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

一 目 次 一

はじめに

第	1	部		総	論				1
	1		1		ア	スベ	ス	トの測定	1
		1		1		1	_	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	,	_	般 3	環境	に	おけるアスベストの測定方法	4
- 1-3								集方法	4
								定地点及び測定箇所の設定	4
		2		1				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)	1 1
		2		3	. ;	3	分	折走査電子顕微鏡法 (A − S E M法)	2 2
			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	3 1
		2		3	•	4	分	析透過電子顕微鏡法(A−TEM法)	3 8
第	3	部		解	体	現場	等	こおけるアスベストの測定方法	5 0
	3		1		試	料の	捕	集方法	5 0
		3		1		1	測	定地点及び測定箇所の設定	5 0
		3		1		2	捕	集用装置及び器具	5 0
		3		1		3	捕	集条件	5 0
		3		1		4	捕	集にあたっての注意事項	5 1
	3		2		繊	維数	濃	度の算出	5 1
	3		3		解	体現	場	における測定方法各論	5 2
		3		3		1	測	定手順	5 2
		3		3		2	位	相差顕微鏡法 (PCM法)	5 2
		3		3		3	分	析走査電子顕微鏡法(A−SEM法)	5 2

3	. 3		4	分析透過電子顕微鏡法 (A-TEM法)	5 2
	参考	資	料	解体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おいて行うものとする。

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。

【一般環境】

1) 従来の方法を踏まえたもの

位相差顕微鏡で計測 ※総繊維数



総繊維数が「1 f/L」 を超えた場合

電子顕微鏡で計測 ※アスベストを同定

※ 「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</u> ても良い。

【解体現場等】

1) 従来の方法を踏まえたもの

位相差顕微鏡で計測 ※総繊維数



総繊維数が「1 f/L」 を超えた場合

電子顕微鏡で計測 ※アスベストを同定

※ 「位相差顕微鏡→電子顕微鏡」 の他に、<u>直接、電子顕微鏡で分</u> 析しても良い。

- 2) 迅速な測定が可能な方法の紹介
- 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	
	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	
約17四 +辛	③ 旧アスベスト取扱工場・事業場散在地域	
一般環境	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	
	⑦ 内陸山間地域	
 一般環境	8 離島地域	
一般環境 (バックグラウンド地域)	9 住宅地域	
(ハフノノブランド地域)	⑩ 商工業地域	
	① 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 箇所の間の距離は、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箇所の間の距離は、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箇所の間の距離は、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しうる地点で、かつ付近に障害物の少ない2箇所を選定する。2箇所の間の距離は数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しうる地点で、主要車道路肩から 50m以上離れた 2 箇所とする。2 箇所の間の距離は 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 μm 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 $0.8 \mu m$ 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)。

