

国立環境研究所研究報告 第 131 号

Research Report from the National Institute for Environmental Studies, Japan, No. 131, 1993

R-131-'93

アスベストの新分析法に関する研究

Studies on the New Methods of Asbestos Analysis

瀬山 春彦 編

Edited by Haruhiko SEYAMA

NIES

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境庁 国立環境研究所

アスベストの新分析法に関する研究

Studies on the New Methods of Asbestos Analysis

瀬山 春彦 編

Edited by Haruhiko SEYAMA

化学環境部

Environmental Chemistry Division

環境庁 国立環境研究所

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

序

アスベスト鉱物は、地殻中に多くはないが広く分布しているケイ酸塩鉱物である。その利用の歴史は古く、紀元前から用いられていたとされる。アスベストの持つ二つの重要な性質、すなわち繊維状であることと、耐熱・断熱性とは広範囲な工業的用途を見いだしてきた。かぐや姫が、言い寄る求婚者を断るために持ち出した難題の一つ、燃えない服（火鼠の皮でできた衣）は、アスベストで織られた布の服であり、その昔エジプト時代に王の喪服として用いられたという。19世紀に入って、蒸気による高熱の利用が広がり、アスベストは一気にその使用量を拡大し、私たちの身近でごく普通に用いられるようになった。

アスベストの評価が暗転するのは、1970年代に入ってからである。1960年から1970年初めになされたWagner等の研究は、労働環境におけるアスベストと悪性中皮腫との関係を暗示した。その後展開された研究から、今ではアスベストは発がん性を持つ重要な天然毒の一つであり、人のみならず環境中の動物や植物にも悪い影響を与えうることが明らかとなってきた。これに伴って、先進国においてアスベストの利用は減少し、その廃棄が重要な課題となりつつある。アスベストが重要な汚染物質であるとすれば、その正確な定量法が確立されなければならない。一方、アスベストは数種の繊維状の構造を持つケイ酸塩鉱物の総称であり、地圏を構成する他の多数のケイ酸塩鉱物と区別して定量することは極めて困難な作業である。しかし、アスベストが現在もわずかながら使用されており（例えば自動車のブレーキライニングへの利用）、人々がなおアスベストを呼吸とともに吸い込んでいることを考えるとき、アスベストのより良い分析法の確立へ向けて研究を進めることは重要である。本研究はこのような動機により始められ、そして一定の成果をおさめた。本書はそれに関する報告であり、さらに今後の研究の発展を期待したい。

1993年9月

国立環境研究所

化学環境部長 森田昌敏

目 次

Abstract	1
概 要.....	3
はじめに.....	5
瀬山春彦・相馬光之・相馬悠子	
I. 二次イオン質量分析法によるアスベストの分析.....	13
瀬山春彦・相馬悠子・相馬光之・高尾真一・櫻井利彦・田上四郎・中村又善	
II. クリソタイルアスベストへの蛍光色素吸着とアスベスト分析法への応用.....	25
相馬悠子・瀬山春彦・相馬光之・高尾真一・櫻井利彦・田上四郎・中村又善	
III. 環境中アスベストの光学顕微鏡法及び電子顕微鏡法による分析の比較.....	37
高尾真一・田上四郎・櫻井利彦・瀬山春彦・相馬悠子・相馬光之	
IV. 分析電子顕微鏡によるアスベスト繊維の定量分析におけるX線の吸収効果.....	49
高尾真一・櫻井利彦・中村又善	
おわりに.....	61
瀬山春彦・相馬悠子・相馬光之	

CONTENTS

Abstract	1
Outline	3
Introduction	5
Haruhiko SEYAMA, Mitsuyuki SOMA and Yuko SOMA	
I. Asbestos Analysis by Secondary Ion Mass Spectrometry	13
Haruhiko SEYAMA, Yuko SOMA, Mitsuyuki SOMA, Shin'ichi TAKAO, Toshihiko SAKURAI, Shiro TAGAMI and Matayoshi NAKAMURA	
II. Adsorption of Fluorescent Dyes to Chrysotile Asbestos and its Application to the Asbestos Analysis	25
Yuko SOMA, Haruhiko SEYAMA, Mitsuyuki SOMA, Shin'ichi TAKAO, Toshihiko SAKURAI, Shiro TAGAMI and Matayoshi NAKAMURA	
III. Comparison of Phase Contrast Microscopy and Transmission Electron Microscopy for the Analysis of Airborne Asbestos Fibers	37
Shin'ichi TAKAO, Shiro TAGAMI, Toshihiko SAKURAI, Haruhiko SEYAMA, Yuko SOMA and Mitsuyuki SOMA	
IV. Absorption Effect on Quantitative X-Ray Microanalysis of Asbestos Fibers by Analytical Electron Microscopy	49
Shin'ichi TAKAO, Toshihiko SAKURAI and Matayoshi NAKAMURA	
Conclusion	61
Haruhiko SEYAMA, Yuko SOMA and Mitsuyuki SOMA	

Abstract

It is well known that the inhalation of fine asbestos fibers causes fatal diseases such as asbestosis, carcinoma and mesothelioma. Light and electron microscopic methods are well-established techniques for the analysis of asbestos fibers in the environment. By these analytical methods, however, an asbestos fiber is recognized essentially based on its fibrous form and it is difficult to identify the fiber without other techniques. Electron microscopy has a high image resolving power which permits detection of sub-micrometer asbestos fibers, whereas a tedious sample preparation is necessary for electron microscopy.

This report describes techniques analyzing asbestos fibers by use of secondary ion mass spectrometry (SIMS) and fluorescence microscopy. It was possible in SIMS analysis to identify the asbestos fiber by the positive secondary ion mass spectrum and the secondary ion images. Using the technique of fast atom bombardment - secondary ion mass spectrometry (FAB-SIMS), asbestos fibers collected on a membrane filter were easily detected without any pretreatment. Fluorescence from dye molecules adsorbed on asbestos fibers has been used for optical microscopic analysis of asbestos. After anionic fluorescent dyes such as xanthene dyes and umbelliferone were adsorbed on chrysotile asbestos, bright and clear fluorescent image of chrysotile fiber could be selectively observed by fluorescence microscope.

A new sample preparation method for the direct asbestos analysis by transmission electron microscopy (TEM) has been developed. In this method (direct TEM analysis), carbon evaporated aerosol sample containing asbestos fibers on membrane filter was put on a TEM grid and then membrane filter was eliminated by dissolution for TEM measurement. Because of simple sample preparation and clear TEM image, direct TEM analysis is superior to the conventional asbestos analysis by TEM (indirect TEM analysis). The quantitative analysis of chemical composition of asbestos fiber using analytical electron microscope was also studied in detail. Absorption effect on the quantitative X-ray microanalysis by analytical electron microscopy was correlated to the size and the elemental composition of asbestos fiber.

概 要

アスベスト暴露によりアスベスト肺、肺がん、悪性中皮腫などの健康傷害が起きることが明らかとなり、アスベストの環境汚染問題が注目されるようになった。現在、主要な環境中のアスベストの分析法は光学顕微鏡法、電子顕微鏡法であるが、これらの方法では試料の前処理が複雑であり、また、基本的にアスベストをその繊維状の形から識別する分析法であるため、他の方法(X線マイクロアナライザーなど)を併用しなければアスベストとそれ以外の繊維状物質を識別することは困難である。

そこでアスベストの選択的検出を目指し、二次イオン質量分析法(SIMS)と蛍光色素吸着法を応用したアスベストの新分析法について検討した。SIMSでは二次陽イオン質量スペクトルと二次イオン像の測定からアスベスト繊維の識別と選択的検出が可能であり、高速原子衝撃二次イオン質量分析法(FAB-SIMS)を用いれば、メンブレンフィルター上に捕集されたアスベスト繊維が前処理なしに直接分析できることが分かった。蛍光色素吸着法では、クリソタイルアスベストに蛍光色素としてキサ

ンテン色素またはウンベリフェロンを吸着させ蛍光顕微鏡観察することにより、従来の光学顕微鏡法に比べより選択的に明るく見やすいクリソタイル繊維像を得ることができた。

本研究では、従来から行われている電子顕微鏡分析のための新しい試料前処理法の開発も試みた。その結果、メンブレンフィルター上に捕集した粉じん試料にカーボン蒸着を施し、直接電子顕微鏡観察用グリッドに乗せてフィルターを溶解除去する前処理法(直接法)により、従来の前処理法(間接法)に比べ短時間でフィルターの不溶解残渣のほとんどない電子顕微鏡観察用試料が作成できた。しかも、直接法ではアスベスト繊維は採取されたままの状態を保っており、より正確なアスベスト繊維の計測が可能であることが示唆された。また、分析電子顕微鏡を用いたアスベスト繊維の化学組成分析について検討し、定量分析において問題となるX線の吸収効果は、アスベスト繊維のサイズと元素組成に依存することを明らかにした。

はじめに

Introduction

瀬山春彦¹・相馬光之¹・相馬悠子²

Haruhiko SEYAMA¹, Mitsuyuki SOMA¹ and Yuko SOMA²

本報告書は国立環境研究所奨励研究及び地方公害研究所等との共同研究として行われた「アスベストの新分析法に関する研究」(平成2～3年度)の研究成果をまとめたものである。

アスベストは人間生活に利用されている天然の繊維状ケイ酸塩鉱物の総称で、優れた紡織性、電気絶縁性、耐熱性、耐薬品性などの特性を有していることから、安価な建築材料、摩擦材などとして古くから使われてきた。一方、近代工業の発展とともにアスベストの使用量が急速に増大すると、アスベストを取り扱う仕事に従事している人の中にアスベスト肺(じん肺の一種)と呼ばれる呼吸器疾患が見られるようになった^{1,2)}。その後さらに、アスベスト暴露と肺がんや悪性中皮腫との因果関係が明らかにされ、アスベストの環境汚染問題が世界的に注目されるようになった^{1,2)}。

アスベストは他の化学物質と違い、単に一定の化学構造を持った物質を指すのではなく、その中で特定(繊維状)の形状を持つものに限定される(同じ鉱物でも繊維状でなければアスベストとは呼ばない)。また、通常有害な化学物質の分析では、その濃度を重量濃度やモル濃度で表すのに対して、環境中のアスベストの分析では、その濃度を繊維数として表さなければならない。したがって、アスベストの分析では鉱物を同定するだけでなく、

その形状を観察する必要がある。これが他の化学分析にはないアスベスト分析の困難な点である。現在、主に用いられている環境中のアスベストの分析法は光学顕微鏡法、電子顕微鏡法であるが³⁾、これらの方法では試料の前処理が複雑であり、また、基本的にアスベストをその繊維状の形から識別する分析法であるため、X線マイクロアナライザーや電子線回折を併用しなければアスベスト以外の繊維状物質とアスベストを区別したり、アスベストの種類を特定することは困難である。そこで本研究では、アスベストを選択的に検出できる新分析法の開発および従来からある電子顕微鏡法の改良を目的とし、下記の分析法について検討を行った。

①二次イオン質量分析法

試料に一次イオンまたは中性粒子ビームを照射して得られる、アスベスト鉱物に特有な二次イオン質量スペクトルパターンとアスベスト繊維の画像(二次イオン像)を用いアスベストを計測する方法。

②蛍光色素吸着法

アスベスト繊維へ蛍光色素を吸着させ化学的修飾を行い、蛍光顕微鏡により選択的にアスベスト繊維を検出し計測する方法。

③電子顕微鏡法の改良

従来用いられていた試料前処理方法(間接法)に代わる新しい方法(直接法)を用いた、電子顕微鏡によるアスベスト繊維の計測法及び分析電子顕微鏡によるアスベストの化学組成分析。

以下にアスベストの分類と現在までに報告されているアスベスト分析法について概説する。

1 アスベストの分類

アスベストとは天然に産出する繊維状のケイ酸塩鉱物

1. 国立環境研究所 化学環境部
〒305 茨城県つくば市小野川16番2
Environmental Chemistry Division, National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立環境研究所 地域環境研究グループ
〒305 茨城県つくば市小野川16番2
Regional Environment Division, National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

につけられた名称で、特定の鉱物を指してはいない。アスベストはそれを構成している鉱物のケイ酸塩骨格構造の違いによって大きくフィロケイ酸塩鉱物である蛇紋石族とイノケイ酸塩鉱物である角閃石族に区別される。各族には表1に示すような鉱物が含まれるが、繊維状の形態を持たないものはアスベストに分類されない。

蛇紋石族に属するアスベストはクリソタイル(図1)である。SiO₄ 4面体層とMgO₆ 8面体層が組み合ったものがクリソタイルの単位となっており、これがいくつも積み重なって結晶構造を形成しているが(図1A)、単位層中のSiO₄ユニットのサイズよりMgO₆ユニットのサイズの方が大きいためこの層状構造に湾曲が生じ、クリソタイルは中空管状の形態をとっている。そしてこのチューブが長く伸びて繊維状のアスベストを形成している(図1B)。単繊維の直径は数十nmで、繊維の長さは1μm以下から1cm以上のものまでである。

角閃石族の鉱物はSiO₄ 4面体が一次的につながってできる鎖が2本並んで二重鎖の構造をとる骨格構造(イノケイ酸塩)を持っている(図2A)。この二重鎖の単位が図2Bに示すように組み合わさって長く伸び繊維状のアスベストを形成しており、その断面は普通菱形となる(図2Bでは断面の右半分のみを示してある)。鉄やマグネシウムなどの陽イオンは、隣り合う二重鎖の間に位置している。角閃石の化学組成はバラエティに富んでおり多くの鉱物が知られているが、石綿状の結晶形態をとるものとして表1に示した鉱物が知られている。すなわち、ケイ素以外の陽イオンとして主に鉄、マグネシウムを含む直閃石(斜方晶系)とこれと同じ化学組成で表されるが晶系の違うカミングトン閃石-グリュネ閃石系

列の角閃石(単斜晶系、比較的マグネシウムに富むものをカミングトン閃石、鉄に富むものをグリュネ閃石と呼ぶ)、ナトリウムを含むアルカリ角閃石の一種リーベック閃石、カルシウムを含む透閃石-アクチノ閃石系列の角閃石(鉄の少ないものを透閃石、鉄とマグネシウム両方に富むものをアクチノ閃石と呼ぶ)である。

表1に示した化学組成は理想的なもので、蛇紋石族、角閃石族いずれにおいても天然に産出するアスベストではこの組成からずれがある。例えば、ケイ素、マグネシウム、鉄のアルミニウムへの置換、水酸化物イオンのフッ化物イオンへの置換などがその原因である。また、アスベストの代表的な物理化学的性質について表2に示した。

2 アスベストの分析法

機器を用いたアスベスト分析には大別して二つの方法がある。一つはアスベストが繊維状であることを利用して電子顕微鏡などによりその繊維数を計測する方法(繊維数測定法)で、他方はアスベストの結晶構造に由来する性質を利用してX線回折などによりその重量を測定する方法(重量測定法)である。アスベストはその結晶構造と繊維状の形態両方により定義されるので、いずれの分析法でもいろいろな困難が伴う。例えば、繊維数測定法では微小繊維の数え落としやアスベスト以外の繊維状物質をアスベストとして計測してしまう恐れがあるし、重量測定法ではアスベストと同一の鉱物であって繊維状でないものをアスベストから区別することはできない。以下に主要なアスベスト分析法について簡単に述べる。

表 1 アスベストの分類^{4,5)}
Table 1 Classification of asbestos^{4,5)}

族	鉱物名・組成	アスベスト名
蛇紋石族	クリソタイル (Mg ₃ Si ₂ O ₅ (OH) ₄)	クリソタイル(温石綿, 白石綿)
角閃石族	リーベック閃石 (Na ₂ Fe ₃ ²⁺ Fe ₂ ³⁺ Si ₈ O ₂₂ (OH) ₂)	クロソドライト(青石綿)
	直閃石 (Mg, Fe ²⁺) ₇ Si ₈ O ₂₂ (OH) ₂)	アンソフィライト
	カミングトン閃石-グリュネ閃石系列 (Mg, Fe ²⁺) ₇ Si ₈ O ₂₂ (OH) ₂)	アモサイト
	透閃石-アクチノ閃石系列 (Ca ₂ (Mg, Fe ²⁺) ₅ Si ₈ O ₂₂ (OH) ₂)	トレモライト, アクチノライト

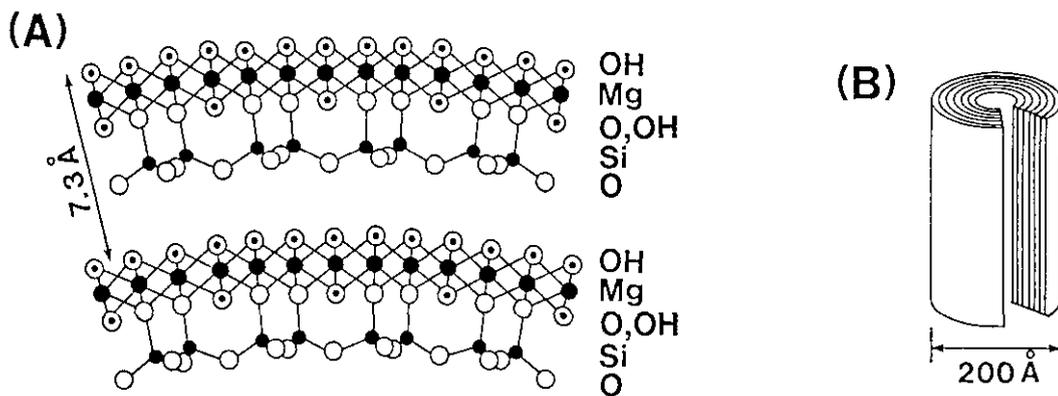


図 1 クリソタイルの(A)結晶構造と(B)単繊維
Fig. 1 (A) Crystal structure and (B) single fiber of chrysotile

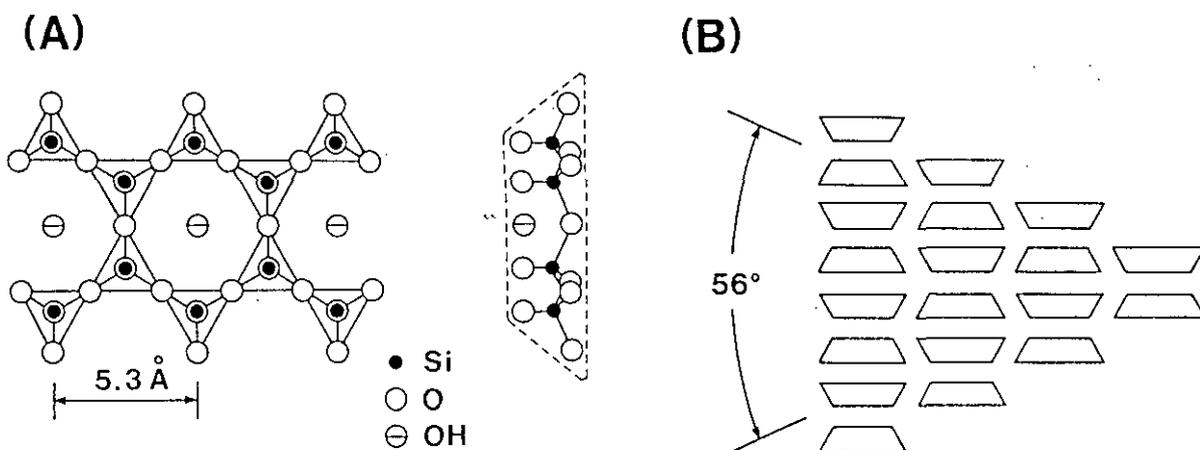


図 2 角閃石の(A)二重鎖構造と(B)アスベスト繊維断面
Fig. 2 (A) Double chain structure and (B) cross section of asbestos fiber of amphibole

表 2 アスベストの物理化学的性質^{4,6)}
Table 2 Physical and chemical properties of asbestos^{4,6)}

	クリソ タイル	アンソフィ ライト	アモ サイト	トレモ ライト	アクチノ ライト	クロシド ライト
結晶系	単斜晶系	斜方晶系	単斜晶系	単斜晶系	単斜晶系	単斜晶系
硬 度	2.5-4.0	5.5-6.0	5.5-6.0	5.5	6	4
比 重	2.4-2.6	2.8-3.1	3.1-3.3	2.9-3.2	3.0-3.2	3.2-3.3
比 熱(cal/g°C)	266	210	193	212	217	201
抗張力(kg/cm ²)	31000	24000	25000	<5000	<5000	35000
融 点(°C)	1521	1468	1399	1316	1393	1193

2.1 繊維数測定法

2.1.1 光学顕微鏡法

偏光顕微鏡、位相差顕微鏡あるいは干渉位相差顕微鏡を用いて数百倍の倍率でアスベスト（長さ/直径 ≥ 3 ）の繊維数を計測する方法^{3,7,8)}。長さ約 $5\mu\text{m}$ 、直径約 $0.2\mu\text{m}$ のアスベストまで観測できるが、これより短い繊維や細い繊維の検出は困難である。現在、アスベストを取り扱っている作業環境中のアスベスト分析によく使われている。なお、最近分散染色法を用いた偏光顕微鏡観察によりアスベスト繊維を識別する方法⁹⁾や蛍光色素をアスベスト繊維に吸着させ、蛍光顕微鏡で計測する方法¹⁰⁾（第II章参照）が開発されている。

2.1.2 電子顕微鏡法

走査型（SEM）または透過型（TEM）の電子顕微鏡を使った方法（第III章参照）^{3,7,8)}。光学顕微鏡に比べて電子顕微鏡の像分解能は高く（SEMで数nm、TEMで1nm以下）、 $1\mu\text{m}$ 以下のアスベスト繊維も検出できる。特に、高分解能TEMではクリソタイルの中空管状構造まで観測することができる。また、電子顕微鏡に付属したX線マイクロアナライザーによる元素分析¹¹⁾（第IV章参照）や電子線回折測定を併用すれば、繊維状物質がアスベストであるかどうかの判定や、アスベストの種類を区別することも可能である。電子顕微鏡法は大気環境中のアスベストの計測ばかりでなく、生体中のアスベスト繊維の分析にも広く用いられている¹²⁾。

2.1.3 マイクロビーム分析法

試料中の個々のアスベスト繊維を分析したり画像としてとらえたりするために、様々なマイクロビームを用いた局所分析法の利用が考えられる。例えば、細く絞ったレーザービーム（ビーム径 $\leq 1\mu\text{m}$ ）を用いた局所分析法としてラマンマイクロプローブ法（顕微ラマン法）¹³⁾、レーザーマイクロプローブ質量分析法（LAMMA）¹⁴⁾がある。また、イオンビームを照射して試料表面から発生する二次イオンを質量分析する二次イオン質量分析法（SIMS）^{15,16)}も利用可能な分析方法である（第I章参照）。現在イオンビーム径を数十nmまで絞ることが可能になってきており、局所分析法としてSIMSは有望な方法である。マイクロビームを用いた分析技術は今後さらに進歩すると考えられ、将来アスベスト分析へのその応用が期待される（マイクロビーム分析法に関するその他

の文献は第I章参照）。

2.1.4 光散乱法

アスベスト繊維を捕集する際磁場をかけることによって繊維を一定方向に配向させ、それに光を当て得られる散乱光のパターンから繊維数を計測する方法¹⁷⁾。また、現在ではアスベスト分析したい空気をポンプで引いてチューブの中に流しながら、高圧の電場でアスベスト繊維を振動させ、これにレーザー光を当ててその散乱光を測定し、連続的にアスベスト繊維数をモニターする装置も市販されている。この方法では個人差のない繊維数計測が可能である。

2.2 重量測定法

2.2.1 X線回折法

粉末状の試料にX線を照射し、得られる回折X線のパターン（回折線のd値（格子面間隔）と強度）からアスベストの種類と含量を測定する方法^{3,7,8)}。図3にクリソタイルの粉末X線回折パターンを示す。強度の強い回折線を使えば試料中の含量約0.5%までのアスベストが検出できるが、共存する物質の回折線が重なると分析ができなくなる。例えば、クリソタイルでは同じ蛇紋石族のアンチゴライトなどの回折線が妨害となる。通常、建築材料などの中のアスベストの有無を調べるのに使われる。

2.2.2 赤外吸収スペクトル法

KBr錠剤法などにより試料の赤外吸収スペクトルを測定し、その強度から含まれるアスベストの含量を求める方法^{7,8)}。図4に示すように、アスベストの赤外吸収スペクトルではOH伸縮振動（ $3600\sim 3700\text{cm}^{-1}$ ）やSiO伸縮振動（ $800\sim 1200\text{cm}^{-1}$ ）の吸収が主要なピークであるが、 800cm^{-1} 以下の低波数領域にも吸収ピークがある。OH伸縮振動のピークを使ってクリソタイルの分析を行う場合、共存物質の妨害がなければ $100\mu\text{g}$ 以下のクリソタイルの検出ができる。しかしながら、例えば、カオリナイトなど多くの粘土鉱物は同じ波数領域にOH伸縮振動の吸収ピークをもち測定を困難にする。このような場合、あらかじめ妨害物質を除去するか、低波数領域の別の吸収ピークを用いる必要がある。なお、赤外吸収スペクトルと同様にアスベストの振動スペクトルを利用した分析方法としてラマンスペクトル法がある。

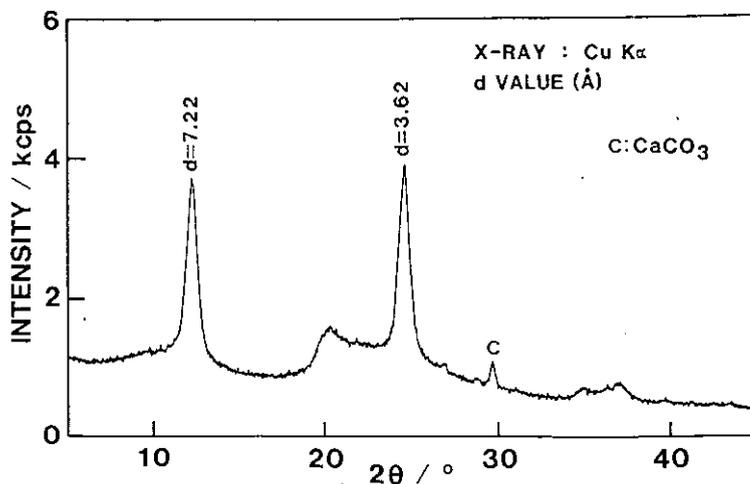


図 3 クリソタイルの粉末X線回折パターン

Fig. 3 X-Ray powder diffraction pattern of chrysotile

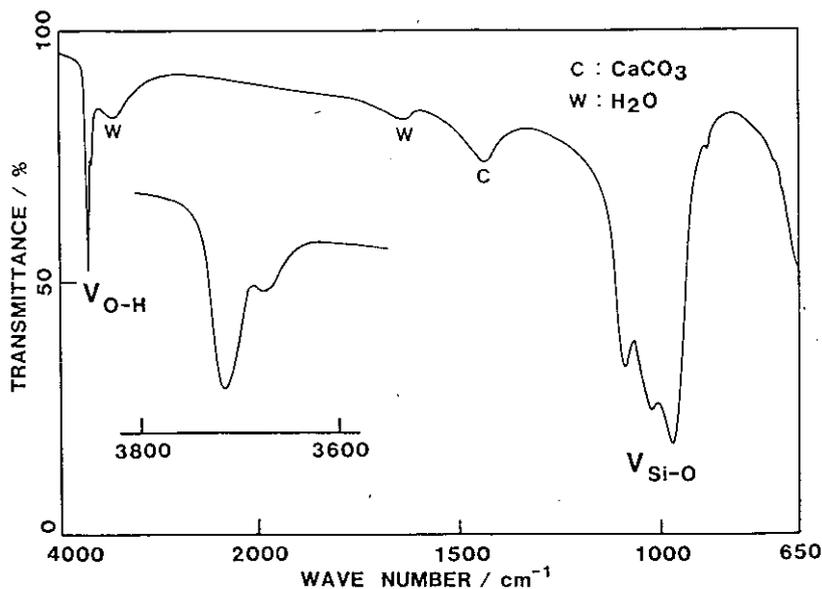


図 4 クリソタイルの赤外線吸収スペクトル (KBr 錠剤法)

Fig. 4 Infrared spectrum of chrysotile (KBr pellet)

2.2.3 熱分析法

熱重量測定 (TG), 微分熱重量測定 (DTG), 示差熱分析 (DTA) などの熱分析から試料中のアスベストを検出定量する方法^{7,8,18)}。一例としてクリソタイルの TG, DTG, DTA 曲線を図 5 に示す。クリソタイルでは 600~700°C で OH の脱水による重量減少 (TG, DTG) と吸熱 (DTA), 800~900°C で加熱再結晶による発熱 (DTA) が観測される。通常アスベストの分析に利用さ

れているのは DTA で、角閃石族のアスベストについても特徴的な DTA 曲線が得られるが、クリソタイルと緑泥石のように類似した温度に吸熱または発熱ピークをもつ鉱物が共存すれば測定を妨害する。

2.3 その他の測定法

2.3.1 電子スピン共鳴法

アスベストの発がん性は細胞とアスベストの相互作用

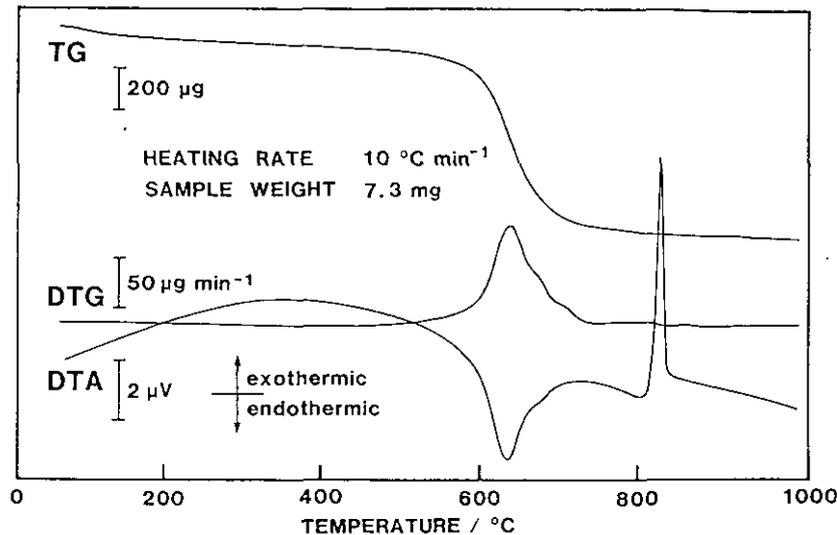


図 5 クリソタイルの熱重量測定(TG), 微分熱重量測定(DTG), 示差熱分析(DTA)曲線

Fig. 5 Thermogravimetry(TG), derivative thermogravimetry (DTG) and differential thermal analysis (DTA) curves of chrysotile

で発生する活性酸素種によるとの説¹⁹⁾に関連して、活性酸素種の電子スピン共鳴 (ESR) による測定が注目された²⁰⁾。例えば、OHラジカルの場合、アスベストと過酸化水素 (H₂O₂) の反応で生じたOHラジカルを5,5-ジメチル-ピロリン-N-オキシド (DMPO) で捕そくし、ESRで検出することができる²⁰⁾。この分析法は繊維数測定法や重量測定法と違い、アスベストの反応性に関連した量を計測する特殊な方法である。この測定法の分析的意義を評価するため、クリソタイル (市販品を洗浄したもの)、カミングトン閃石 (山口県蔵目木産、国立科学博物館所蔵 NSM-M20761, FeとMnが同程度含まれる)、リーベック閃石 (クロシドライト、南オーストラリア産、国立科学博物館所蔵 NSM-M7310) の繊維状3価物を、H₂O₂水溶液に加えて発生するOHラジカルをDMPOで捕そくし、ESRで測定した。最もOHラジカルを与えやすかったカミングトン閃石の場合、ラジカルを検出できた最少の鉱物量は約10µgであった。これは径2µm、長さ10µm、比重3の鉱物繊維として約10⁸本に相当するので、実際の大气環境中のアスベスト分析に応用するのは現実的でない。また、アスベストの毒性の発現に関連する量としての意義は重要であると考えられるが、H₂O₂と反応してOHラジカルを与える活性種は繊維状鉱物中のみに存在するとは限らないことにも留意する必要がある²¹⁾。

3 研究組織

本研究は以下に示す研究者により行われた。

国立環境研究所

化学環境部

上席研究官

相馬光之

動態化学研究室

瀬山春彦

地域環境研究グループ

化学物質健康リスク評価研究チーム

相馬悠子

福岡県保健環境研究所

高尾真一*

櫻井利彦

田上四郎

中村又善

(*平成3年度客員研究員)

4 研究成果一覧

[誌上発表]

- 1) Seyama, H., Y. Soma, M. Soma, S. Takao, T. Sakurai and S. Tagami (1991): Application of secondary ion mass spectrometry (SIMS) for the analysis of asbestos fibers. *Fresenius' J. Anal. Chem.*, 341, 619-624.

