

可搬型顕微鏡に係る測定比較試験結果

1. 検討背景

本検討会において、解体現場等の集じん・排気装置排出口や作業現場近傍などからの漏えい監視を目的とした迅速測定法として、位相差顕微鏡や位相差／偏光顕微鏡法及び位相差／蛍光顕微鏡法より精度が落ちる可能性はあるが、現場で、簡易かつ迅速に繊維の確認ができる方法が必要であるとしている。

そのため、位相差／偏光顕微鏡や位相差／蛍光顕微鏡に比べ、よりコンパクトで、現場への搬入が容易であり、電源や設置場所に制限されない可搬型の顕微鏡について、アスベストモニタリングマニュアル（第4.1版）（以下「マニュアル」という。）の参考に記載されている可搬型蛍光顕微鏡法も含めて情報を収集・整理し、現場での迅速測定に使用可能な可搬型顕微鏡法について、測定方法各論への追記を検討している。今回検証対象とする可搬型顕微鏡は、小型であるため、マニュアルに記載の顕微鏡法に比べて、検鏡の精度が低いと考えられ、現場のアスベスト含有建材の種類や含有率、劣化状況、除去工法などによって飛散する繊維は異なるため、平常時のモニタリングにおいて、これまでの顕微鏡法に代わることはできないと推察される。一方、災害時や解体現場等における迅速な総繊維やアスベスト繊維の確認方法として、可搬型顕微鏡による迅速測定の必要性もあり、可搬型顕微鏡を用いてマニュアルに記載されている顕微鏡と比較試験を行い、実際に可搬型顕微鏡使用の可能性について検討を行った。

2. 試験方法

2-1 試験対象機種

- 可搬型位相差顕微鏡
 - ・ 超小型位相差顕微鏡
- 可搬型蛍光顕微鏡
 - ・ iPad 蛍光顕微鏡
 - ・ ハンディ蛍光顕微鏡（スマートフォン対応）（以下、「ハンディ蛍光顕微鏡」という。）

【比較基準とした顕微鏡】

- 位相差顕微鏡
- 位相差/蛍光顕微鏡
- 蛍光顕微鏡

表-1 試験対象機種 性能一覧

顕微鏡	可搬型顕微鏡		
	超小型位相差顕微鏡	iPad蛍光顕微鏡	ハンディ蛍光顕微鏡(スマートフォン対応)
サイズ	19cm(H)×5cm(W)×15cm(D)	18cm(H)×27cm(W)×18cm(D)	12.4-15.4cm(H)×16.2cm(W)×12cm(D)
重量	1.1kg(電池含まず)	4.5kg	1.5kg(電池含まず)
標本作製	ろ紙の透明化処理が必要	アスベスト検出試薬(アスベスト蛍光発色剤)が必要	アスベスト検出試薬(アスベスト蛍光発色剤)が必要
観察倍率	50-800倍 (当該試験時は、400倍で使用)	300倍(iPad画面上)	対物レンズ:40倍を使用
分解能	「卓上型位相差顕微鏡と同等の性能」と記載あり	0.7μm	3W青色LED、励起波長470nm、 蛍光波長480~550nm
対象繊維	無機繊維・有機繊維	アスベスト繊維	アスベスト繊維
光源電源	モバイルバッテリー(DC5V 1A) USBポート使用	リチウムイオンバッテリー(充電式)	単三電池×3本(4.5V)
販売金額(円)	本体価格(¥190,000) +プレパラート用ステージ(¥30,000)	本体価格(¥950,000) +iPad mini2(¥25,000:中古品)	本体価格(¥480,000) +CCDカメラ(¥200,000)
販売台数(台)	累計50台程度		
その他	オプションで、プレパラート用のステージ有。 オプションのUSBカメラ取付でPCへ画像の保存可能	iPadは別 取得した画像はiPadの通信機能により、離れた分析室で画像をリアルタイムで観察可能	スマートフォンは別 オプションのCCDカメラによるPCでの観察も可能

2-2 試験方法

試験用スライド作成に使用したフィルターは、アスベスト繊維数濃度が、1本/L未満、1本~10本/L、10本/L以上のフィルターを選定した。選定したフィルターは、株式会社環境管理センターが解体現場で採取したフィルターを使用した。