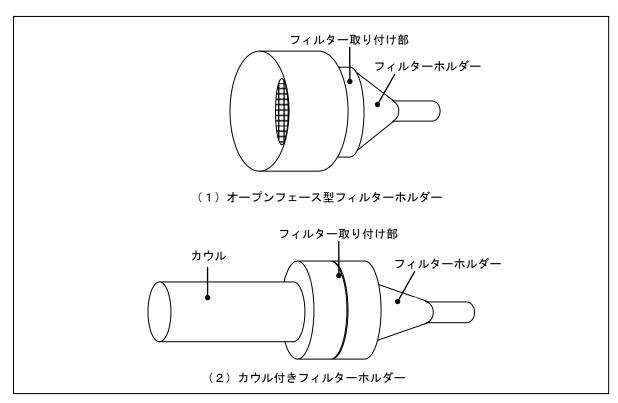


図1 フィルターホルダー

(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。

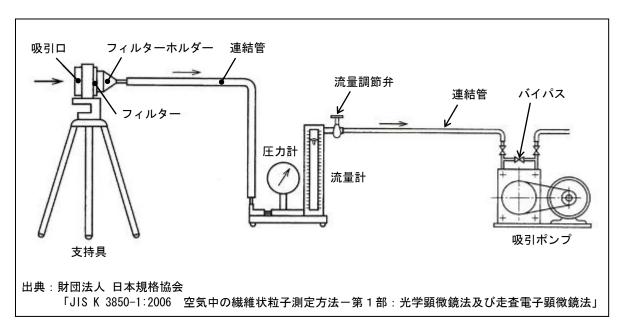


図2 捕集装置の構成の一例

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/cm² 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/cm² 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 $10 \, \mu$ m 以上の粒子を含めた総粉じん濃度は、高い時でも $0.5 \, \text{mg/m}^3$ 程度と考えられる。そこで総粉じん濃度を $0.5 \, \text{mg/m}^3$ と仮定し、吸引流量 $10 \, \text{L/min}$ で試料を捕集するとすれば、フィルター上の表面密度が $0.3 \, \text{mg/cm}^2$ になるには、 $9.6 \, \text{時間を要することとなる}$ 。

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、呼気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-SEM法、A-TEM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。

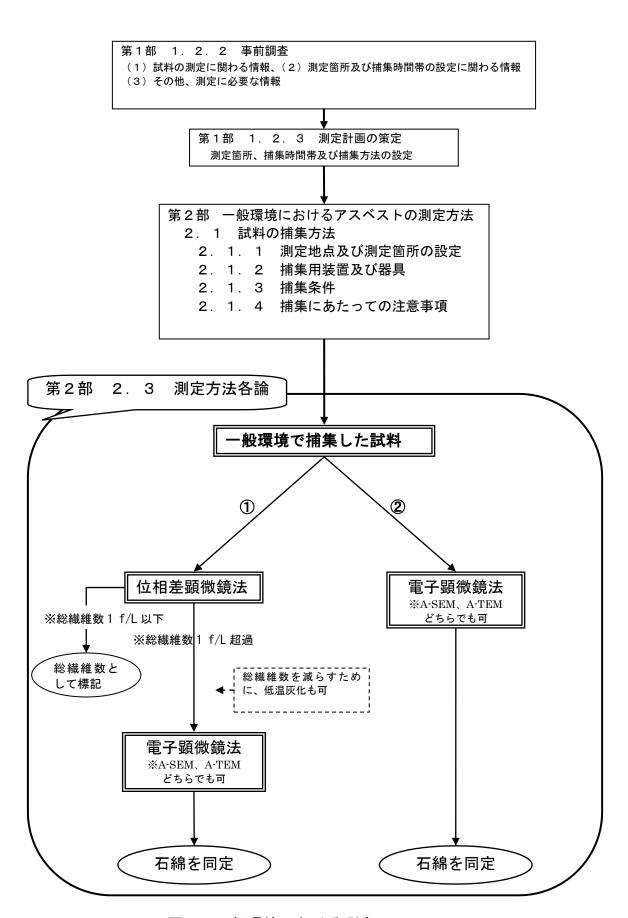


図3 一般環境における測定フロー

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ので、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R3702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、切り離し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鋏に付着してしまうことがあるので、鋏を使用する場合にはセラ

ミック製の鋏を使用するなど、充分な注意が必要である。

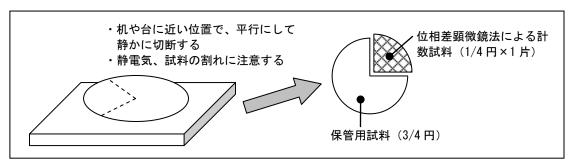


図4 フィルター分割方法の一例(位相差顕微鏡法)

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にのせ、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た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、その上からカバーグ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)。カバーグ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グラスがはがれる原因になる。またトリアセチンがカバーグラスからはみ出すほど多いと、スライドグ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℃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グ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。