- 2) 高尾真一・櫻井利彦・中村又善(1992): 分析電子顕微鏡によるアスベスト繊維の定量分析におけるX線の吸収効果. 日化誌, 1470-1478.
- 3) Soma, Y., H. Seyama and M. Soma: Adsorption of fluorescent dyes to chrysotile asbestos, Clay Sci., in press.
- (口頭発表)
- 1) 瀬山春彦・相馬悠子・相馬光之(1989): クリソタイルアスベスト分析への二次イオン質量分析法の応用. 第33回粘土科学討論会, 秋田.
- 2) 相馬悠子・瀬山春彦・相馬光之(1989): クリソタイルアスベストへの蛍光色素の吸着. 第33回粘土科学討論会, 秋田.
- 3) Seyama, H., Y. Soma and M. Soma (1990): Application of secondary ion mass spectrometry (SIMS) for analysis of asbestos fibers. Euroanalysis VII (European Conference on Analytical Chemistry), Vienna.
- 4) 相馬悠子・瀬山春彦・相馬光之・高尾真一・櫻井利彦・田上四郎・中村又善(1991): 蛍光色素ウンベリフェロンのクリソタイルへの吸着と蛍光顕微鏡による観察. 第35回粘土科学討論会, 筑波.
- 5) Soma, Y., H. Seyama and M. Soma (1993): Adsorption of fluorescent dyes to chrysotile asbestos. 10th International Clay Conference, Adelaide.
- 6) 高尾真一・櫻井利彦・中村又善(1992): 分析電子顕微鏡によるアスベスト繊維の定量分析におけるX線の吸収効果. 日化誌, 1470-1478.
- 7) 福森信隆・萩野周三(1988): アスベスト解析法の進歩. Hitachi Sci. Instru. News, 31, 2874-2878.
- 8) 神山宣彦(1982): アスベスト測定法の検討. 労働衛生工学, 21, 6-19.
- 9) 宇野泰章(1992): 分散染色法によるアスベストの光学的同定. 粘土科学, 32, 42-52.
- 10) Soma, Y., H. Seyama and M. Soma: Adsorption of fluorescent dyes to chrysotile asbestos, Clay Sci., in press.
- 11) 高尾真一・櫻井利彦・中村又善(1992): 分析電子顕微鏡によるアスベスト繊維の定量分析におけるX線の吸収効果. 日化誌, 1470-1478.
- 12) 神山宣彦(1987): 分析電子顕微鏡と労働衛生及び環境科学—特に繊維状鉱物の生体影響に関して—. 粘土科学, 27, 88-103.
- 13) 立石和男・古谷圭一・菊地 正・石田英之・石谷 炯(1981): ラマンマイクロプローブによる環境中のアスベストの分析. 分析化学, 30, 774-779.
- 14) De Waele, J.K.E. and F.C. Adams (1986): Laser-microprobe mass analysis of fibrous dusts. In: Physical and Chemical Characterization of individual airborne particles., K.R. Spurny (ed.), Ellis Horwood, Chichester, 271-297.
- 15) Berghmans, P.A., I.J. Muir and F.C. Adams (1990): Surface analysis of chrysophosphate materials. Surf. Interface Anal., 16, 575-579.
- 16) Seyama, H., Y. Soma, M. Soma, S. Takao, T. Sakurai and S. Tagami (1991): Application of secondary ion mass spectrometry (SIMS) for the analysis of asbestos fibers. Fresenius' J. Anal. Chem., 341, 619-624.
- 17) Timbrell, V (1975): Alignment of respirable asbestos fibres by magnetic fields. Ann. Occup. Hyg., 18, 299-311.
- 18) 下田 右(1971): 粘土鉱物の示差熱分析. 粘土科学, 11, 174-187.
- 19) Mossman, B.T. and J.P. Marsh (1989): Evidence supporting a role for active oxygen species in asbestos-induced toxicity and lung disease. Environ. Health Perspect., 81, 91-94.
- 20) Weitzman, S.A. and P. Graceffa (1984): Asbestos catalyzed Hydroxyl and superoxide radical generation from hydrogen peroxide. Arch. Biochem. Biophys., 228, 373-376.
- 21) Zalma, R., L. Bonneau, J. Guignard, H. Pezerat and M.-C. Jaurand (1987): Formation of oxy radicals by oxygen reduction arising from the surface activity of asbestos. Can. J. Chem., 65, 2338-2341.
- 1) 森永謙二・横山邦彦(1987): アスベスト暴露による人体影響. 労働の科学, 42(12), 14-19.
- 2) Ney, P.E. (1986): Asbestos. In: The Handbook of Environmental Chemistry Vol. 3, Part D, Anthropogenic Compounds., O. Hutzinger (ed.), Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, 35-100.
- 3) 環境庁大気保全局大気規制課 監修(1988): アスベスト排出抑制マニュアル増補版. ぎょうせい, 東京, 275p.
- 4) 岩生周一・長沢敬之助・宇田川重和・加藤忠蔵・喜田大三・青柳宏一・渡邊 裕編(1985): 粘土の事典. 朝倉書店, 東京, 504p.
- 5) 森本信男・砂川一郎・都城秋穂(1975): 鉱物学. 岩波書店, 東京, 640p.
- 6) 神山宣彦(1988): アスベストとその対策. Hitachi Sci. Instru. News, 31, 2865-2873.
- 7) 福森信隆・萩野周三(1988): アスベスト解析法の進歩.

I 二次イオン質量分析法によるアスベストの分析

Asbestos Analysis by Secondary Ion Mass Spectrometry

瀬山春彦¹・相馬悠子²・相馬光之¹・高尾真一³・櫻井利彦³・田上四郎³・中村又善³

Haruhiko SEYAMA¹, Yuko SOMA², Mitsuyuki SOMA¹, Shin'ichi TAKAO³, Toshihiko SAKURAI³,
Shiro TAGAMI³ and Matayoshi NAKAMURA³

要旨

二次イオン質量分析法 (SIMS) を用いたアスベスト分析の検討を行った。その結果、SIMSではアスベスト繊維の二次陽イオン質量スペクトルパターンから、アスベストの種類を識別することができ、また、アスベスト繊維を画像 (二次陽イオン像) として検出することも可能であることが明らかとなった。一次イオンビーム (O_2^+) の代わりに中性の O_2 ビームを用いた高速原子衝撃二次イオン質量分析法 (FAB-SIMS) により、メンブレンフィルター上に捕集されたアスベスト繊維が前処理なしに直接分析できることが分かった。FAB-SIMSで二次イオン像として測定可能な最小のアスベスト繊維の大きさは、長さ約 $5 \mu\text{m}$ 、幅約 $1 \mu\text{m}$ であった。

Abstract

Secondary ion mass spectrometry (SIMS) was applied for the analysis of asbestos fibers. It was possible to identify the asbestos fibers by the pattern of positive secondary ion mass spectrum. The image of asbestos fiber was measurable by use of any major positive secondary ions. Using an O_2 neutral beam instead of primary ion beam (O_2^+), i.e. fast atom bombardment - secondary ion mass spectrometry (FAB-SIMS), asbestos fibers collected on a membrane filter were easily detected without any tedious sample preparation. The smallest size of detectable asbestos fiber was about 5 and $1 \mu\text{m}$ in length and diameter, respectively.

1 はじめに

アスベストは建築材料や摩擦材などに広く利用されてきたが、吸入すると肺がんや悪性中皮腫を起こすことが明らかとなり、その環境汚染が問題となっている¹⁾。アスベスト分析には様々な方法があるが (「はじめに」参照)、環境中のアスベスト繊維の分析には、光学顕微鏡法と電

子顕微鏡法が通常よく用いられる²⁾。これらの顕微鏡法は、基本的にアスベストをその繊維状の形から識別する方法で、他の方法 (X線マイクロアナライザーなど) の併用なしにはアスベストの同定をすることは難しい。また、電子顕微鏡法は像分解能が高く、 $1 \mu\text{m}$ 以下の極めて細かい繊維まで検出可能であるが、その反面測定のための試料前処理操作はたいへん複雑で熟練を要する。

顕微鏡法に代わる新しいアスベスト繊維の計測法として、様々なマイクロプローブを用いた局所分析法の利用が考えられる。今までにラマンマイクロプローブ分光法 (顕微ラマン法)^{3,4)}、走査オージェ電子分光法 (SAM)⁵⁾、電子エネルギー損出分光法 (EELS)⁶⁾を利用したアスベスト鉱物の分析やアスベスト繊維のイメージングが試みられた。De Waeleらはレーザーマイクロプローブ質量分析法 (LAMMA)⁷⁻¹²⁾と二次イオン質量分析法 (SIMS)^{8,13,14)}をアスベスト分析に用いた。彼らの系統的な研究から、LAMMAは天然のアスベスト鉱物や化学的に処理されたアスベスト、あるいは肺の中に沈着した

1. 国立環境研究所 化学環境部
〒305 茨城県つくば市小野川16番2
Environmental Chemistry Division, National Institute for Environmental Studies. 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立環境研究所 地域環境研究グループ
〒305 茨城県つくば市小野川16番2
Regional Environment Division, National Institute for Environmental Studies. 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
3. 福岡県保健環境研究所
〒818-01 福岡県太宰府市向佐野39
Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences.
39 Mukaisano, Dazaifu, Fukuoka 818-01, Japan.

パク質に含まれたアスベスト繊維（アスベストボディ）の分析に有効であることが示された。また、SIMSによる深さ方向分析が、浸出による特定元素の溶出のようなアスベスト繊維の表面変化を調べるのに役立つことも明らかとなった。しかしながら、これらの質量分析法を用いて、粉じんなどの中のアスベスト繊維を画像として検出することはまだ試みられていない。

そこで本研究では、二次イオン質量分析法（SIMS）を応用して、アスベストの内でも最も使用量の多いクリソタイルを中心に、アスベスト鉱物に特有な二次イオン質量スペクトルパターンとアスベスト繊維の画像（二次イオン像）による新しいアスベスト分析法の検討を行った。

2 実験

2.1 アスベスト試料

天然に産出したアスベスト鉱物として、次の2つを測定試料に用いた。

①クリソタイル ($Mg_3Si_2O_5(OH)_4$)

アメリカ, アリゾナ州産出

②リーベック閃石 (クロシドライト

$Na_2(Fe^{2+}, Mg)_3Fe_2^{3+}Si_5O_{22}(OH)_2$)

オーストラリア, 南オーストラリア州産出

(国立科学博物館所蔵 NSM-M7310)

これらアスベスト試料の純度は粉末X線回折(XRD)測定によりチェックされた。その結果、クリソタイル試料には、少量の方解石($CaCO_3$)が不純物として含まれていた(「はじめに」図3参照)。細かく粉砕したこれら試料(数百 μg)を水(数ml)に懸濁し、金板(厚さ0.1mm, 7mm角)上に数滴滴下してデシケーター内で水を蒸発させたものを O_2^+ 一次イオンビームを用いたSIMS測定の試料とした。また、アスベスト懸濁液(アスベスト濃度30mg/l)5~6mlをメンブランフィルター(ミリポアAA, 直径25mm)でろ過し、フィルター上にアスベスト繊維をのせた試料も作成した。この試料は、 O_2 中性ビームを用いた高速原子衝撃二次イオン質量分析(FAB-SIMS)に使用した。

石綿スレート工場内でクリソタイルアスベストを含む大気粉じんをメンブランフィルター(ミリポアAA, 直径47mm)上に捕集し(吸引流量10l/min, 捕集時間10min), これをSIMS測定用粉じん試料とした。なお、この試料は、直接法電子顕微鏡分析(第三章)で用いた粉じん試料(YA-1)と同時に採取されたもので、位相差顕微鏡

によるYA-1の分析では、フィルター上のクリソタイルアスベスト繊維数は12f/mm²であった(試料採取及び顕微鏡法による分析の詳細は第三章参照)。他のメンブランフィルター試料と同様、この粉じん試料も O_2 中性ビームを用いたFAB-SIMSにより測定を行った。

2.2 測定法

2.2.1 二次イオン質量分析法(SIMS)

金板上にアスベスト繊維をのせた試料の測定では、一次ビームとしてイオンビームを用いる通常の二次イオン質量分析法を用いた。SIMSは細く絞った一次イオンビーム(ビーム径 数~数十 μm)を走査しながら試料に照射し、スパッタリングにより試料表面から放出される二次イオンを質量分析して検出する表面分析法である¹⁵⁾。本研究では、二次イオン質量スペクトル及び二次イオン像は、カメラIMS4fを使用して測定した(図1)。アスベスト分析では、主にアスベスト鉱物を構成している金属イオン(マグネシウム, ナトリウムなど)やケイ素イオンなどの陽イオンを検出するので、二次陽イオン発生効率の高い酸素イオン(O_2^+)を一次イオンビーム(エネルギー10.5keV, 電流400~20nA, 走査領域250×250 μm)として選んだ。

2.2.2 高速原子衝撃二次イオン質量分析法(FAB-SIMS)

高速原子衝撃二次イオン質量分析法は、一次イオンビームの代わりに中性粒子を一次ビームとして用いた二次イオン質量分析法である。絶縁物のSIMS測定では、一

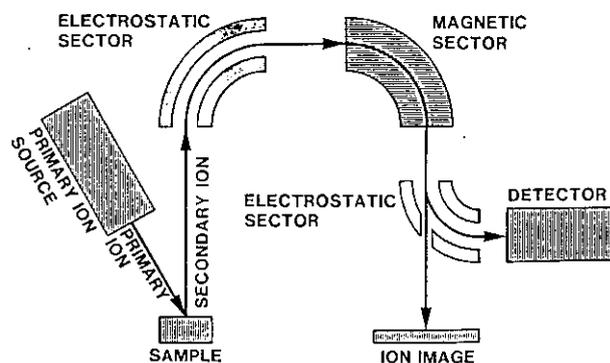


図 1 二次イオン質量分析装置(カメラIMS4f)の構成図
Fig. 1 Schematic diagram of secondary ion mass spectrometer (CAMECA IMS 4 f)

次イオンビーム照射による試料の帯電が測定を妨害する¹⁵⁾。これに対しFAB-SIMSでは、照射されるのが中性粒子のビームであるため、試料の帯電が生じにくく絶縁物の測定が容易に行える。そこでメンブランフィルター試料の分析には、中性の O_2 ビーム(エネルギー15keV)を一次ビームとしたFAB-SIMSを用いた。

FAB-SIMS測定に用いた中性の O_2 ビームの生成は、DegrèveとLangにより報告された方法¹⁶⁾によった。すなわち、 O_2^+ イオンビーム(エネルギー15keV, 電流 $1\mu A$)を作る一次イオン源と測定試料の間の一次イオンビームライン上にイオン粒子を中和するためのチャンパー(長さ約4cm×直径約6mmで両側に直径1mmの穴のあいた金属性の筒)を置き、このチャンパーに酸素ガスをリークさせる(図2)。するとチャンパーに入射する O_2^+ イオンは O_2 分子と衝突して電荷を失い中性の O_2 ビームが生成される。中和されなかった O_2^+ イオンは試料の手前にあるディフレクター(図2, D3)により除去され、中性の O_2 ビームのみが試料表面に照射される。FAB-SIMSでは試料の帯電が生じにくいのが利点である。一方、中性粒子ビームではイオンレンズ系でビームを絞ることができないため、ビーム径が広がってしまう(数mm)のが欠点である。FAB-SIMSでは帯電を最小に抑えるため試料表面に銅メッシュ(700×500 μm , 直径7mm)を置いて測定を行った。なお、FAB-SIMSの詳細についてはすでに報告している¹⁷⁾。

2.2.3 二次イオン測定条件

質量分析計の分解能は約250とした。二次イオン質量スペクトルは検出器として二次電子増倍管を用いて測定した。二次イオン像は蛍光板上に投影されたものをカメラで撮影する方法(蛍光板法)と面検出器としてResistive Anode Encoder (RAE)¹⁸⁾を用いマイクロコンピュータに画像データとして取り込む方法(RAE法)により測定した。なお、いずれの方法においてもチャンネルプレートにより二次イオン像を増幅してから、蛍光板もしくはRAE上に投影し画像データを取得している。

前にも述べたように、鉱物のような絶縁物質のSIMS測定では試料の帯電が測定を妨害するが、今回行った金板上のアスベスト繊維試料の測定及びFAB-SIMSによるメンブランフィルター試料の測定では帯電の影響は少なく、試料表面に金属を蒸着したり、正の帯電を中和するため電子銃を併用したりすることなく二次イオン質量スペクトル及び二次イオン像を測定することが可能であった。

3 結果と考察

3.1 金板上に捕集したアスベスト試料

金板上に捕集したアスベスト試料の測定は、 O_2^+ 一次イオンを用いて行った。クリソタイルとリーベック閃石の二次陽イオン質量スペクトル(分析領域60 $\mu m\phi$)を図3に示す。いずれの質量スペクトルでも、各鉱物を構成している主要な元素の陽イオン(M^+)及びそれに酸素原

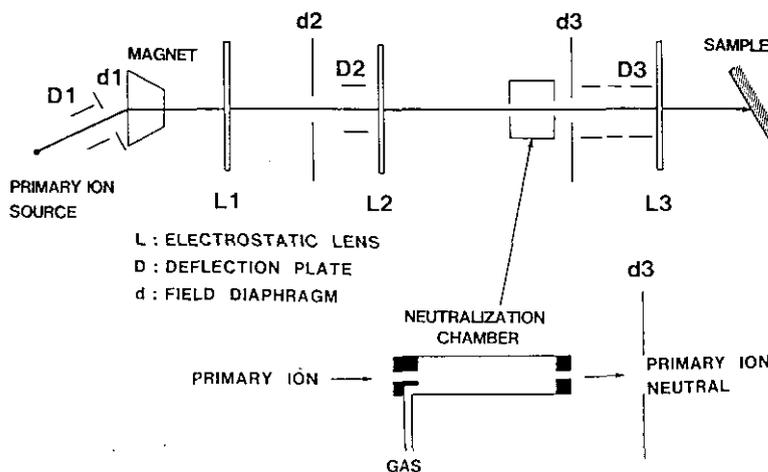


図 2 高速原子衝撃(FAB)源の構成図

Fig. 2 Schematic diagram of fast atom bombardment (FAB) source

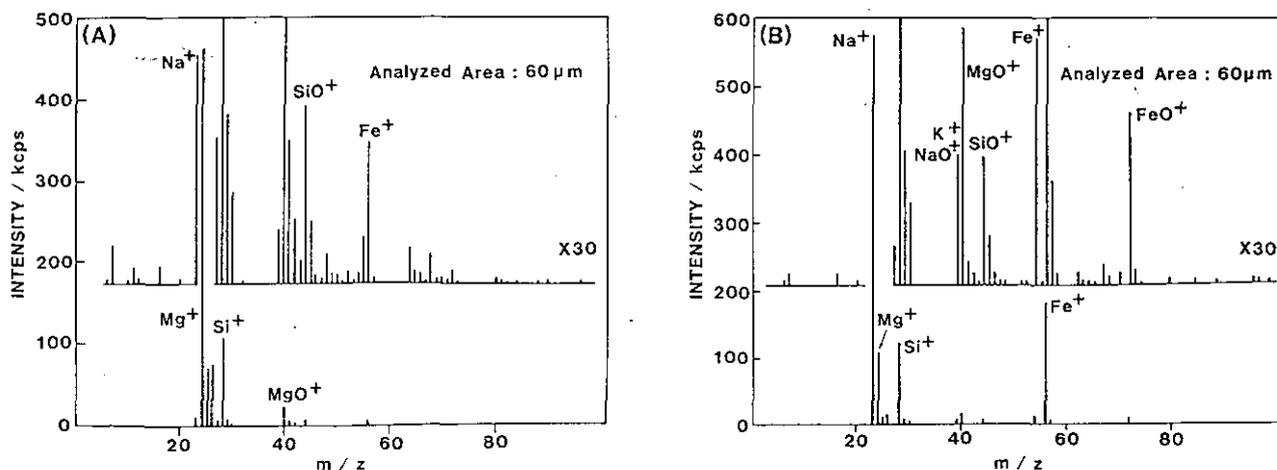


図 3 金板上に捕集した(A)クリソタイルと(B)リーベック閃石の二次陽イオン質量スペクトル (O₂⁺一次イオンビーム, 分析領域60μmφ)

Fig. 3 Positive secondary ion mass spectra of (A) chrysotile and (B) riebeckite on gold sheet obtained by O₂⁺ primary ion beam (analyzed area of 60 μmφ)

子が付いた分子イオン (MO⁺) の特徴的なピーク (例えばクリソタイルにおける²⁴Mg⁺と⁴⁰MgO⁺) が観測され、そのスペクトルパターンから元素組成の異なるアスベストの種類を相互に区別できることが分かった。本測定で観測されたクリソタイルの²⁴Mg⁺と²⁸Si⁺の強度比 (Mg/Si) は約4でVerlindenらにより報告された値 (Mg/Si = 3.4 ± 0.2, 5.5keV O₂⁺一次イオンビーム)¹³⁾と大きな差はなかった。

図4～7に示したように、主要な二次陽イオン (M⁺) を用いたアスベスト繊維のイメージングが可能であった。最も強度の強い二次イオン (クリソタイル: ²⁴Mg⁺, リーベック閃石: ²³Na⁺) によるイメージングで、最も鮮明なアスベスト繊維像を得ることができた。方解石を含むクリソタイル試料の測定 (図4) では、²⁴Mg⁺と²⁸Si⁺によるイメージング (図4A, B) により、方解石粒子 (図4C) を識別してクリソタイル繊維を選択的に検出できた。なお、⁴⁰Ca⁺による方解石粒子のイメージング (図4C) において、不鮮明なクリソタイル繊維の画像が観測されているが、これは⁴⁰Ca⁺と質量数の等しい⁴⁰MgO⁺によるものと考えられる。

二次イオン像測定では、蛍光板法を用いた方がRAE法による測定よりもより高い像分解能が得られた。蛍光板法によるクリソタイルの²⁴Mg⁺二次イオン像とリーベック閃石の²³Na⁺二次イオン像を図6, 7に示す。蛍光板法によるリーベック閃石の測定では、繊維の径がサブ

ミクロンのものまで検出可能であった (図7)。蛍光板法では像分解能が高い反面RAE法に比べ検出感度が悪く、明瞭な二次イオン像を得るためには強い一次O₂⁺イオンビーム (数百nA) が必要であった。一方、より検出感度の高いRAE法では一次イオン電流を100～20nAにして二次イオン像測定を行った。SIMSでは試料表面を一次イオンでエッチングしていくため、長時間にわたる測定をしたり、強い一次イオンビームを用いると測定中に微細なアスベスト繊維が失われてしまうことがあった。

3.2 メンブレンフィルター上に捕集したアスベスト試料

メンブレンフィルター試料 (アスベスト鉱物試料及び大気粉じん試料) の測定は、中性のO₂ビーム (O₂FAB) を用いて行った。細く絞られたO₂⁺イオンビームに比べ、O₂ビームはブロードでそのビームの密度は低い。したがって、FAB-SIMSによる測定では一次ビームによる試料のダメージは少なく、長時間にわたる測定が可能であった。その一方、二次イオン強度が弱いためFAB-SIMSでは蛍光板法による二次イオン像測定はできず、RAE法によるイメージングのみを行った。

メンブレンフィルター上に捕集したクリソタイルとリーベック閃石の二次陽イオン質量スペクトル (分析領域150μmφ) を図8に示す。O₂FABにより得られたメンブレンフィルター上の各鉱物の質量スペクトルは、O₂⁺イオンビームで得られた金板上のアスベストの質量スペ

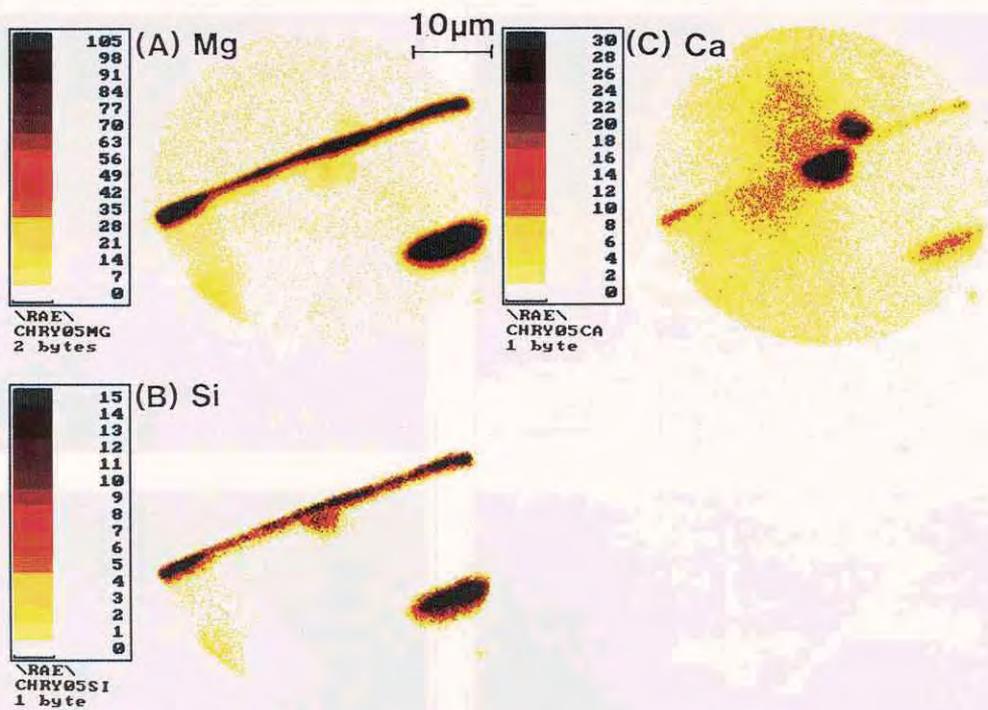


図 4 金板上に捕集したクリソタイルの(A) $^{24}\text{Mg}^+$, (B) $^{28}\text{Si}^+$, (C) $^{40}\text{Ca}^+$ 二次イオン像 (O_2^+ 一次イオンビーム, RAE法)

各二次イオン像の測定時間は 4 min。スケールの単位は各画素のカウント数。

Fig. 4 (A) $^{24}\text{Mg}^+$, (B) $^{28}\text{Si}^+$ and (C) $^{40}\text{Ca}^+$ secondary ion images of chrysotile on gold sheet obtained by O_2^+ primary ion beam and RAE image acquisition system. Acquisition time of all images is 4 min. Unit of scale is counts of each pixel.

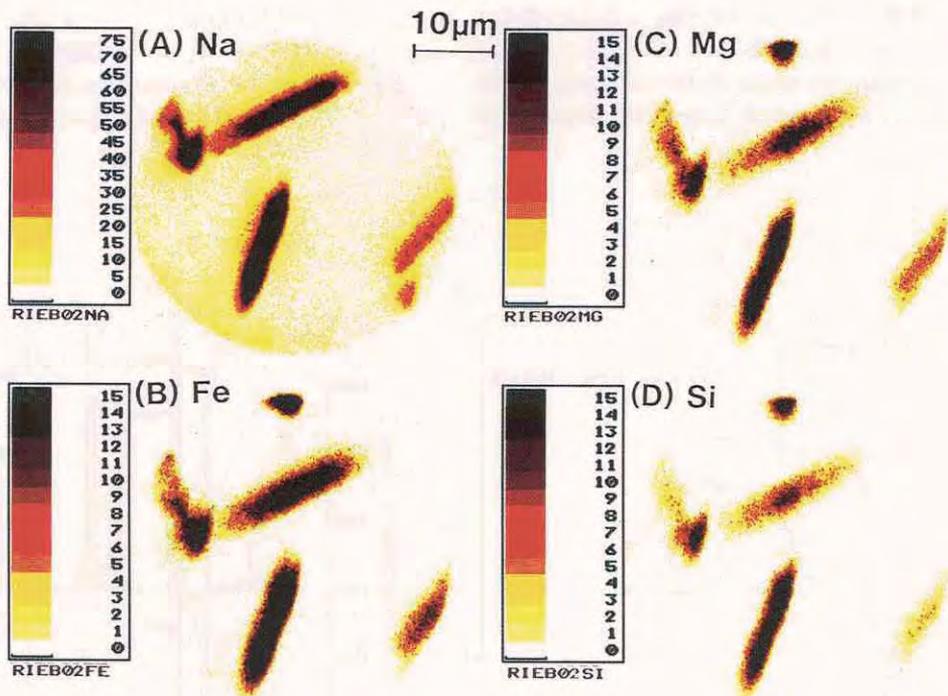


図 5 金板上に捕集したリーベック閃石の(A) $^{23}\text{Na}^+$, (B) $^{56}\text{Fe}^+$, (C) $^{24}\text{Mg}^+$, (D) $^{28}\text{Si}^+$ 二次イオン像 (O_2^+ 一次イオンビーム, RAE法)

各二次イオン像の測定時間は4min。スケールの単位は各画素のカウント数。

Fig. 5 (A) $^{23}\text{Na}^+$, (B) $^{56}\text{Fe}^+$, (C) $^{24}\text{Mg}^+$ and (D) $^{28}\text{Si}^+$ secondary ion images of riebeckite on gold sheet obtained by O_2^+ primary ion beam and RAE image acquisition system. Acquisition time of all images is 4 min. Unit of scale is counts of each pixel.

