

# 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

## 実施計画書

### 1. 目的

現在、アスベストマニュアル（第 4.0 版）【平成 22 年 6 月環境省 水・大気環境局 大気環境課】に参考資料として記載されている位相差/偏光顕微鏡法が、解体現場等において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。）として参考資料ではなく、ひとつの測定方法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のデータを収集することを目的とする。また、併せて位相差/蛍光顕微鏡法についても今後のアスベスト測定方法のひとつとして活用できるかを判断するために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））
- ・分析走査電子顕微鏡法（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。また、係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。

#### 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。また、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。

#### 4. 3 分析走査電子顕微鏡法の計数者

計数する者は分析走査電子顕微鏡(A-SEM)法での分析に関して熟練している者が実施する。また、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）の参考資料に記載されているそれぞれの測定方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う。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、リロケータブルスライドを使用し、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 $\mu$ m の円で 50 視野を観察する。なお、計数するスライドは、位相差/蛍光顕微鏡用のスライドを作成し、位相差/蛍光顕微鏡にて繊維を計数後、同一のリロケータブルスライドを位相差/偏光顕微鏡にて測定し、顕微鏡法の比較を行うものとする。また、計数者にはあらかじめ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リロケータブルスライドを使用して実施する。また、本試験では、位相差/蛍光顕微鏡法用に作成したスライドを位相差/蛍光顕微鏡にて計数した後、同一のスライドで位相差/偏光顕微鏡にて同様に計数する。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ろ紙により作成した異なるスライドを観察する。

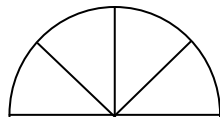
試験に使用するろ紙は、過年度調査を行ったろ紙から試験用試料を作成する。

試験用スライドの作成は以下の方法を予定する。分析機関は 3 社を予定する。

### 【スライド作成方法】

試験用スライドは、図-1 に示すように 1 枚のフィルターから 1/8 を分割し、1 試験分を作成する。これを 5 つのろ紙で作成し 5 検体とする。分析機関は 3 機関とし、5 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×4 片)



迅速法に供する検体

(1/8 円)



- ・位相差/偏光顕微鏡及び
- ・位相差/蛍光顕微鏡用
- ・分析走査電子顕微鏡用

図-1 検体の概要

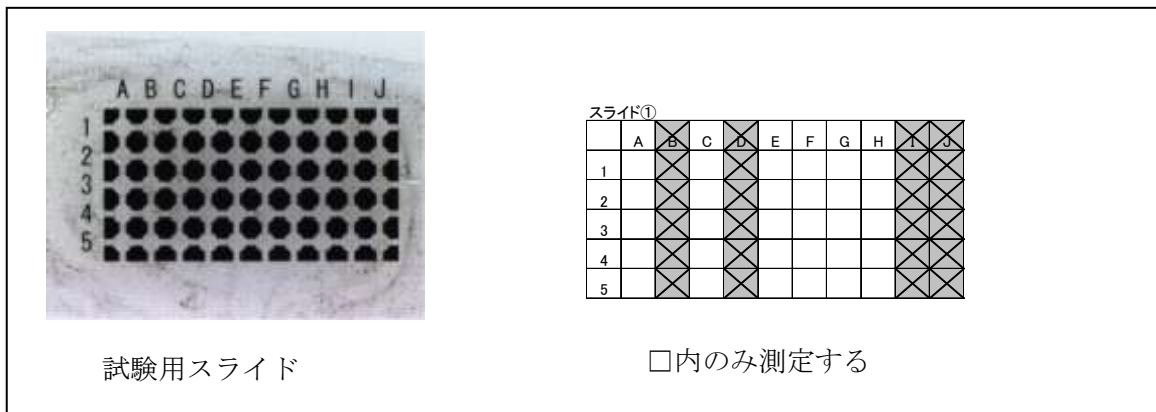


図-2 作成したリロケータブルスライド（実体顕微鏡写真） <例>

### 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。計測視野は、アイピースグレイティクルの直径 300 $\mu$ m の円でリロケータブルカバーガラス（カバーガラスには約 300 $\mu$ m の視野が 5 行 10 列並びで 50 個印字されたもの）50 個印字された視野のうち、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計数する。

### 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）の参考資料に記載されている方法に準じて作成する。

スライドの作成は、環境管理センターにてアスベストモニタリングマニュアル（第4.0版）にある蛍光染色法により作成する。作成する試験用スライドは図-3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 300 $\mu$ m の円でリロケータブルカバーガラスの 50 個の視野の内、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計数する。

