

ノート

画像を活用したアスベスト計数分析のマニュアル作成

小山善丸, 棚瀬敦史, 西山 亨

Preparation of the Manual for Asbestos Counting Analysis by Using Microscopic Features

Yoshimaru KOYAMA, Atsushi TANASE, and Tooru NISHIYAMA

環境中アスベスト濃度の位相差顕微鏡を用いた計数分析 (PCM 法) においては, 繊維状粒子が計数対象のアスベストであるかの判断が, 分析者によって異なることによる検査結果のばらつきが問題とされている. アスベスト繊維の定量精度の向上を目的として, 画像を活用した判別のためのマニュアルを作成した. マニュアルの作成により環境試料におけるアスベスト定量精度の大きな向上はみられなかったが, 繊維状粒子の外形による定性精度は向上した.

キーワード: 環境大気, アスベスト, 位相差顕微鏡, 分散染色法, SEM

はじめに

発生源におけるアスベスト排出濃度については, 平成元年 12 月 27 日付け環境庁告示第 93 号により位相差顕微鏡を用いる分析法 (PCM 法) によることとされている.

本県では, 同分析法により環境中のアスベストモニタリング調査および特定粉じん排出等作業現場に対する立入検査を行っている.

しかしながら, PCM 法では, 計数対象繊維をその長さ, 幅, アスペクト比などによる形状からの判別および屈折率がおおよそ 1.5 であるかを生物顕微鏡像で判別するものであることから, 非アスベスト繊維が存在する環境試料やクリソタイル以外のアスベストが施工されていた解体現場における適用に関しては問題が指摘されている¹⁻³⁾.

本報告では, 公定法を補完しアスベスト繊維の定量精度を向上することを目的として, 画像を活用した判別のためのマニュアルを作成し, 精度向上に係る検討を行ったのでその結果を報告する.

方 法

1. 標準試料

一般にアスベストとされている 6 種の鉱物繊維のうち, 国内で主に用いられたクリソタイル, クロシドライト, アモサイトをアスベスト標準試料として用いた. アスベスト標準試料は (社) 日本作業環境測定協会の石綿分析用 (X 線回折分析法・計数法用) 試料 (JAWE131, JAWE231, JAWE331) を使用した. また, アスベストと同様に建築材料に用いられるロックウールをアスベスト類似繊維の標本とした.

2. 装置

PCM 法および分散染色法では Nikon ECLIPSE 80i を, A-SEM 法では JEOL JSM-5800 及び JED2000 を用いた.

3. 試料の調整と測定方法

試料は PCM 法のほか, アスベストモニタリングマニュアルに追加された分析走査電子顕微鏡法 (A-SEM 法) および分散染色法のための試料を作成した.

PCM 法による分析に用いる試料は蒸留水中に分散させた標準試料を孔径 0.8 μm の白色セルロースエステルフィルター上に捕集し、乾燥した後、アセトンおよびトリアセチンを用いる前処理法により透明化し分析試料とした。

A-SEM 法の分析試料は標準試料を孔径 0.8 μm のポリカーボネート製メンブレンフィルター上に捕集し、乾燥したものを 2 次電子像観察に、PCM 法と同様にセルロースエステルフィルター上に捕集し乾燥したものを蛍光 X 線 (EDS) 分析用に、スライドガラス上に滴下し乾燥したものを分散染色法に用いた。分散染色法の試料には、屈折率 1.550, 1.650, 1.680, 1.770 の浸液を使用した。

PCM 法および分散染色法では、400 倍で位相差像、明視野像および分散染色像を撮影した。A-SEM 法では 2 次電子像を 2000 倍および 6000

倍で撮影した。なお、EDS 分析結果はスペクトルライブラリのデータとして保存した。

撮影した画像と繊維状粒子の外形等、特徴をまとめ、マニュアルとした。

4. マニュアルの検証

マニュアル作成前に実施した PCM 法によるアスベスト濃度測定結果として、2005 年度および 2006 年度の測定結果を、マニュアル作成以降の測定結果として 2007 年度および 2008 年度の測定結果を用い、両者を比較した。

