認	E. 色	F. 複屈折	G. 消光位	H. 伸長性	I. 多色性	J. その他	判定
01											
02											
03											
04											
05											
06											
07											
08											
09											
10											

繊維径：7μm以下の目盛(5または3μm)を基にしたときの目安
 判定する上で不要と判断された欄は、未記入で構いません。



別紙3 位相差/蛍光顕微鏡法 計数記録シート<例>

試料名称			
捕集大気量(L)	2400	L	
フィルターの種類/有効ろ過面積	0.8μmメンブランフィルター	961.625 mm ²	
計数の方法	位相差/蛍光顕微鏡法		
使用した顕微鏡メーカー	カールツァイス / ニコン / オリンパス /		
使用した顕微鏡の型式/1視野の面積		0.071	mm ²
位相差顕微鏡レンズの型式/開口数		0.75	-
蛍光顕微鏡レンズの型式			-
測定者名/位相差・蛍光顕微鏡分析の経験年数			年
備考			

視野 こと の 計 数 値	光学顕微鏡法				視野 こと の 計 数 値	光学顕微鏡法			
	光学 顕微鏡法	PCM	蛍光	備考		光学 顕微鏡法	PCM	蛍光	備考
A	1				F	1			
	2					2			
	3					3			
	4					4			
	5					5			
B	1				G	1			
	2					2			
	3					3			
	4					4			
	5					5			
C	1				H	1			
	2					2			
	3					3			
	4					4			
	5					5			
D	1				I	1			
	2					2			
	3					3			
	4					4			
	5					5			
E	1				J	1			
	2					2			
	3					3			
	4					4			
	5					5			
計数視野数に相当する値						合計(X)	0	0	0
						フィルターブランク(Y)			
						総計(Z=X-Y)	0	0	0

計数日及び計数者

平成 年 月 日

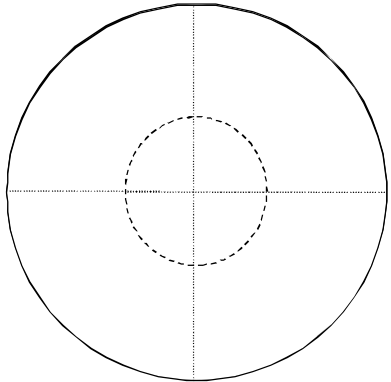
(所属)

別紙 4 位相差 / 蛍光顕微鏡法 分析記録シート <例>

<p>A. 形状(複数可)</p> <ol style="list-style-type: none"> 直線状 曲線状 束 枝分かれ 両側面が平行 その他() 	<p>B. 先端形状(複数可)</p> <ol style="list-style-type: none"> 割れ・広がり 階段状 側面に対して直角 側面に対して斜め その他() 不明 	<p>C. 繊維径</p> <ol style="list-style-type: none"> < 1 μm 1 μm 	<p>D. 蛍光顕微鏡の確認</p> <ol style="list-style-type: none"> + - 	<p>E. その他</p> <p>判定に要した具体的な特徴がある場合</p>	<p>判定</p> <ol style="list-style-type: none"> アスベスト繊維 その他の繊維
---	---	---	---	--	---

繊維径：7化[※]レイアウト中の目盛(6または3μm)を基にしたときの目安

判定する上で不要と判断された欄は、未記入で構いません。

視野No.	繊維 ID	形状	先端形状	繊維径	蛍光の確認	その他	判定	
	01							
	02							
	03							
	04							
	05							
	06							
	07							
	08							
	09							
	10							