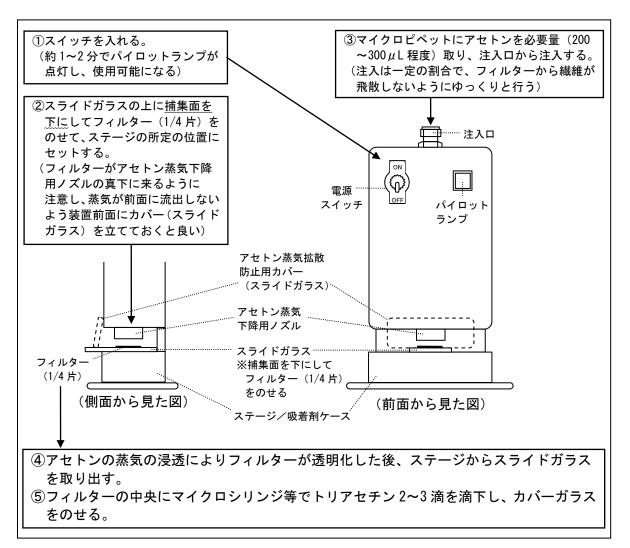


図5 アセトン/トリアセチンを用いる場合の標本作製の流れ

DMF-ユーパラル法による顕微鏡標本の作り方

- a) 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)。
- b) スライドグラス上にカバーグラスを置き、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 のカバーグラスを使用する)。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。
- c) フィルターを透明化するため、スライドグラスを 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)。
- d) 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。
- e) カバーグラスを持ち上げ、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)

清浄なスライドグラス上にゆっくり置く。カバーグラス表面を押したりしてはいけない。

- f) ユーパラルを固めるためスライドグラスを約 60°Cのホットプレート上で 30 分間加温する。
- X 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) そのまま片眼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
 - (I) 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 μ 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。

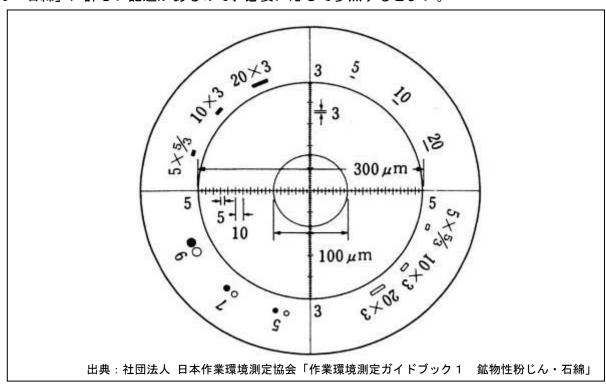


図6 アイピースグレイティクルの一例

2) 計数の準備

接眼レンズの中にアイピースグレイティクルを装着し、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、アイピースグレイティクルの最小の目盛は 5μ 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(10μ m)によって確認する。

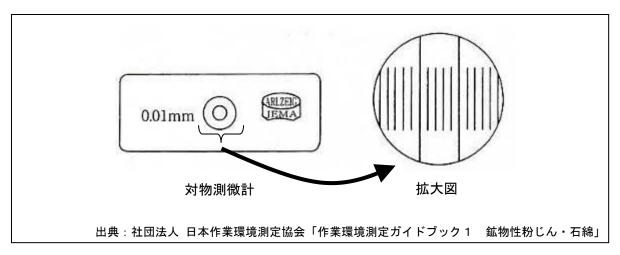


図7 対物測微計

3) 計数対象繊維

長さ 5μ m 以上、幅(直径) 3μ m 未満で、かつ長さと幅の比(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 $300\,\mu$ 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ので、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)。

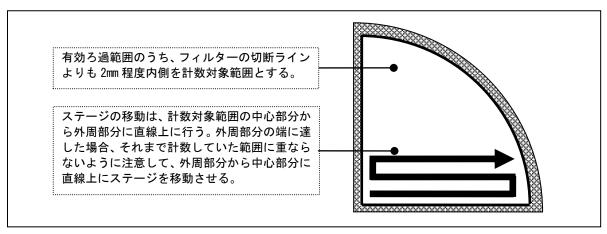


図8 フィルターの計数対象範囲及びステージの移動方向

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 $\pm7\%$ 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 3μ 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 3μ 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。