なお、環境調査の結果では計測される繊維数が総繊維数で 10 本以下の場合がほとんどであったため、2005 年度に実施した室内環境濃度調査結果と、当該試料のうち総繊維数が 40 本以上であった 9 試料を再度計測した結果とあわせて検討を行った。

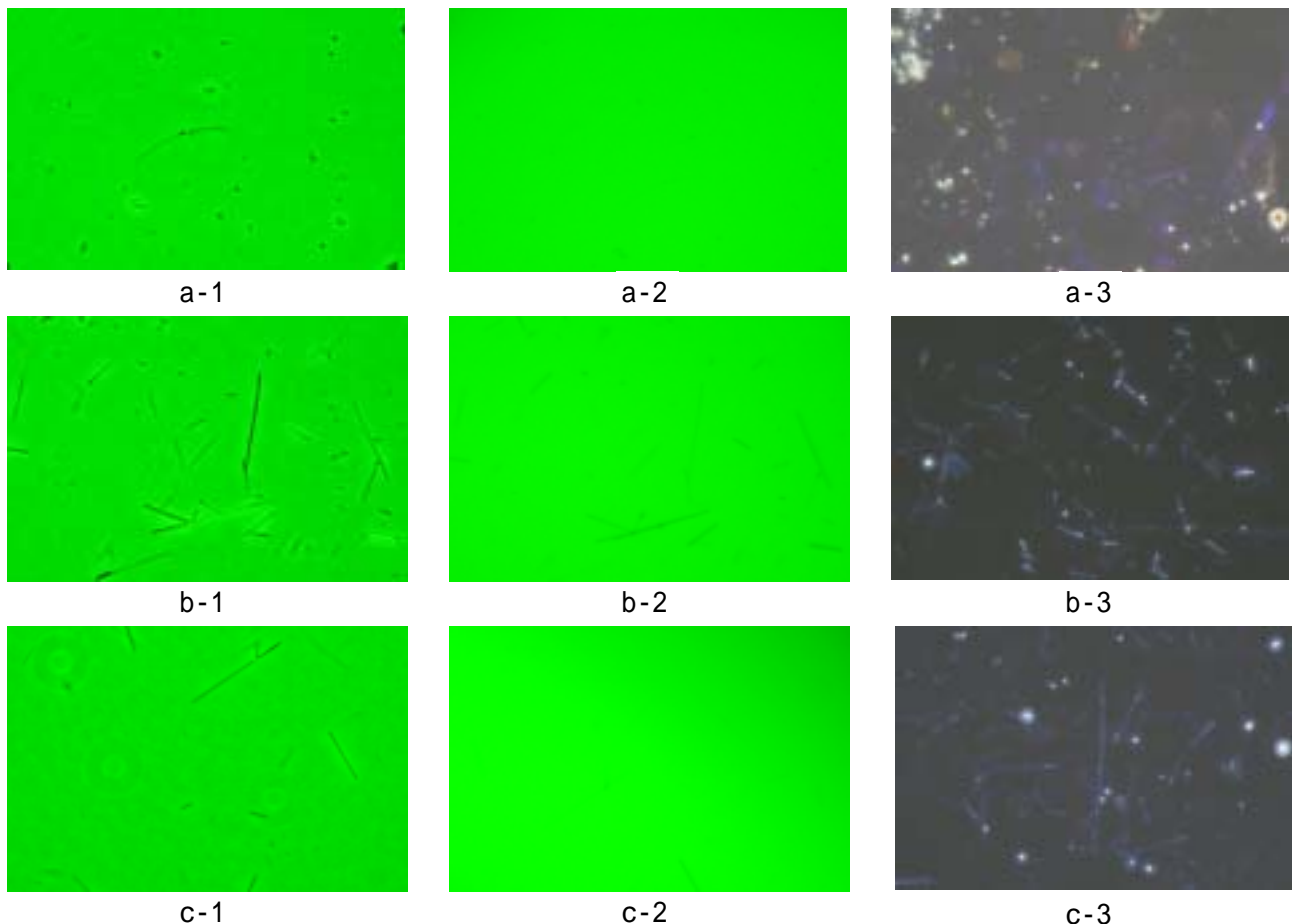


図1 アスベストの光学顕微鏡像

- | | | |
|---------------------|---------------|--------------|
| a-1 クリソタイル,位相差顕微鏡像 | a-2 同左,生物顕微鏡像 | a-3 同左,分散染色像 |
| b-1 アモサイト,位相差顕微鏡像 | b-2 同左,生物顕微鏡像 | b-3 同左,分散染色像 |
| c-1 クロシドライト,位相差顕微鏡像 | c-2 同左,生物顕微鏡像 | c-3 同左,分散染色像 |