表-2 試験用スライド一覧

NO.	総繊維数濃度 (本/L)	アスベスト繊維 数濃度 (本/L)	アスベスト種類
①	53	6.3	クリソタイル
②	6.4	0.55	クリソタイル
③	2.4	1.5	クリソタイル(50%)、アモサイト(50%)
④	70	54	クリソタイル(41.5%)、アモサイト(58.5%)
⑤	4.0	2.5	クリソタイル(42.4%)、アモサイト(57.6%)

スライドの作成は、株式会社環境管理センターにて位相差及び蛍光顕微鏡の比較試験用にマニュアルにある蛍光染色法により透明化処理を行い、スライドを作成した。また、黒田委員から「ろ紙を透明化すると蛍光の感度が若干落ちる」とのご指摘を受け、蛍光顕微鏡と可搬型蛍光顕微鏡の比較用スライドは、透明化処理を行わない方法でも作成した。

計測視野は、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、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、試験対象機種 3 種類及び比較基準とした顕微鏡 2 種類にて計数を行った。

計数値の比較は、超小型位相差顕微鏡（試験対象機種）については、位相差顕微鏡で確認したアスベスト様の繊維の総計数値にて比較を行った。

可搬型蛍光顕微鏡については、位相差／蛍光顕微鏡または蛍光顕微鏡にて、蛍光発色を呈した繊維の計数値と iPad 蛍光顕微鏡及びハンディ蛍光顕微鏡（試験対象機種）で計数した蛍光発色を呈した繊維の計数値にて行った。蛍光顕微鏡の計数に当たっては、蛍光発色を呈した繊維に対し、アスベスト繊維か非アスベスト繊維の区別についての判定についての教育を受けた者が検鏡を行った。

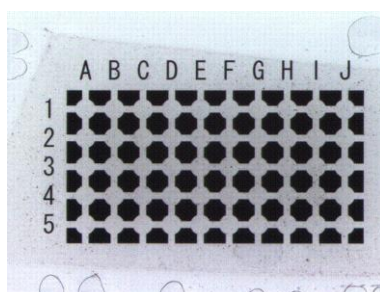


図-1 リロケータブルスライド（実体顕微鏡写真）〈例〉

測定は、試験対象機種の超小型位相差顕微鏡、iPad 蛍光顕微鏡、ハンディ蛍光顕微鏡の 3 機種にて、上記スライド①～⑤を測定し、それぞれの基準とする顕微鏡にて測定した総繊維又は、アスベスト繊維の計数繊維数との比較を行った。

計数は、1 名で行い、現行マニュアルの位相差顕微鏡法（PCM 法）の繊維数の判定方法に基づき実施した。但し、蛍光顕微鏡の繊維判定については、蛍光色を呈した繊維について上記の判定方法に基づき実施した。

3. 試験結果

リロケータブルスライドは、本来計数者の計数技能評価等に使用されるものであるが、今回は、各試験対象機種が比較基準とした顕微鏡にて測定した繊維数と同一視野の観察でどのような差が生じるのかを確認するために使用した。

比較基準とする顕微鏡にて計数したリロケータブルスライド 50 視野の計数繊維数と試験対象機種にて測定したリロケータブルスライド 50 視野の計数繊維数を以下に示す。

位相差顕微鏡と超小型位相差顕微鏡の計数比較結果を表-3 に、透明化処理を行ったスライドを検鏡した位相差／蛍光顕微鏡と可搬型蛍光顕微鏡（iPad 蛍光顕微鏡及びハンディ蛍光顕微鏡）の計数比較結果を表-4 に、透明化処理を行わなかったスライドを蛍光顕微鏡と可搬型蛍光顕微鏡（iPad 蛍光顕微鏡及びハンディ蛍光顕微鏡）との計数比較結果を

表-5にそれぞれ示した。

表-3 超小型位相差顕微鏡 計数比較結果

		位相差顕微鏡で計数した繊維の本数 (本)	位相差顕微鏡と同一の繊維を計数した本数 (本)	位相差顕微鏡で計数した1視野あたりの平均本数 (本/視野)	超小型位相差顕微鏡で計数した1視野あたりの平均本数 (本/視野)	繊維の確認が一致した割合 (%)
超小型位相差顕微鏡	スライド①	49	12.5	0.98	0.25	26%
	スライド②	17.5	5	0.35	0.10	29%
	スライド③	21	12	0.42	0.24	57%
	スライド④	102.5	11	2.1	0.22	11%
	スライド⑤	24	2	0.48	0.04	8%