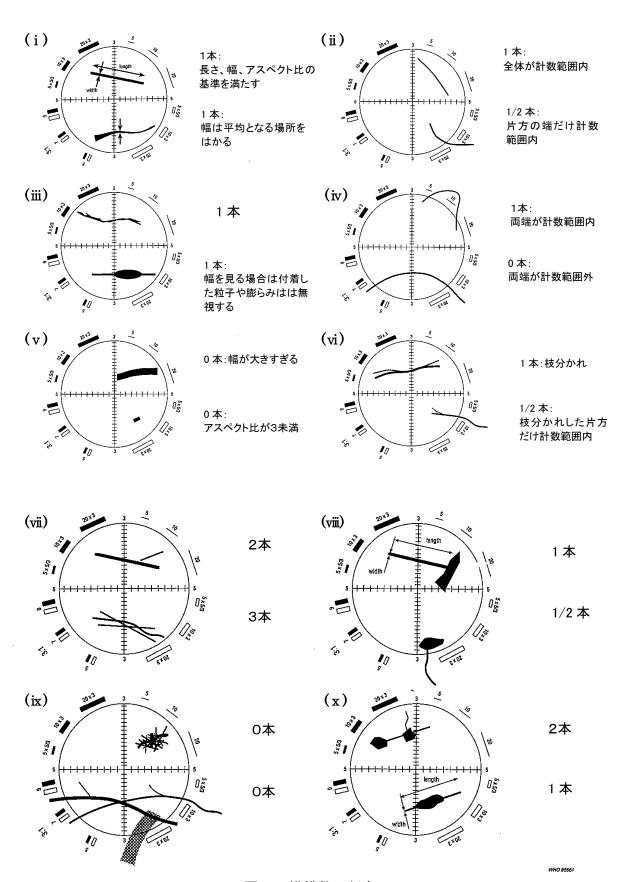


図9 繊維数の判定

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 $5 \mu m$ 以上、幅 $3 \mu m$ 未満で、かつ長さと幅の比(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ティク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、比較的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、サンブ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。

(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。

 $F_{\tau} = A \times (N_P - N_B) / (a \times n \times V)$

 F_T : 総繊維数濃度(f/L)

 A : メンブランフィルターの有効面積(mm²)

 N_P : 位相差顕微鏡で計数した繊維数(f)

 N_B : フィルターブランク値(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

(例) アイピースグレイティクルの直径が 300 μ m の場合、1 視野の面積は 0.07065mm²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. 625mm² 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。

 $F_6 = (F_1 \times F_2 \times F_3)^{-1/3}$

 F_G
 : 3回捕集の幾何平均による繊維数濃度(f/L)

 F₁
 : 捕集1日目の繊維数濃度(f/L)

 F₂
 : 捕集2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。

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

この式では、各回の繊維数濃度の対数をとったもの(log F₁、log F₂、log F₃)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 5μ 以上、幅 0.2μ 以上 3μ 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 0.2μ 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 SE M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、切り離し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鋏に付着してしまうことがあるので、鋏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。

