位相差顕微鏡によるアスベスト繊維計数技能試験

（位相差顕微鏡法）に関する参考資料

（APT-A2）

Ⅰ．顕微鏡の調整

Ⅱ．試験用スライドの取扱い等について

Ⅲ．判定基準

一般社団法人 日本環境測定分析協会

APT 実行委員会

Ⅰ. 顕微鏡の調整

1. 接眼レンズの視度補正

① 仮にグレイティクルが右側接眼レンズに入っているとする。右眼だけで接眼レンズの視度補正環を回してグレイティクルの目盛りがはっきり見えるようにする。
② 試料(標本)をステージに載せ対物レンズを 10×にし、右眼で試料にピントを合わせる。
③ 次に焦点合わせ微動ハンドルは操作せず、左側の接眼レンズの視度補正環を回して左眼のピントを合わせる。

2. ターレットコンデンサの心出し

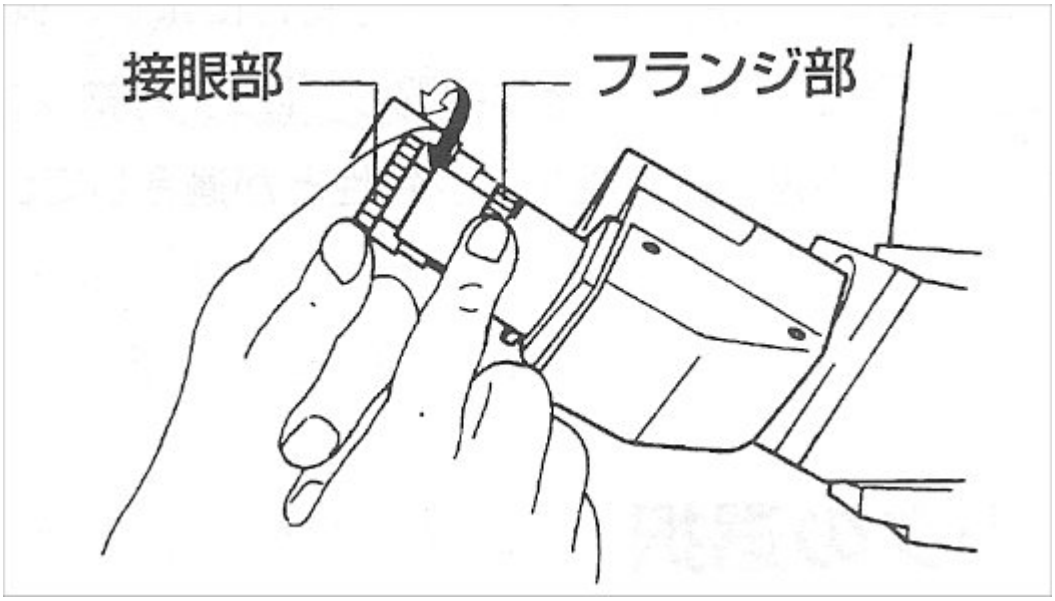
① コンデンサのターレットを中空（生物顕微鏡用）の位置にし、対物レンズを 10×にする。(開口絞りは全開)
② 試料にピントを合わせる。
③ 視野絞りを最小にする。
④ コンデンサ上下動ノブを回して視野絞り像を試料面に結像させる。
⑤ 視野絞り像が接眼レンズの視野の中心に位置するようにコンデンサ心出しネジを回して調整する。
⑥ 次に対物レンズを 40×にして試料にピントを合わせる。
⑦ コンデンサ上下動ノブを回して視野絞り像を試料面に結像させる。
⑧ 再度、視野絞り像が接眼レンズの視野の中心に位置するようにコンデンサ心出しねじを回して調整する。この時視野絞りの大きさを接眼レンズの視野より少し小さくすると調整し易い。
⑨ 視野絞りが視野に外接するくらいに大きくする。

