

図4 フィルターを透明にする溶液をスライドガラスのほぼ中央に1滴(0.03~0.05ml)滴下する。

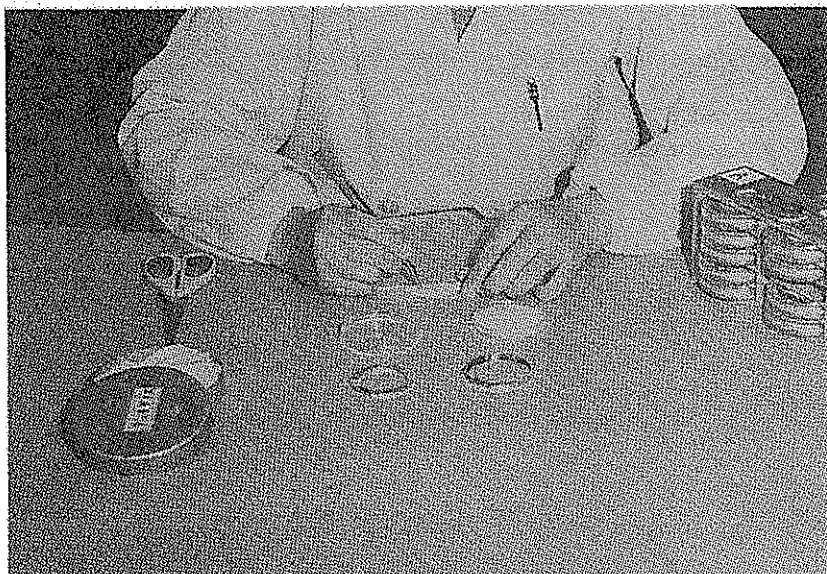


図5 採じん面を上にして、フィルターを静かにのせ、その上にカバーガラスをのせ、フィルターがやや透明になってから、ピンセットで軽く押さえる。

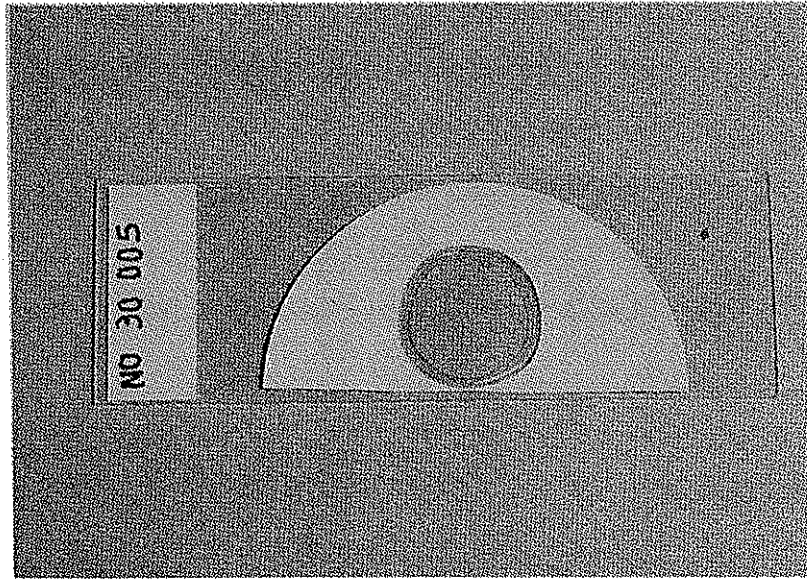


図6 でき上がった標本

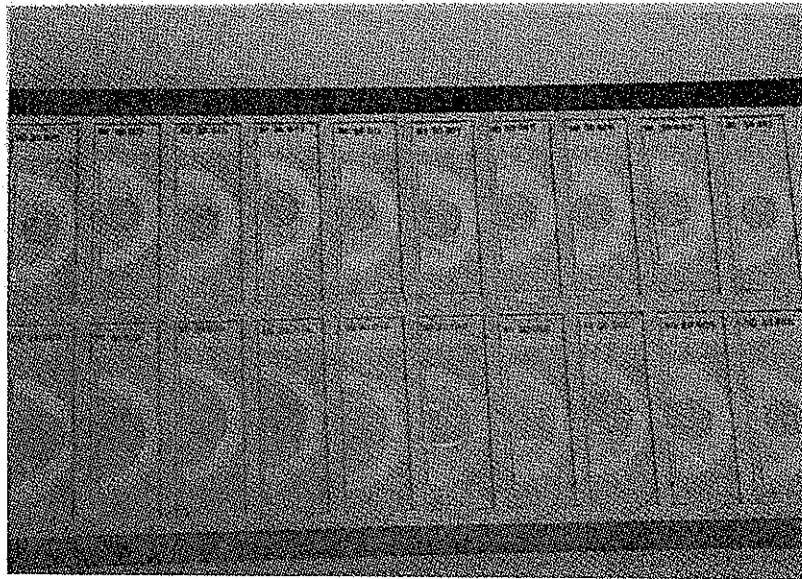


図7 作製した標本を格納しておく障子（マップ）

d. アセトンとトリアセチンを用いる方法

粉じんを採取したメンブランフィルターの採じん面を上にして、スライドガラスの上ののせ、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。フィルターは蒸気にあたると直ちに透明になる。透明になったらフィルターのほぼ中央にトリアセチンを2～3滴、注射器などを用いて滴下し、その上に、カバーガラスをのせて固定する。

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。なお、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。