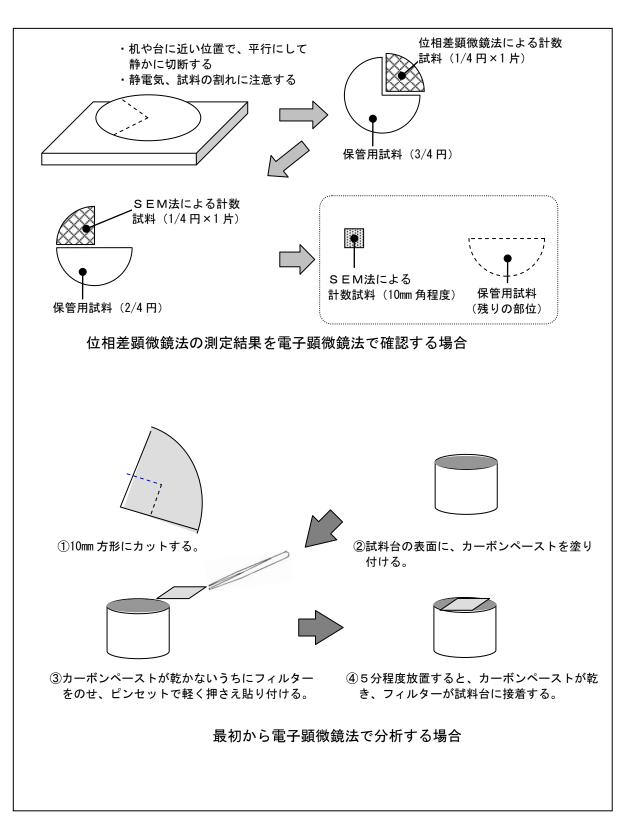


図10 フィルターの分割方法及び標本作製の流れの一例

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 : 5μm以上

幅 : 0.2μm以上3μm未満

アスペクト比 : 3以上(長さ/幅≥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。
 - クリソタイル
 - ② アモサイト

資料に示す。

- 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

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 μ 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。

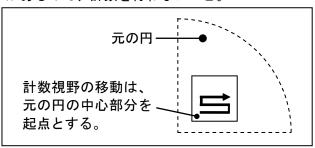
※ モニター画面を利用する場合は、機器の倍率と画面上の見かけの倍率が異なる可能性があるため、標準マイクロスケール等を用いて視野範囲を正確に計測する必要がある。また、計数時の倍率

は固定する必要がある。

計数視野:計数視野の移動は下図のように行う。なお、切断ラインか

の移動 ら 2mm 程度までは、試料の汚染又は損失をしている可能性

があるので、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、 $0.2 \mu m$ 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ので、ラインから離れたところで計数を行うこと(図 1 1 参照)。

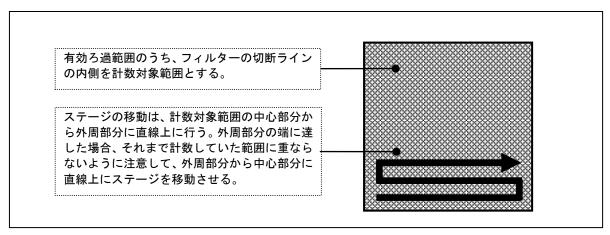


図11 フィルターの計数対象範囲及びステージの移動方向

(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 mm² 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 1 O 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、測定の目的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₌ : 必要な計数視野数

A : フィルターの有効面積 (mm²)

a_E : 視野範囲の面積 (mm²)

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)。

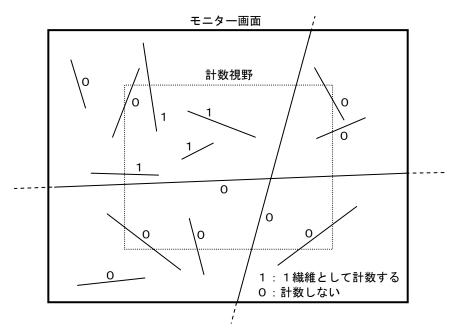


図12 はみ出した繊維の計数方法例

- 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 3μ 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 3μ 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 5μm 以上、幅 3μm 未満で、かつ長さと幅の比(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 ンブ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。

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

A : フィルターの有効面積(mm²) 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(mm²)

(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 mm²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 mm²であるから、捕集流量 1200L、S E M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)

 F₁
 : 捕集1日目の繊維数濃度 (f/L)

 F₂
 : 捕集2日目の繊維数濃度 (f/L)

 F₃
 : 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。

$$F_{g} = e \times p \{ (log F_{1} + log F_{2} + log F_{3}) / 3 \}$$

この式では、各回の繊維数濃度の対数をとったもの(log F₁、log F₂、log F₃)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	