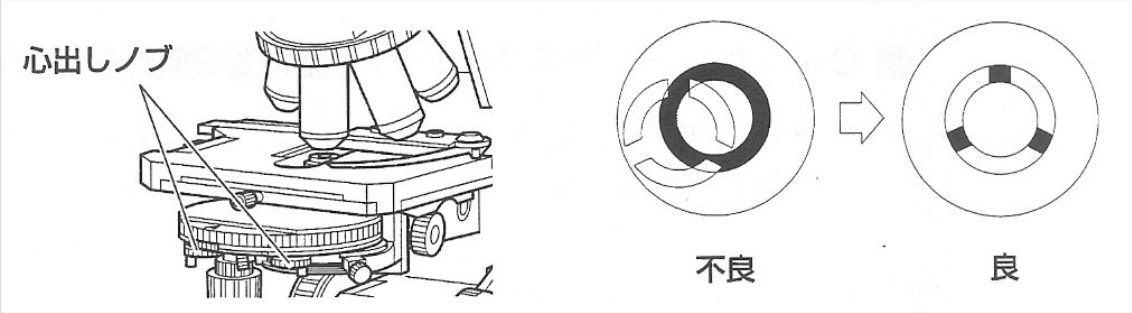
3. 位相差用リング絞りの心出し

① 対物レンズを 10×(Nikon の場合 Ph1)に切り替え、コンデンサのターレットを回転させて「Ph1」にする。
② 試料(標本)の物体のない部分で、かつカバーグラスがかかっている部分にステージを移動させる。
③ 鏡筒から接眼レンズをはずし、心出し望遠鏡に入れ替える。
④ 心出し望遠鏡のフランジ部を指で押さえ、接眼部を回して対物レンズの位相リングにピントを合わせる。

⑤ 対物レンズの位相リングとコンデンサのリング絞りがずれている場合は、2 つの心出しノブのクランプねじを緩めてから心出しノブを操作してリング合わせを行い、完了後クランプねじを締める。

⑥ 念のため、Ph2 レンズでも同様の操作を繰り返す。





4. HSE/NPL テストスライドの使用法

① アスベスト繊維をカウントする前に、顕微鏡がじゅうぶん調整されているか調べるためのスライド。

② 20 本の細い線が一組になったバンドが 7 個刻まれている。各バンドの線の幅は表のとおり。

バンド No.	ラインの幅(μm)
1	1.08
2	0.77
3	0.64
4	0.53
5	0.44
6	0.36
7	0.25

③ このテストスライドでは、顕微鏡がじゅうぶん調整されておれば、「バンド 5」のラインが完全に見え「バンド 6」の一部が見えるはずである。

④ テストは、上下左右のライン（上下は 2 本の、左右は 4 本の太いライン）で囲まれたテストゾーン内の各バンドのラインを検鏡して行なう。

⑤ 慣れないうちはテストゾーンをみつけることが難しい。10×対物レンズでターレットを Ph2 または Ph3 にしてテストスライドの円内を探すとみつけ易い（ターレットは Ph3 を推奨)。テストゾーンがみつかるとターレットを 40×対物用に戻す。

⑥ 40×対物レンズで、テストゾーン左側の境界線（縦 4 本）に焦点を合わせる。焦点が合えば最初の 2～3 バンドのラインが見えるはずである。各バンドごとにラインに焦点を合わせ、ラインが確認出来る限界のバンドまで視野を移動させる。「限界のバンド」とは、テストゾーン内の各ラインが完全に見えるバンドのことをいう。各分析者の「限界のバンド」を確定するには眼が慣れるまでしばらく時間がかかる。③でも述べたように、全てのバンドのラインが見えるわけではない。普通の視力があり、顕微鏡がじゅうぶん調整されていて、注意深く焦点合わせを行えば「バンド 5」のラインまで見えるはずである。「限界のバンド」の判定は慣れてくれば早く出来るようになる。