図8にアセトン蒸気発生装置を示してある。アセトン蒸気発生装置を使用するときの手順を図9に示す。本装置のアセトン使用量は比較的少なく、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。

本方法で作製した標本は、長期間の保存が可能である。

## (5) 計数

### a. 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。

- (a) 位相差顕微鏡に対物レンズ、接眼レンズ及び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、標本を載物台に載せピントを合わせる。
- (d) 視野絞りを最小とする。
- (e) 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。

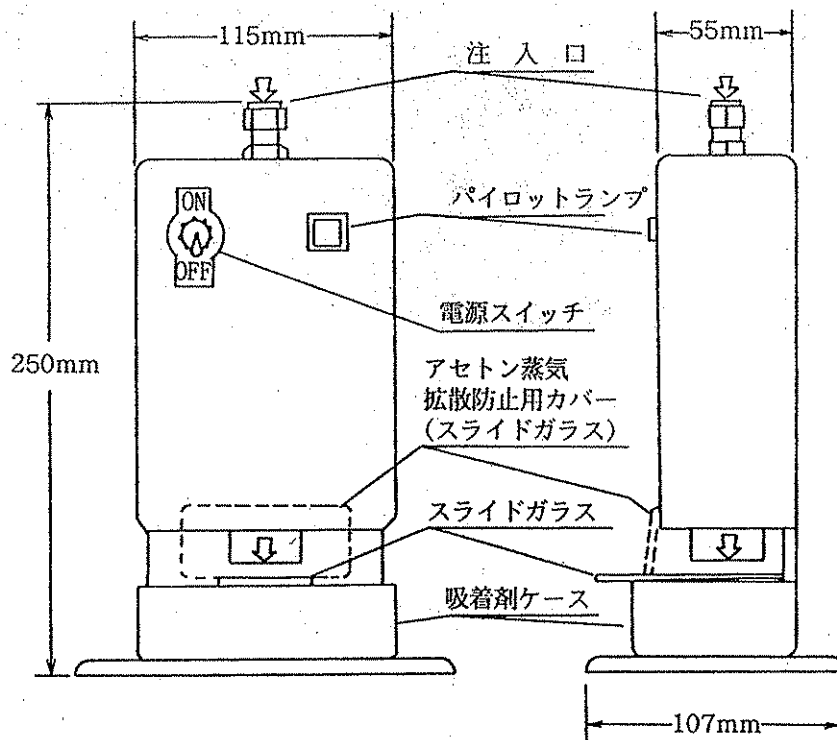
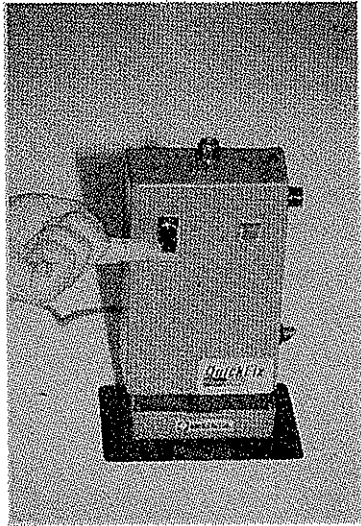
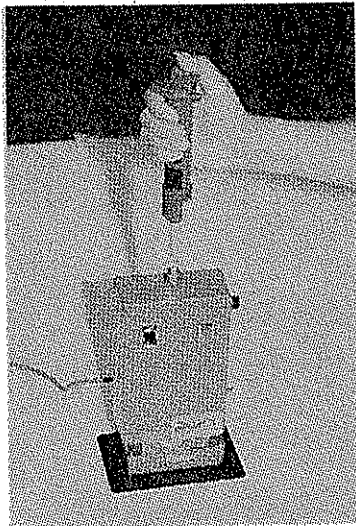
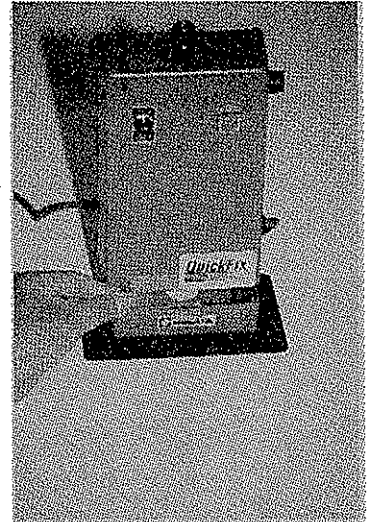