表-4 可搬型蛍光顕微鏡 計数比較結果 (透明化处理有り)

		位相差/蛍光顕微鏡にてアスベスト繊維と判定した本数 (本)	位相差/蛍光顕微鏡と同一の繊維を計数した本数 (本)	位相差/蛍光顕微鏡で計数した1視野あたりの平均本数 (本/視野)	可搬型蛍光顕微鏡で計数した1視野あたりの平均本数 (本/視野)	繊維の確認が一致した割合 (%)
iPad蛍光顕微鏡	スライド①	25	17.5	0.50	0.35	70%
	スライド②	2	1	0.04	0.02	50%
	スライド③	9	7	0.18	0.14	78%
	スライド④	68.5	39	1.4	0.78	57%
	スライド⑤	17	9	0.34	0.18	53%
ハンディ蛍光顕微鏡 (スマートフォン)	スライド①	25	1	0.50	0.02	4%
	スライド②	2	1	0.04	0.02	50%
	スライド③	9	2	0.18	0.04	22%
	スライド④	68.5	23	1.4	0.46	34%
	スライド⑤	17	6	0.34	0.12	35%

表 - 5 可搬型蛍光顕微鏡 計数比較結果 (透明化処理無し)

		蛍光顕微鏡にてアスベスト繊維と判定した本数(本)	蛍光顕微鏡と同一の繊維を計数した本数(本)	蛍光顕微鏡で計数した1視野あたりの平均本数(本/視野)	可搬型蛍光顕微鏡で計数した1視野あたりの平均本数(本/視野)	繊維の確認が一致した割合(%)
iPad蛍光顕微鏡	スライド①	49.5	33	0.99	0.66	67%
	スライド②	6	4	0.12	0.08	67%
	スライド③	34	28	0.68	0.56	82%
	スライド④	249.5	159.5	5.0	3.2	64%
	スライド⑤	25	17	0.50	0.34	68%
ハンディ蛍光顕微鏡(スマートフォン)	スライド①	49.5	0	0.99	0	0%
	スライド②	6	0	0.12	0	0%
	スライド③	34	0	0.68	0	0%
	スライド④	249.5	0	5.0	0	0%
	スライド⑤	25	0	0.50	0	0%

表-3より、位相差顕微鏡で確認できた繊維のうち、「超小型位相差顕微鏡」で確認できた繊維は、位相差顕微鏡で計数した繊維の8%~52%であった。

表-4及び表-5より、透明化処理を行ったスライドを検鏡し、位相差/蛍光顕微鏡でアスベスト繊維と判定した繊維に対し、「iPad 蛍光顕微鏡」で同一の繊維を確認できた繊維数は、位相差/蛍光顕微鏡で計数した繊維数の50%~78%であった。

また、透明化処理を行わないスライドを検鏡し、蛍光顕微鏡でアスベスト繊維と判定した繊維に対し、「iPad 蛍光顕微鏡」で同一の繊維を確認できた繊維数は、蛍光顕微鏡で計数した繊維数の64%~82%であった。

同様に、透明化処理を行ったスライドを検鏡し、位相差/蛍光顕微鏡でアスベスト繊維と判定した繊維に対し、「ハンディ顕微鏡」で同一の繊維を確認できた繊維数は、位相差/蛍光顕微鏡で計数した繊維数の4%~50%であった。

また、透明化処理を行わないスライドを検鏡し、蛍光顕微鏡でアスベスト繊維と判定した繊維に対して、「ハンディ蛍光顕微鏡」では繊維を確認できなかった。

以上の結果より、可搬型顕微鏡は、比較対象とした位相差顕微鏡及び位相差/蛍光顕微鏡、蛍光顕微鏡より、検鏡精度が劣る事が分かった。

4. まとめ

今回試験を行った可搬型顕微鏡による観察では、比較基準とした位相差顕微鏡法や位相差/蛍光顕微鏡及び蛍光顕微鏡法と比較して繊維数が低くなる傾向があった。検鏡作業における課題も確認されたので整理した。