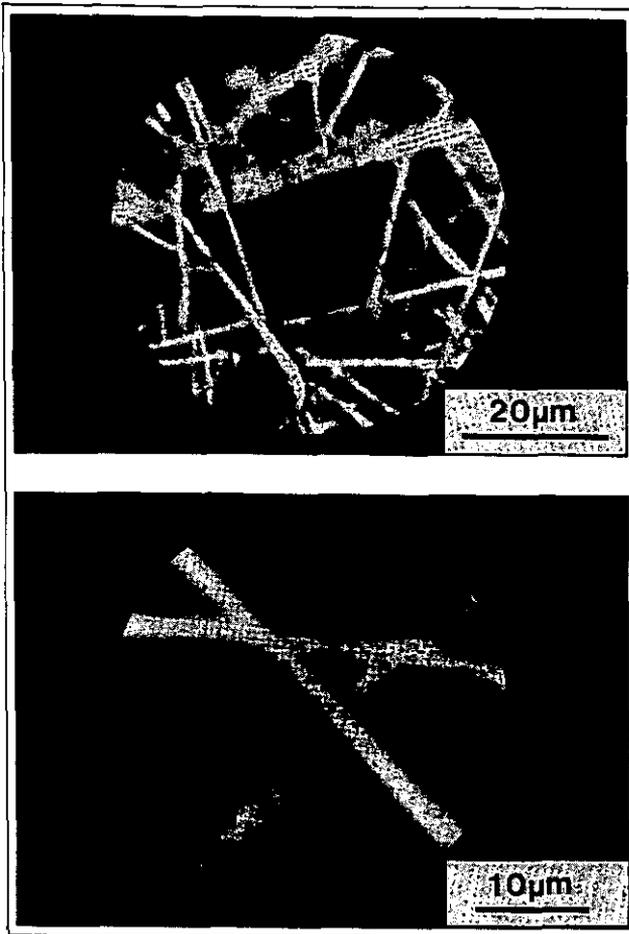


図 6 金板上に捕集したクリソタイトの $^{24}\text{Mg}^+$ 二次イオン像(O_2^+ 一次イオンビーム, 蛍光板法)

Fig. 6 $^{24}\text{Mg}^+$ secondary ion images of chrysotile on gold sheet projected on a fluorescent screen (O_2^+ primary ion beam)

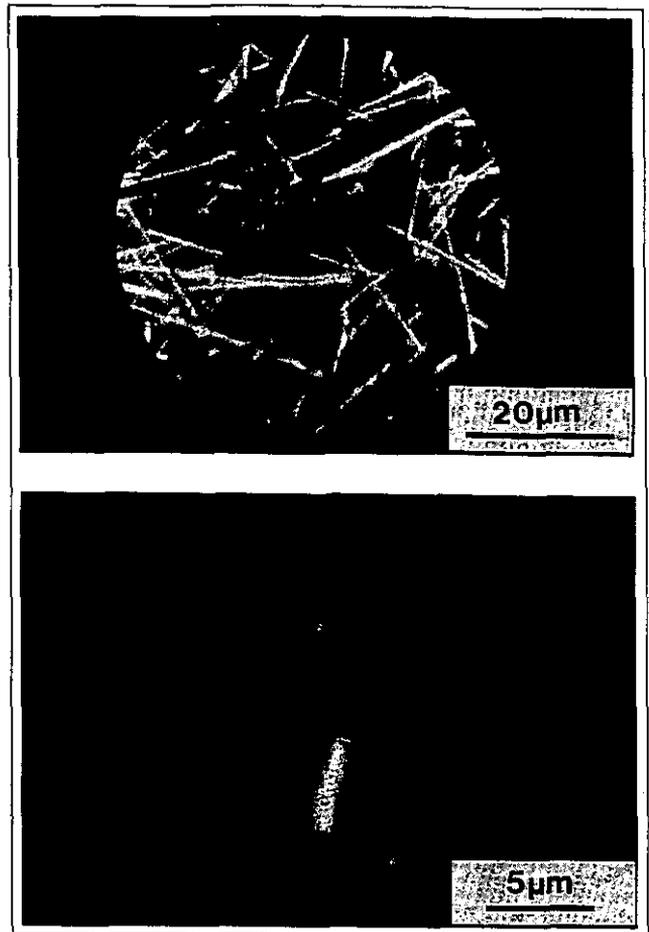


図 7 金板上に捕集したリーベック閃石の $^{23}\text{Na}^+$ 二次イオン像(O_2^+ 一次イオンビーム, 蛍光板法)

Fig. 7 (A) $^{23}\text{Na}^+$ secondary ion images of riebeckite on gold sheet projected on a fluorescent screen (O_2^+ primary ion beam)

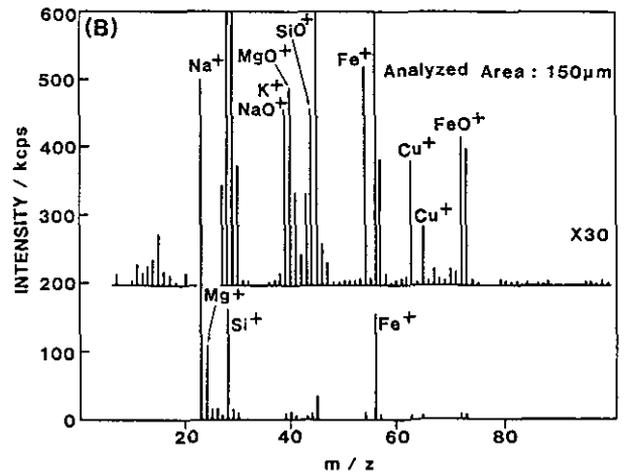
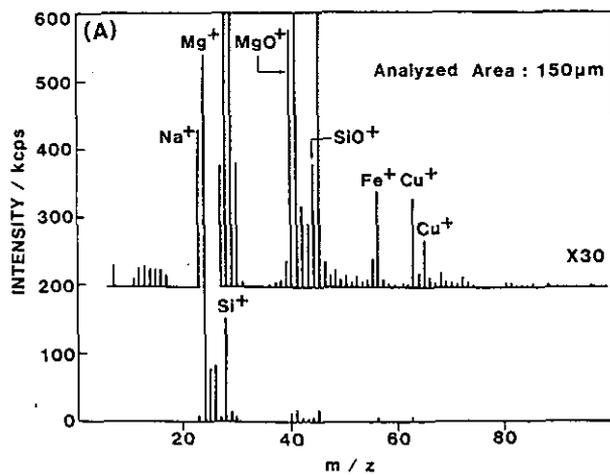


図 8 メンブレンフィルター上に捕集した(A)クリソタイトと(B)リーベック閃石の二次陽イオン質量スペクトル(O_2FAB , 分析領域 $150\mu\text{m}\phi$)

Fig. 8 Positive secondary ion mass spectra of (A) chrysotile and (B) riebeckite on a membrane filter obtained by O_2FAB (analyzed area of $150\mu\text{m}\phi$)

クトル(図3)と類似していたが、メンブレンフィルター(アセチルセルロースとニトロセルロースの混合物)起源と推定される多数の陽イオンピーク(炭素、窒素、酸素、炭化水素など)を伴った複雑なスペクトルパターンを示した。また、FAB-SIMS測定では、試料表面に置かれた銅メッシュによるCu⁺ピーク(m/z = 63と65)が必ず観測された。クリソタイルの²⁴Mg⁺と²⁸Si⁺強度比(Mg/Si)はO₂⁺ビームによる値とほぼ同じであった(約4)。RAE法により得られたクリソタイルとリーベック閃石の二次陽イオン像を図9, 10に示す。検出器としてRAEを用いると、サブミクロンの粒子から発生する二次陽イオンでも強度の強いものであれば検出できると考えられるが、RAEの像分解能は約1 μmであり、アスベスト分析(長さ/直径が3以上のものをアスベスト繊維と定義する場合微小なもので直径約1 μm, 長さ約5 μmのものまで繊維状の形を二次陽イオン像として観測できた。

クリソタイルとリーベック閃石の単一繊維の二次陽イオン質量スペクトル(分析領域2 μmφ)を測定した(図11)。スペクトル強度は弱かったが、図8に示したものと類似の質量スペクトルが得られた。以上金板とメンブレンフィルター上に捕集したアスベスト鉱物の測定から、二次陽イオン質量分析法によりアスベスト繊維の識別と選択的な二次陽イオン像の観測が可能であることが明らかとなった。

3.3 大気粉じん試料

O₂FABを用いて得られた大気粉じん試料の二次陽イオン像と二次陽イオン質量スペクトルを図12, 13に示す。二次陽イオン像は大気粉じん試料中にクリソタイル繊維(図12A, B)と他の粉じん粒子(図12C, D)が含まれていることを示していた。図12は金板上に捕集したアスベスト試料の場合(図4)と同様、²⁴Mg⁺と²⁸Si⁺二次陽イオンによりクリソタイル繊維を選択的にイメージングできることを示している。広い分析領域(150 μmφ)で測定した典型的な二次陽イオン質量スペクトル(図13A)は、強い³⁹K⁺, ²³Na⁺, ⁴⁰Ca⁺のピークを示し、クリソタイルアスベスト以外の粉じんからの寄与が大きいことを示していた。一方、図12A, Bに示したクリソタイル繊維の二次陽イオン質量スペクトル(図13B, 分析領域2 μmφ)では強い²⁴Mg⁺のピークが観測され、広い分析領域の質量スペクトル(図13A)と明瞭に区別された。クリソタイ

ル繊維で測定された²⁴Mg⁺と²⁸Si⁺の強度比(Mg/Si)は約7で、天然のクリソタイル鉱物で測定されたMg/Si強度比(約4)より大きかった。また、本来クリソタイル中には含まれていない³⁹K⁺などのピークも観測された。これはクリソタイル表面の変質あるいは微細な粒子の吸着により、粉じん中のクリソタイルの表面元素組成が純粋なクリソタイル鉱物とは異なっていることによるものと考えられる。したがって、二次陽イオン質量スペクトルにより大気粉じん試料中のアスベストを識別するには、単に純粋なアスベスト鉱物の質量スペクトルと比較するだけでは不十分で、アスベスト繊維の表面変化(吸着や溶脱など)についても考慮する必要がある。

図12C, Dに示した粉じん粒子の二次陽イオン質量スペクトル(図13C, 分析領域2 μmφ)では³⁹K⁺, ²³Na⁺, ⁴⁰Ca⁺, ²⁴Mg⁺のピークが測定され、そのスペクトルパターンはクリソタイル繊維とは異なっていた。また、バックグラウンドとなるフィルター部分(微細な粉じん粒子が吸着していると考えられる)の二次陽イオン質量スペクトル強度(分析領域2 μmφ)はたいへん弱く、²³Na⁺と³⁹K⁺のピークが確認できるだけであった。この測定結果は、メンブレンフィルター上に捕集した大気粉じん試料中のアスベスト繊維がFAB-SIMSにより選択的に検出できることを示している。

4 まとめ

本研究により、二次陽イオン質量分析法によるアスベスト分析の可能性が示唆された。特に、FAB-SIMSを用いることにより、メンブレンフィルター上に捕集した大気粉じん試料を前処理なしに直接分析できることが分かった。メンブレンフィルター上のアスベスト繊維では、微少なもので直径約1 μm, 長さ約5 μmのものまで二次陽イオン像として検出することができた。環境試料(大気粉じんなど)中のアスベスト分析への応用のためには、さらに二次陽イオン質量分析法によるアスベストと他の繊維状物質(ガラス繊維など)との識別能力を検討する必要がある。また、FAB-SIMSは単にアスベスト分析へ応用できるだけでなく、粉末状の試料を構成している個々の粒子の分析に有効な方法と考えられ、今後粉じんや土壌分析への応用が期待される。

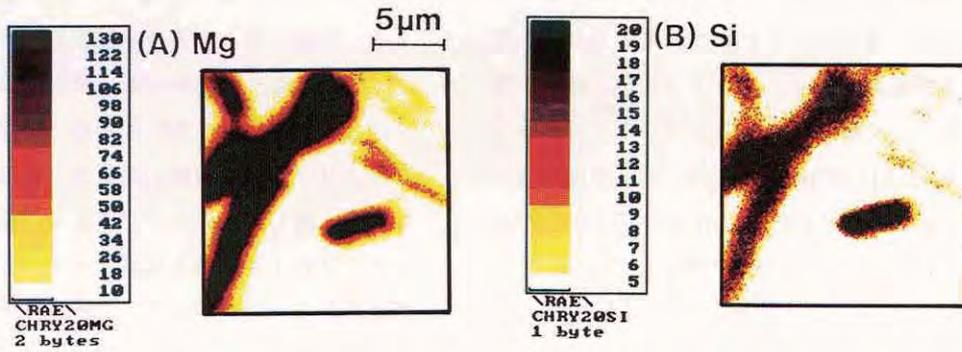


図 9 メンブレンフィルター上に捕集したクリソタイトの(A) $^{24}\text{Mg}^+$, (B) $^{28}\text{Si}^+$ 二次イオン像 (O_2 FAB, RAE法)

各二次イオン像の測定時間は4 min。スケールの単位は各画素のカウント数。

Fig. 9 (A) $^{24}\text{Mg}^+$ and (B) $^{28}\text{Si}^+$ secondary ion images of chrysotile on a membrane filter obtained by O_2 FAB and RAE image acquisition system
 Acquisition time of all images is 4 min. Unit of scale is counts of each pixel.

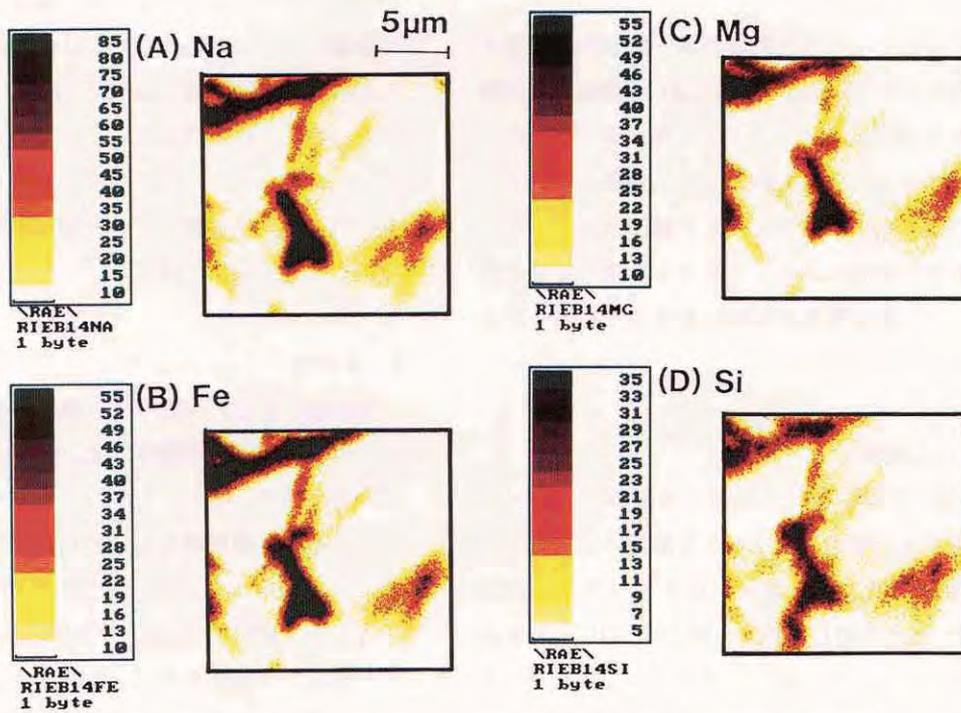


図 10 メンブレンフィルター上に捕集したリーベック閃石の(A) $^{23}\text{Na}^+$, (B) $^{56}\text{Fe}^+$, (C) $^{24}\text{Mg}^+$, (D) $^{28}\text{Si}^+$ 二次イオン像 (O_2 FAB, RAE法)

二次イオン像の測定時間は(A) 1 min, (B)~(D) 4 min。スケールの単位は各画素のカウント数。

Fig. 10 (A) $^{23}\text{Na}^+$, (B) $^{56}\text{Fe}^+$, (C) $^{24}\text{Mg}^+$ and (D) $^{28}\text{Si}^+$ secondary ion images of riebeckite on a membrane filter obtained by O_2 FAB and RAE image acquisition system
 Acquisition time of image (A) is 1 min and that of images (B)~(D) is 4 min.
 Unit of scale is counts of each pixel.

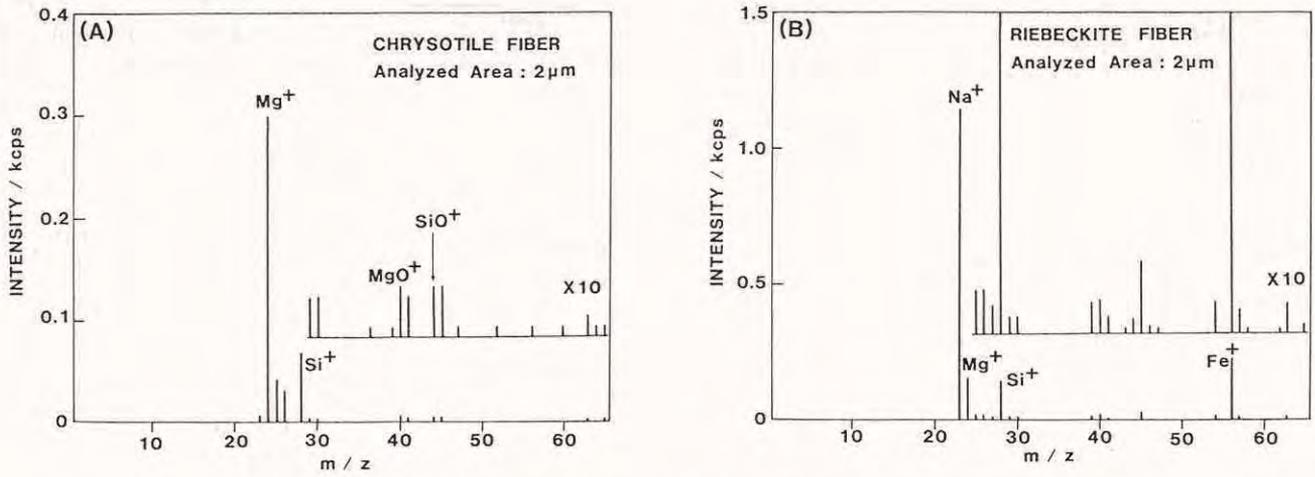


図 11 メンブレンフィルター上に捕集した (A) クリソタイルと (B) リーベック閃石の二次陽イオン質量スペクトル (O_2 FAB, 分析領域 $2\mu m\phi$)

Fig. 11 Positive secondary ion mass spectra of (A) chrysotile and (B) riebeckite on a membrane filter obtained by O_2 FAB (analyzed area of $2\mu m\phi$)

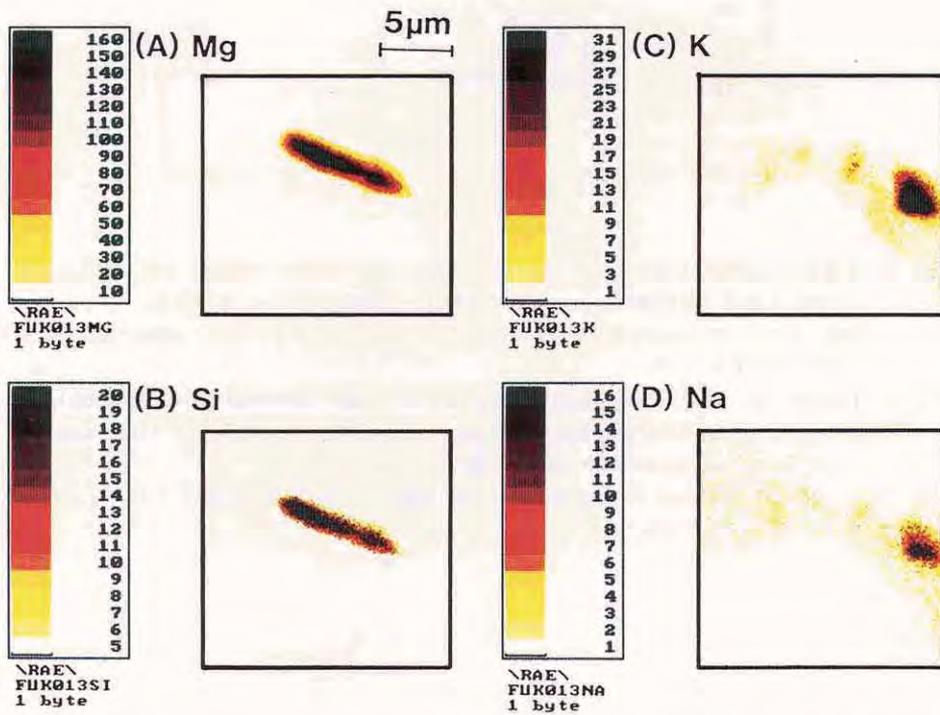


図 12 大気粉じん試料の (A) $^{24}Mg^+$, (B) $^{28}Si^+$, (C) $^{39}K^+$, (D) $^{23}Na^+$ 二次イオン像 (O_2 FAB, RAE法) 各二次イオン像の測定時間は 4 min。スケールの単位は各画素のカウント数。

Fig. 12 (A) $^{24}Mg^+$, (B) $^{28}Si^+$, (C) $^{39}K^+$ and (D) $^{23}Na^+$ secondary ion images of aerosol sample obtained by O_2 FAB and RAE image acquisition system Acquisition time of all images is 4 min. Unit of scale is counts of each pixel.

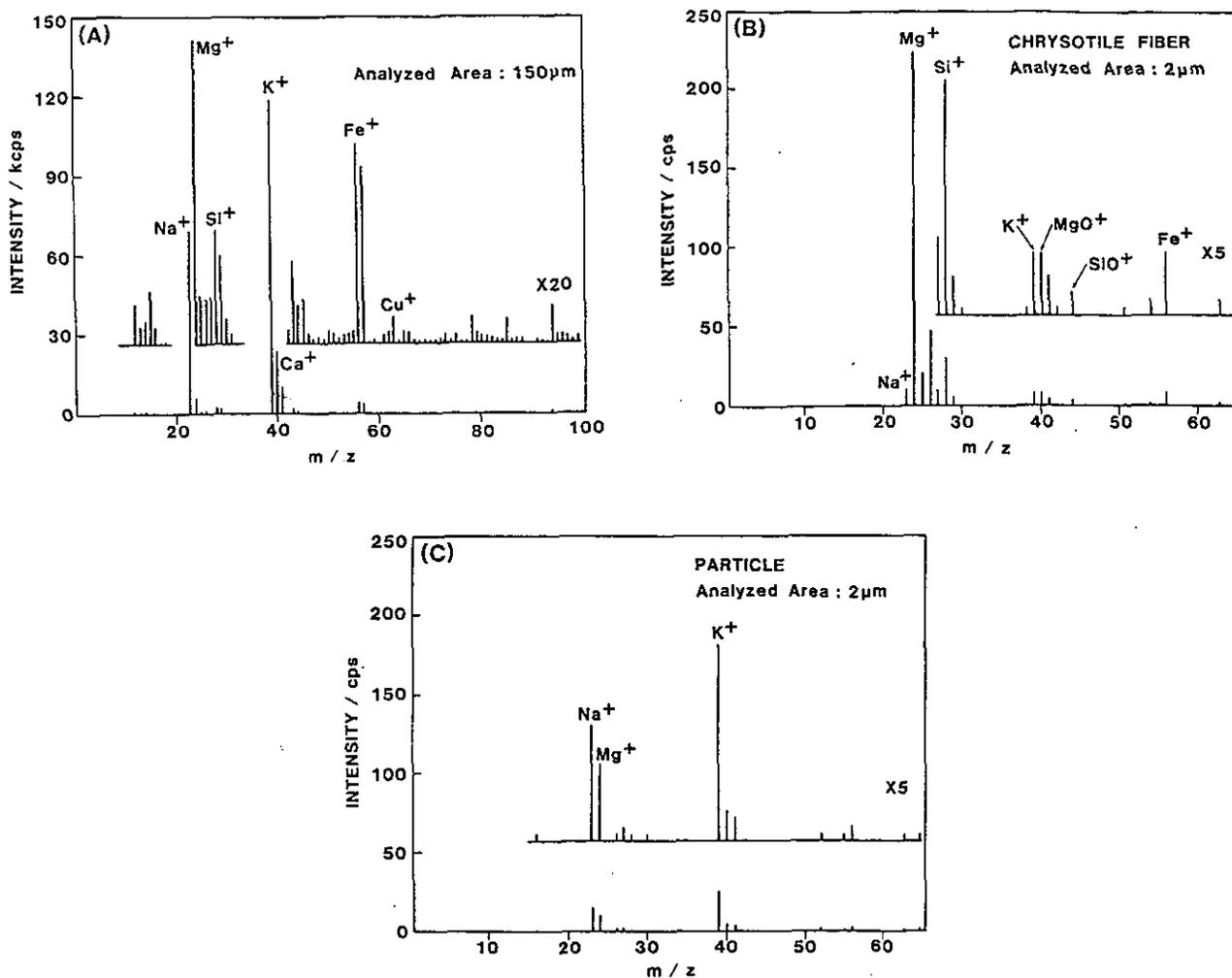


図 13 大気粉じん試料の(A)広い分析領域 (150 μmφ), (B)クリソタイル繊維 (分析領域 2 μmφ), (C)粉じん粒子 (分析領域 2 μmφ) の二次陽イオン質量スペクトル (O₂FAB) 測定したクリソタイル繊維と粉じん粒子の二次イオン像は図12A, B (クリソタイル繊維) とC, D (粉じん粒子) に示されている。

Fig. 13 Positive secondary ion mass spectra of (A) large analyzed area (150 μmφ), (B) chrysotile fiber (analyzed area of 2 μmφ) and (C) dust particle (analyzed area of 2 μmφ) in an aerosol sample obtained by O₂ FAB Images of analyzed chrysotile fiber and dust particle are indicated in Fig. 12 A,B and C,D, respectively.

引用文献

- 1) Ney, P.E. (1986): Asbestos. *In*: The Handbook of Environmental Chemistry Vol. 3, Part D, Anthropogenic Compounds., O. Hutzinger (ed.), Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, 35-100.
- 2) 環境庁大気保全局大気規制課監修 (1988): アスベスト排出抑制マニュアル増補版, ぎょうせい, 東京, 275p.
- 3) Blaha, J. J. and G. J. Rosasco (1978): Raman microprobe spectra of individual microcrystals and fibers of talc, tremolite, and related silicate minerals. *Anal. Chem.*, 50, 892-896.
- 4) 立石和男・古谷圭一・菊地 正・石田英之・石谷 炯 (1981): ラマンマイクロプローブによる環境中のアスベストの分析. *分析化学*, 30, 774-779.
- 5) Pathak, B. and P. Sebastien (1985): Surface characterization of chrysotile asbestos by X-ray photoelectron spectroscopy and scanning Auger spectroscopy. *Can. J. Spectrosc.*, 30, 1-6.
- 6) Berghmans, P., C. Xhoffer, W. Jacob, R. Van Grieken and F. C. Adams (1990): Application of electron energy loss spectroscopy to asbestos fibres. *Euroanalysis VII Vienna Austria*.
- 7) De Waele, J. K., I. M. Swenters and F. C. Adams (1985): Laser microprobe mass analysis (LAMMA) of organo-silane coated chrysotile fibre surfaces. *Spectrochim. Acta*, 40B, 795-800.
- 8) Verlinden, J. A., J. K. De Waele, I. M. Swenters and F. C. Adams (1985): Surface adsorption behaviour of amosite asbestos fibres as studied by SIMS and LAMMA. *Spectrochim. Acta*, 40B, 859-864.
- 9) De Waele, J. K. and F. C. Adams (1985): Applications of laser microprobe mass analysis for characterization of asbestos. *Scanning Electron Microsc.*, 1985/III, 935-946.
- 10) De Waele, J. K., F. C. Adams, P. A. Vermeire and M. Neuberger (1986): laser microprobe mass analysis for the identification of asbestos fibers in lung tissue and broncho-alyeolar washing fluid. *Mikrochim. Acta*, 1986/III, 197-213.
- 11) De Waele, J. K., H. Wouters, L. Van Vaeck, F. C. Adams and E. Ruiz-Hitzky (1987): Surface characterization of pure and chemically modified minerals by laser microprobe mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 195, 331-336.
- 12) De Waele, J. K. and F. C. Adams (1988): The surface characterization of modified chrysotile asbestos. *Scanning Microsc.*, 2, 209-228.
- 13) Verlinden, J. A., J. K. De Waele, I. M. Swenters and F. C. Adams (1984): Secondary ion mass spectrometric analysis of leaching behaviour of magnesium from chrysotile in oxalic acid solution. *Surf. Interface Anal.*, 6, 286-290.
- 14) Swenters, I. M., J. K. De Waele, J. A. Verlinden and F. C. Adams (1985): Comparison of secondary ion mass spectrometry and compleximetric titration for the determination of leaching of magnesium from chrysotile asbestos. *Anal. Chim. Acta*, 173, 377-380.
- 15) Benninghoven, A., F. G. Rudenauer and H. W. Werner (1987): *Secondary ion mass spectrometry, basic concepts, instrumental aspects, application and trends*, Wiley, New York, 1227p.
- 16) Degrève, F. and J. M. Lang (1985): Use of a fast atom beam in ion microscopy (FABIM) for analysis of poorly conducting materials. *Surf. Interface Anal.*, 7, 177-187.
- 17) Seyama, H. and M. Soma (1990): Application of fast atom bombardment (FAB) for ion microscopy of a rock sample. *Surf. Interface Anal.*, 15, 289-292.
- 18) Odom, R. W., B. K. Furman, C. A. Evans, Jr., C. E. Bryson, W. A. Petersen, M. A. Kelly and D. H. Wayne (1983): Quantitative image acquisition system for ion microscopy based on the resistive anode encoder. *Anal. Chem.*, 55, 574-578.

II クリソタイルアスベストへの蛍光色素吸着とアスベスト分析法への応用

Adsorption of Fluorescent Dyes to Chrysotile Asbestos and its Application to the Asbestos Analysis

相馬悠子¹・瀬山春彦²・相馬光之²・高尾真一³・櫻井利彦³・田上四郎³・中村又善³

Yuko SOMA¹, Haruhiko SEYAMA², Mitsuyuki SOMA², Shin'ichi TAKAO³, Toshihiko SAKURAI³,
Shiro TAGAMI³ and Matayoshi NAKAMURA³

要 旨

大気粉じん中のクリソタイルアスベストを蛍光顕微鏡法で計測することを試みた。クリソタイルに選択的に吸着する蛍光色素としてカルボキシル基 (-COOH) や水酸基 (-OH) を持つキサントン色素がクリソタイルに吸着し蛍光強度が強いことを見いだした。また、吸着量がキサントン色素の10倍以上になるウンベリフェロン (7-ヒドロキシクマリン) は水酸基のプロトンがとれた形でクリソタイルに吸着しており、クリソタイルのMgに陰イオンとして吸着していることが推定された。これらの蛍光色素をメンブレンフィルター上に捕集した大気粉じん中のクリソタイルに吸着させて、蛍光顕微鏡で観察する操作法を考案した。

Abstract

Method of chrysotile asbestos analysis by fluorescence microscopy has been developed. The method is based on the selective adsorption of fluorescent dyes on chrysotile. Xanthene dyes, having carboxyl or hydroxyl group in their molecular structures were found to be selectively adsorbed on chrysotile asbestos and can be used for the purpose. The amount of umbelliferone (7-hydroxycoumarin) adsorbed on chrysotile was more than 10 times of that of xanthene dyes, and umbelliferone was adsorbed as anion on Mg of chrysotile. Pre-treatment method of airborne particles collected on a membrane filter for the analysis of chrysotile asbestos by a fluorescence microscope was proposed.