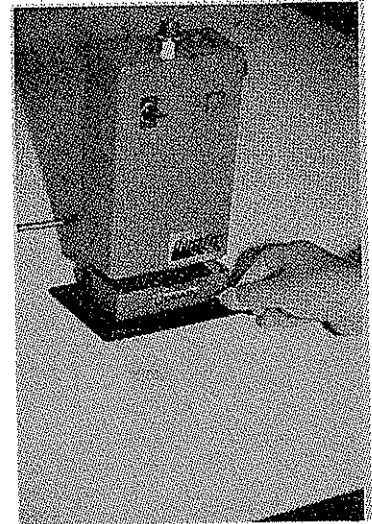
図8 アセトン蒸気発生装置 (クイックフィックス®)



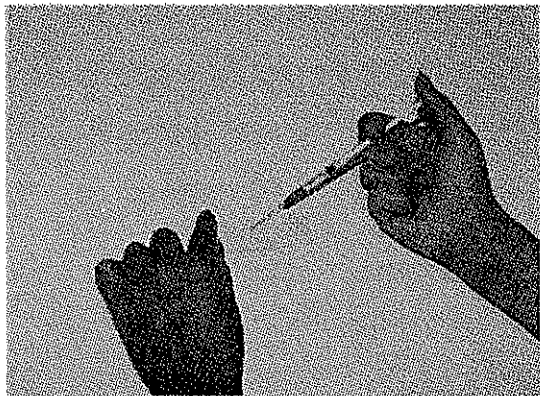
- a. コンセントにプラグを差し込み、スイッチをいれる。  
 (約1~2分でライトが点灯し、使用可能になる。)
- b. スライドガラスの上に粉じんを採取したフィルターをのせてステージの所定の位置にセットする。(このとき、フィルターがアセトン蒸気下降用ノズルの真下にくるように注意し、蒸気が前面に流出しないよう装置前面にスライドガラス1枚を立てておくとよい。)



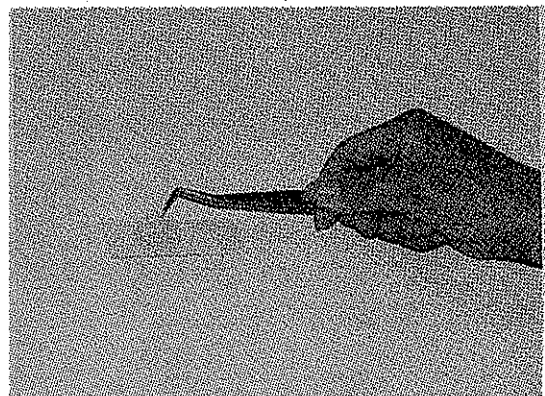
- c. マイクロピペッターにアセトンを必要量とり、注入口から注入する。  
 (マイクロピペッターでの注入は一定の割合でゆっくり行う。)



- d. アセトンの蒸気の浸透によりフィルターが透明になったら、ステージからスライドガラスを取り出す。



- e. 透明になったフィルターの中央にマイクロシリンジ等でトリアセチンを2~3滴滴下する。



- f. カバーガラスを載せる。

(注) 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。

図9 アセトン蒸気発生装置を使用するときの手順

- (f) 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。
- (g) 対物レンズを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。
- (h) 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。
- (i) ターレットコンデンサーを40倍に合わせる。
- (j) 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。
- (k) リング絞りの像を位相板のリングに合わせる。
- (l) 接眼レンズを元に戻し、接眼レンズの視度補正環により、アイピースグレイティクルの目盛にピントを合わせる。

b. 準備

接眼レンズの中に例えば図10のようなアイピースグレイティクルをいれる。載物台に図11のような対物測微計を載せて検鏡する。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が $5\mu\text{m}$ になるように刻まれている。なお、この寸法を対物測微計の目盛( $10\mu\text{m}$ )によって確認する。