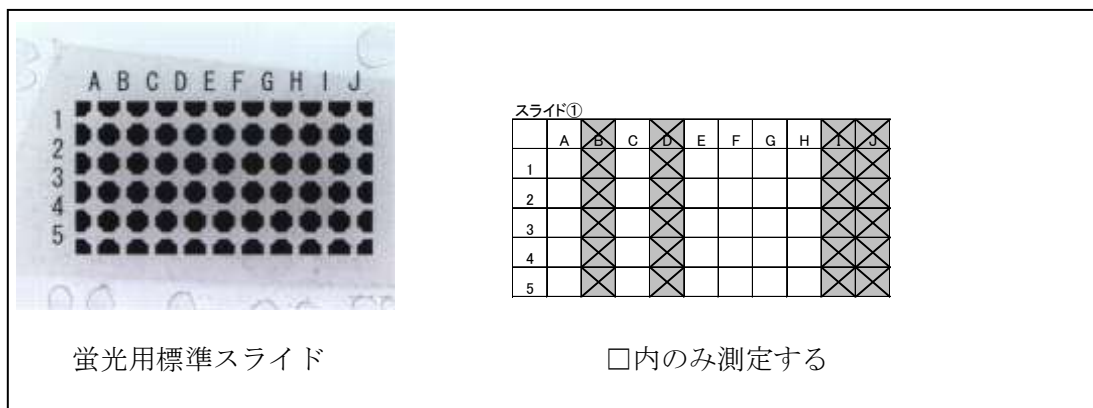


図-3 作成した位相差／蛍光顕微鏡法の試験用スライド（実体顕微鏡写真） <例>

### 6. 3 分析走査電子顕微鏡法 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）に記載されている方法に準じて作成する。

計数視野は、検出下限値  $0.2f/L$  を確保できる視野数とする。例えば、倍率 1000 倍のモニター画面上の 1 視野面積が、 $0.0122 \text{ mm}^2$ であった場合、330 視野を計数するものとする。但し、計数視野数によらず、アスベスト繊維数を 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、計数を終了しても良いものとする（アスベスト繊維が 200 本に達した場合、その視野は、最後まで計数する事）。

## 7. 試験用スライドの試験スケジュール

位相差／蛍光顕微鏡用と位相差／偏光顕微鏡用の試験用スライドを同一のものを使用するため、リロケータブルスライドは環境管理センターにて作成し、各分析機関へ宅配便等にて送付する。分析走査電子顕微鏡用については、各事業所にて蒸着操作を行う事とする為、ろ紙を環境管理センターより送付する。

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について

各分析機関に連絡した本試験の実施方法及び記録方法を以下に示す。

### 8. 1 位相差／蛍光顕微鏡法 実施方法

- (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）とする。
- (3) スライドを計数する場合は、アイピースグレイティクルの直径  $300 \mu\text{m}$  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. 4 に示す。
- (4) 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 4 に取りまとめる。繊維状粒子が確認された場合は、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。
- (5) 蛍光の退色を最小限に留める為、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。

### 8. 2 位相差／偏光顕微鏡法 実施方法

- (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×40、接眼レンズ×10）とする。
- (3) スライドを計測する場合、アイピースグレイティクルの直径  $300 \mu\text{m}$  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. 4 に示す。
- (4) 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う。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等を用いてもよい。

- (5) 計数した結果は別紙 1 に取りまとめると共に、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. 3 分析走査電子顕微鏡法 実施方法

- (1) 試験に使用する電子顕微鏡を適切な状態になるように調整する。
- (2) 倍率は、1000 倍程度を基本とするが、使用する電子顕微鏡の測定感度により適宜変更しても良い。  
また、EDX 測定時も適宜倍率を調整して測定する。
- (3) アスベストモニタリングマニュアル（第 4.0 版）による分析走査電子顕微鏡法(A-SEM 法) に従い、繊維状粒子の計数を行い、別紙 7 に取りまとめる。繊維状粒子が確認された場合は、EDX 検出装置を用いて構成成分を確認し、アスベストの種別毎に記録票に記入する。

### 8. 4 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  $\mu\text{m}$  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. 5 確認繊維の記録方法

- (1) 位相差／偏光顕微鏡及び位相差／蛍光顕微鏡については、長さ 5  $\mu\text{m}$  以上、幅 3  $\mu\text{m}$  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) 分析走査電子顕微鏡については、長さ 5  $\mu\text{m}$  以上、幅 0.2  $\mu\text{m}$  以上 3  $\mu\text{m}$  未満かつアスペクト比 3 以上（長さ／幅  $\geq 3$ ）の繊維状粒子をすべて記入する。