1 はじめに

大気粉じん中のアスベスト繊維は発がん性があることから環境問題として大きく取り上げられている。大気粉じん中のアスベストの検出は第I章に述べたように、通

常光学顕微鏡法と電子顕微鏡法によって行われ、繊維数で計測される。これはアスベスト繊維による発がん性が、アスベスト表面の性質と共に、繊維状である事が重要な要因になっているためである。

光学顕微鏡と電子顕微鏡の二つの検出法の間での分析結果の相違は分解能の違い以上に大きい。この差を少なくするためにはアスベストに選択的、また前処理で誤差を生まないような検出法を考えねばならない。光学顕微鏡による検出法に、より選択性を持たせるには、大気粉じんに含まれる他の類似形状物質と異なる化学的特性を加味した検出法を考える必要がある。その一つとしてアスベスト表面を選択的に修飾して、その修飾物質の特性を生かした検出法が考えられる。

アスベスト表面への吸着についての研究は、種々の観点からなされている。これらはいずれも互いに関連した目的であるが、

1. 国立環境研究所 地域環境研究グループ
〒305 茨城県つくば市小野川16番2
Regional Environment Division, National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立環境研究所 化学環境部
〒305 茨城県つくば市小野川16番2
Environmental Chemistry Division, National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
3. 福岡県保健環境研究所
〒818-01 福岡県太宰府市向佐野39
Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
39 Mukaisano, Dazaifu, Fukuoka 818-01, Japan.

- ①アスベスト表面特性を知る
- ②アスベストの発がん性との関連
- ③アスベストの表面改質

に分けられる。②の研究では、アスベストの発がん性が多環芳香族化合物の吸着によりどう変化するかに関連して、ベンゼン²⁾、ベンゾ(*a*)ピレン、フェナントレン³⁾の吸着についての研究がある。③ではアスベスト表面の改質により、アスベストの毒性を無くそうとする試み、例えば表面での酸化反応を抑えようとする研究がある。クリソタイルへのオキシ塩化リン(POCl_3)の反応で表面をポリリン酸で覆う⁴⁾、またシラン(SiH_4)、ジボラン(B_2H_6)によりシラン化、ホウ素化で表面を改質している⁵⁾。①の研究の中で、アスベスト検出法に応用できると考えられるのは、色素、染料の吸着である。

アスベストと同じ層状ケイ酸塩鉱物である粘土鉱物への染料の吸着の研究では、主にモンモリロナイトを対象とした研究が多く、モンモリロナイトでは塩基性染料が陽イオン交換によって層間に吸着することが分かっている⁶⁻¹²⁾。クリソタイルに染料の吸着を試みた研究ではValerioらが塩基性染料(アクリジンオレンジ、メチレンブルー)と酸性染料(エオシンY、ピクリン酸)の吸着を比較し、塩基性染料が吸着するとしている。この塩基性染料の吸着は、表面のMgを溶出した後へMgイオンに代わって陽イオン性染料がイオン交換で吸着していると結論している¹³⁾。またAwadellaらも塩基性染料(陽イオン染料)、特にメチルバイオレットとクリスタルバイオレット等はクリソタイルに多量に吸着するのを観測しているが、吸着平衡に達する時間は非常に長い¹⁴⁾。そして吸着によりXRD(粉末X線回折)で新しいピークが検出され、それはMgのキレート錯体によるものでこれがクリソタイル繊維を覆っていると結論した。以上の結果から塩基性染料のアスベストへの吸着は、いずれもクリソタイル表面のMgが溶出したことによるものといえる。したがって土壌成分の粘土鉱物への吸着と同じで選択性に乏しかったり、吸着平衡に達するのに長時間かかったりで粉じん中のアスベスト検出法に利用するには向いていないと考えられた。

大気粉じん中のアスベスト繊維の大きさと検出感度を考えると、アスベストに蛍光物質を吸着し蛍光顕微鏡で検出するのが適当であると考えた。そこでクリソタイルアスベスト表面に選択的に吸着する蛍光物質を探し、その吸着特性を調べることを目的とした。

2 実験

クリソタイルアスベストは市販の繊維状のアスベストを細砕洗浄して使用した。まず市販のアスベストを超音波洗浄器で5回水洗し、沈殿物を取り除いたものを、ブレンダーで細かくした。これを水に分散し孔径 $590\mu\text{m}$ の水篩でフルイを通った部分を凍結乾燥して試料とした。一部は水洗後、吸着有機物を完全に除くために 500°C で焼成した後、同様の操作を行い凍結乾燥した。洗浄後の試料はXRDで調べると、クリソタイルの回折線の他にリザーダイト(lizardite)と石英が検出されたが、凍結乾燥試料ではクリソタイルの他に 3.34\AA に石英の回折線だけが弱く検出された。またIR(赤外線吸収スペクトル)はクリソタイルの標準的なスペクトル¹⁵⁾に一致した。凍結乾燥後の試料の走査型電子顕微鏡による観察では図1に示すように、繊維状のクリソタイルの他に板状結晶が見られた。この板状結晶のX線分析ではMgとSiが主成分でその他にFeが検出された。したがって板状結晶は理想化学組成がクリソタイルと同じリザーダイトと推定できた。

カオリナイトはエンゲルハルト社のASP400Pを使用した。大気粉じん試料は、福岡県の石綿スレート工場でメンブレンフィルター(セルローズエステルメンブレンフィルター、孔径 $0.8\mu\text{m}$ 、 $47\text{mm}\Phi$)に採取したものをを使用した。

クリソタイルの表面積はMicrosorb 2300 (Micromeritics)を使用して液体窒素温度での窒素吸着量より求めた。凍結乾燥した試料で $12.4\text{m}^2/\text{g}$ 、この試料をメノウ乳鉢でさらに細かくした試料で $13.2\text{m}^2/\text{g}$ であった。

吸着を試みた色素は、28種類で和光純薬、東京化成、Chroma-Gesellschaft、関東化学、同仁化学製のものであ

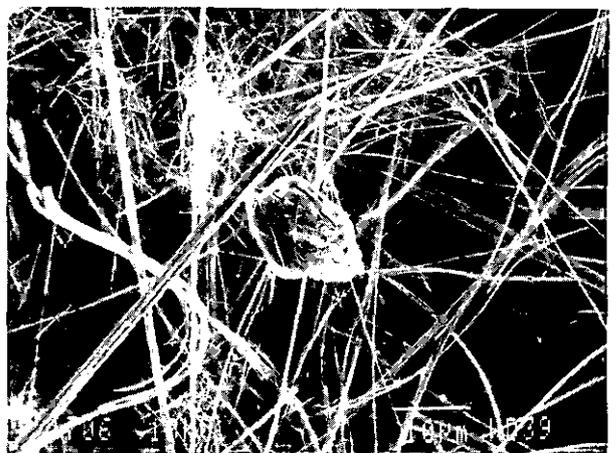


図 1 クリソタイルアスベストの走査電子顕微鏡写真
Fig. 1 Scanning electron micrograph of chrysotile asbestos.

り、いずれもそのまま溶液にして使用した。そのうちクリソタイルへの吸着を詳しく調べたのは、フルオレセイン (Fluorescein)、エリスロシン B (Erythrosin B)、ローダミン B (Rhodamine B)、ウラニン (Uranine) (いずれも和光純薬製)、エオシン (Eosin) (Chroma-Gesellschaft製)、カルセイン (Calcein) とウンベリフェロン (Umbelliferone) (同仁化学製) であり、それらの分子構造は図 2 に示してある。これらの色素のエタノールまたは水溶液に、20分から10時間の範囲で室温でクリソタイルを浸し色素を吸着させ、その後吸光測定や蛍光測定を行った。

蛍光スペクトルの測定には日立蛍光分光光度計 650-10S を使用した (励起光源: キセノンランプ 150W)。クリソタイルは、コロイド溶液としてスペクトルが測定できるほど細かい粒子ではないので、色素を吸着したクリソタイルのスペクトルは液相から分離した固体の反射法により測定を行った。蛍光色素溶液にクリソタイルを分散させ蛍光色素を吸着後、クリソタイルをメンブレンフィルターの上に集めた。フィルター上のクリソタイルを (フィルターごと) セルの大きさに合わせて切り、膜試料とした。10×10×50mm の蛍光セルに顕微鏡用カバーガラスを適当な大きさに切ったものを入射光と検出器に対し 45° の角度になるように入れ、その上にクリソタイル

膜試料を置いて測定した。蛍光スペクトルの観察は、色素を溶解せず、クリソタイルとの作用も少ないと考えられるヘキサンをセルに入れ光散乱を少なくして行った。

溶液の可視吸収スペクトルは、323形日立自記分光光度計を使用して測定した。

顕微鏡による観察は落射型蛍光顕微鏡 (オリンパス) を使用した。カルセインの時は IB 励起 (490nm 中心の励起フィルター)、ウンベリフェロンでは U 励起 (334, 365 nm 輝線の励起フィルター) を使用しメンブレンフィルターの上のアスベストを観察した。比較のために、位相差顕微鏡による観察も行った。倍率は ×400 または ×200 で行った。蛍光顕微鏡のための試料は、脱脂綿の入った浅い容器に色素水溶液を入れ、アスベストや粉じん試料ののったフィルターを脱脂綿の上ののせ、フィルター上の試料が乱れないようフィルターの裏から色素溶液が染み込むように工夫した。20分程暗い中に放置後、水を含ませた脱脂綿の上でフィルターを裏から洗った。室温乾燥させたフィルターをアセトン・トリアセチン法によりスライドガラス上で固定、フィルターを透明化して顕微鏡用試料とし、同一試料、同一視野で蛍光顕微鏡と位相差顕微鏡観察ができるようにした。図 3 に試料作成法を示してある。

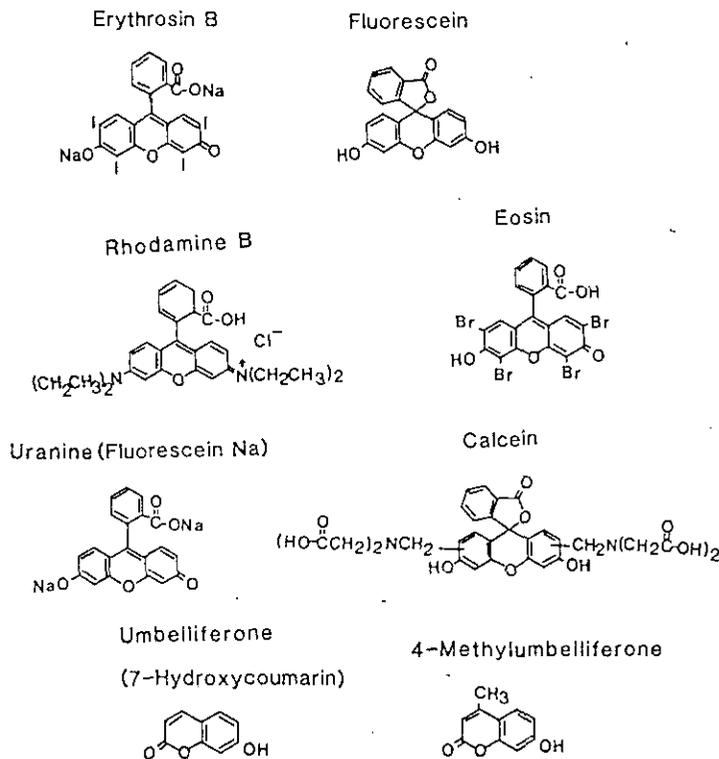


図 2 蛍光色素の分子構造

Fig. 2 Molecular structures of fluorescent dyes.

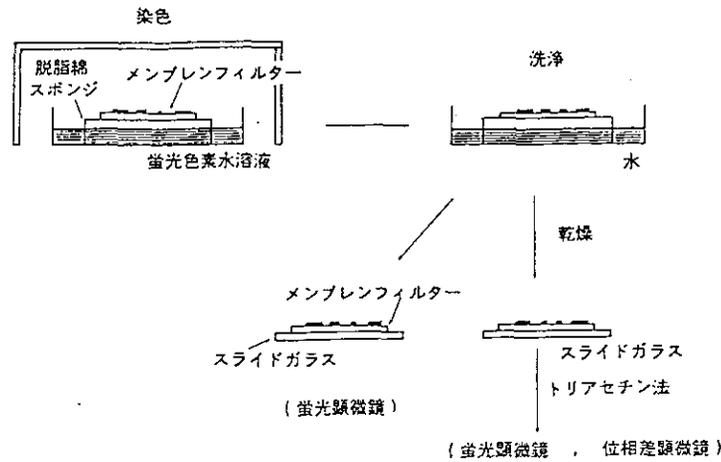


図 3 蛍光顕微鏡観察のための大気粉じん試料作成法
 Fig. 3 Pre-treatment method of airborne particles for the observation by fluorescence microscopy .

3 結果と考察

3.1 クリソタイルアスベストへのキサナンテン (xanthene) 染料の吸着

環境中、特に大気粉じん中のクリソタイルを選択的に検出するためには、クリソタイルの理想化学組成 $Mg_6Si_4O_{10}(OH)_2$ と $-Mg-OH$ が表面に出ている構造を考慮すると、表面Mgへ吸着する蛍光色素が有効と考えられる。水に分散したクリソタイルの表面Mgは溶出しやすく、特に酸性溶液では溶出速度が速いのが知られている¹⁶⁻¹⁹⁾。したがってMgをなるべく溶出させないように、中性またはアルカリ性溶液中で吸着、蛍光発光する色素を探す必要がある。そこでクリソタイルに選択的に吸着する蛍光色素を見いだすために、土壌成分のモデルとしてアルミノケイ酸塩鉱物であるカオリナイトをとりあげクリソタイルとの比較を行った。市販の28種類の蛍光色素をエタノールまたは水溶液からクリソタイルとカオリナイトに吸着させ、蛍光スペクトル強度を比較した。その結果、クリソタイルに吸着し蛍光強度が大きくかつカオリナイト吸着で蛍光強度が弱いものは、図2に示した色素であった。ただしローダミンBは $=N^+(CH_2CH_3)_2$ 基のある陽イオン性色素でもあるのでカオリナイトにも良く吸着した。モンモリロナイト、ベントナイトやラポナイト (laponite) 等のアルミノケイ酸塩鉱物では陽イオンの塩基性染料が吸着することが知られているが、クリソタイル吸着で蛍光強度が強いのは、いずれも $-COOH$ や $-OH$ 基のある負イオンになりやすい色素であることが

分かった。フルオレセインとエリスロシンBの蛍光スペクトルを図4に、表1に図2に示した色素の励起ピークと蛍光ピーク波長を示した。水溶液のものは中性溶液で励起ピークが2つ観測され、アルカリ性では長波長側のピーク強度が強くなった。これは $-OH$ や $-COOH$ 基の解離平衡により、陰イオンのピークが強くなったと考えられる。

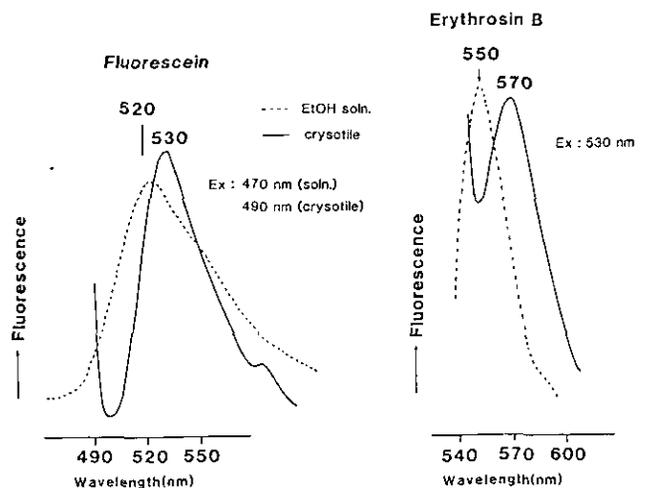


図 4 フルオレセインとエリスロシンBのエタノール溶液とクリソタイルに吸着したときの蛍光スペクトル
 励起波長：エタノール溶液 470nm
 クリソタイル吸着 490nm
 Fig. 4 Fluorescent spectra of fluorescein and erythrosin B in ethanol solution and those adsorbed on chrysothile.
 Excitation wavelengths: Ethanol solution 470nm
 Chrysothile adsorbed 490nm

表 1 蛍光色素溶液とクリソタイル, カオリナイトに吸着した色素の蛍光ピーク (Em) と励起ピーク (Ex)

Table 1 Wavelengths of emission peak (Em) and excitation peak (Ex) of fluorescent dyes in solution and those adsorbed on chrysotile and kaolinite.

	エタノール溶液 nm	クリソタイル吸着 nm	カオリナイト吸着 nm
エリスロシンB		+++	+
	Ex: 530		
	Em: 550	Em: 570	Em: 555
フルオレセイン		+++	+
	Ex: 467, 492		
	Em: 520	Em: 530	Em: 520
ローダミンB		+++	+++
	Ex: 538		
	Em: 570	Em: 585	Em: 600
エオシン		+++	++
	Ex: 520		
	Em: 540	Em: 555	Em: 548

+, ++, +++はクリソタイルとカオリナイト吸着色素の蛍光強度の比較を示す。

	水溶液 nm	クリソタイル吸着 nm
ウラニン	Ex: 470, 482	Ex: 470, 491
	Em: 515	Em: 525
カルセイン	Ex: 470, 490	Ex: 470, 495
	Em: 515	Em: 530
ウンベリフェロン	Ex: 327, 369	Ex: 368
	Em: 457	Em: 453
4-メチルウンベリフェロン		
	Ex: 325, 366	Ex: 370
	Em: 446	Em: 447



クリソタイル吸着のウラニン, カルセインの励起スペクトルはアルカリ性水溶液のスペクトルに似ており, 色素はクリソタイルに陰イオンとしての吸着が多いと推定された。

吸着した色素の蛍光ピークは溶液の蛍光ピークと比較すると, いずれの場合も長波長側にシフトしており, 陽イオン色素がアルミノケイ酸塩鉱物に吸着した場合, 例えばローダミン6Gのラポナイトやモンモリロナイト吸着に見られる傾向と一致している¹⁹⁾。この長波長へのシフトは粘土鉱物と色素の相互作用によると説明されている。

クリソタイルへの色素吸着量を色素溶液の吸着前後

の吸収スペクトルの吸光度の差から求めた。そのため色素溶液のスペクトルが吸着前後で変化しない, 陰イオン色素を選び, エリスロシンBのエタノール溶液とフルオレセインの0.5% NaOH水溶液で吸着量を調べた。吸着温度は55°Cと20°Cで行い, その結果を図5に示してある。クリソタイルの表面積あたりの吸着量は55°C, 色素濃度15mg/l付近でエリスロシンBで $0.016 \times 10^{-9} \text{mol/cm}^2$, フルオレセインで $0.024 \times 10^{-9} \text{mol/cm}^2$ に相当する。この量はBalesらのカテコール吸着量 ($0.3 \times 10^{-9} \text{mol/cm}^2$)¹⁸⁾の約1/10であった。吸着量が少ない一つの原因は, 吸着色素は分子あたりの占有面積が大きいことが考えられる。色素分子が表面で占める割合を試算してみると, キサンテン分子平面 (~1 nm²) がクリソタイル表面に平らに吸着すると仮定すると,

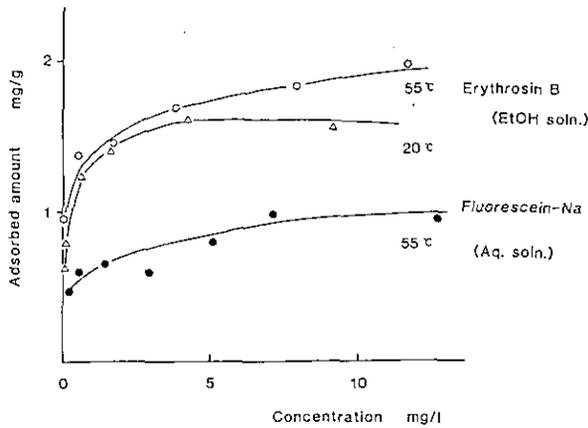


図 5 クリソタイルへのエリスロシンB (エタノール溶液), フルオレセイン-Na (アルカリ水溶液) 吸着等温線 (55°C, 20°C)
Fig. 5 Adsorption isotherms of erythrosin B and fluorescein-Na on chrysotile (55°C, 20°C).

$$1 \times 10^{-14} \times 0.02 \times 10^{-9} \times 6 \times 10^{23} = 0.12$$

(クリソタイル 1 cm² 当たり 0.12 cm² を占有)

となり, 上述の吸着量で表面の10%以上を色素分子が覆っていることになる。

吸着量が少ないもう一つの原因としては吸着点となっているMgの溶出が考えられる。中性溶液でフルオレセイン, ウラニン, カルセイン吸着を行うと, クリソタイル吸着前後の溶液の可視吸収スペクトルが変化しているのが見られた。吸着後のスペクトルは, 溶液に水酸化マグネシウムを加えた時と同じスペクトルであり, クリソタイル吸着の際, 中性水溶液やエタノール溶液でもクリソタイルのMgが溶け出していることが考えられた。クリソタイルのMgイオンの水への溶出量は酸性溶液で多いが, 中性でも溶出が起きているのが観測されている¹⁶⁻¹⁹⁾。また, CuCl₂溶液やシュウ酸, カテコール溶液でも観測されている^{17,18)}。

3.2 ウンベリフェロンのクリソタイルへの吸着と光分解

ウンベリフェロンはアルカリ溶液で非常に強い蛍光を発し, 蛍光強度はエリスロシンBの約1400倍, フルオレセインの約7倍といわれ, レーザー色素としても使用されている²⁰⁾。ウンベリフェロンはキサントゲン色素より小さい分子なので占有面積による障害が少なくなり, クリソタイルへの吸着量も多くなることが期待され, 吸着ウンベリフェロンの蛍光強度がキサントゲン色素の場合より増大すると考えられる。

ウンベリフェロン水溶液の蛍光スペクトルはpH 7以

上で図6のI-bに示すように457nmにピークを示すが, その励起スペクトルはpHにより変化し(図6, I-a)中性水溶液では327nmであるが, pH 9以上では369nmにシフトする。pH>7で励起スペクトルが変化しても蛍光スペクトルが同じである現象は次のように説明されている²¹⁾。ウンベリフェロンは図7に示すように, 水溶液中でpHにより中性体(N), 互変異性体(T), プロトン付加体(C⁺), プロトン脱離体(A⁻)として存在する。励起された状態ではこの4種の間の変換反応は速く, 蛍光効率を調べるとpH 7以上ではA⁻*からの蛍光が大部分で, 蛍光スペクトルは中性溶液とアルカリ性溶液で同じになる²¹⁾。クリソタイルに吸着したウンベリフェロンの励起スペクトル(図6, II-a)は, 中性水溶液から吸着した場合も, pH10

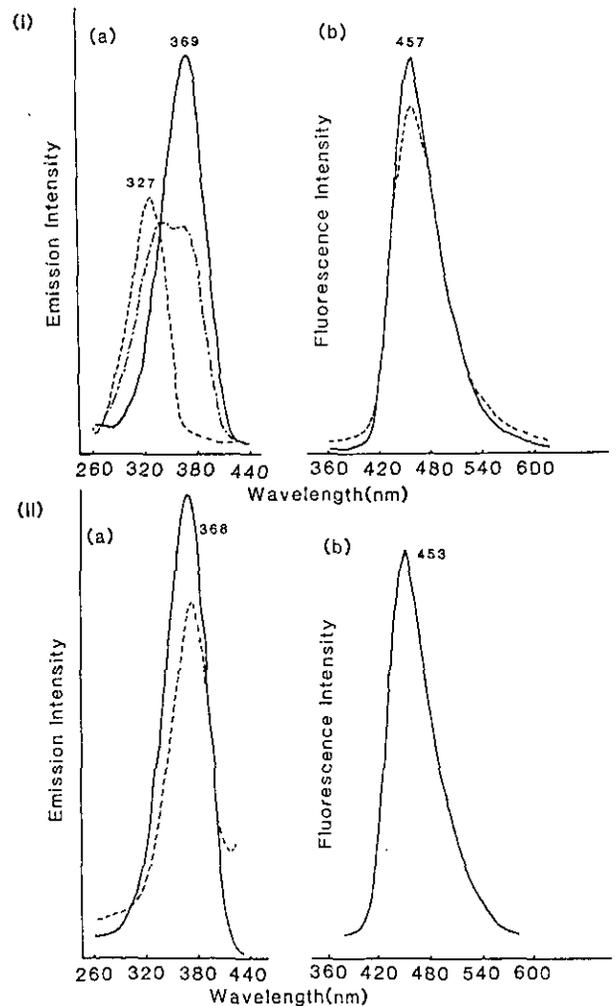


図 6 (I)ウンベリフェロン水溶液と(II)クリソタイルに吸着したウンベリフェロンの(a)励起スペクトルと(b)蛍光スペクトル pH7 , pH8 ----, pH10 ——

Fig. 6 (a) Excitation spectra and (b) fluorescent spectra of (I) umbelliferone aqueous solution and (II) umbelliferone adsorbed on chrysotile. pH7 , pH8 ----, pH10 ——

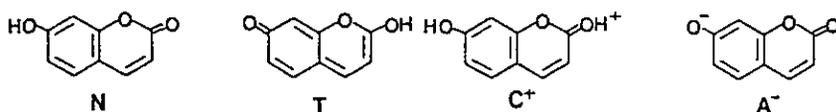


図 7 水溶液中のウンベリフェロンの形態 (ref. 21)
 Fig. 7 Possible species of umbelliferone in aqueous solution (ref. 21)

のアルカリ性溶液からでも368nmにピークを示し、ウンベリフェロンは水酸基のHがとれた形でクリソタイルに吸着していることが分かる。

0.1N KOH水溶液でウンベリフェロンを吸着した時の吸着量を、吸着前と後の溶液の350nmの吸収ピーク強度差から求めた。図8に示すように~50mg/l濃度で $0.26 \times 10^{-9} \text{ mol/cm}^2$ となりBalesらのカテコール吸着量¹⁶⁾と大体同量になった。また蛍光強度から求めたクリソタイルへのウンベリフェロン吸着量は中性(pH 7), アルカリ性 (pH10) 水溶液で違いは見られなかった。

水溶液中のウンベリフェロンは光分解して2,4-ジヒドロキシ桂皮酸になることが知られている²²⁾。粉じん中のアスベストの検出は光学顕微鏡を使用するため、光分解が速い時は検出ができなくなる可能性がある。そこでウンベリフェロンと光安定性がより大きい4-メチルウンベリフェロン (4-Methylumbelliferone) の光分解速度を調べた。実験は蛍光分光光度計を使用し、蛍光強度測定時のセルで励起光370nm, 蛍光検出460nm, スリットバンドパス10nm, 検出側2nmの条件で、どの場合も照射光量が同じになるようにした。その結果を図9に示したが、図中「370nm 照射」は370nmの励起光を照射し続けた場合で、「暗反応」は測定時のみ(毎回2~3分)励起光シャッ

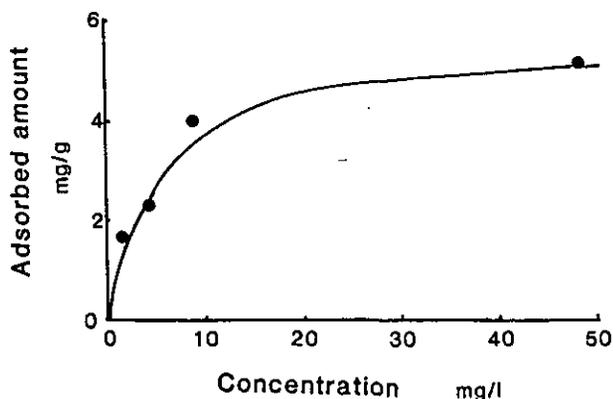


図 8 ウンベリフェロンの0.1N KOH水溶液におけるクリソタイルへの吸着等温線 (室温)
 Fig. 8 Adsorption isotherm of umbelliferone on chrysotile in 0.1N KOH aqueous solution at room temperature.

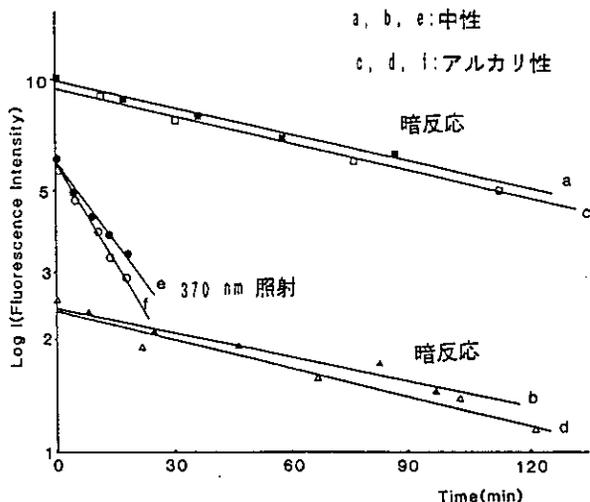


図 9 クリソタイルに吸着したウンベリフェロンの分解速度に対する吸着量, ウンベリフェロン溶液のpH, 光照射の影響
 吸着に使用した溶液のウンベリフェロン濃度
 a,c: 54mg/l, b,d: 13mg/l, e,f: 50mg/l
 Fig. 9 Effects of adsorbed amounts, pH of solution and light, on decomposition rate of adsorbed umbelliferone.
 Concentration of umbelliferone in the solution used for adsorption reaction.
 a,c: 54mg/l, b,d: 13mg/l, e,f: 50mg/l

ターを開けて測定した場合である。光分解速度はクリソタイルに吸着している時でも照射光量が同じならば、濃度に一次であることが分かった。また水溶液中のウンベリフェロンの分解速度はアルカリ性で速いが、クリソタイル上のウンベリフェロンの分解速度もアルカリ性水溶液の分解速度と同程度で進むのが見られた(図9, 表2)。4-メチルウンベリフェロンはクリソタイルに吸着した場合でも分解速度はウンベリフェロンの半分位であった。

3.3 大気粉じん試料の蛍光顕微鏡による観察

クリソタイル繊維にカルセインとウンベリフェロンを吸着した場合の蛍光顕微鏡写真を図10に示した。カルセインの場合はIB励起, ウンベリフェロンの場合はU励起で観察した。写真からは比較が難しいが、顕微鏡を使った肉眼による直接観察ではウンベリフェロン吸着の方が

表 2 ウンベリフェロン, 4-メチルウンベリフェロンの分解速度定数(min^{-1})
 Table 2 Rate constants of decomposition of umbelliferone and 4-methylumbelliferone (min^{-1})

		ウンベリフェロン 4-メチルウンベリフェロン		
水溶液	370nm照射	pH 7	0.0017	0.0028
		pH 9	0.0080	0.0058
		pH 11	0.05	0.0066
クリソタイル吸着				
	370nm照射	pH 7	0.014	0.0096
		pH 10	0.017	0.0092
	暗所	pH 7	0.0025	
		pH 10	0.0025	

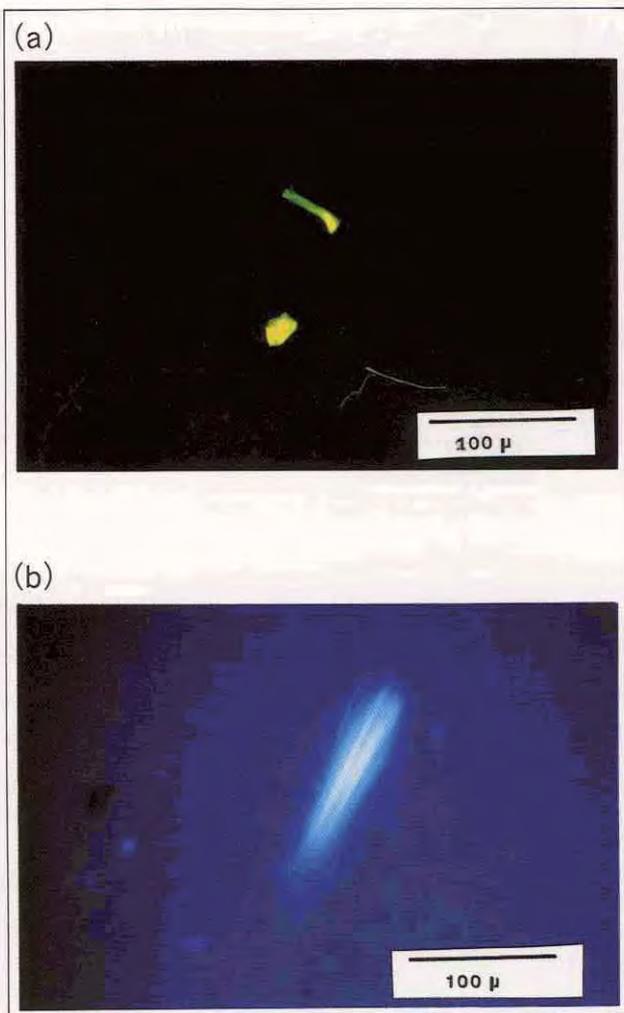


図 10 (a)カルセインと(b)ウンベリフェロンが吸着したクリソタイルアスベストの蛍光顕微鏡写真 (倍率: $\times 400$)

Fig. 10 Fluorescent micrographs of (a) calcein and (b) umbelliferone adsorbed chrysotile asbestos.