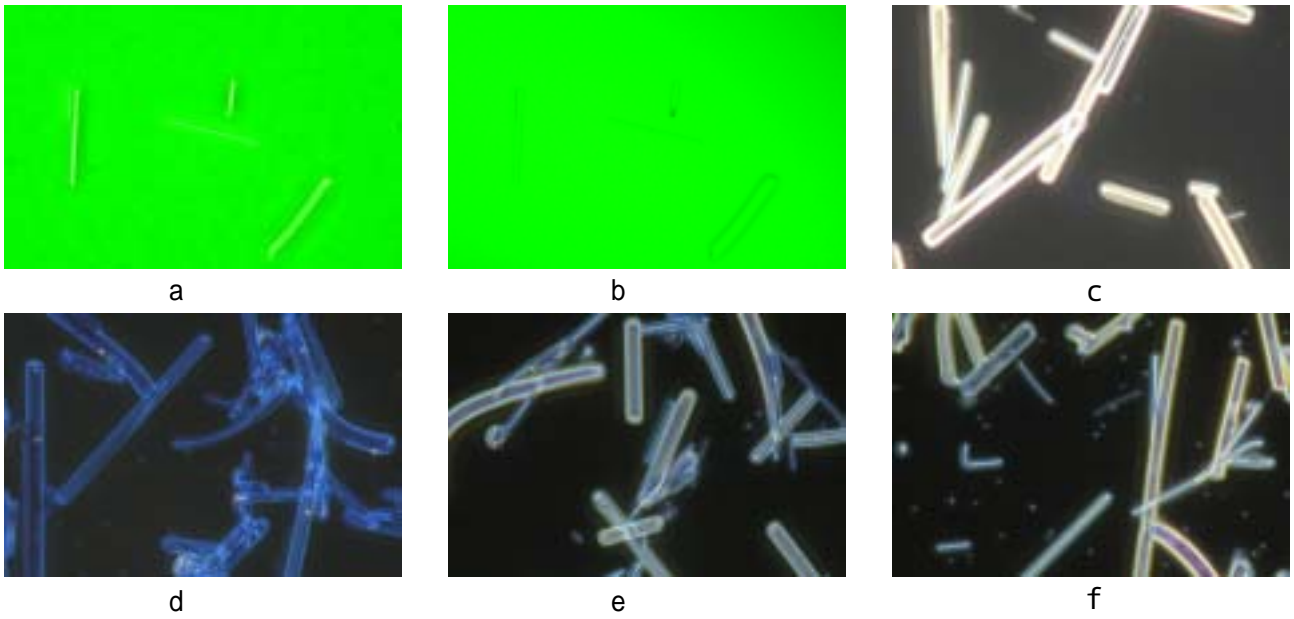


図2 ロックウールの光学顕微鏡像
 a 位相差顕微鏡像 b 生物顕微鏡像 c 分散染色像(屈折率:1.55)
 d 分散染色像(屈折率:1.64) e 同左(屈折率:1.67) f 同左(屈折率:1.70)