⑦ ここまでの手順で、アスベスト計数のための顕微鏡の調整が出来たことになる。

Ⅱ. 試験用スライドの取扱い等について

視野指定用の G1・G2 領域の確認とスライドの試料台への置き方

a) fig.1 のようにラベルを右にしてスライドを置く。

b) G1・G2 の位置を見る。ラベルに近いほうが G1、その左側が G2。視野指定領域を示すマークは fig.1 のようにフィルター切片の下側にある。

c) fig.1 の方向にして試料台にスライドを置く。

d) 低倍率でスライドを観察する。fig.2 のような上下が反転した視野指定用領域の像が観察される。同領域の上側を示すマークは視野の上方に見える。G1 は**左側**に、G2 は**右側**になる。

e) G1 をみつける。fig.3 のように、金蒸着が施された領域には 14 列・10 行から成る 140 の円形の視野がある。正確に再現可能な直径 100 μ m の円形視野は縦・横座標で、A1・H5・L10 のように指定される。

f) 金蒸着領域の中央には縦座標を二分するセンターラインがある。上半分には座標 1～5、下半分には座標 6～10 の視野がある。センターラインは縦座標の位置を確認するのに役立つ。

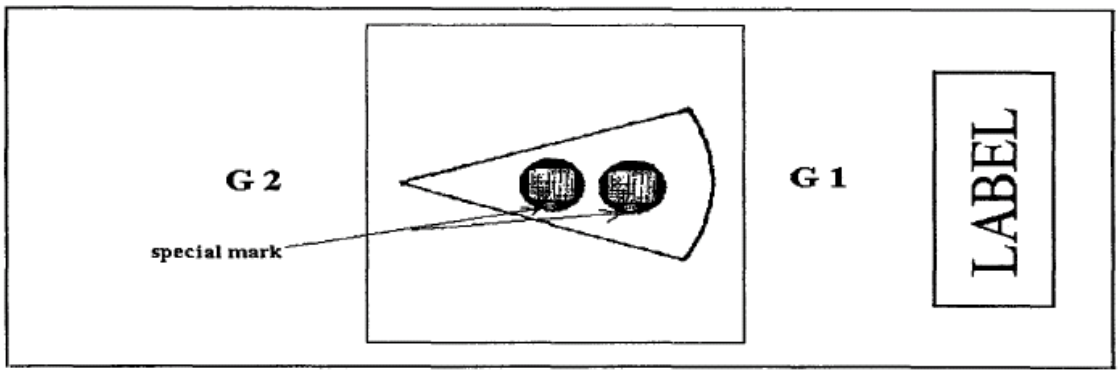


fig.1　スライドを試料台に置く時の正しい方向
視野の上側を示すマークは試料台の手前側にくること。

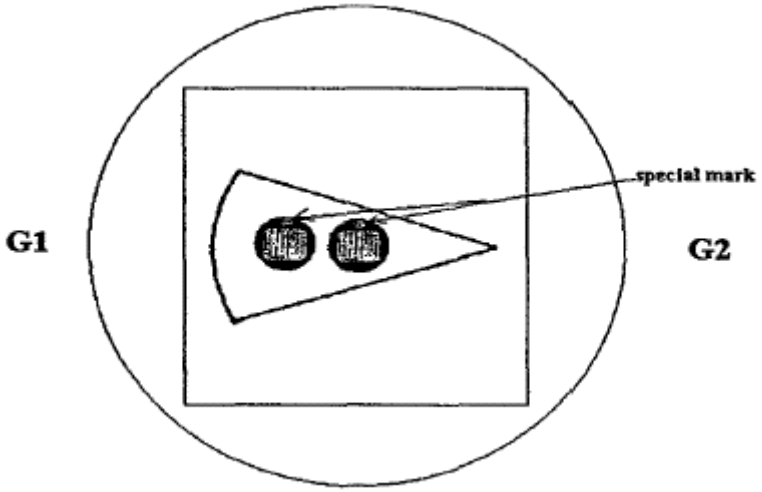


fig.2　顕微鏡下での視野指定用領域とフィルター切片の反転像
　マークは視野の上方に見える。G1 は左側に、G2 は右側に見える。

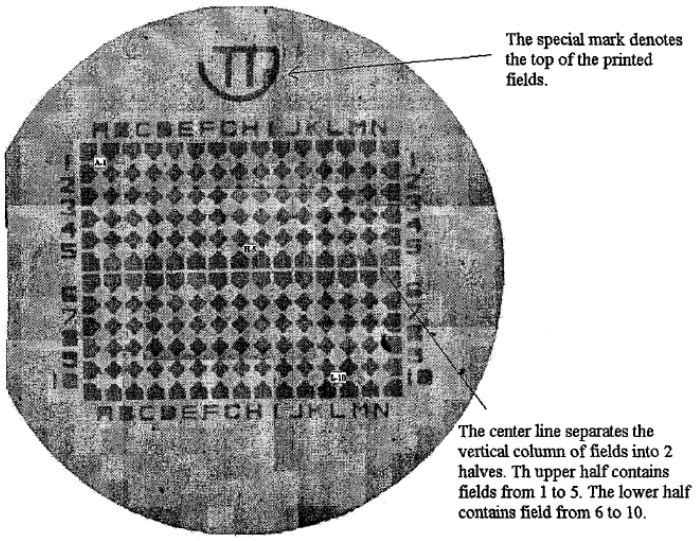


fig.3　視野の指定（横軸（A～N)、縦軸（1～10）の座標で視野を決める）

Ⅲ. 判定基準　【JIS K 3850-1 に準じる。】

（但し、本試験では JIS K 3850-1 に示す「径が 3 μm を超える粒子が付着した繊維は計数しない。」に替えて、マニュアルに示す「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。」を採用するものとする。）