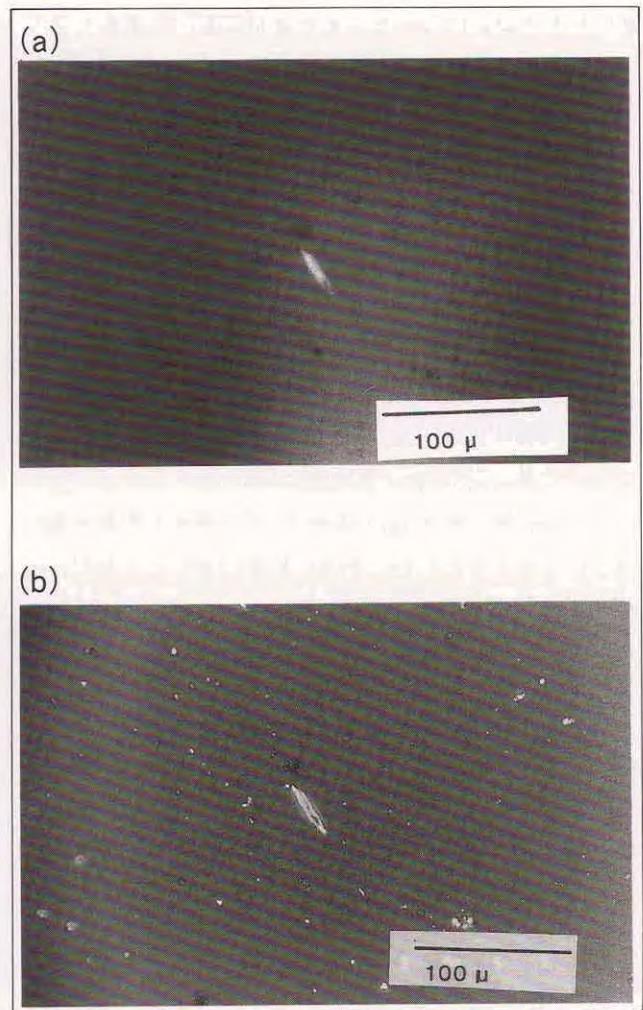


図 11 ウンベリフェロンが吸着した大気粉じん試料の(a)蛍光顕微鏡写真と(b)位相差顕微鏡写真 (倍率: $\times 400$)

Fig. 11 (a) Fluorescent micrograph and (b) phase-contrast micrograph of umbelliferone adsorbed airborne particulates.

視野が明るい。これはクリソタイルへの吸着量、蛍光量子収率の違いからであるが、上述したようウンベリフェロンは光分解が速いため、光照射で蛍光が弱くなり繰り返し観察には向いていなかった。

メンブレンフィルター上に採取された大気粉じんを蛍光顕微鏡で観察するためには、①蛍光強度、のほかに、②前処理が簡単で短時間にできること、③フィルター上の粉じんが前処理によって動かない、④メンブレンフィルターに蛍光色素が吸着しない、⑤蛍光色素吸着時にメンブレンフィルターに溶解などの変化が起こらないように、水溶液で扱える蛍光色素が望ましい、等が必要と考えられた。そこで「実験」の所に記述した方法でカルセ

インとウンベリフェロンの水溶液を使って蛍光および位相差顕微鏡観察を行った。光分解を考え、吸着実験の時より濃度の高い色素溶液でカルセインは28mg/l、ウンベリフェロンは10~50mg/lの水溶液を使用した。フィルターを乾燥してトリアセチン法で透明化することは、落射型蛍光顕微鏡観察だけのためには必要ないが、位相差顕微鏡で同じ視野を観察するために、フィルターの透明化を行った。図11に示したのはフィルター上の大気粉じんにウンベリフェロンを吸着させた蛍光顕微鏡写真と、同じ視野の位相差顕微鏡写真であるが、比較してみると細かいものが蛍光顕微鏡の方で見られていない。これは光分解が速いため細かい繊維の蛍光が消光してしまった

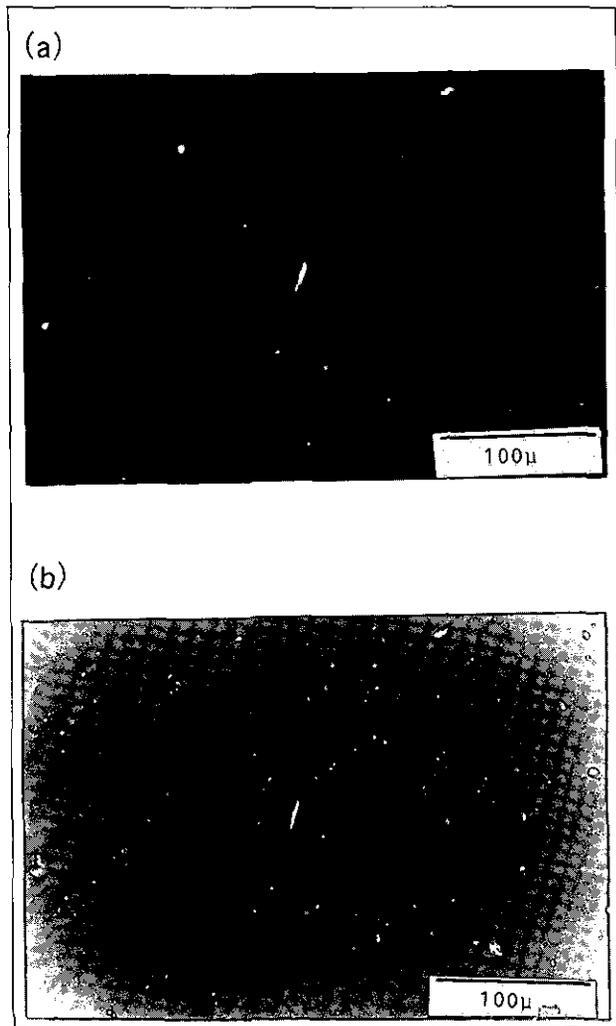


図 12 カルセインが吸着した大気粉じん試料の(a)蛍光顕微鏡写真と(b)位相差顕微鏡写真 (倍率: ×400)

Fig. 12 (a) Fluorescent micrograph and (b) phase-contrast micrograph of calcein adsorbed airborne particles.

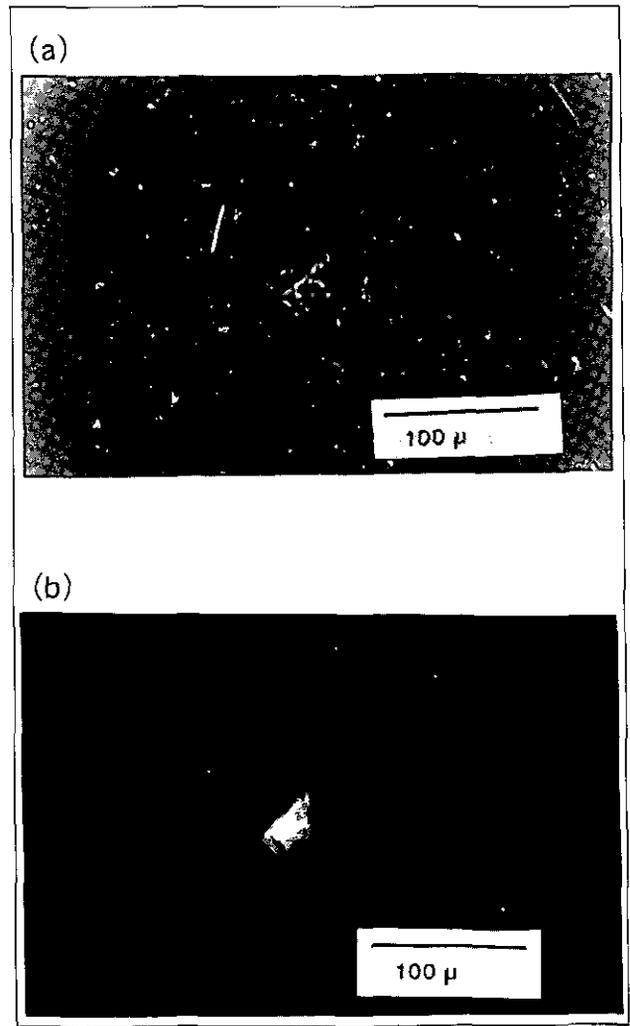


図 13 ウンベリフェロンが吸着した大気粉じん試料の(a)位相差顕微鏡写真と(b)蛍光顕微鏡写真 (倍率: ×400)

Fig. 13 (a) Phase-contrast micrograph and (b) fluorescent micrograph of umbelliferone adsorbed airborne particles.

せいと考えられる。図12にはカルセインを吸着した場合のフィルター上の大気粉じん試料の蛍光顕微鏡写真と位相差顕微鏡写真を比べてあるが、カルセインの場合は小さい繊維への光分解による蛍光消失は見られていない。使用した大気粉じん試料には針状結晶の $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (石膏, gypsum)が混在している。位相差顕微鏡ではクリソタイルと同じように針状として検出されるが(図13a), 蛍光顕微鏡では蛍光色素が吸着せずクリソタイルと区別が可能であった(図13b)。

4 まとめ

キサントン染料やウンベリフェロンが、クリソタイルに選択的に吸着する蛍光色素であることを見いだした。これらの色素はカルボキシル基やヒドロキシル基を持ち、陰イオンとなってクリソタイルに吸着していることが推定された。蛍光色素を吸着したクリソタイルや大気粉じんの蛍光顕微鏡観察では、直接肉眼で計測するにはウンベリフェロンが一番明るく見やすいが、光照射時間と共に蛍光の消光が起こり暗くなるため、長時間の観察には適さなかった。エリスロシンBでも同じ計測をしたが発光色が赤色で暗く感じられ、黄色の発光をするカルセインのほうがアスベスト繊維の計測が容易であると思われた。フィルター上に捕集した試料の吸着色素の蛍光による観測では、アスベスト以外の周囲(バックグラウンド)が暗くなるので、アスベスト繊維を画像解析装置を使用して自動計測する場合には蛍光色素吸着法は良好な方法と考えられる。

引用文献

- 1) Barrett J. C., P. W. Lamb and R. W. Wiseman (1989): Multiple mechanisms for the carcinogenic effects of asbestos and other mineral fibers. *Environ. Health Perspect.*, **81**, 81-89.
- 2) Gorski C. N. and L. E. Stettler (1975): The adsorption of water and benzene on amosite and chrysotile asbestos. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **36**, 292-298.
- 3) Suquet H. (1988): Difference between adsorption properties of two Rhodesian chrysotile samples. Relation with the DTA features introduced by leaching and grinding. *Can. J. Chem.*, **67**, 202-207.
- 4) Khorami J., A. Lemieux and D. Nadeau (1987): The phosphorylation of chrysotile asbestos fibers with phosphorus oxychloride(POCl_3): mechanism of reaction and chemical composition of the external coating. *Can. J. Chem.*, **65**, 2268-2276.
- 5) Vansant E. F., G. Peeters, M. J. Luys and F. Adams (1986): Surface modifications of zeolite and asbestos minerals by silanation and boronation reactions. *In: Silanes, Surfaces, and Interfaces*, Gordon and Breach Sci. Publ., New York, 459-469.
- 6) Ghosal D. N. and S. K. Mikherjee (1972): Studies on the sorption and desorption of crystal violet on and from bentonite and kaolinite. *J. Indian Chem. Soc.*, **49**, 569-572.
- 7) Fahen R. and K. Fendel (1983): Reaction products of organic dye molecules with acid-treated montmorillonite. *Clay Miner.*, **18**, 447-458.
- 8) Narine D. R. and R. D. Guy (1981): Interactions of some large organic cations with bentonite in dilute aqueous systems. *Clays Clay Miner.*, **29**, 205-212.
- 9) Bergman K. and C. T. O'Konsski (1963): A spectroscopic study of methylene blue monomer, dimer and complexes with montmorillonite. *J. Am. Chem. Soc.*, **67**, 2169-2177.
- 10) Cohen R. and S. Yariv (1984): Metachromasy in clay minerals. Sorption of acridineorange by montmorillonite. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1*, **80**, 1705-1715.
- 11) Viaene K., J. Caigui, R. A. Schoonheydt, and F. C. De Schryver (1987): Study of the adsorption on clay particles by means of a fluorescent probe. *Langmuir*, **3**, 107-111.
- 12) Grauer Z., D. Avnir, and S. Yariv (1984): Adsorption characteristics of rhodamine 6G on montmorillonite and laponite, elucidated from electronic absorption and emission spectra. *Can. J. Chem.*, **62**, 1889-1894.
- 13) Valerio F., R. Puntoni and L. Santi (1979): Adsorption properties of U.I.C.C. Rhodesian chrysotile and crocidolite in aqueous solution-effects of cation depletion. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **40**, 781-788.
- 14) Awadalla F. T. and F. Habashi (1990): Reaction of chrysotile asbestos with triphenylmethane dyes. *J. Materials Sci.*, **25**, 87-92.
- 15) Van Oiphen H. and J. J. Fripiat (*ed.*) (1979): Data handbook for clay materials and other non-metallic minerals. Pergamon Press.
- 16) Bales R. C. and J. J. Morgan (1985): Dissolution kinetics of chrysotile at pH 7 to 10. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **49**, 2281-2288.
- 17) 藤井 知・杉江他曾宏・坂本千秋 (1984): 水溶液中での温石綿の銅(II)イオンの捕集. *粘土科学*, **23**, 102-106.
- 18) Bales R. C. and J. J. Morgan (1985): Surface charge and adsorption properties of chrysotile asbestos in natural waters. *Environ Sci. Technol.*, **19**, 1213-1219.
- 19) Gronow J. R. (1987): The dissolution of asbestos fibres in water. *Clay Miner.*, **22**, 21-35.
- 20) Wolfbeis O. S., E. Furinger, H. Kronies and H. Marschner (1983): Fluorimetric analysis. I. A study on fluorescent indicators for measuring near neutral ("physiological") pH-values. *Fresenius' Z. Anal.*

Chem., 314, 119-124.

- 21) Moriya T. (1983): Excited-state reactions of coumarins in aqueous solutions. I. The photoautomerization of 7-hydroxycoumarin and its derivatives., Bull. Chem.

Soc. Jpn., 56, 6-14.

- 22) Fink D. W. and W. R. Koehler (1970): pH Effects on fluorescence of umbelliferone. Anal. Chem., 42, 990-993.

III 環境中アスベストの光学顕微鏡法及び電子顕微鏡法による分析の比較

Comparison of Phase Contrast Microscopy and Transmission Electron Microscopy for the Analysis of Airborne Asbestos Fibers

高尾真一¹・田上四郎¹・櫻井利彦¹・瀬山春彦²・相馬悠子³・相馬光之²

Shin'ichi TAKAO¹, Shiro TAGAMI¹, Toshihiko SAKURAI¹, Haruhiko SEYAMA²,
Yuko SOMA³ and Mitsuyuki SOMA²

要 旨

大気中に浮遊するアスベスト粉じんを光学顕微鏡法及び電子顕微鏡法(間接法並びに直接法)により定量し比較検討した。間接法及び直接法電子顕微鏡分析によるアスベスト濃度は、光学顕微鏡法による濃度に比べてそれぞれ6~14倍及び4~13倍程度高くなり、ばらつきも大きかった。繊維の構造形態をみると、直接法ではマトリックス状の繊維が多く、束状の繊維が少なかった。繊維幅0.25 μ m以上に限定して、光学顕微鏡法の計測判定基準をあてはめた場合、間接法及び直接法によるアスベスト濃度は、光学顕微鏡法による濃度に比べて、それぞれ2.4~4.8倍及び1.5~2.7倍になり、直接法による濃度は光学顕微鏡法による濃度レベルに近い値となった。直接法では、(1)試料の作製が簡易で迅速に行える、(2)TEM像が明瞭で観察しやすい、(3)繊維集合体の構造が単一繊維あるいは束状繊維等に変化しないといった利点を有し、大気中のアスベストを評価する上で有効であることが示された。

Abstract

Asbestos analyses by phase contrast microscopy (PCM) and transmission electron microscopy (TEM) were compared. Two sample preparation methods (indirect and direct TEM analysis) were attempted for TEM analysis. Asbestos concentration in dust sample collected on membrane filter was measured by both PCM and TEM. The concentrations measured by indirect and direct TEM analysis were 6~14 and 4~13 times higher, respectively, than those measured by PCM. The concentrations of single and bundle type fibers with width $\geq 0.25\mu\text{m}$ (detectable by PCM) measured by direct TEM analysis were comparable to those measured by PCM. The advantages of direct TEM analysis are as follows: 1) easy sample preparation, 2) clear TEM image and 3) retention of original form of asbestos fiber in the sample. This work suggests that direct TEM analysis is more convenient than indirect TEM analysis.

1 はじめに

アスベストの環境汚染問題が世界的に注目されている。現在主に用いられている環境中のアスベストの分析

法は光学顕微鏡法、電子顕微鏡法であるが、従来から行われている透過電子顕微鏡(TEM)によるアスベスト分析法(間接法)では、次のような欠点がある。

1. 福岡県保健環境研究所
〒818-01 福岡県太宰府市向佐野39
Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences.
39 Mukaisano, Dazaifu, Fukuoka 818-01, Japan.
2. 国立環境研究所 化学環境部
〒305 茨城県つくば市小野川16番2
Environmental Chemistry Division, National Institute for Environmental Studies. 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
3. 国立環境研究所 地域環境研究グループ
〒305 茨城県つくば市小野川16番2
Regional Environment Division, National Institute for Environmental Studies. 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1) 電子顕微鏡観察用の試料作成が複雑で時間がかかる。

2) 超音波処理やスライドガラスから削り落とす操作などで試料作成中に捕集されたアスベストの形態が変化し、アスベスト繊維数が増加する恐れがある。

3) TEM像を観察するとアスベスト繊維にニュークリポアフィルターの不溶解物が付着したり、ニュークリポアフィルターの不均一な溶解による円形モザイク模様が生じて、アスベスト繊維の観察を妨害する。

そこで本研究では、新しい電子顕微鏡観察のための試料前処理法(直接法)の確立を目指して、光学顕微鏡法

及び電子顕微鏡法（間接法及び直接法）により得られた大気浮遊アスベスト粉じんの定量分析結果を相互に比較検討した。

2 実験

2.1 試料の採取

1989年12月25日にY石綿スレート工場の解綿機の2ヶ所の投入口横で、解綿工程稼働中に試料を採取した。当該工場の規模等を下記に示す。

- ①敷地面積：200,000m²
- ②製造製品名：石綿スレート板，厚型スレート板，セメント瓦
- ③生産量：220,000枚/月（3×6尺板換算）
- ④アスベスト使用量：400トン/月
- ⑤アスベストの種類：カナダ産，南アフリカ産，エジプト産のクリソタイル

2.2 捕集時間及び吸引流量など

解綿機の投入口上部に集じん器のダクトが設置されている投入口横でYA-1～YA-3の3試料を，また同一解綿機の投入口上部に集じん器のダクトが設置されていない投入口横でYA-4～YA-5の2試料を下記の捕集時間で採取した。

試料番号	捕集時間
YA-1	10min
YA-2	10min
YA-3	10min
YA-4	5min
YA-5	5min

捕集の方法はメンブランフィルターをオープンフェイス型ホルダーに装着し，フィルターの採じん面を床面に対して垂直にし，高さを150cmの位置に固定した。吸引流量は10l/minとし，捕集時間は上記の時間とした。捕集終了後，フィルターをベトリスライド（ミリポア製）に収納し，標本作製時まで保存した。

2.3 試料の採取装置及び器具

- 1) オープンフェイス型ホルダー：柴田科学製 AS-3型（フィルター径47mm，採じん面直径35mm）
- 2) 吸引ポンプ：日立ロータリーコンプレッサー 35WRC-20

- 3) メンブランフィルター：ミリポア AAWP04700
- 4) ローターメーター：上島製作所製

2.4 光学顕微鏡法

2.4.1 使用器具

- 1) クイックフィックス：柴田科学製
- 2) 位相差顕微鏡：オリンパス光学製 BHS-PC-A型

2.4.2 標本の作製方法¹⁾

試料の作製は「アセトン・トリアセチン法」，アスベストの計数方法は「アスベストモニタリングマニュアル」に準じた¹⁾。以下，「アセトン・トリアセチン法」について述べる。清浄な室内でベトリスライドからフィルターを取り出し，フィルターカッターで正確に4等分する。よく洗浄し乾燥したスライドガラス上に4等分したフィルターの1片を粉じん面を上にしてのせ，クイックフィックスを用いて，アセトン200μlでフィルターを透明にする。透明になったフィルターの中央にトリアセチンを2滴滴下し，カバーガラスをこの上に静かにのせ，マニキュア用エナメルを使ってカバーガラスの端とスライドガラスを固着させる。約24時間放置した後アスベスト繊維の計数に供した。

2.4.3 アスベスト繊維の計数¹⁾

アスベスト繊維の計数は位相差顕微鏡を使用し，接眼レンズ及び対物レンズの倍率がそれぞれ10及び40倍，すなわち倍率400倍で行った。計数は繊維の長さが5μm以上で，かつ長さとの比が3:1以上の繊維について行った。視野数50または繊維数約200に達するまでの繊維を計数し，1l中の繊維数を計算した。繊維の濃度の計算式は次のとおりである。

$$\text{繊維の濃度 (f/l)} = \frac{A \cdot N}{a \cdot V \cdot n}$$

A：採じんした面積 (cm²)：9.61625cm²

N：計数した総繊維数 (f)

a：顕微鏡で計測した1視野の面積 (cm²)
：0.0019625cm²

V：採気量 (l)

n：計数した視野数

位相差顕微鏡下で観測された繊維状の粒子がすべてアスベスト繊維とは限らない。そこでアスベスト繊維とその他の繊維とを区別する必要がある。アスベストの光の屈折率が約1.5であることを利用すると、アスベスト繊維であれば生物顕微鏡下では見えなくなるか見えにくくなる。その他の繊維の場合は、位相差顕微鏡及び生物顕微鏡のいずれでも見え方は変わらない。したがって、最初位相差顕微鏡によって計数後(その繊維数を f_1 とする)、同一視野の同一繊維をそのままの状態に保ち、生物顕微鏡に切り換えて見えるものを計測する(その繊維数を f_2 とする)。位相差顕微鏡による繊維数と生物顕微鏡による繊維数との差($f_1 - f_2$)をアスベスト繊維数とする。

2.5 電子顕微鏡法

2.5.1 使用装置

- 1) 低温灰化装置：柳本製作所製 LTA-154型
- 2) 真空蒸着装置：日本電子製 JEE-4X型
- 3) 電子顕微鏡：日本電子製 JEM 1200EX
エネルギー分散型X線検出器(以下EDXとする) KEVEX 7025J

2.5.2 電子顕微鏡使用条件

- 1) モード：透過型及び透過走査型
- 2) 加速電圧：80kV
- 3) 倍率：×6000
- 4) EDX分析時間：100sec

2.5.3 試料作製法等

(1) 間接法

試料の作製及びアスベストの計数方法は、「アスベストモニタリングマニュアル」に準じた¹⁾。すなわち、前述の2.4.2項で正確に分割したメンブランフィルターの1片を、アセトン数滴を滴下したスライドガラスに、粉じん面をスライドガラス側にして接着させて、飽和アセトン蒸気中でメンブランフィルターが完全に透明化するまで放置する。風乾後、プラズマアッシャーで低温灰化を施す。灰化後のスライドガラスは、イソプロパノール溶液(100ml)に浸し、超音波洗浄器に入れ超音波分散させる。スライドガラス上の残査粉じんは片刃カミソリでイソプロパノール溶液中に削り落とす。

この粉じん分散溶液を吸引ろ過器(有効直径17mm)でニュークリポフィルター(直径25mm, 0.2 μ m孔径)上

に吸引ろ過する。そのニュークリポフィルターにカーボン蒸着を施し、約3mm角に切り取り、クロロホルム蒸気中のステンレス金網製(60メッシュ)の台上に並べたNi製TEMグリッド上に、カーボン蒸着面を上にしてのせて2昼夜放置し、ニュークリポフィルターを溶解除去したものをTEM観察用試料とした。

(2) 直接法

前述の2.4.2項で分割した残りのメンブランフィルターの1片をメスで約1cm角に切り取った後、対角線の2角を少し切り落とし、粉じん面を上にしてスライドガラスにのせる。メンブランフィルターの端を透明粘着テープでスライドガラスに固定する。アセトン蒸気で飽和した容器の中でメンブランフィルターが透明になるまで放置する。風乾後、透明化したメンブランフィルターにカーボンを厚めに蒸着(カーボンの厚さ20nm程度)を施し、約3mm角に切り取る。これをレンズペーパー(Wattman LENS CLEANIG TISSUE 105)のをせたスポンジ製の台上に並べたNi製TEMグリッド上に、カーボン蒸着面を上にしてのせ、アセトン蒸気で飽和した中でメンブランフィルターを溶解除去する。これを風乾後、TEM観察用試料とした。直接法による試料作製のフローチャートを図1に示す。

2.5.4 アスベストの定量方法

Ni製TEMグリッドの網目の中から、50網目をランダムに選んで×6000の倍率で、繊維の長さ5 μ m以上でかつ長さとの比3:1以上のアスベスト繊維を測定し、次の式で採気量1l中の繊維数濃度を計算した。またその繊維のサイズ(長さ、幅)も併せて測定した。

(間接法の計算式)

$$F = \frac{A \cdot f}{M \cdot n \cdot V} \times 4$$

F：採気量1l中の繊維数 (f/l)

A：フィルターの有効ろ過面積(mm²)：226.9mm²

f：計数した繊維数

M：1網目の面積(mm²)：0.01mm²

n：観察した網目数：50

V：吸引採気量 (l)

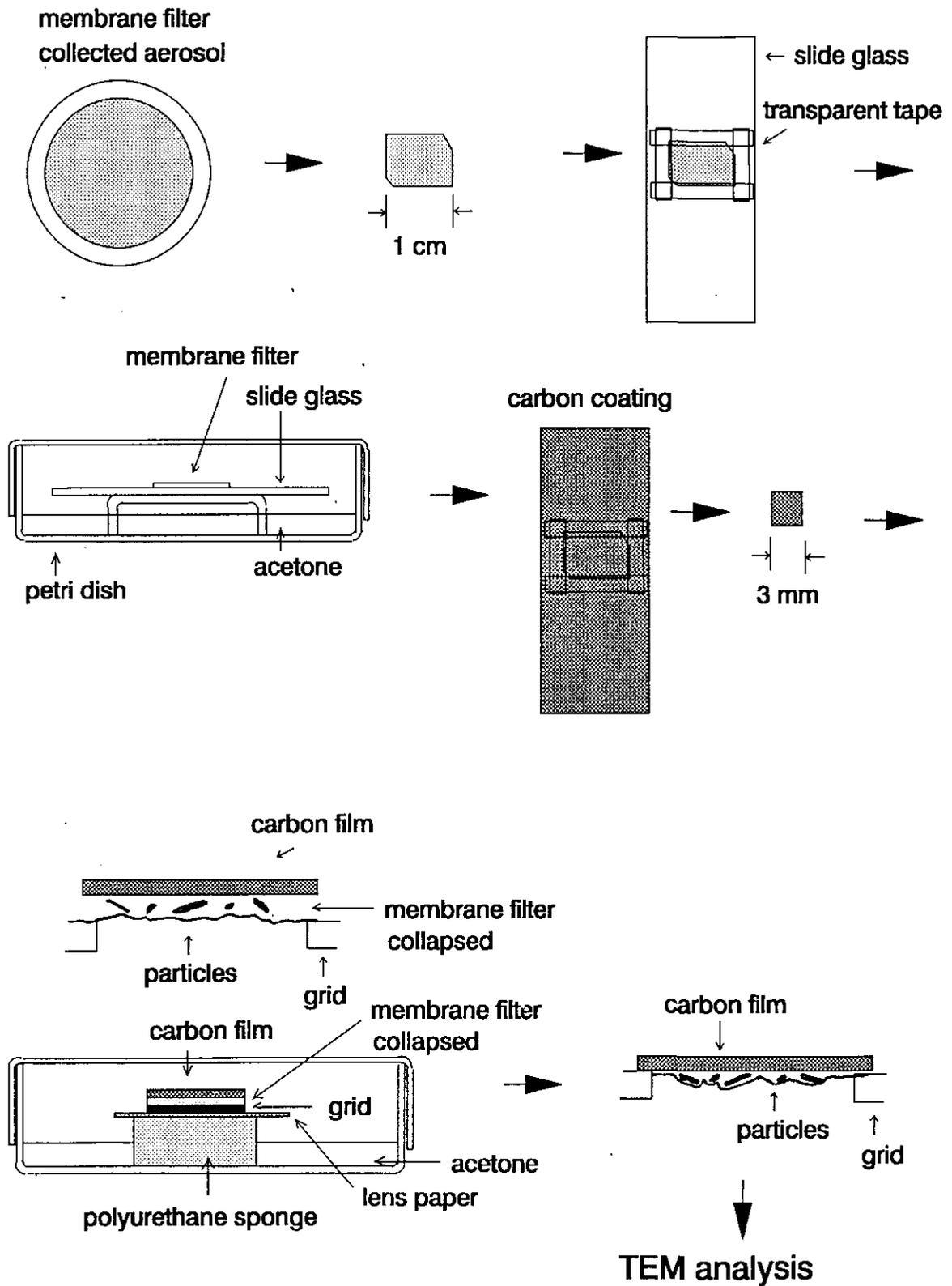


図 1 直接法電子顕微鏡分析におけるTEM試料作製の図解

Fig. 1 Schematic diagram of sample preparation for direct TEM analysis

(直接法の計算式)

$$F = \frac{A \cdot f}{M \cdot n \cdot V}$$

- F : 採気量 1 l 中の繊維数 (f/l)
- A : 採じんした面積 (cm²) : 9.61625cm²
- M : 1 網目の面積 (mm²) : 0.01mm²
- f : 計数した繊維数
- n : 観察した網目数 : 50
- V : 吸引採気量 (l)

2.5.5 アスベスト繊維の同定

繊維状物質のTEM像を観察してアスベスト繊維を特異的に識別するのは困難であり、繊維の形態、EDX分析、電子線回折等を組み合わせて判別する必要がある。しかし採取試料は梱包されたクリソタイルの解綿工程近傍における大気粉じん試料であるため、各繊維状物質に拡大鏡を用いての形態観察及びEDX分析により、クリソタイル繊維とその他の繊維状物質との判別が可能である。これらの操作を行い、クリソタイル繊維を識別した。またそれぞれのクリソタイル繊維の形態の特徴をEPAの方法²⁾にしたがって、単一(S(single fiber)), 束状(B(bundle fiber), 複数の繊維が束状になっている), クラスタ形状(C(cluster fiber), 3本以上の繊維がからみあって3

箇所以上交差している)及びマトリックス状(M(matrix fiber), 不定形粒子より繊維が突出している)の4形態に分類することとした。

3 結果と考察

3.1 光学顕微鏡法による濃度と電子顕微鏡法(間接法)による濃度の関係

光学顕微鏡法によって得られたアスベスト濃度(以下、光顕濃度とする)と電子顕微鏡法(間接法)によって得られたアスベスト濃度(以下、間接法電顕濃度とする)の結果及び光顕濃度に対する間接法電顕濃度の比を表1に示す。光顕濃度の範囲は117-282(f/l)で、間接法電顕濃度の範囲は1216-3558(f/l)と採取時間帯及び場所の違いにより最小値と最大値とでは、光顕濃度で約2倍、間接法電顕濃度で約3倍程度の差異を生じた。間接法電顕濃度を繊維の形態別にみると束状繊維が最も多く、次に単一繊維(YA-3を除く)でクラスター状の繊維及びマトリックス状繊維より多くを占めた。

間接法電顕濃度が光顕濃度より増加するのは、電子顕微鏡法が分解能において優れているため当然のことである。そこで両者の濃度を比較すると、表1に示すように6倍~14倍間接法電顕濃度が高くなった。試料は解綿機が稼動している状態で採取されたため繊維の集合体の出現が顕著であった。繊維の集合体について光学顕微鏡法

表 1 光学顕微鏡法(PCM)及び電子顕微鏡法(間接法(indirect TEM)と直接法(direct TEM))によるアスベスト濃度
Table 1 Asbestos fiber concentration determined by phase contrast microscopy (PCM) and transmission electron microscopy (indirect and direct TEM)

Sample	PCM ^a (f/l)	indirect TEM ^b									
		Total (f/l)	S ^c (f/l)	B ^d (f/l)	C ^e (f/l)	M ^f (f/l)	TEM(Total)/PCM	TEM(S)/PCM	TEM(S+B) /PCM	(d≥0.25μm) ^g TEM(S+B) (f/l)	(d≥0.25μm) ^g TEM(S+B) /PCM
YA-1	118	1670	617	962	90.8	0	14.2	5.23	13.38	562	4.76
YA-2	282	1634	236	1216	90.8	90.8	5.79	0.84	5.15	671	2.38
YA-3	117	1216	54.5	980	54.5	127	10.39	0.47	8.84	326	2.79
YA-4	255	3558	799	2215	145	399	14.0	3.13	11.82	980	3.84
YA-5	278	2142	254	1743	72.6	72.6	7.71	0.91	7.18	834	3.00

a: phase contrast microscopy.
b: indirect TEM analysis using transmission electron microscope equipped with EDX.
c: single fiber.
d: bundle fiber.
e: cluster fiber.
f: matrix fiber.
g: d = diameter of asbestos fiber.