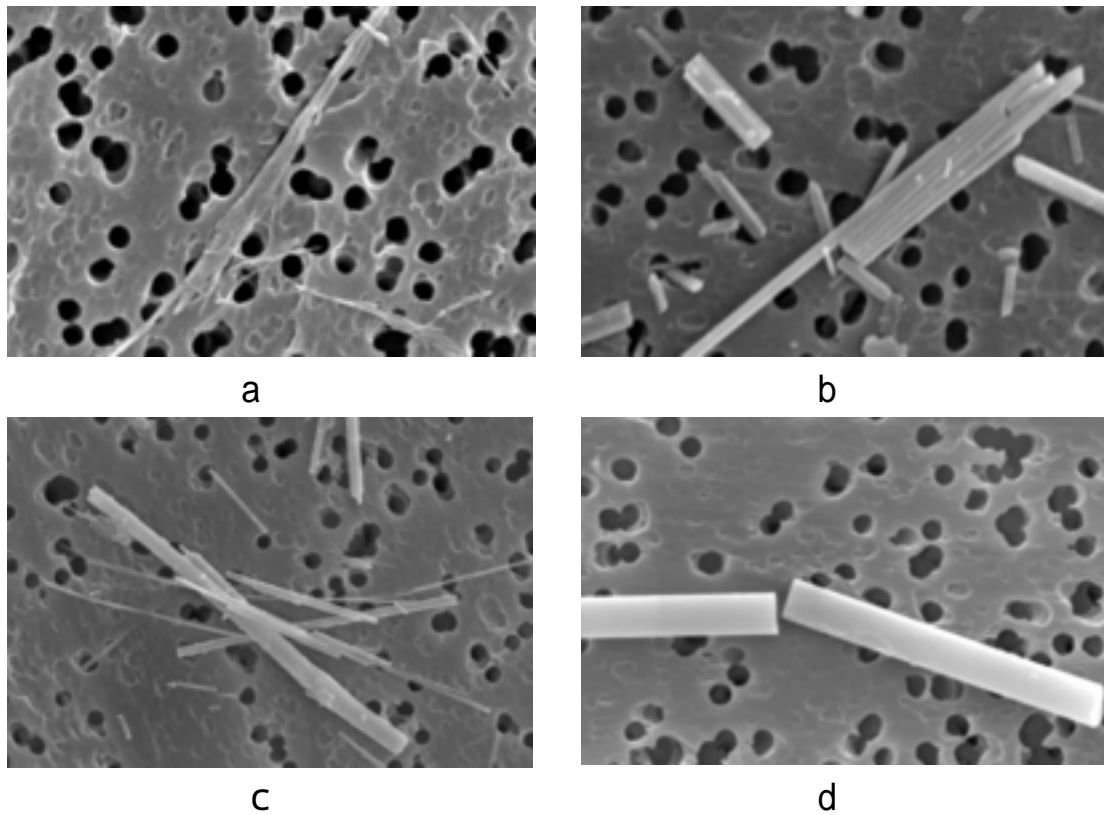


図3 アスベスト及びロックウールの電子顕微鏡像
 a クリソタイル b アモサイト
 c クロシドライト d ロックウール

表1 年度別アスベスト分析結果

	繊維数 (本)		SD		CV (%)		検体数
	総繊維	アスベスト	総繊維	アスベスト	総繊維	アスベスト	
マニュアル作成前							
2005年度	17.1	12.6	8.0	7.0	49.1	61.2	86
2006年度	8.8	5.2	4.0	2.7	55.1	66.9	59
マニュアル作成後							
2007年度	29.4	16.8	7.9	5.5	53.2	60.9	36
2008年度	15.1	4.8	5.9	4.2	46.2	76.3	19

結 果

位相差像，明視野像に加えて分散染色像および SEM 像それぞれの形態とその特徴を記載したマニュアルを作成した。アスベスト繊維および類似繊維の画像を図1から図3に示す。

マニュアル作成前後の環境試料等調査結果について，年度別の測定結果を表1に示す。

標準偏差および変動係数は，3名以上で行った測定結果について求めたものである。

測定年度により，検体数および繊維数が異なるため，単純に比較はできないが，分析値のばらつきにはやや低下傾向が伺われた。

再計測を行った2005年度試料の9検体について，総繊維数およびアスベスト繊維数の測定結果の変動係数を図4および図5に示す。

分析値の変動係数は，総繊維数では概ね低下傾向が伺えるが，アスベスト繊維数では違いがみられなかった。

なお，総繊維数については有意水準5%で有意な差が認められなかった。

考 察

PCM 法による分析結果をマニュアル作成前とマニュアル作成後で比較したところ，総繊維数に概ね改善傾向が伺われたが，有意な差は認められなかった。画像を活用することにより告示の記載と比較して，より判別基準が明確化されたにも関わらず，明確な精度向上が確認できなかった。