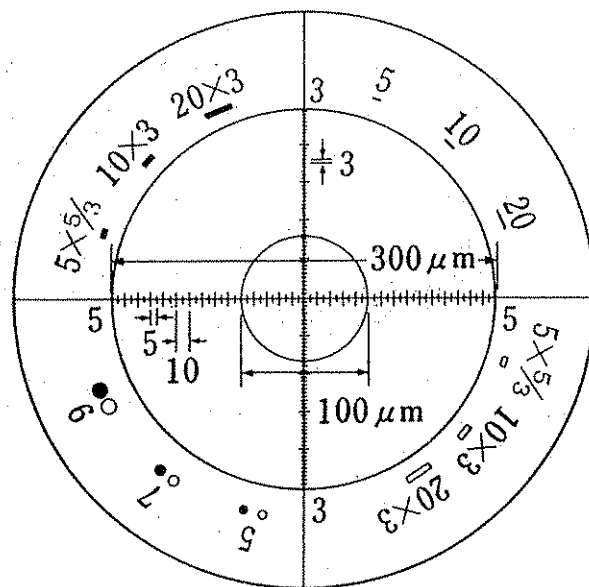
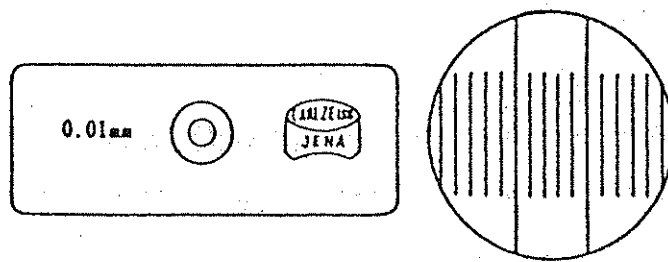


図10 アイピースグレイティクルの例



a. 対物測微計

b. 同拡大図

図11 対物測微計

c. 計数対象繊維

長さ  $5 \mu\text{m}$  以上でかつ長さ と 幅 (直径) の比が  $3 : 1$  以上の繊維状物質を計数の対象とする。

d. 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採取されていることを確認してから、倍率を400倍にして、計数を行う視野をランダムに選んで計数する。

顕微鏡視野内に存在する繊維の数を計数する。1視野の計数が終了したら、ステージを縦横ランダムに移動させ、次々と別の視野を計数するようにして、繊維数200本以上あるいは検鏡した視野の数が50視野になるまで計数する。

e. 繊維数の判断についての約束

(a) 単繊維の場合：上記c. で定義した繊維を1本と数える。

(b) 単繊維でカーブしている場合：カーブに沿って真の長さをはかって判定する。

(c) 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。

(d) からまっている場合：

ア. 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。

イ. 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視野は数えず、別の視野を数える。

(e) 粒子が付着している繊維の場合：粒子の幅が  $3\mu\text{m}$  を超えるものは計数しない。

f. アスベストの判定

一般環境中にはアスベスト以外の繊維状粒子が存在している。これらの繊維状粒子を区別するため、アスベスト（クリソタイル）の屈折率が約1.5であることを利用して、次のような方法によって計数を行う。

まず、位相差顕微鏡によって繊維状に見える粒子の計数を行い、次に顕微鏡の位相差装置を解除して顕微鏡を生物顕微鏡に変え、コンデンサー絞りを全開とし、同一の視野について再び繊維状の粒子を計数し、位相差顕微鏡で見えた繊維が生物顕微鏡に変えたとき、見えなくなるか又は見えにくくなった繊維をアスベストとする。

計数に当たっては、測定原票を用意し、1視野ごとに計数の結果を記録する。なお、繊維数が0の場合も0と記載する。

g. 濃度の計算

繊維数濃度は次式から求められる。

$$F = \frac{A \times N}{a \times n \times V}$$

ここで F：繊維数濃度（繊維数  $f/\ell$ ）

A：メンブランフィルターの有効ろ過面の面積（ $\text{cm}^2$ ）

N：計数繊維総数（繊維数  $f$ ）

a：顕微鏡の視野の面積（ $\text{cm}^2$ ）

n：計数した視野の数

V：採気量（ $\ell$ ）

(例) 顕微鏡の条件を対物レンズ×40、接眼レンズ×10とした場合、通常1視野の面積は $0.17\text{mm}^2$ となる。視野面積は、顕微鏡によって異なるので、実測しておく必要がある。

メンブランフィルターの有効ろ過面の面積は $960\text{mm}^2$ であるから全視野数は $960 \div 0.17 = 5,647$ 。したがって、1視野中の平均繊維数が1繊維、採気量が $2,400\ell$ であったとすれば、繊維数濃度は上式から $2.35 f/\ell$ となる。

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アスベ