表 1 (つづき)
Table 1 (continued)

Sample	direct TEM ^h								
	Total (f/l)	S ^c (f/l)	B ^d (f/l)	C ^e (f/l)	M ^f (f/l)	TEM(Total)/PCM	TEM(S+B) /PCM	($d \geq 0.25 \mu\text{m}$) ^g TEM(S+B) (f/l)	($d \geq 0.25 \mu\text{m}$) ^g TEM(S+B) /PCM
YA-1	1519	327	596	76.9	519	12.9	7.82	288	2.44
YA-2	1115	231	558	0	327	3.95	2.80	423	1.50
YA-3	1250	212	519	57.7	462	10.68	6.25	365	3.12
YA-4	1731	76.9	1039	38.5	577	6.79	4.38	692	2.71
YA-5	1538	269	885	115	269	5.53	4.15	500	1.80

h: direct TEM analysis using transmission electron microscope equipped with EDX.

の計測基準によると、繊維がからまって数えられない状態（クラスター状）の繊維は計測されない。また繊維に $3 \mu\text{m}$ 以上の粒子が付着している状態（マトリックス状）の繊維も同様に計測されない。今回、電子顕微鏡法において光学顕微鏡法の判定基準と整合性をもたせると、クラスター状繊維及びマトリックス状繊維は計測されないことになる。そこで計測されない両者の繊維を除外してみると、表1に示すように単一繊維の光顕濃度に対する間接法電顕濃度比は0.5~5.2で差異が大きく、一定の傾向はみられなかった。また光顕濃度に対する単一繊維と束状繊維を合わせた間接法電顕濃度比では、その値は5.2~13.4で、間接法電顕濃度が光顕濃度より高かった。光学顕微鏡法では繊維幅 $0.25 \mu\text{m}$ 以上の繊維が計測可能とされているので、電子顕微鏡法で計測した単一繊維と束状繊維の中から繊維幅 $0.25 \mu\text{m}$ 以上のものを検索して算出した間接法電顕濃度(TEM(S+B), $d \geq 0.25 \mu\text{m}$)と光顕濃度を比較すると、2.4倍~4.8倍程度間接法電顕濃度が高くなった。

このように繊維の計測基準を光学顕微鏡法に準じて算出した間接法電顕濃度が光顕濃度よりも高くなった原因については、電子顕微鏡法（間接法）の試料作製過程において超音波処理やスライドガラスから粉じんをカミソリで削り落とす操作が束状、クラスター状及びマトリックス状繊維の集合体を細分化させ、捕集時の繊維の形態とTEM試料の繊維の形態を異なるものにしたために生じたものと考えられる。

3.2 光学顕微鏡法による濃度と電子顕微鏡法（直接法）による濃度の関係

電子顕微鏡法（間接法）では、①試料作製に3日間を要する。②試料作製過程で超音波処理やスライドガラスから削り落とす操作等がメンブランフィルター上の繊維の形態を変化させる。③透過像を観察すると繊維にニュークリポアフィルターの不溶解物が付着したり、ニュークリポアフィルターの不均一な溶解による円形モザイク模様が生じて観察しにくい。以上のことから、この方法は必ずしも良い方法とはいえない。

一方、Ortiz³⁾らの方法を参考にして、作製した電子顕微鏡法（直接法）のTEM試料は、①作製日数は1日間で短い。②メンブランフィルターに捕集されたままの構造形態の繊維を容易に観察できる。③フィルターの不溶解物も見られず微小の繊維も明確で計測しやすい。以上のような利点を直接法のTEM試料はもつことになる。しかし、低温灰化の過程が除かれるため鉱物繊維だけでなく植物繊維も存在することになり、TEM像の観察に加えてEDX分析を併用しなければアスベスト繊維と非アスベスト繊維を区別することは困難である。

電子顕微鏡法（直接法）によって得られたアスベスト濃度（以下、直接法電顕濃度とする）の測定結果を表1に示す。直接法電顕濃度の総計は1115~1731 (f/l)の範囲にあり、YA-3を除いていずれも間接法電顕濃度より低かった。これは電子顕微鏡法（直接法）のTEM試料作製の過程で超音波処理等の操作が入らないため、繊維の集合体が細分化せず間接法電顕濃度に比べ直接法電顕濃度が低かったものと考えられる。繊維を形態別にみると

直接法では間接法に比べてマトリックス状の繊維が多く、束状の繊維は少なかった。試料が解綿工程横で採取されたためマトリックス状の繊維が多いのは当然のことであり、繊維の形態が直接法のTEM試料に端的に反映したのものとなった。次に表1の直接法の結果をもとに、光顕濃度に対する直接法電顕濃度の比を求めて同表に併せて示した。直接法電顕濃度の総計と光顕濃度の比は3.95～12.9の範囲にあり、間接法電顕濃度の場合と同様ばらつきが大きかった。また、単純に単一繊維と束状繊維の直接法電顕濃度の合計と光顕濃度の比をみても2.8～7.8の変動がみられ、直接法電顕濃度が高かった。光顕法で繊維幅の可視値とされる $0.25\mu\text{m}$ を基準にして、単一及び束状の繊維の中から繊維幅 $0.25\mu\text{m}$ 以上のものの直接法電顕濃度と光顕濃度の比をみると1.5～3.12の範囲であった。この中で、YA-3の値は3.12と他よりも大きくなっていった。また、YA-3では他の試料と違い、全アスベスト濃度は間接法電顕濃度(1216 f/l)より直接法電顕濃度(1250 f/l)の方が高い値を示していた。以上の結果から、YA-3試料ではメンブランフィルター上に捕集されたアスベスト繊維の分布が非常に不均一であることが推定された。そこで繊維幅 $0.25\mu\text{m}$ 以上の単一及び束状繊維の直接法電顕濃度と光顕濃度との比較において、YA-3を除外すると、その比は1.5～2.7になり間接法電顕濃度に比べ光顕濃度に近い数値となった。

以上のように光顕濃度に対する電顕濃度の比には変動がみられたが、このような変動の原因の一つは両分析法におけるアスベスト繊維数計測の視野面積の違いによると考えられる。つまり光学顕微鏡法で観察する視野面積は 9.8mm^2 であるが、電子顕微鏡法(直接法)で観察する視野面積は 0.5mm^2 であり、光学顕微鏡法の約1/20程度で極めて小さい。このことが変動要因を大きくしているものと考えられる。このため光顕濃度と電顕濃度を比較する上で、誤差要因を小さくし、精度をより向上させるには、①同一視野を相互に観察して比較する。②電子顕微鏡法(直接法)で観察する視野面積を大幅に増加する。以上のような手法を用いることが今後必要であろう。

3.3 電子顕微鏡法による繊維サイズの分布状況

間接法及び直接法によるアスベスト繊維の長さや幅のヒストグラムをそれぞれ図2及び図3に示す。なお、図の縦軸(度数, FREQUENCY)は、TEMグリッド50網目の電子顕微鏡観察で計測されたアスベスト繊維数を示

している。間接法での繊維長はいずれも $11.5\mu\text{m}$ 以下に最大のピークが存在し、長くなるにつれて低下の傾向を示した。繊維幅についても $0.25\mu\text{m}$ 以下に最大度数を示し、幅が大きくなるにつれて度数は減少している。直接法による繊維サイズも繊維長、繊維幅いずれも間接法と同様な傾向であった。繊維の長さ $8\mu\text{m}$ 以上でかつ繊維の幅 $0.25\mu\text{m}$ 以下の繊維は発がん性が高いといわれている。そこでこの領域に入る繊維を検索すると、間接法のYA-1～5で、全繊維に対する割合は23.7～40.3%であった。直接法のYA-1～5では20～44.3%で間接法とほぼ同様の値となっている。

3.4 電子顕微鏡法における繊維のEDXスペクトルパターン

繊維のTEM像を観察して中空状の構造が認められ、さらにEDX分析を行いMg, Siの元素が出現するとクリソタイル繊維であると識別される。間接法及び直接法で観察された繊維のTEM像及びEDXスペクトルパターンを図4及び図5に示した。直接法電子顕微鏡観察で得られるTEM像は、間接法に比べフィルターの不溶解残渣がほとんど見られず明瞭であった。EDXスペクトルパターンの中にはクリソタイルに特有な元素Mg, Si以外にも種々の元素が認められた。中でもS, P, Kの元素については繊維に含まれているのか、あるいは夾雑物質としてそれらの元素を含む微粒子が付着しているのか明らかにすることはできなかった。これらの点については今後の検討課題として残された。

4 まとめ

光学顕微鏡法と電子顕微鏡法によるアスベスト分析を行った。光学顕微鏡法に対して電子顕微鏡法では間接法と直接法の2つの方法で試料を作製し、各方法間の違いがアスベスト濃度及び観察像に与える影響を相互に比較検討した。得られた結果は次のようであった。

1) 電子顕微鏡法で繊維の集合体の出現が顕著であり、間接法電顕濃度について集合体を含めたものとみると、光顕濃度の6～14倍程度間接法電顕濃度が高くなり、ばらつきも大きかった。光学顕微鏡法の分解能及びアスベスト繊維計測判断基準を電子顕微鏡法に適用して両方法の濃度を比較すると、光顕濃度の2.4～4.8倍間接法電顕濃度が高くなった。これは間接法で超音波処理及びスライドガラスから繊維を削り落とす操作が集合体の繊維を細分化し繊維を増加させることに起因していると考えら

間接法

直接法

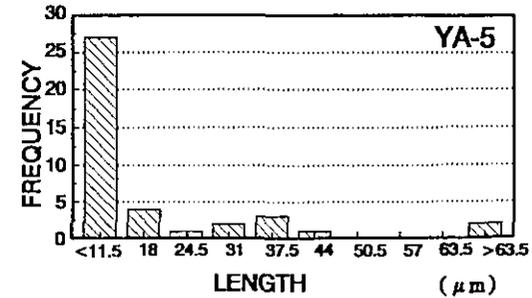
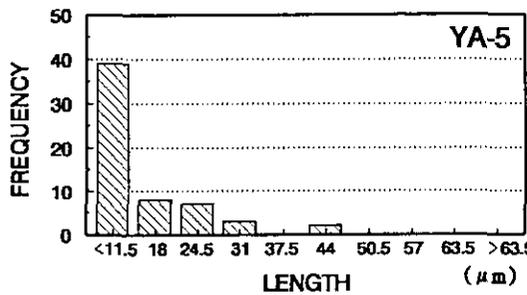
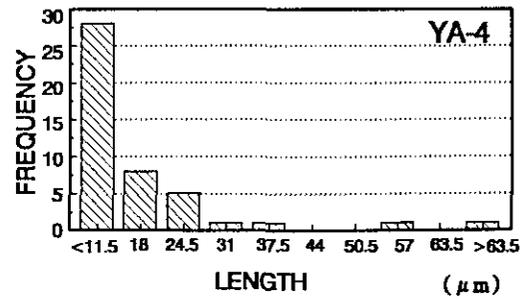
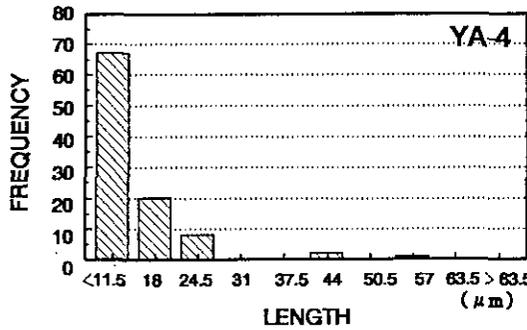
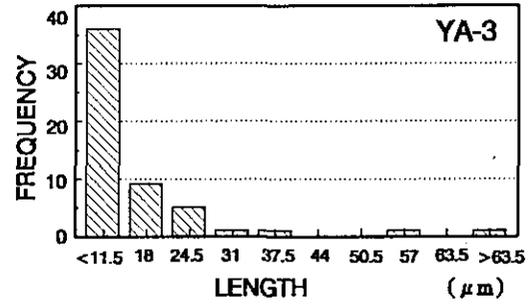
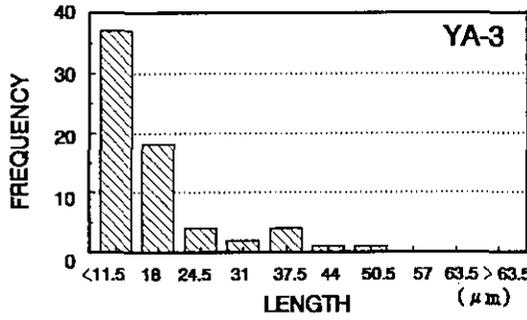
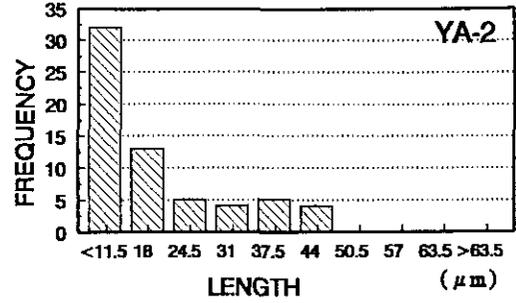
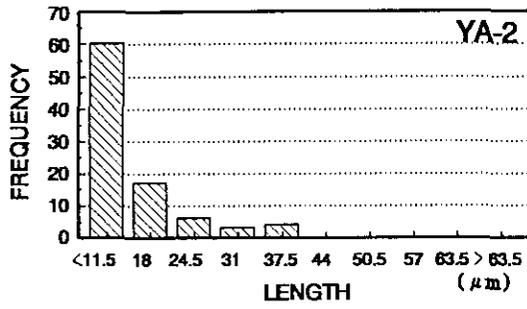
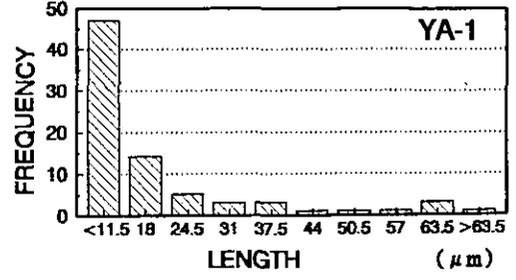
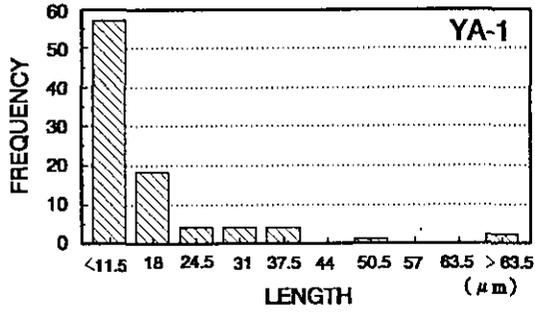


図 2 間接法及び直接法電子顕微鏡分析におけるアスベスト繊維の長さのヒストグラム
 Fig. 2 Histogram of length of asbestos fibers measured by indirect and direct TEM analysis

間接法

直接法

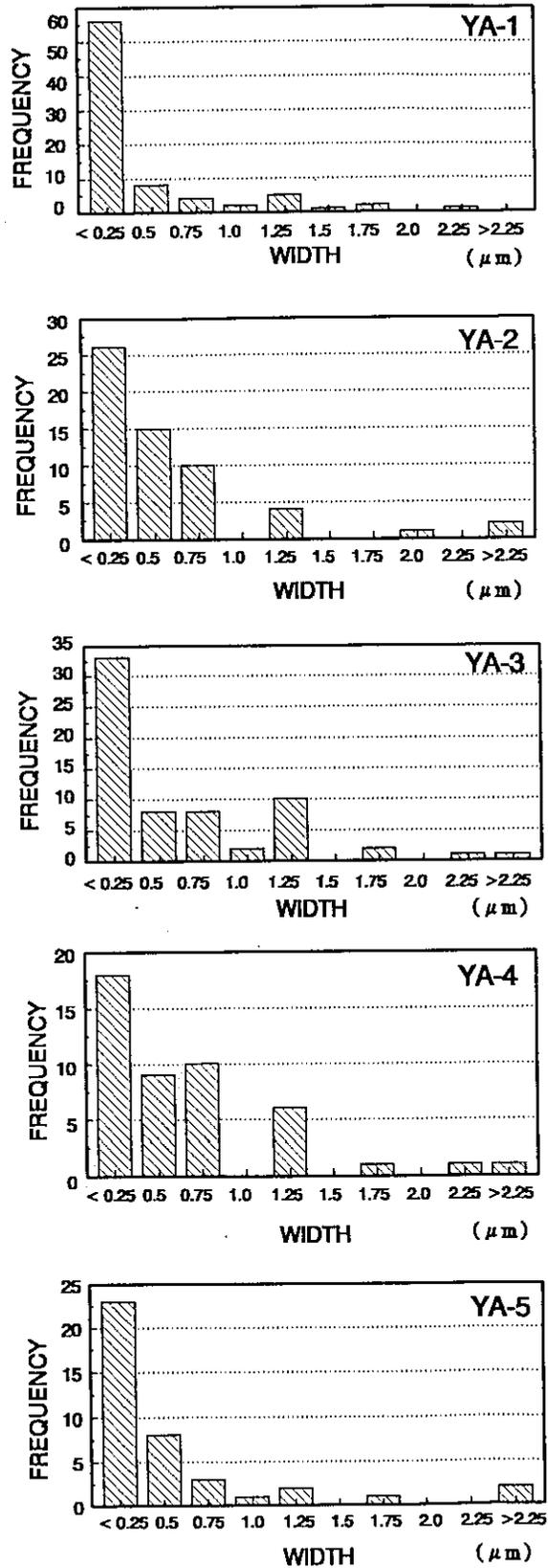
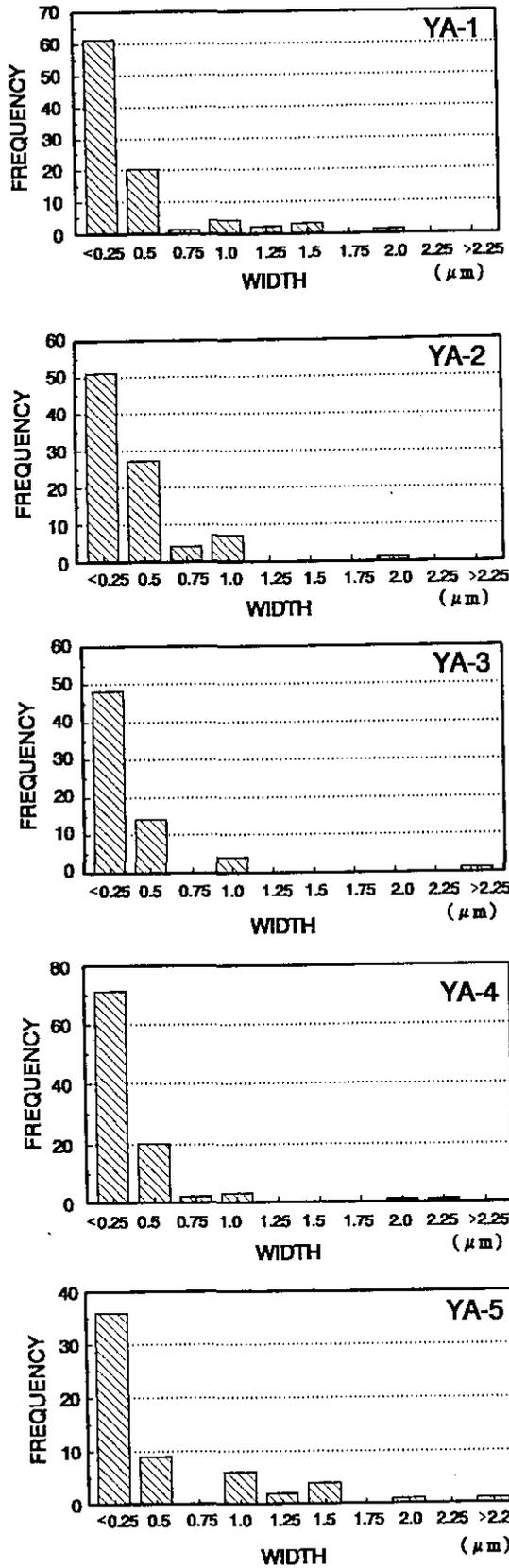


図 3 間接法及び直接法電子顕微鏡分析におけるアスベスト繊維の幅のヒストグラム
 Fig. 3 Histogram of width of asbestos fibers measured by indirect and direct TEM analysis

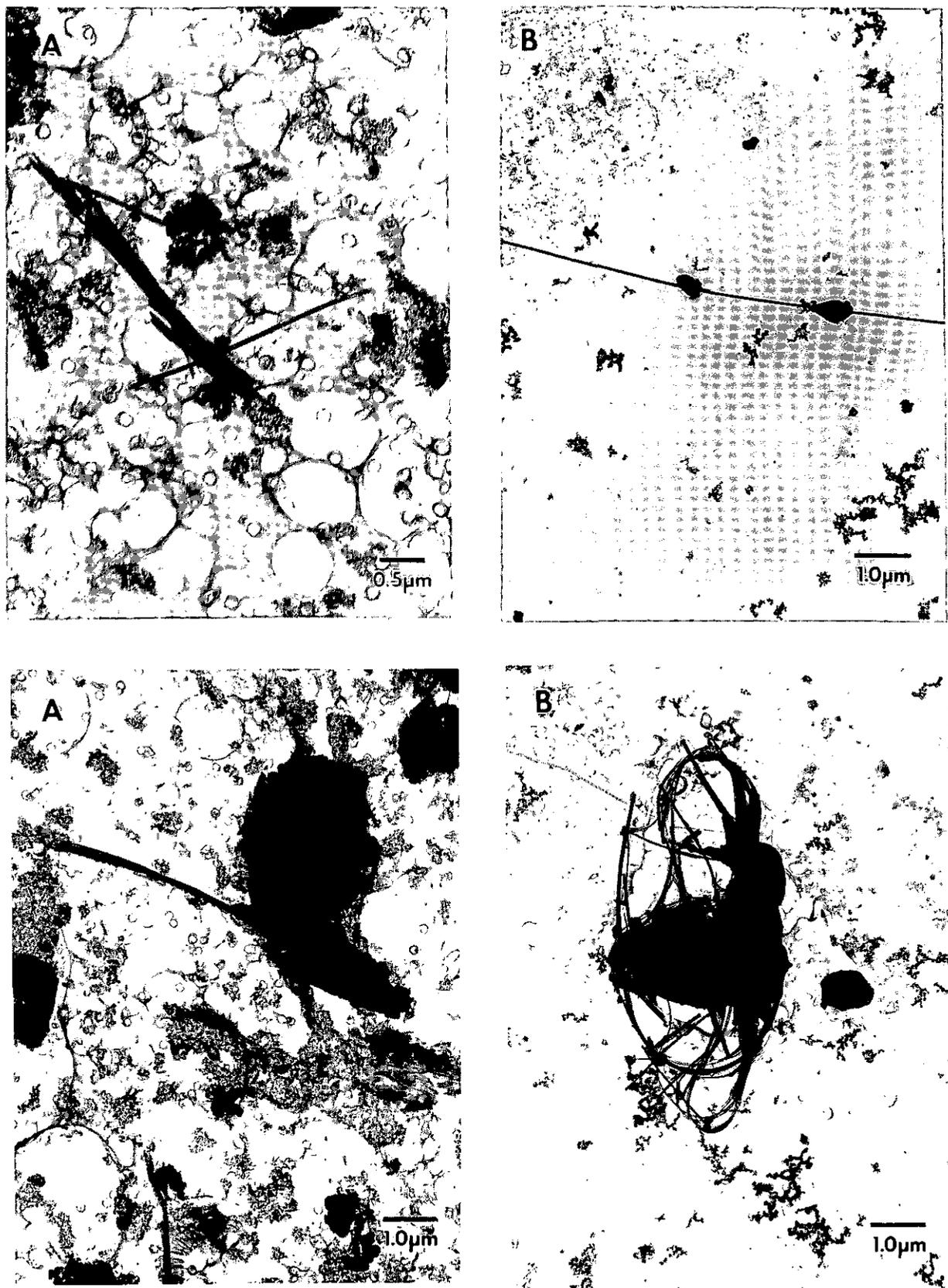


図 4 (A)間接法及び(B)直接法によるクリソタイルアスベストのTEM像

A (上): クラスター状, A (下): マトリックス状, B (上): 単繊維, B (下): マトリックス状

Fig. 4 TEM micrographs of chrysotile asbestos obtained by (A) indirect and (B) direct TEM analysis

A (above): cluster, A (below): matrix, B (above): single fiber, B (below): matrix

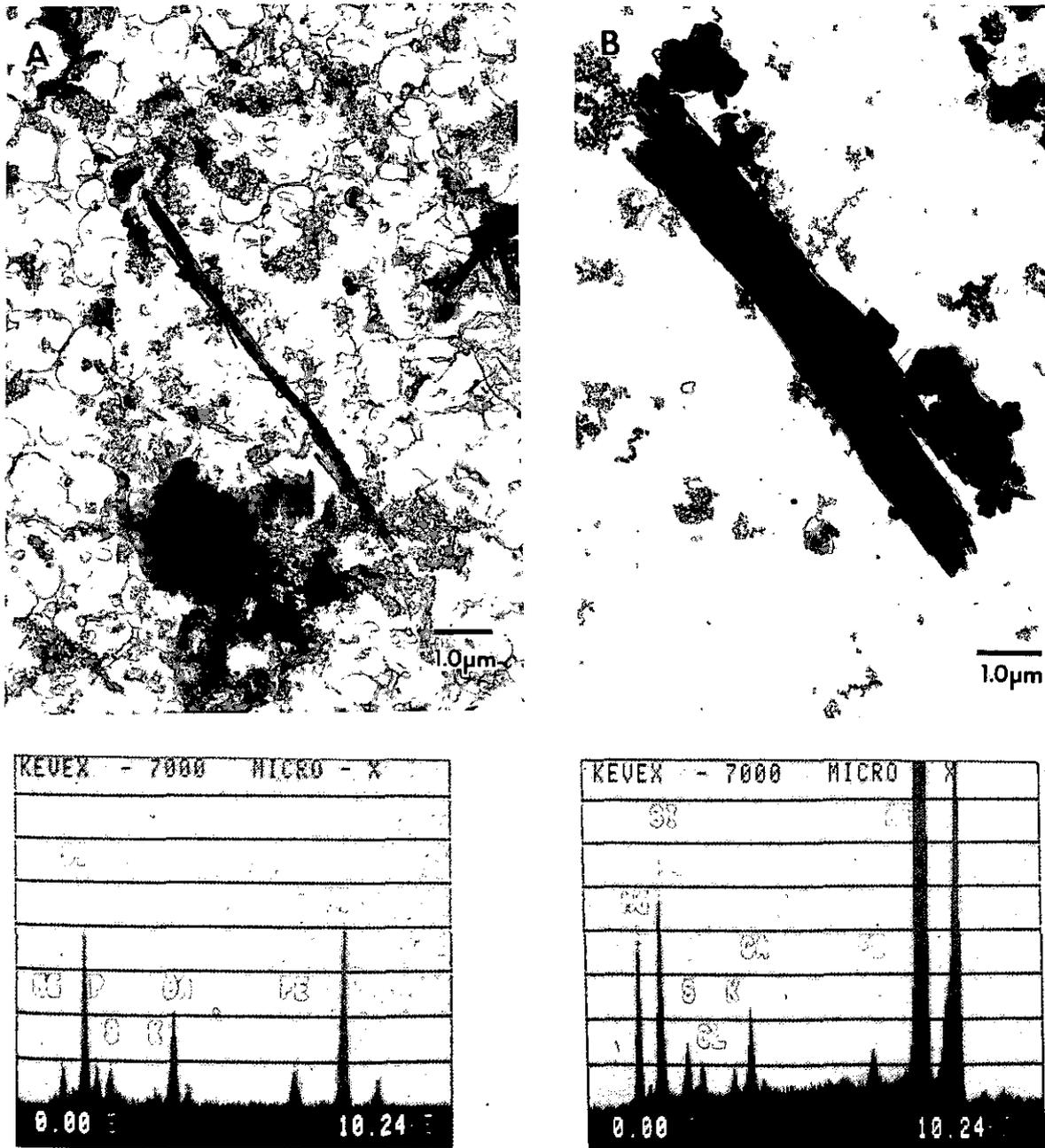


図 5 (A)間接法及び(B)直接法によるクリソタイルアスベストのTEM像及びEDXスペクトル
 Fig. 5 TEM micrographs and energy dispersive X-ray spectra of chrysotile asbestos obtained by (A) indirect and (B) direct TEM analysis

れた。

2) 直接法電子顕微鏡分析は、間接法に比べて試料作製時間が短い、アスベスト繊維が捕集されたままの構造形態を保持している、観察像はフィルターの不溶解残渣もほとんどみられないため明瞭であり計測しやすい等の利点があり、良好な方法であった。

3) 繊維を形態別にみると、間接法に比較して直接法

電子顕微鏡分析ではマトリックスの構造形態が多く、束状繊維が少なく観察された。この現象は発生源における繊維の排出実態を反映したものとなった。

4) 繊維の幅を $0.25\mu\text{m}$ 以上に限定し、単一及び束状繊維を対象にした直接法電顕濃度は一部の試料を除いて、光顕濃度の $1.5\sim 2.7$ 倍となり、同様の条件で算出した間接法電顕濃度に比べて光顕濃度レベルに近い値となっ

た。

5) 繊維サイズの分布状況を見ると、間接法と直接法についていずれも長さ $11.5\mu\text{m}$ 以下の繊維，幅では $0.25\mu\text{m}$ 以下の繊維が最も多く出現し，両方法とも類似のパターンを示した。

6) EDXスペクトルパターンにみられるクリソタイルの主成分元素 (Mg, Si) 以外の元素 (S, P, K等) については繊維自身に含有しているのか，夾雑物質が影響を与えているのか今後検討すべき課題である。

引用文献

- 1) 環境庁大気保全局大気規制課 (1987): アスベストモニタリングマニュアル. 昭和62年5月.
- 2) Environmental Protection Agency (1987): Federal register, 40 CFR Part 763, Asbestos-containing materials in schools; Final rule and notice.
- 3) Ortiz, L., B. Isom (1974): Transfer technique for electron microscopy of membrane filter samples. Amer. Ind. Hyg. J., 35(7), 423-427.