・計数対象となる繊維は、長さ 5μm 以上、径（幅）3μm 未満、アスペクト比：3 以上の繊維である。【JIS K 3850-1　6.1.3 d）1）】

・繊維の両端がグレイティクルの中にある場合は 1 本と計数する。繊維端のどちらか一方だけがグレイティクルの中にある場合は 1／2 本と計数する。繊維がグレイティクルを完全に横断していて両端がグレイティクルの中にない場合は 0 本とする。【JIS K 3850-1　6.1.3 e）】

・先端が枝分かれした繊維は「繊維の集合」とみなし、1 本の繊維とする。それらの繊維の径は枝分かれしていない部分で計測する。【JIS K 3850-1　6.1.3 d）3)】

・複数の繊維が集まっていても個々の繊維を識別出来るなら、それらの繊維は別個の繊維とみなす。また、個々の繊維が識別出来ないような塊になっている場合は 0 本とするが、塊が全体として計数対象の繊維の寸法を満たす場合は 1 本とする。【JIS K 3850-1　6.1.3 d）4)、5)】

＜その他＞

・単繊維が曲がっている場合には、繊維の直線部分を目安にして曲がっている部分に沿って真の長さを推定して判定する。【JIS K 3850-1　6.1.3 d）2)】

・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。
【アスベストモニタリングマニュアル　2.3.2 (2) 5) ⑤】

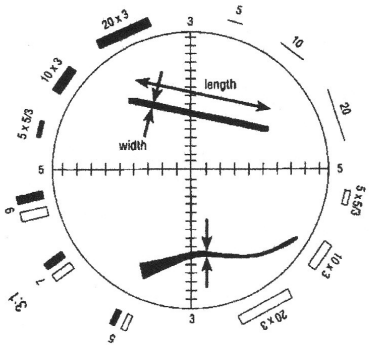
＜アイピースグレイティクルの境界線と交差する繊維の扱いについて＞（Harper らのルール）

・一方の端が完全に円外にあって、他の端が「あいまいな」領域にある場合は、繊維は「円外」にあるものとする。

・一方の端が完全に円内にあって、他の端が「あいまいな」領域にある場合は、繊維は「円内」にあるものとする。

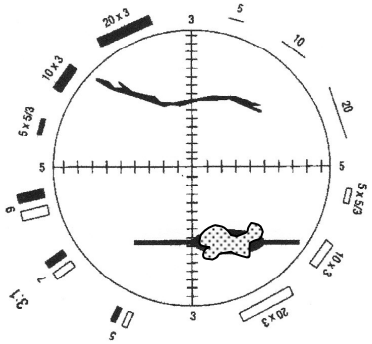
・一方の端が完全に円内にあって、他の端が完全に円外にある場合のみ、繊維は「円と交差」しているものとする。