現在のところ，アスベストおよびアスベスト類似繊維を混合した繊維数既知の標準サンプルを入手または作成することが困難であり，今回の評価には環境試料による分析結果を用いたため，総繊維数が40本以下のものがほとんどであった。

繊維数が少ない場合は分析結果のばらつきが多いことも定量精度の向上がみとめられなかった原因の一つと考えられる。

当研究所では2006年度から2007年度にかけて環境省委託事業として実施された，アスベスト計数精度管理研究におけるアスベスト係数クロスチェックに参加した。当該事業では，アモサイトまたはクリソタイルの標準試料であるリロケータブルスライドを使用し，精度管理研究が行われた。これは，熟練者による計測繊維数と計数結果を比較し，結果を評価するものである。計数方法は，位相差顕微鏡観察による総繊維数の計数である。その結果，計数誤差の原因のほとんどが繊維の長さの判定によること，アモサイト試料では計数分析を繰り返すことにより，スコアの向上があったこと，クリソタイル試料では計測を繰り返してもスコアの向上がみられなかったこと，定期に標準試料を用いたトレーニングを行うことが重要であることが報告されている^{4,5)}。

クリソタイルの計数においては位相差顕微鏡観察による総繊維数計数の段階での分析結果のばらつきも大きい可能性があり，この段階での精度向上もあわせて進める必要がある。

このため，繊維状粒子の区別にはマニュアルやその画像データだけでなく，アスベスト繊維や非アスベスト繊維のサンプルを定期的に測定することが重要であり，長期間安定して観察できる標準試料の開発が望まれる。

なお，マニュアル作成以降に分析したサンプルにおいて，その形態から非アスベスト繊維と考えられた繊維状粒子が，A-SEM法による分析を併用しロックウールであると確認できた事例があり，本マニュアルの作成が繊維状粒子の定性精度の向上に寄与したと考えられる。