IV 分析電子顕微鏡によるアスベスト繊維の定量分析におけるX線の吸収効果

Absorption Effect on Quantitative X-Ray Microanalysis of Asbestos Fibers by Analytical Electron Microscopy

高尾真一¹・櫻井利彦¹・中村又善¹

Shin'ichi TAKAO¹, Toshihiko SAKURAI¹ and Matayoshi NAKAMURA¹

要 旨

透過型分析電子顕微鏡によるアスベスト繊維の化学組成分析 (Cliff-Lorimer法) におけるX線の吸収効果について検討した。アスベスト繊維の電子線に対する安定性は、幅の細い繊維より幅の太い繊維で良好であり、幅の細い繊維の中には分析時間が長くなると熱損傷を受けるものがみられた。アスベストの繊維幅と構成元素のSiに対するX線強度比は直線関係 (クリソタイルのMgでは繊維幅0.2 μm以上のものに限られる) になった。この繊維幅とX線強度比の回帰式からX線の吸収効果の程度が明らかとなり、X線強度比の吸収に対する補正値を算出できた。アンソフィライトやクロシドライトのように吸収補正率が高い場合、繊維幅とFeあるいはNaのX線強度比の回帰式の傾きは大きくなった。アンソフィライトのFe及びクロシドライトのNaのX線強度比はそれぞれ繊維幅0.3 μm及び0.4 μmで10%の吸収補正を必要とした。また、電子顕微鏡観察しているアスベスト繊維の厚さは繊維幅より小さいことが分かった。

Abstract

X-Ray absorption effect on quantitative analysis of asbestos fibers by analytical electron microscopy was studied. X-Ray intensities of elements in various asbestos samples relative to that of Si were measured using transmission electron microscope equipped with energy dispersive X-ray spectrometer. Thin asbestos fibers (diameter of 0.1 μm) were damaged by incident electron beam. It was possible to calculate absorption corrected intensities from the linear relationship between diameter and relative X-ray intensity. The relative X-ray intensities of Fe and Na in anthophyllite and crocidolite, respectively, should be markedly corrected for quantitative analysis (10% absorption correction for Fe in anthophyllite (diameter of 0.3 μm) and for Na in crocidolite (diameter of 0.4 μm)). It was suggested that the width of asbestos fiber was lower than the thickness.

1 はじめに

環境大気中に浮遊する繊維状の粉じん、特にアスベスト粉じんが発がんリスクの観点から大きな社会問題となっている。環境大気中には、アスベスト繊維以外にも天然及び人造の鉱物繊維が多く存在することから¹⁾、アスベスト繊維を的確に判別するには、通常分析電子顕微鏡を使用して繊維の形態観察、電子線回折、元素の定性分析操作が行われる。しかし、角閃石系アスベストの中には、互いに固溶体の関係にあり、組成が変化するものがあるため、繊維の化学組成の定量分析を行って識別す

る必要がある。したがって、アスベスト繊維の化学組成を精度よく定量分析する方法を確立することが重要になる。

分析電子顕微鏡によるBulk試料の定量分析では、ZAF法やBence-Albee法等にみられる吸収補正、蛍光励起補正など煩雑な補正計算を必要とする。一方、アスベスト繊維のような薄膜試料では、X線による吸収、蛍光励起の補正が無視できるとして、Cliff-Lorimer法²⁾を適用した定量分析が試みられている^{3,4)}。この方法では、各元素の特定元素に対する重量濃度比がX線の相対強度に補正係数(K因子)を乗じたものに等しいとして求められる。この方法が適用できる薄膜試料の膜厚は、最大1 μm程度までといわれているが⁵⁾、その精度は十分に検討されていない。また定量分析における精度は、X線の吸収、蛍

1. 福岡県保健環境研究所
〒818-01 福岡県太宰府市向佐野39
Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences.
39 Mukaisano, Dazaifu, Fukuoka 818-01, Japan.

光励起及び電子線による損傷等によって大きく影響される。そこで鉱物繊維の定量分析に影響を及ぼす諸因子の中で大きな支配因子となるX線の吸収効果について、標準のアスベスト繊維を対象にして検討した。

2 実験

標準のアスベスト試料として、クリソタイル (UICC-B)⁶⁾、アモサイト (UICC)⁷⁾、クロシドライト (UICC)⁸⁾、アンソフィライト (福島県石川郡浅川町黒白石産)⁹⁾、及びアクチノライト (高知県長岡郡本山町吉野瓜生野産)¹⁰⁾を用いた。

アスベスト試料をメノウ乳鉢ですりつぶした後、その約1mgをイソプロパノール溶液100mlに分散させる。十分に振り混ぜてから、その溶液約1mlを吸引ろ過器(有効直径17mm)でニュークリポアフィルター(直径25mm, 0.2 μ m孔径)上に吸引ろ過する。風乾後、そのニュークリポアフィルターにカーボン蒸着を施し、約3mm角に切り取り、クロロホルム蒸気中でステンレス製金網の

台上に並べたNi製TEMグリッド上に、カーボン蒸着面を上にして乗せ2昼夜放置し、ニュークリポアフィルターを溶解除去したものをTEM観察用試料とした。

使用した分析電子顕微鏡は、KEVEX製(7025J)エネルギー分散型X線検出器(以下、EDXとする)を装着した日本電子製(JEM 1200EX)透過型電子顕微鏡で、使用条件は、STEMモードで、加速電圧80kV、倍率6000倍、フィラメント電流57~59 μ A、ビーム電流6.5 μ A、ビーム径10nm、X線取り出し角35°、分析時間100秒である。Ni製TEMグリッドの網目の中から長さ5 μ m以上でASPECT比3以上の繊維を選んで分析を行い、得られたEDXスペクトル中の各元素のK α 線ピークについて、バックグラウンドを補正してX線強度を求めた。

3 結果と考察

3.1 電子線に対する試料の安定性

各アスベストのEDXスペクトル及び化学組成⁶⁻¹⁰⁾ならびに質量吸収係数(アスベストの化学組成と各元素の

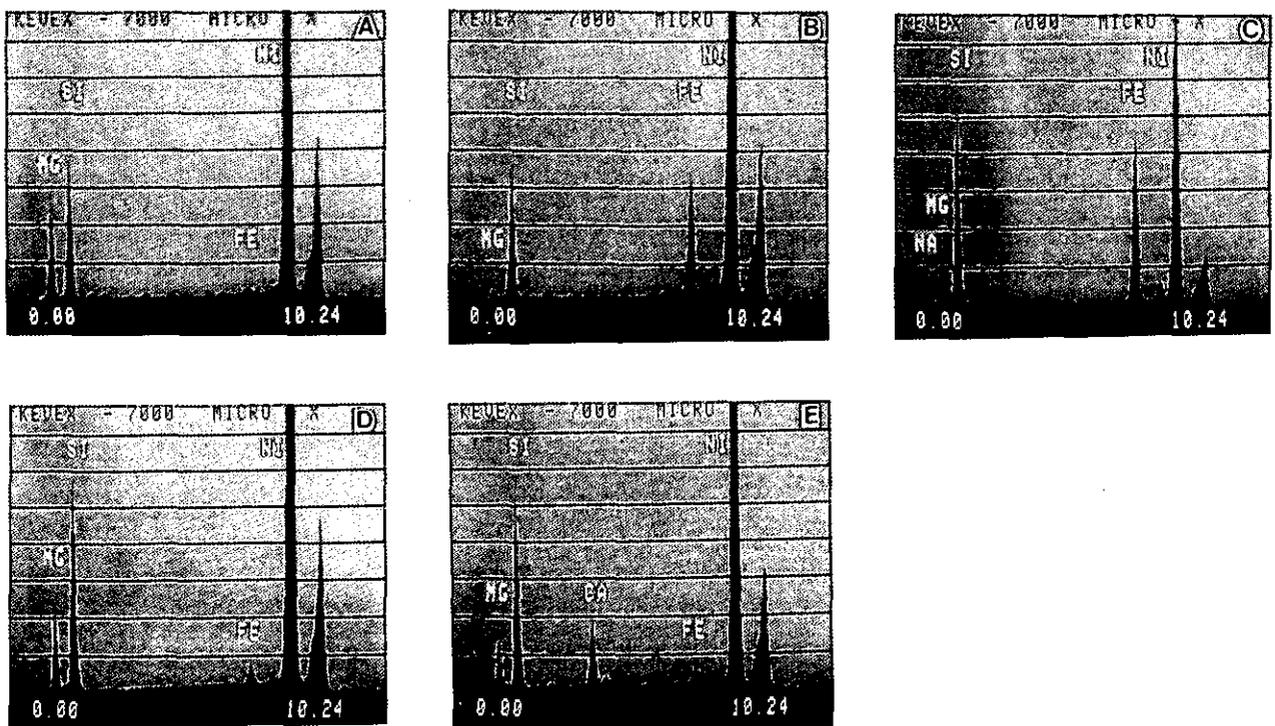


図 1 アスベスト繊維のEDXスペクトル
 A) クリソタイル ($D = 0.8\mu\text{m}$), B) アモサイト ($D = 0.6\mu\text{m}$), C) クロシドライト, ($D = 0.9\mu\text{m}$),
 D) アンソフィライト ($D = 1.0\mu\text{m}$), E) アクチノライト ($D = 0.8\mu\text{m}$). (D = アスベスト繊維幅)

Fig. 1 Energy dispersive X-ray spectra of asbestos fibers
 A) Chrysotile ($D = 0.8\mu\text{m}$), B) Amosite ($D = 0.6\mu\text{m}$), C) Crocidolite, ($D = 0.9\mu\text{m}$),
 D) Anthophyllite ($D = 1.0\mu\text{m}$), E) Actinolite ($D = 0.8\mu\text{m}$) (D = asbestos fiber diameter)

表 1 アスベストの化学組成と質量吸収係数
Table 1 Chemical compositions and mass absorption coefficients of asbestos samples.

	Chrysotile	Amosite	Crocidolite	Anthophyllite	Actionlite
SiO ₂ (%)	38.10	50.53	48.84	59.50	56.81
TiO ₂ (%)	trace		0.02		
Al ₂ O ₃ (%)	0.40	0.05	0.06	1.36	0.58
Fe ₂ O ₃ (%)	2.39	1.90	19.07		1.34
FeO(%)	1.14	35.34	19.95	6.70	4.42
MnO(%)	0.06	1.82	0.11		trace
MgO(%)	43.26	6.34	2.32	28.20	20.83
CaO(%)	0.17	0.51	1.08		13.14
Na ₂ O(%)	0.02	0.02	5.58		0.32 ^{a)}
K ₂ O(%)	0.02	0.27	0.06		
NiO(%)	0.10				
Cr ₂ O ₃ (%)	0.05				
H ₂ O ⁺ (%)	13.67	2.32	2.33	3.43	2.46
H ₂ O ⁻ (%)	0.06	0.20	0.34		
Total(%)	100.04	99.93	99.76	99.19	99.90
(μ/ρ)NaKα			4429		
(μ/ρ)MgKα	1713	2823	3012	1824	2003
(μ/ρ)SiKα	1391	1310	1327	1208	1133
(μ/ρ)CaKα					279
(μ/ρ)FeKα	54	61	59	61	84

a) Sum of Na₂O and K₂O

Kα線に対する質量吸収係数¹¹⁾から計算)をそれぞれ図1及び表1に示す。表1の質量吸収係数の値と、BeamanとFile¹²⁾がいろいろなアスベスト試料の化学組成(実測値)から算出した質量吸収係数の間でt検定を行った結果、有意差はみられず良い一致を示した。

分析電子顕微鏡を使用した定量分析において、鉍物種により電子線に対する安定性が著しく異なることが指摘されている^{13,14)}。このため安定した電子線照射密度で分析することが必要になる。本実験の測定条件下で電子線の照射時間に対する安定性を調べるため、1回の分析時間を50秒にして、各アスベスト標準試料で繊維幅が0.1 μm及び0.5~1.0 μmの繊維を選んで同一領域を6回(積算時間300秒)繰り返し分析し、SiのX線強度(I_{Si})に対する各元素(X)のX線強度比(I_X/I_{Si})の変化を測定した(表2)。幅(0.1 μm)の細い繊維の場合、幅(0.5~1.0 μm)の太い繊維に比べて変動係数が大きくなった。特にクロシドライトのI_{NA}/I_{Si}、I_{MG}/I_{Si}で顕著であった。これは質量吸収係数が大きく、かつX線強度の小さいすなわち

積算X線カウント数の少ない元素ではそのI_X/I_{Si}が小さくなること、また電子ビームの照射時間によっては熱損傷を受けてI_X/I_{Si}が減少することにより変動が大きくなったためと考えられる。幅の細いアスベスト繊維において、クリソタイトのI_{MG}/I_{Si}、クロシドライトのI_{NA}/I_{Si}、I_{MG}/I_{Si}、アクチノライトのI_{CA}/I_{Si}はそれぞれ150、200、100、150秒の積算照射時間を超えると電子ビームによる熱損傷を受けて減衰した。

しかし幅の太い繊維では、各アスベスト標準試料いずれも電子線による損傷を受けて経時的にX線強度比が減少する現象はみられなかった。アスベストの中でアンソフィライトのI_{MG}/I_{Si}の変動係数が最も小さく安定した値が得られたものの、アモサイトのMg及びクリソタイトのFeにみられるようにI_X/I_{Si}が0.1以下の場合、変動係数が大きくなった。

このように電子ビームによるスポット分析を経時的に行った場合、I_X/I_{Si}は幅の細い繊維及びI_Xが小さくかつX線強度比も小さい繊維では、比較的変動が大きく不安

表 2 アスベストのX線強度比

Table 2 X-ray intensity ratios (I_x/I_{Si}) of asbestos samples

Fiber diameter (μm)		Chrysotile		Amosite		Crocidolite			Anthophyllite		Actinolite		
		Mg/Si	Fe/Si	Mg/Si	Fe/Si	Na/Si	Mg/Si	Fe/Si	Mg/Si	Fe/Si	Mg/Si	Ca/Si	Fe/Si
0.1	Mean ^{a)}	0.404	0.139	0.080	0.785	0.019	0.018	0.980	0.275	0.139	0.204	0.294	0.154
	SD ^{b)}	0.033	0.035	0.015	0.096	0.006	0.008	0.035	0.011	0.018	0.026	0.051	0.026
	CV(%) ^{c)}	8.17	25.18	18.75	12.23	31.58	44.44	3.57	4.00	12.95	12.75	17.35	16.88
0.5-1.0	Mean ^{a)}	0.490	0.084	0.074	0.877	0.023	0.020	1.036	0.285	0.210	0.222	0.338	0.092
	SD ^{b)}	0.020	0.014	0.015	0.032	0.002	0.002	0.014	0.002	0.005	0.004	0.010	0.009
	CV(%) ^{c)}	4.08	16.67	20.27	3.65	8.69	10.00	1.35	0.70	2.38	1.80	2.96	9.78

a) Mean value of six measurements in the same region. Acquisition time of 50 sec for each measurement.

b) Standard deviation.

c) Coefficient of variation.

定であった。一方、 I_x が大きい繊維ではX線強度比の変動は小さく、本実験のビーム電流、ビーム径、分析時間(100秒)で行った測定条件下での電子線照射は分析に影響を与えない安定したものであった。

3.2 標準アスベスト試料の繊維幅とX線強度の関係

薄膜試料のCliff-Lorimer法による重量濃度比(定量分析)は、次の式で求めることができる。

$$C_A/\bar{C}_B = K \cdot (I_A/I_B) \quad (1)$$

K: 補正因子

C_A : 元素Aの重量濃度

C_B : 元素Bの重量濃度

I_A : 元素Aの特性X線強度

I_B : 元素Bの特性X線強度

(1)式で、化学組成が判明している標準試料(薄膜試料)の基準元素をSiとして、 I_x/I_{Si} を測定すれば、XのK因子が求められる。K因子は、X線強度(I_x 及び I_{Si})が飽和するまでの膜厚範囲内でほぼ一定の値をとるといわれている。

アスベストの繊維幅とX線強度の関係を調べるために、様々な繊維幅で I_x/I_{Si} を求めたものを図2に示した。クリソタイルでは全繊維幅についてみると(図2, A1)、繊維幅(D)と I_{Mg}/I_{Si} の関係は対数回帰式($I_{Mg}/I_{Si} = 0.604 + 4.16 \times 10^{-2} \ln D$)となった。繊維幅を $0.2\mu\text{m}$ 以

上に限定すると(図2, A2)、直線回帰式($I_{Mg}/I_{Si} = 0.634 - 137 \times 10^{-4} D$)が得られ、その傾きはやや負の傾向を示した。また I_{Fe}/I_{Si} の傾きは繊維幅($0.2\mu\text{m}$ 以上)が増大するとともに正の漸増傾向であった。このように繊維幅が大きくなるにつれて質量吸収係数の大きいMgの特性X線では I_{Mg}/I_{Si} は負の傾きを示し、逆に質量吸収係数の小さいFeの特性X線では I_{Fe}/I_{Si} は正の傾きを示したが、これはそれぞれの元素の質量吸収係数の差異による吸収効果の表れとみることができる。

また、繊維幅が $0.2\mu\text{m}$ 以下の細いクリソタイル繊維で I_{Mg}/I_{Si} が0.6以下の値であったのは、当初Mg特性X線の質量吸収係数が大きいため電子線による熱損傷を受けて I_{Mg}/I_{Si} が低下したものとみなされた。しかし、繊維上を移動させながら電子ビームを照射しても、積算X線カウント数(X線強度)は電子ビームの固定照射とほとんど変わらなかったことから、細い繊維では熱損傷よりむしろ繊維中のMgの溶脱が大きく、そのため I_{Mg}/I_{Si} が小さくなったものと結論された。BeamanとFile¹²⁾も繊維幅 $0.15\mu\text{m}$ 以下の細い繊維でMgの溶脱が顕著であったと報告しており、今回の実験とほぼ同様の結果であった。このためクリソタイルについて、以下では繊維幅が $0.2\mu\text{m}$ 以上の繊維を対象として記述する。

次に、角閃石系アスベストでは、繊維幅に対して I_x/I_{Si} をプロットすると図2に示すように概ね直線関係になった。 I_x/I_{Si} の発生X線強度比(回帰式のY軸の切片)、すなわち吸収補正されたX線強度比の値が最も小さくなったクロシドライトの I_{Mg}/I_{Si} を除いて、角閃石系アスベスト

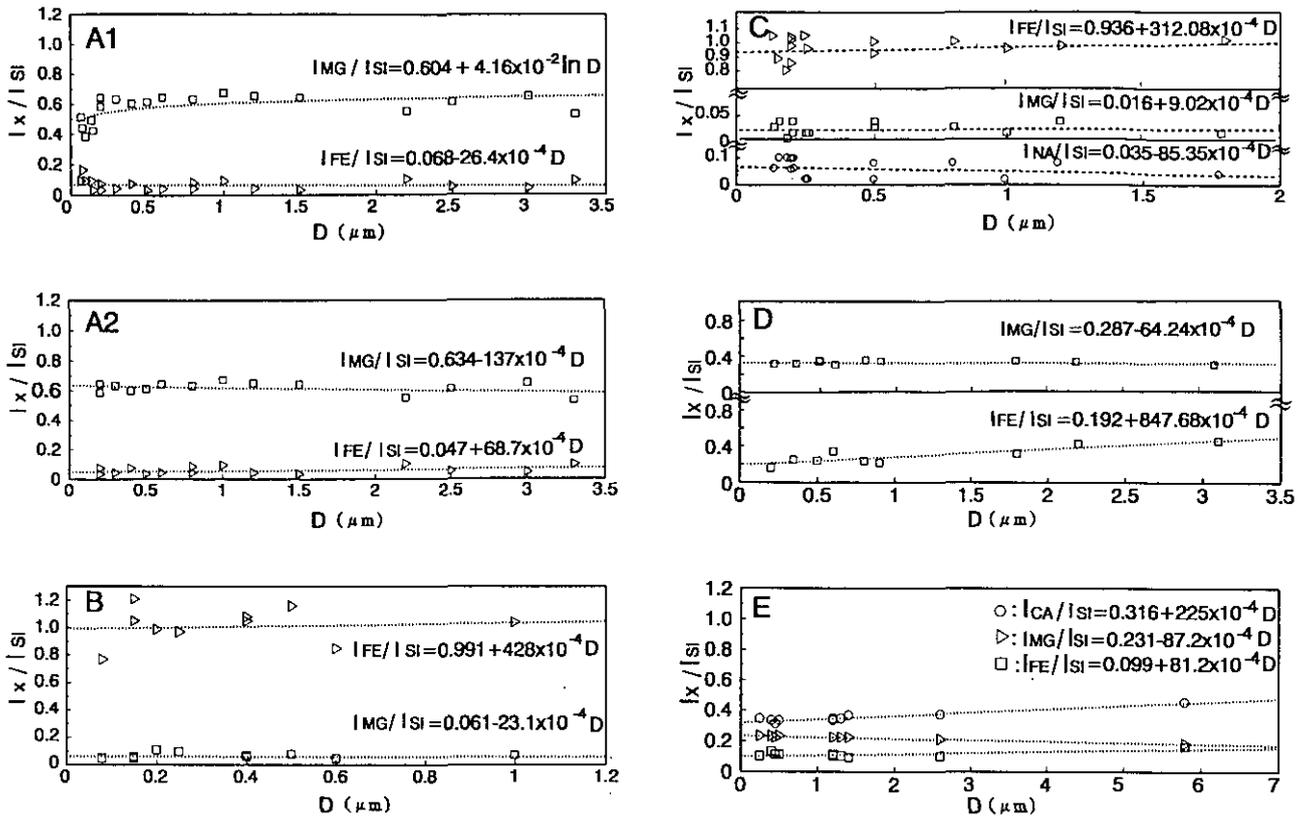


図 2 X線強度比 (I_x/I_{Si}) とアスベストの繊維幅 (D) の関係
 A1) クリソタイル (全データ), A2) クリソタイル ($D \geq 0.2\mu m$),
 B) アモサイト, C) クロシドライト, D) アンソフィライト, E) アクチノライト.

Fig. 2 Relationship between X-ray intensity ratio (I_x/I_{Si}) and diameter (D) of asbestos fiber.
 A1) Chrysotile (all), A2) Chrysotile ($D \geq 0.2\mu m$),
 B) Amosite, C) Crocidolite, D) Anthophyllite, E) Actinolite.

の I_{Mg}/I_{Si} はクリソタイルと同じく繊維幅が大きくなるにつれて減少した。また、クロシドライトの I_{Na}/I_{Si} も同様の傾向であった。一方、Na, Mgに比べて特性X線の質量吸収係数が小さなCa, Feでは、アモサイト、クロシドライト、アンソフィライト及びアクチノライトにみられるように、それらの強度比 I_{Ca}/I_{Si} , I_{Fe}/I_{Si} は繊維幅が大きくなるにつれて増加の傾向を示した。このように繊維幅の増加とともに I_x/I_{Si} はSiの特性X線の質量吸収係数より大きい質量吸収係数をもつ元素では減少する方向へ、小さい質量吸収係数をもつ元素では増加する方向へ変化するのは、クリソタイルの場合と同様X線の吸収効果によって生じたものと考えられる。

繊維幅に比例して繊維の厚さ (膜厚) も増加すると考えられるので、直線回帰式の傾きの大きさを繊維幅に対する吸収補正の程度が判明する。そこで直線回帰式

$(I_x/I_{Si}) = a + b(D)$ から得られる $|b/a| \times 100$ の値を吸収補正率として算出し、表3 (ACR(diameter)) に示した。この値が大きいほど吸収効果が大きくなり、繊維幅の増加に対応する補正も大きくなる。その結果、吸収補正率はクリソタイル、アンソフィライトの I_{Mg}/I_{Si} で最小値を示し、クロシドライトの I_{Na}/I_{Si} 、アンソフィライトの I_{Fe}/I_{Si} ではかなり高い値となった。したがって繊維幅が大きくなってもクリソタイル、アンソフィライトの I_{Mg}/I_{Si} はX線の吸収効果の影響が小さいが、クロシドライトの I_{Na}/I_{Si} 、アンソフィライトの I_{Fe}/I_{Si} は吸収効果の影響が大きく、Cliff-Lorimer法を用いて定量分析を行う場合吸収補正が必要であると考えられた。

3.3 吸収効果による補正

Horitaら¹³⁾は、分析電子顕微鏡を使用した Ni-Al-Ta

表 3 アスベスト繊維の厚さ(t)と繊維幅(D)による吸収補正率(ACR)と吸収補正が適用可能な繊維幅と厚さの上限値(limit)
Table 3 Absorption correction rate (ACR) for thickness and diameter of asbestos fibers and upper limit of thickness and diameter where absorption correction is applicable

		D(diameter)		t(thickness)	
		ACR ^{a)} (%)	limit ^{b)} (μm)	ACR ^{a)} (%)	limit ^{b)} (μm)
Chrysotile	Mg/Si	2.2	4.6	4.6	2.2
	Fe/Si	14.6	0.7	16.2	0.6
Amosite	Mg/Si	4.3	2.6	24.7	0.4
	Fe/Si	3.7	2.3	17.9	0.6
Crocidolite	Na/Si	24.4	0.4	45.9	0.2
	Mg/Si	5.6	1.8	29.4	0.3
	Fe/Si	3.3	3.0	17.8	0.6
Anthophyllite	Mg/Si	2.2	4.5	10.2	1.2
	Fe/Si	27.7	0.3	15.5	0.6
Actinolite	Mg/Si	3.8	2.7	16.2	0.6
	Ca/Si	7.1	1.4	12.9	0.8
	Fe/Si	8.2	1.2	15.3	0.7

a) ACR ($(b/a) \times 100$) for D and t calculated from the linear relationship shown in Fig. 2 and 4, respectively.

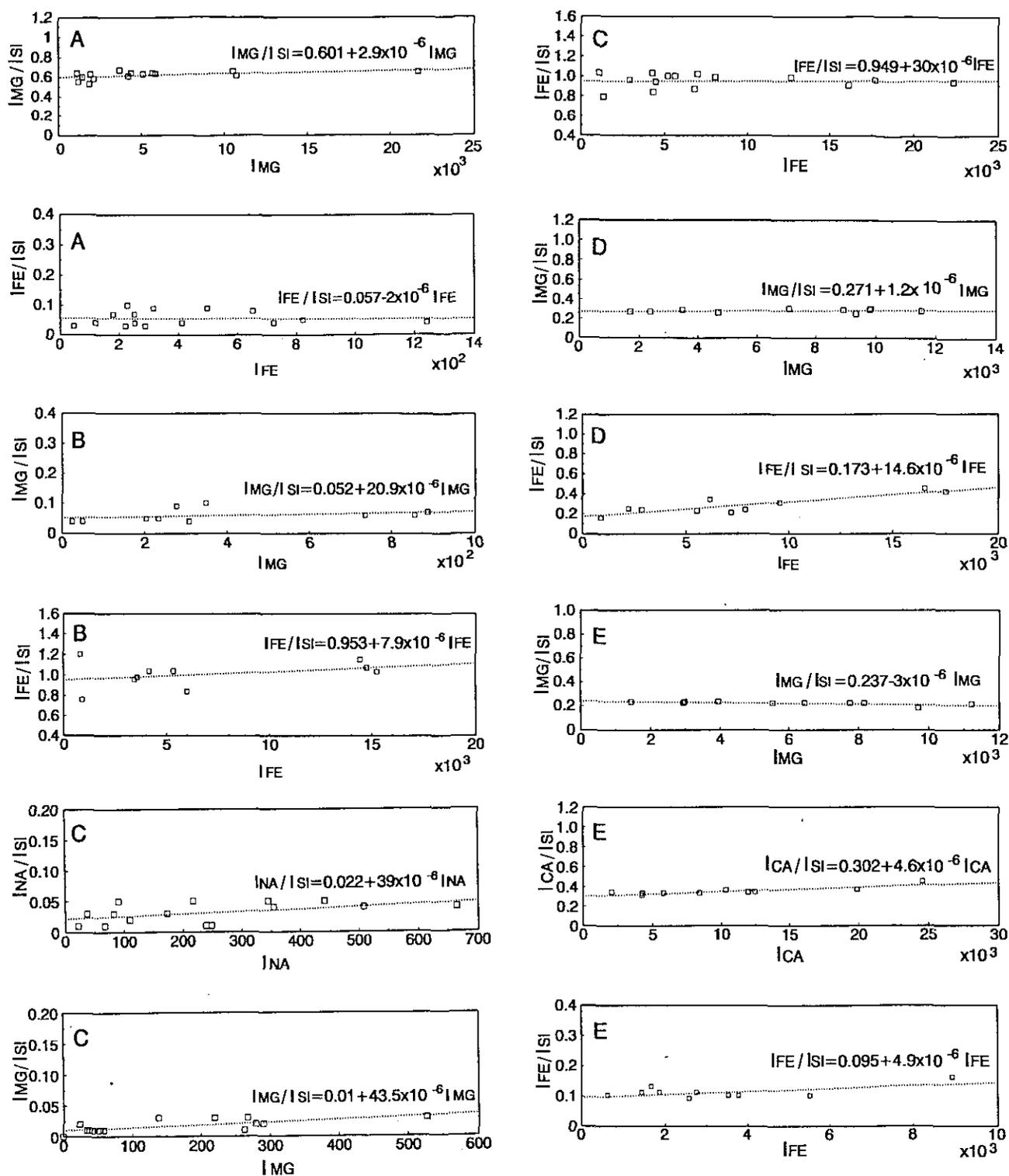
b) The upper limit of thickness and diameter where absorption correction by Cliff-Lorimer's equation is applicable.