具体例は JIS K 3850-1 図 8 の他、以下の図に示す。



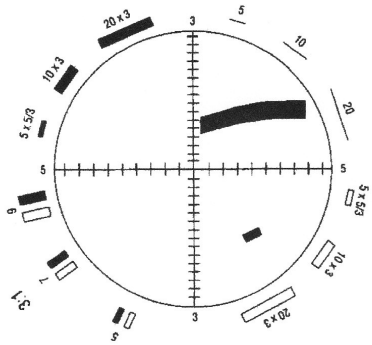
1本：長さ、径、アスペクト比が計数基準を満たしている。

1本：径が均一でない場合、径は平均の位置で計測する。



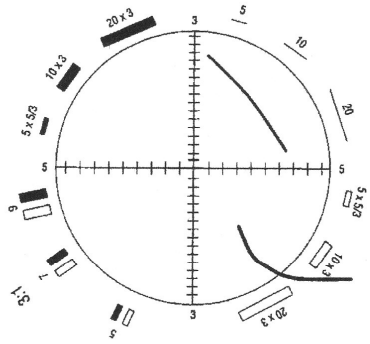
1本

1本：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。



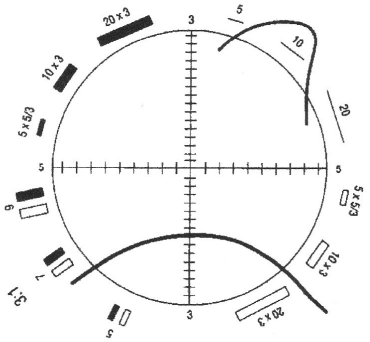
0本：径が3μmを超えている。

0本：アスペクト比が3以下である。



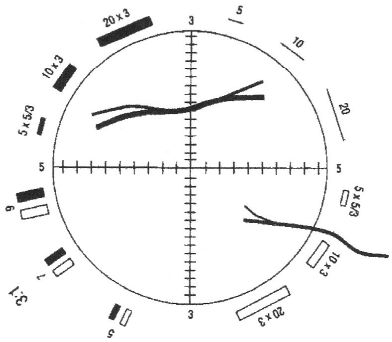
1 本：繊維全体がグレイティクルの中にある。

1／2 本：繊維の片方の端だけがグレイティクルの中にある。



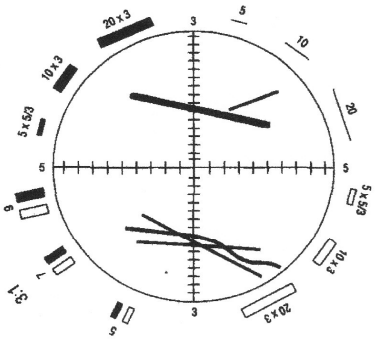
1 本：繊維の両端がグレイティクルの中にある。

0 本：繊維の両端がグレイティクルの外にある。



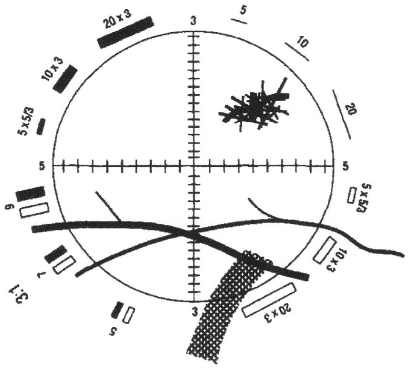
1 本：両端が割れているが、枝分かれした繊維は本体の繊維の一部とみなす。

1／2 本：繊維の端が 2 本に割れているが、繊維端は一つとみなす。



2 本

3 本



0 本：個々の繊維が識別出来ない塊。

0 本：枝分かれした繊維は本体の一部。繊維の両端がグレイティクルの外にある。