今回使用した試験対象機種の迅速測定法としての使用に関する検討結果を表-6に示した。

表-6 試験対象機種の迅速測定法としての使用に関する検討結果

比較対象顕微鏡	超小型位相差顕微鏡	iPad蛍光顕微鏡	ハンディ蛍光顕微鏡
スライド作成時間	10分程度/スライド1枚	20分~25分程度/スライド1枚	
検鏡時間	50分~90分/スライド1枚 (50視野)	40分~60分/スライド1枚 (50視野)	— /スライド1枚 (50視野)
	通常：30分~50分/スライド1枚 (50視野)	通常：30分~50分/スライド1枚 (50視野)	
	今回は、リロケータブルスライドを使用したため、視野を合わせる作業に時間が掛かり、検鏡時間が長くなった。		
最小繊維幅	0.70 μm (実測値) (HSE/NPL テストスライド (No.5) : バンドNo.2 (ラインの幅 : 0.77 μm))	0.44 μm (実測値)	—
位相差顕微鏡または 蛍光顕微鏡と比較した 操作の行いやすさ	より分析を行いやすい 同様 分析が行いにくい	より分析を行いやすい 同様 分析が行いにくい	より分析を行いやすい 同様 分析が行いにくい
操作・使用状況について	<ul style="list-style-type: none"> ・小型のため検鏡する姿勢がきつくと測定には不向きと感じた。 ・片目での検鏡なのでピントが合わせにくい。 ・長時間の観察のため目に疲労が溜まりやすかった。 ・今回の顕微鏡にはクレンメルとステージ移動ハンドルがなかったため、ろ紙を検鏡するには不便であり実用性に欠けた。 	<ul style="list-style-type: none"> ・iPadの画面では、蛍光顕微鏡に比べて視野が明るく見える為、視認しづらい繊維がある。 ・iPadのカメラによるところなのか、蛍光顕微鏡で繊維に見えた短い繊維が、粒子状のように見えるものがある。 	<ul style="list-style-type: none"> ・スマートフォンでスライドを確認する場合、カメラの倍率を最大にしないうろ紙を確認できない。 ・スマートフォンの画面では、ろ紙が蛍光発光しているように見える。 ・最大倍率にするとピントが合いにくく、画質も荒くなるため、ろ紙上の繊維の確認ができなかった。
位相差顕微鏡法または 蛍光顕微鏡との比較結果	位相差顕微鏡法よりも低い結果となる。 (繊維数として8~57%)	蛍光顕微鏡法よりも低い結果となる。 (繊維数として64~82%)	繊維の確認ができなかった。
誤差要因について	<ul style="list-style-type: none"> ・テストスライド：繊維幅0.77 μm (No.2) まで確認できたが、それより細い繊維が見えない。 ・繊維の計測の目安となるアイピースグレイテイルがないので繊維の長さが測れない。 ・単眼のため双眼よりも視認性が劣る。 	<ul style="list-style-type: none"> ・蛍光顕微鏡と比較して蛍光発色が弱く、蛍光顕微鏡で確認できている繊維の一部が確認できない。 ・蛍光発色のせい、iPadのカメラによるところなのか、蛍光顕微鏡で繊維に見えた短い繊維が、粒子状のように見えるものがある。 	<ul style="list-style-type: none"> ・検鏡のためスマートフォンのカメラの倍率を上げなくてはならず、画質が荒くなるため、ろ紙上の繊維が確認しづらい。 ・蛍光発光している繊維の確認ができない。
使用後の所見など	<ul style="list-style-type: none"> ・接眼部分が単眼ではなく双眼の方が使いやすと感じた。 ・ろ紙を検鏡する場合に、プレバート用ステージを入れることで、スライドを移動させる時の不便さが解消されると考える。 	<ul style="list-style-type: none"> ・付属しているスケールで繊維の長さ・幅を測定することができる。 ・視野画面が大きく、繊維の確認は容易であったが、拡大すると焦点が合いにくく画質が荒くなるため、繊維の確認がしづらい。 	<ul style="list-style-type: none"> ・スマートフォンの画面より、大きな画面の方がろ紙の確認がしやすいと考える。

4-1 超小型位相差顕微鏡について

位相差顕微鏡と同一視野で確認できた繊維数は、比較基準である位相差顕微鏡で確認した繊維数の8%~52%と低く、「見えていない」繊維が多いという結果であった。超小型位相差顕微鏡の性能を確認するために HSE/NPL テストスライド (No.5) にて確認を行ったところ、正規の位相差顕微鏡であれば、バンドNo.6 (ラインの幅 : 0.36 μm) まで確認できるところ、バンドNo.2 (ラインの幅 : 0.77 μm) が辛うじて確認できる程度であった。この結果から、「超小型位相差顕微鏡」では、繊維幅 0.77 μm より細い繊維が「見えていない」ものと推察される。そのため、「超小型位相差顕微鏡」は、建材中に含まれている石綿繊維のように纏まって繊維幅が 0.77 μm を超えている繊維の確認は可能であると考えられるが、0.77 μm 未満の細い繊維の確認が難しい点で、大気モニタリング用としては、現場での繊維確認・計数への利用は難しいと推察され、マニュアルに記載するべきではないと判断する。