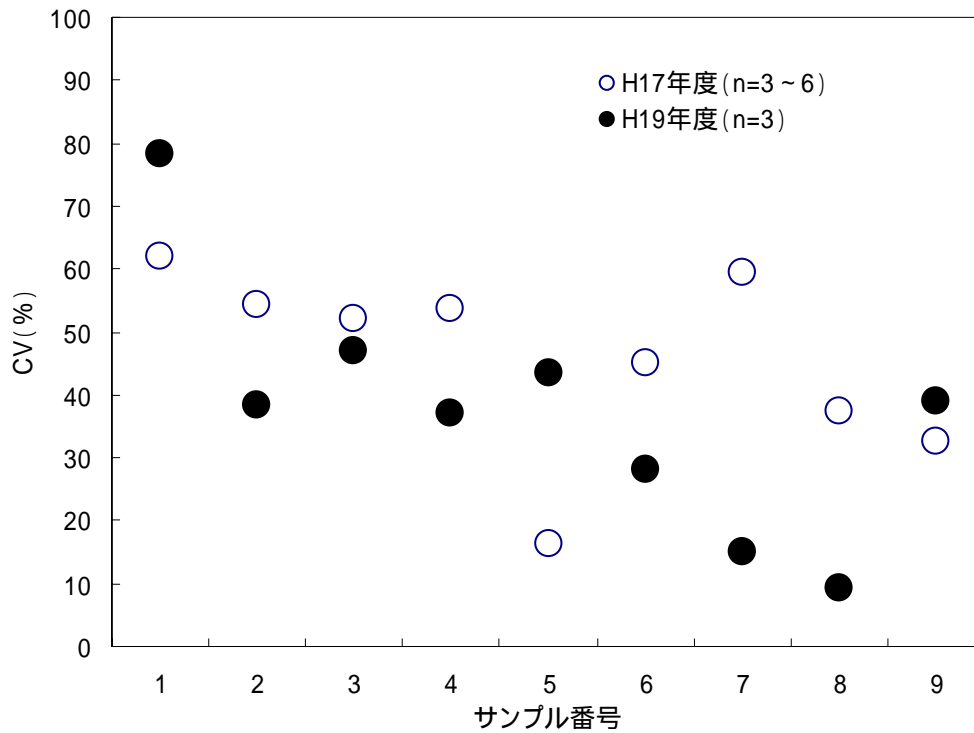


図4 総繊維数計数結果の変動

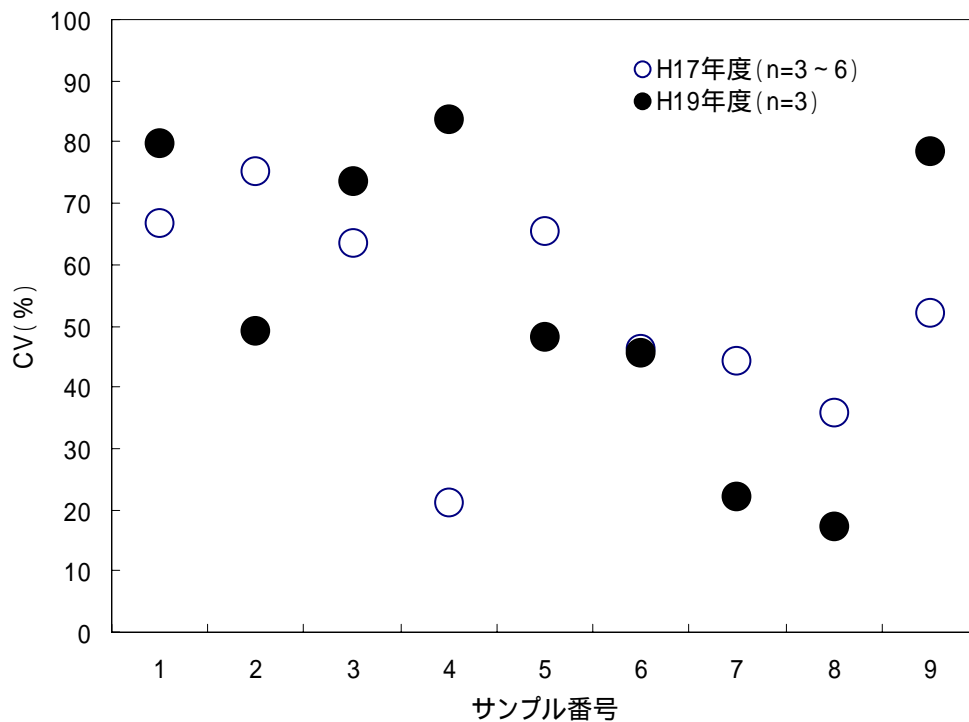


図5 アスベスト計数結果の変動

まとめ

クリソタイル、クロシドライトおよびアモサイトをアスベスト標準試料として、ロックウールをアスベスト類似繊維の標本とし、画像を活用した判別のためのマニュアルを作成した。

実試料を用い、作成したマニュアルの成果を検討した結果、マニュアル作成前後で分析結果のばらつきに有意差は認められなかった。環境

試料では繊維状粒子数が少ないことがその原因のひとつと考えられた。

定量精度の明らかな向上は認められなかったが、アスベストおよびアスベスト類似繊維の画像データおよび EDS スペクトルデータの蓄積ができたことにより、繊維状粒子の定性精度向上は認められた。

文 献

- 1) 小阪 浩,「位相差顕微鏡での明視野観察を使ったクリソタイル同定法についての一考察」,第 48 回大気環境学会講演要旨集, p647(2007) .
- 2) 小阪 浩,「アスベスト濃度測定の精度向上のために」,全国環境研会誌 31,55-59(2006)
- 3) 山田真理,「分散染色法によるアスベストの分析について」,全国環境研会誌 31,60-62(2006) .
- 4) 坂本美德,吉村 陽,中坪良平,藤原拓洋,岡田圭司,小阪 浩,「位相差顕微鏡法によるアスベスト係数クロスチェック結果の検討(クリソタイル繊維)」第 48 回大気環境学会講演要旨集, p650(2007) .
- 5) 藤原拓洋,吉村 陽,坂本美德,中坪良平,岡田圭司,小阪 浩,「位相差顕微鏡法によるアスベスト係数クロスチェック結果の検討(アモサイト繊維)」第 48 回大気環境学会講演要旨集, p651(2007) .