4-2 iPad 蛍光顕微鏡について

「iPad 蛍光顕微鏡」では、透明化処理を行ったスライドを検鏡した結果、位相差/蛍光顕微鏡と同一視野で計数したアスベスト繊維の割合は、比較基準の位相差/蛍光顕微鏡で確認したアスベスト繊維数の50%~78%であった。

また、透明化処理を行ったスライドを検鏡した結果では、蛍光顕微鏡と同一視野で計数したアスベスト繊維の割合は、比較基準の蛍光顕微鏡で確認したアスベスト繊維数の64%~82%であった。この「透明化処理を行った場合」と「透明化処理を行わなかった場合」の差については、黒田委員の「ろ紙を透明化すると蛍光の感度が若干落ちる」とのご意見に合致するものであった。

蛍光顕微鏡の場合は、位相差顕微鏡と異なり、自家蛍光を呈する繊維やアスベスト繊維以外にも蛍光染色され蛍光発色を呈する繊維もあるため、繊維の確認には繊維の見え方に関する教育が必要となる。今回は、繊維の見え方に関する教育を受けた分析者が検鏡を行ったが、iPad画面で確認できる繊維の蛍光発色が蛍光顕微鏡に比べて弱く見えたため、蛍光発色の感度が低い繊維が「見えていない」ことが、比較基準の蛍光顕微鏡と比べてアスベスト繊維数が低くなった要因の一つではないかと推察する。iPad 蛍光顕微鏡については、繊維の見え方に関する教育や擬陽性に関する課題もあるため更なる検討が必要であると考えます。

しかし、「iPad 蛍光顕微鏡」は、蛍光発色の感度不足等のため、蛍光顕微鏡より検鏡精度は劣るものの蛍光顕微鏡とほぼ同じ繊維幅(0.44 μ m)まで確認することができていた。そのため、解体や災害等におけるアスベストの漏えいや飛散の状況を現場で迅速に把握するためのスクリーニング方法として使用することができるか、さらにデータを収集する等検討を継続する。

4-3 ハンディ蛍光顕微鏡

「ハンディ蛍光顕微鏡」で、透明化処理を行ったスライドを検鏡した結果、位相差/蛍光顕微鏡と同一視野で計数したアスベスト繊維の割合は、比較基準の位相差/蛍光顕微鏡で確認したアスベスト繊維数の4%~50%であった。また、透明化処理を行ったスライドを検鏡した結果は、繊維の存在確認ができないという結果であった。

「ハンディ蛍光顕微鏡」は、スマートフォンのカメラを通して画面越しに繊維の確認を行うが、透明化処理を行ったスライドは、ろ紙全体が蛍光発色しているように見えてしまい、スマートフォンのカメラを通した画像を最大倍率にしても、ろ紙上の繊維を確認できなかった。今回使用した「ハンディ蛍光顕微鏡」は、アスベストを確認する専用の顕微鏡ではないため、検出する蛍光波長や励起波長の設定等が適切でない可能性が考えられる。そのため、マニュアルに記載すべきではないと判断する。

今回試験対象とした iPad 蛍光顕微鏡以外の可搬型顕微鏡は、アイピースグレイティクル又は、それに代わるスケールが無いため、繊維の長さや幅の確認や検鏡する視野範囲が確定できなかった。

また、現場で採取したフィルターを分割した後、可搬型顕微鏡で検鏡し、繊維数濃度の計算を行う場合は、可搬型顕微鏡の視野面積を測定することが必要である。

iPad 蛍光顕微鏡の測定手順のように、フィルターを分割せず、ろ紙全面を可搬型顕微鏡にて検鏡するのであれば、視野面積を計算上必要としないため繊維数濃度の計算は可能と考える。今後も可搬型顕微鏡での測定データを収集し精査していくとともに、迅速測定に対応可能な顕微鏡の情報を収集していく必要がある。