合金試料の定量分析におけるX線の吸収効果について調べた。その結果、彼らは試料の膜厚を測定できない場合、Ni(マトリックス元素)のX線強度 I_{Ni} と測定X線強度の比(I_{Ni}/I_X)の関係は、前者を独立変数、後者を従属変数とした回帰式 $\text{Log}(I_{Ni}/I_X) = \text{Log}(I_{Ni}/I_X)_0 + b(I_{Ni})$ で表せることを明らかにし、その式から外挿した $I_{Ni} = 0$ の値が吸収補正されたX線強度比($I_{Ni}/I_X)_0$ に相当するとしている。また、上原ら¹⁴⁾はFeやMnを含む蛇紋石及び類縁鉱物の定量分析におけるX線の吸収効果を調べ、膜厚の測定ができない場合にはHoritaらが提唱した式を展開して単純化した直線回帰式($(I_X/I_{Si}) = a + c(I_X)$)から I_X/I_{Si} の補正が可能であると報告している。いずれにしても両方法は I_X をパラメータとし、それぞれ異なる回帰式で吸収補正されたX線強度比を求めX線の吸収効果の評価を行っている。

そこでアスベスト繊維はケイ酸塩鉱物であり、上原らの試料と組成上共通している点が多いことや、Horitaら

の外挿法をベースにして吸収補正式を直線回帰式に簡易化してあり補正強度比が容易に算出できることから、上原らの式を適用して補正強度比を求め比較することにした。アスベスト標準試料ごとに I_X/I_{Si} と I_X の関係をプロットした結果の一部を図3に示す。クリソタイトの I_{Fe}/I_{Si} 、アモサイト、クロシドライトではばらつきが大きかったが、その他では良好な直線関係が得られている。 I_X が増加するにつれてアスベスト繊維の厚さ(膜厚)も増加していると推測され、 I_X/I_{Si} のプロットに傾きが生ずるのは吸収効果と考えられる。

図3に示した実測の I_X/I_{Si} 及び I_X の値から、上原らの式($(I_X/I_{Si})_0 = (I_X/I_{Si}) - c(I_X)$)を用いて吸収補正したX線強度比($(I_X/I_{Si})_0$)を各プロットごとに算出し、その平均値を表4に示した。また、図2に示した I_X/I_{Si} 及びDの値を使用して式($(I_X/I_{Si})_0 = (I_X/I_{Si}) - b(D)$)から、同様に吸収補正した $(I_X/I_{Si})_0$ を計算しその平均値を併せて表4に示した。Dあるいは I_X の増加に伴う吸収効果を補正



3 X線強度比 (I_x/I_{Si}) とアスベストのX線強度 (I_x) の関係
 A) クリソタイル ($D \geq 0.2\mu\text{m}$), B) アモサイト, C) クロシドライト, D) アンソフィライト, E) アクチノライト.
 Fig. 3 Relationship between X-ray intensity ratio (I_x/I_{Si}) and X-ray intensity (I_x) of asbestos fiber.
 A) Chrysotile ($D \geq 0.2\mu\text{m}$), B) Amosite, C) Crocidolite, D) Anthophyllite, E) Actinolite.

表 4 X線強度(I_x)と繊維径(D)により吸収補正されたアスベストのX線強度比 ((I_x/I_{Si})₀)

Table 4 Absorption corrected X-ray intensity ratios ((I_x/I_{Si})₀) calculated from X-ray intensity (I_x) and diameter (D) of asbestos samples

		Chrysotile		Amosite		Crocidolite			Anthophyllite		Actinolite		
		Mg/Si	Fe/Si	Mg/Si	Fe/Si	Na/Si	Mg/Si	Fe/Si	Mg/Si	Fe/Si	Mg/Si	Ca/Si	Fe/Si
I _x	Mean ^{a)}	0.633	0.055	0.068	0.953	0.041	0.023	0.711	0.288	0.174	0.236	0.350	0.095
	SD ^{b)}	0.046	0.024	0.023	0.117	0.020	0.014	0.194	0.017	0.043	0.010	0.037	0.016
Diameter	Mean ^{c)}	0.634	0.048	0.075	0.991	0.036	0.017	0.951	0.287	0.186	0.231	0.347	0.099
	SD ^{b)}	0.035	0.046	0.023	0.124	0.015	0.009	0.069	0.015	0.045	0.003	0.033	0.014

a) The absorption corrected X-ray intensity ratio, (I_x/I_{Si})₀, was calculated by use of following equation

(Uehara et al.¹⁴⁾: (I_x/I_{Si})₀ = (I_x/I_{Si})_m - c(I_x) (straight line in Fig. 3, (I_x/I_{Si})_m = measured intensity ratio).

b) Standard deviation.

c) The absorption corrected X-ray intensity ratio, (I_x/I_{Si})₀, was calculated by use of following equation:

(I_x/I_{Si})₀ = (I_x/I_{Si})_m - b(D) (straight line in Fig. 2., (I_x/I_{Si})_m = measured intensity ratio).

した2つの (I_x/I_{Si})₀値間に差があるかどうか, (I_x/I_{Si})₀ごとに有意差の検定を行った。その結果, 測定値にばらつきが大きかったクリソタイトの (I_{Fe}/I_{Si})₀, アモサイトの (I_{Mg}/I_{Si})₀, クロシドライトの (I_{Mg}/I_{Si})₀, (I_{Fe}/I_{Si})₀で有意差(危険率1%)が認められた。その他ではDとI_xから求めた吸収効果に対する補正値はよい対応を示している。

Goldsteinら¹⁵⁾はCliff-Lorimer法におけるX線の吸収補正を次のような式で示している。

$$C_A/C_B = K \cdot (I_A/I_B) \cdot ACF \quad (2)$$

(2)式で, ACF(absorption correction factor)は吸収補正係数であり次式で求められる。

$$ACF = \frac{(\mu/\rho)_A [1 - \exp\{-(\mu/\rho)_B \operatorname{cosec} \psi(\rho t)\}]}{(\mu/\rho)_B [1 - \exp\{-(\mu/\rho)_A \operatorname{cosec} \psi(\rho t)\}]} \quad (3)$$

ただし, (μ/ρ)_x: 元素Xの特性X線の質量吸収係数

ψ: X線取り出し角 ψ=35°

ρ: 密度 (g/cm³)

t: 膜厚 (cm)

そこで各アスベストの化学組成から求めた質量吸収係数(表1)と密度の文献値¹⁶⁾からt(アスベスト繊維の厚さ)に対する(3)式のACFを算出し, ACFとtの関係を図4に示した。直線回帰式を求めてその傾きをみると, クロシドライトのI_{Na}/I_{Si}が最大で, クリソタイトのI_{Mg}/I_{Si}が最小であった。またFeを多く含むアモサイト, クロシド

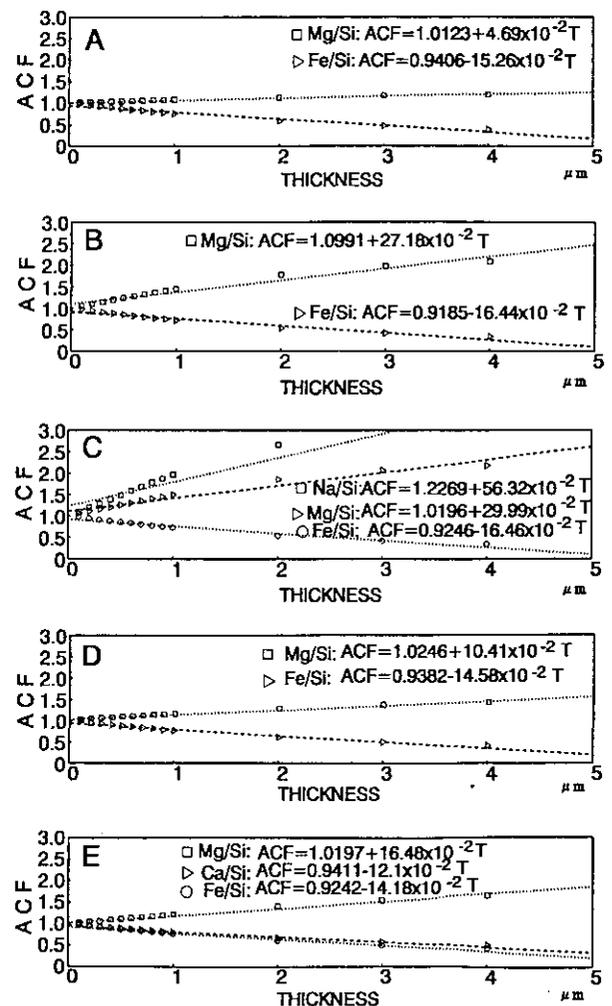


図 4 アスベストの化学組成から算出した吸収補正係数(ACF)とアスベスト繊維の厚さの関係

A) クリソタイト, B) アモサイト, C) クロシドライト, D) アンソフィライト, E) アクチノライト。

Fig. 4 Relationship between absorption correction factor (ACF) and thickness of asbestos fiber.

A) Chrysotile, B) Amosite, C) Crocidolite, D) Anthophyllite, E) Actinolite.

ライトでは質量吸収係数の大きなNaやMgのX線強度比の傾きも大きくなった。吸収補正の大きさをみるため直線回帰式から3.2項で記述した吸収補正率 ($|b/a| \times 100$) を算出して表3 (ACR(thickness)) に示した。これらの数値は吸収補正の大きさを端的に反映したが、3.2項の繊維幅との対応は必ずしも良好でなかった。このことから繊維幅と繊維の厚さとはアスベストの種類によってはかなり相違していると考えられた。最大の吸収補正率を示したクロシドライトの I_{Na}/I_{Si} の場合、繊維の厚さ $0.5\mu\text{m}$ でACFは1.5になり約50%の吸収補正を要することになる。しかし、Goldsteinらによれば吸収補正式が成り立つ膜厚 (t) は次の式で与えられる¹⁷⁾。

$$(\chi_B - \chi_A) \rho t / 2 < 0.1 \quad (4)$$

ここで、 $\chi_{A,B} = (\mu/\rho)_{A,B} \text{cosec} \phi$

(ただし、A, Bは元素)

この式から標準試料のACFが適用できる t の範囲は吸収補正が約10%以下の場合となる。そこで(4)式により吸収補正が適用可能な t の上限値を算出するとともに、繊維幅(D)についても膜厚(t)と同様に上限値(吸収補正が10%となる繊維幅)を図2の直線回帰式から算出して表3 (limit) に示した。アスベスト種と元素により、吸収補正ができる繊維幅の上限値は異なり、クリソタイ

ルの I_{Mg}/I_{Si} が最大値を示した(繊維幅の実測値約 $4\mu\text{m}$ で10%程度の吸収補正が必要)。一方、クロシドライトの I_{Na}/I_{Si} 及びアンソフィライトの I_{Fe}/I_{Si} ではそれぞれ繊維幅約 $0.4\mu\text{m}$ 及び $0.3\mu\text{m}$ で10%程度の吸収補正を必要とすることが分かった。

次に、アスベスト試料の化学分析値と分析電子顕微鏡によって得られる元素組成を比較するため、アスベストの重要な構成元素であるMg, Feの濃度を分析電子顕微鏡による測定(X線強度比 I_X/I_{Si})から求めた。濃度計算には、次の3方法により求めたX線強度比の値を用い相互に比較した。

方法A: X線の吸収補正をしない方法

方法B: 図2の繊維幅と I_X/I_{Si} の直線回帰式からX線の吸収補正をする方法

方法C: 図3の I_X と I_X/I_{Si} の直線回帰式からX線の吸収補正をする方法

ここで、A法の I_X/I_{Si} (測定値)は平均値を用い、B法では繊維幅が補正式を適用できる範囲内(表3の上限値内)にある I_X/I_{Si} の測定値を用いた。また、いずれの方法においても、Mg及びFeのK因子はそれぞれクリソタイト及びクロシドライトの化学組成(表1)と I_X/I_{Si} の実測値から算出した。Si濃度には化学分析値(表1)を用い、(1)式からFe, Mgの濃度計算を行った。以上の3方法による計算結果を表5に示したが、Mg, Feの化学分析値と分析電子顕微鏡により求めた値はいずれの方法でも有意差は

表 5 化学分析(CA)と分析電子顕微鏡(A-C)によるアスベスト中のFe, Mgの濃度

Table 5 Concentrations of Fe and Mg obtained by chemical analysis (CA) and analytical electron microscopy (A-C)

	Chrysotile				Amosite				Crocidolite			
	CA ^{a)}	A ^{b)}	B ^{c)}	C ^{d)}	CA ^{a)}	A ^{b)}	B ^{c)}	C ^{d)}	CA ^{a)}	A ^{b)}	B ^{c)}	C ^{d)}
FeO ^{e)} (%)	3.29	1.87	1.77	1.83	37.05	41.73	45.54	37.83	37.12			
MgO (%)	43.26				6.34	5.56	6.20	4.72	2.32	1.79	1.43	1.52
	Anthophyllite				Actinolite							
	CA ^{a)}	A ^{b)}	B ^{c)}	C ^{d)}	CA ^{a)}	A ^{b)}	B ^{c)}	C ^{d)}				
FeO ^{e)} (%)	6.70	14.10	5.34	6.83	5.63	5.61	4.64	3.41				
MgO (%)	28.20	30.52	34.00	28.78	20.83	25.16	27.58	21.23				

a) Values obtained by wet chemical analysis.

b) Values calculated using Cliff-Lorimer's equation without absorption correction.

c) Absorption corrected values calculated using linear relationship between (I_X/I_{Si}) and D (straight line in Fig. 2.).

d) Absorption corrected values calculated using linear relationship between (I_X/I_{Si}) and I_X (straight line in Fig. 3.).

e) Total Fe as FeO.

認められなかった。しかし、A法から得たアンソフィライトのFeの濃度 (FeO: 14.1%) は、他の方法による濃度に比べてかなり高くなった。そこで、すべての I_{Fe}/I_{Si} 測定値の平均ではなく、繊維幅がB法の許容範囲内にある I_{Fe}/I_{Si} の値の平均値を用いてA法による計算を行ったところ、その濃度は7.43% (FeO) になり化学分析値により近い値 (約10%程度の差) となった。

なお、アスベスト繊維の厚さ (膜厚) を用いたX線の吸収補正が繊維幅を用いた補正より大きく、また、計算によって求めた吸収補正適用可能な繊維幅の上限値が補正可能な繊維の厚さの上限値より大きいことから、支持膜に平行になっているアスベスト繊維の厚さがTEMで観察している繊維幅よりも小さいことが判明した。

以上のように、分析電子顕微鏡によるアスベスト繊維の定量分析においてはX線の吸収効果がみられ、吸収による補正を施さないCliff-Lorimer法でアスベストの元素組成を求めると、繊維幅のサイズ及び元素の種類によっては大きな誤差を生じることが示唆された。また、繊維幅を測定して I_x/I_{Si} との回帰式から吸収補正したX線強度比で算出した濃度は、化学分析による方法や I_x と I_x/I_{Si} の回帰式から補正する方法より得られる濃度とほぼ一致するので、アスベスト繊維の厚さ (膜厚) を測定できない場合、繊維幅の測定からX線強度比の吸収補正が十分可能であることが分かった。今までに、アスベスト繊維だけでなく非アスベストの鉱物繊維においてもその形態によっては発がんリスクの存在が指摘されており^{18,19)}、今後、環境中に浮遊する種々の繊維状物質の化学組成について検討する必要があると考えられる。

4 まとめ

分析電子顕微鏡によるアスベスト繊維の定量分析にCliff-Lorimer法を適用した場合のX線の吸収効果について検討したところ、次の結果が得られた。

1) 電子ビームにより熱損傷を与えない一定の電子線照射密度でアスベスト繊維のスポット分析を経時的に行ったところ、X線強度比 (I_x/I_{Si}) はアンソフィライトの繊維幅の太い繊維で最も変動が小さかった。しかし、繊維幅の細いアスベストで測定されたX線強度比や太い繊維でもX線強度の弱い元素のX線強度比では変動が大きく、特にクロシドライトの I_{Mg}/I_{Si} で顕著であった。

2) アスベスト繊維幅あるいはX線強度とX線強度比 (I_x/I_1) の回帰式から計算される吸収補正をしたX線強度

比を用いて行った定量分析の結果は、いずれも化学分析値と統計的な有意差はみられなかった。

3) X線の吸収による補正はアスベストの種類、構成元素の含有量により異なり、吸収補正率が高いクロシドライトのNa及びアンソフィライトのFeのX線強度比 I_{Na}/I_{Si} 、 I_{Fe}/I_{Si} ではそれぞれ繊維幅0.4 μ m及び0.3 μ mで10%程度の補正が必要であった。

4) アスベスト繊維の厚さ (膜厚) を用いたX線の吸収補正は繊維幅を用いた補正より大きく、また、計算によって求めた吸収補正適用可能な繊維幅の上限値が補正可能な繊維の厚さの上限値より大きいことから、アスベスト繊維の厚さは繊維幅に比べて小さいことが分かった。

引用文献

- 1) 高尾真一・田上四郎・櫻井利彦 (1989): 分析電子顕微鏡による環境中のアスベストに関する研究 (第1報). 大気汚染学会誌, 24, 214-226.
- 2) Cliff, G. and G. W. Lorimer (1974): The quantitative analysis of thin specimens. *J. Microscopy*, 103, 203-207.
- 3) 神山宣彦 (1981): 大気中の微小アスベスト粒子の電子顕微鏡による定量 (1), 昭和56年度環境保全研究成果集. 105-1~105-16.
- 4) Pooley, F. D. (1975): The identification of asbestos dust with an electron microscope microprobe analyser. *Ann. Occup. Hyg.*, 18, 181-186.
- 5) 日本粘土学会編 (1987): 粘土ハンドブック (第二版). 技報堂出版, 385p.
- 6) 神山宣彦 (1989): JAWE標準試料の解説. 日本作業環境測定協会. 10.
- 7) 神山宣彦 (1989): JAWE標準試料の解説. 日本作業環境測定協会. 16.
- 8) 神山宣彦 (1989): JAWE標準試料の解説. 日本作業環境測定協会. 22.
- 9) Harada, Z. (1948): Chemical analysis of Japanese minerals (II). *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ., Ser. IV, VII* (2).
- 10) 神津俊祐・八木次男・可児弘一 (1915): 土佐吉野産陽起石の光学的、熱的及び化学的観察. 岩鉱, 1, 73p.
- 11) Robinson, J. W. (ed) (1981): *Handbook of Spectroscopy*, vol 3. CRC-Press, Cleveland, 1-6.
- 12) Beaman, D. R. and D. M. File (1976): Quantitative determination of asbestos fiber concentrations. *Anal. Chem.*, 48, 101-110.
- 13) Horita, Z., T. Sano and M. Nemoto (1987): Simplification of X-ray absorption correction in thin-sample quantitative microanalysis. *Ultramicroscopy*, 21, 271-276.
- 14) 上原誠一郎・西 敬・村田昭文 (1991): 分析電子顕微鏡による蛇紋石および類縁鉱物の定量分析. 粘土科学, 30, 211-220.

- 15) Goldstein, J. I., J. L. Costley, G. W. Lorimer and S. J. B. Reed (1977): Quantitative X-ray analysis in the electron microscope, Scanning Electron Microscopy, vol 1, IIT Research Institute Chicago Illinois, 315-325.
- 16) Michaels, L. and S. S. Chessick (eds.) (1979): Asbestos vol.1, Properties, Applications, and Hazards, John Willey and Sons, Chichester.
- 17) Goldstein, J. I., D. E. Newbury, P. Echlin, D. C. Joy, C. Fiori and E. Lifshin (1984): Scanning Electron Microscopy and X-ray microanalysis. Preum Press, 354p.
- 18) Stanton, M. F. (1973): Some etiological considerations of fibre carcinogenesis, *In* : Bio-logical effects of asbestos (P. Bogovski, V. Timbrell, *et al.*(eds)), IARC publication No.8, 289-294, WHO, Lyon, France.
- 19) Stanton, M. F. (1978): The carcinogenicity of fibrous minerals; *In* : Proceedings of the workshop on asbestos: Definitions and measurement method at the NBS, gaitheersburg, Md., July 18-20, 1977, NBS special publication No. 506, Washington, D.C.

おわりに

Conclusion

瀬山春彦¹・相馬悠子²・相馬光之¹

Haruhiko SEYAMA¹, Yuko SOMA² and Mitsuyuki SOMA¹

アスベストは安価で優れた工業材料として利用されてきたが、その毒性が認識され現在その使用量は減っている。しかしながら、今までに建設された建物には建築材料としてアスベストが使われており、老朽化した建物の取り壊しなどによる環境中へのアスベストの放出が危惧されるし、現在でも自動車のブレーキには摩擦材としてアスベストが使われている。アスベストによる環境汚染の予測は難しいが、将来にわたって環境中のアスベストの分析は重要であり、よりよい分析のため今までの分析

法に改良を加えるとともに、新たな分析法を開発していく必要がある。また、新たなアスベスト分析法の開発は現在まだ明確でないアスベストの発がん機構の解明にも役立つものと期待される。本研究では、アスベストを選択的に検出できる新しい分析法の検討と電子顕微鏡によるアスベスト分析法の改良を試みたが、これら分析法の環境試料及びアスベスト類似の代替品分析への応用はこれからの課題である。なお今日、分析技術の進歩は非常に速く、今後も新たなアスベスト分析の可能性について検討し続けていかねばならないと考えている。

最後に本研究を進めるに当たって、国立科学博物館の斉藤靖二博士、松原聡博士にアスベスト鉱物を提供していただいたこと、国立環境研究所化学環境部及び福岡県保健環境研究所の皆様にお世話になったことを記し、心から感謝致します。また、本研究は文部省科学研究費補助金(奨励研究)及び科学技術庁科学技術振興調整費(重点基礎研究)から研究費の補助を受けました。併せて感謝致します。

1. 国立環境研究所 化学環境部
〒305 茨城県つくば市小野川16番2
Environmental Chemistry Division, National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立環境研究所 地域環境研究グループ
〒305 茨城県つくば市小野川16番2
Regional Environment Division, National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

国立公害研究所特別研究成果報告

- ※第1号 陸水域の富栄養化に関する総合研究—霞ヶ浦を対象域として—昭和51年度.(1977)
※第2号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究—昭和51/52年度 研究報告.(1978)

(改称)

国立公害研究所研究報告

- ※第3号 A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus Chironomus (Diptera, Chironomidae).(1978)
(日本産ユスリカ科 Chironomus 属9種の成虫, サナギ, 幼虫の形態の比較)
- ※第4号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究—昭和52年度 中間報告.(1978)
- ※第5号 芳香族炭化水素-窒素酸化物系の光酸化反応機構と光酸化二次生成物の培養細胞に及ぼす影響に関する研究—昭和51,52年度 研究報告.(1978)
- ※第6号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(II)—霞ヶ浦を中心として—昭和53年度.(1979)
- ※第7号 A morphological study of adults and immature stages of 20 Japanese species of the family Chironomidae (Diptera).(1979)
(日本産ユスリカ科20種の成虫, サナギ, 幼虫の形態学的研究)
- ※第8号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究—昭和52,53年度 研究報告.(1979)
- ※第9号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究—昭和53年度 中間報告.(1979)
- ※第10号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究—昭和51~53年度 特別研究報告.(1979)
- ※第11号 Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity.(1980)
(大気汚染物質の植物影響およびその植物毒性の機構に関する研究)
- ※第12号 Multielement analysis studies by flame and inductively coupled plasma spectroscopy utilizing computer-controlled instrumentation.(1980)
(コンピュータ制御装置を利用したフレイムおよび誘導結合プラズマ分光法による多元素同時分析)
- ※第13号 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1980)
Part 1. The distribution of chironomid species in a tributary in relation to the degree of pollution with sewage water.
Part 2. Description of 20 species of Chironominae recovered from a tributary.
(多摩川に発生するユスリカの研究
—第1報 その一支流に見出されたユスリカ各種の分布と下水による汚染度との関係
—第2報 その一支流に見出された Chironominae 亜科の20種について)
- ※第14号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究—昭和53,54年度 特別研究報告.(1980)
- ※第15号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究—昭和54年度 特別研究報告.(1980)
- ※第16号 計測車レーザーレーダーによる大気汚染遠隔計測.(1980)
- ※第17号 流体の運動および輸送過程に及ぼす浮力効果—臨海地域の気象特性と大気拡散現象の研究—昭和53,54年度 特別研究報告.(1980)
- ※第18号 Preparation, analysis and certification of PEPPERBUSH standard reference material.(1980)
(環境標準試料「リヨウブ」の調整, 分析および保証値)
- ※第19号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(III)—霞ヶ浦(西浦)の湖流—昭和53,54年度.(1981)
- ※第20号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(IV)—霞ヶ浦流域の地形, 気象水文特性およびその湖水環境に及ぼす影響—昭和53,54年度.(1981)
- ※第21号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(V)—霞ヶ浦流入河川の流出負荷量変化とその評価—昭和53,54年度.(1981)
- ※第22号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(VI)—霞ヶ浦の生態系の構造と生物現存量—昭和53,54年度.(1981)
- ※第23号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(VII)—湖沼の富栄養化状態指標に関する基礎的研究—昭和53,54年度.(1981)
- ※第24号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(VIII)—富栄養化が湖利用に及ぼす影響の定量化に関する研究—昭和53,54年度.(1981)
- ※第25号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(IX)—Microcystis (藍藻類)の増殖特性—昭和53,54年度.(1981)
- ※第26号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(X)—藻類培養試験法によるAGPの測定—昭和53,54年度.(1981)
- ※第27号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(IX)—研究総括—昭和53,54年度.(1981)
- ※第28号 複合大気汚染の植物影響に関する研究—昭和54,55年度 特別研究報告.(1981)
- ※第29号 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1981)
Part 3. Species of the subfamily Orthocladiinae recorded at the summer survey and their distribution in relation to the pollution with sewage waters.
Part 4. Chironomidae recorded at a winter survey.
(多摩川に発生するユスリカ類の研究
—第3報 夏期の調査で見出されたエリユスリカ亜科 Orthocladiinae 各種の記載と, その分布の下水汚染度との関係について
—第4報 南浅川の冬期の調査で見出された各種の分布と記載)
- ※第30号 海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究—昭和54,55年度 特別研究報告.(1982)
- ※第31号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究—昭和55年度 特別研究報告.(1981)
- ※第32号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究—環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究(フィールド研究1)—昭和54年度 特別研究中間報告.(1982)

- ※第33号 臨海地域の気象特性と大気拡散現象の研究—大気運動と大気拡散過程のシミュレーション—昭和55年度 特別研究報告.(1982)
- ※第34号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究—昭和55年度 特別研究報告.(1982)
- ※第35号 環境面よりみた地域交通体系の評価に関する総合解析研究.(1982)
- ※第36号 環境試料による汚染の長期モニタリング手法に関する研究—昭和55,56年度 特別研究報告.(1982)
- ※第37号 環境施策のシステム分析支援技術の開発に関する研究.(1982)
- ※第38号 Preparation, analysis and certification of POND SEDIMENT certified reference material.(1982)
(環境標準試料「池底質」の調整, 分析及び保証値)
- ※第39号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究—昭和56年度 特別研究報告.(1982)
- ※第40号 大気汚染物質の単一及び複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究—昭和56年度 特別研究報告.(1983)
- ※第41号 土壤環境の計測と評価に関する統計学的研究.(1983)
- ※第42号 底泥の物性及び流送特性に関する実験的研究.(1983)
- 第43号 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1983)
Part 5. An observation on the distribution of Chironominae along the main stream in June with description of 15 new species.
Part 6. Description of species of the subfamily Orthoclaadiinae recovered from the main stream in the June survey.
Part 7. Additional species collected in winter from the main stream.
(多摩川に発生するユスリカ類の研究
—第5報 本流に発生するユスリカ類の分布に関する6月の調査成績とユスリカ亜科に属する15新種等の記録
—第6報 多摩本流より6月に採集されたエリユスリカ亜科の各種について
—第7報 多摩本流より3月に採集されたユスリカ科の各種について)
- 第44号 スモッグチャンパーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究—環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究(フィールド研究2)—昭和54年度 特別研究中間報告.(1983)
- ※第45号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壤生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究—昭和53~55年度 特別研究総合報告.(1983)
- ※第46号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壤生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究—昭和54,55年度 特別研究報告 第1分冊.(1983)
- ※第47号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壤生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究—昭和54,55年度 特別研究報告 第2分冊.(1983)
- ※第48号 水質観測点の適正配置に関するシステム解析.(1983)
- 第49号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究—昭和57年度 特別研究報告.(1984)
- ※第50号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(I)—霞ヶ浦の流入負荷量の算定と評価—昭和55~57年度 特別研究報告.(1984)
- ※第51号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(II)—霞ヶ浦の物質循環とそれを支配する因子—昭和55~57年度 特別研究報告.(1984)
- ※第52号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(III)—霞ヶ浦高浜入における隔離水界を利用した富栄養化防止手法の研究—昭和55~57年度 特別研究報告.(1984)
- 第53号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(IV)—霞ヶ浦の魚類及び甲かく類現存量の季節変化と富栄養化—昭和55~57年度 特別研究報告.(1984)
- ※第54号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(V)—霞ヶ浦の富栄養化現象のモデル化—昭和55~57年度 特別研究報告.(1984)
- 第55号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(VI)—富栄養化防止対策—昭和55~57年度 特別研究報告.(1984)
- ※第56号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(VII)—湯ノ潮における富栄養化とその防止対策—昭和55~57年度 特別研究報告.(1984)
- ※第57号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究(VIII)—総括報告—昭和55~57年度 特別研究報告.(1984)
- 第58号 環境試料による汚染の長期的モニタリング手法に関する研究—昭和55~57年度 特別研究総合報告.(1984)
- 第59号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究—光化学スモッグチャンパーによるオゾン生成機構の研究—大気中における有機化合物の光酸化反応機構の研究—昭和55~57年度 特別研究報告(第1分冊).(1984)
- 第60号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究—光化学エアロゾル生成機構の研究—昭和55~57年度 特別研究報告(第2分冊).(1984)
- 第61号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究—環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究(フィールド研究1)—昭和55~57年度 特別研究報告(第3分冊).(1984)
- ※第62号 有害汚染物質による水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究—昭和56~58年度 特別研究中間報告.(1984)
- ※第63号 海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究—昭和56年度 特別研究報告.(1984)
- ※第64号 複合大気汚染の植物影響に関する研究—昭和54~56年度 特別研究総合報告.(1984)
- ※第65号 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 1.(1984)
(複合大気汚染の植物に及ぼす影響—第1分冊)
- ※第66号 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 2.(1984)
(複合大気汚染の植物に及ぼす影響—第2分冊)
- ※第67号 環境中の有害物質による人の慢性影響に関する基礎的研究—昭和54~56年度 特別研究総合報告.(1984)
- ※第68号 汚泥の土壤還元とその環境影響に関する研究—昭和56~57年度 特別研究報告.(1984)
- ※第69号 中禅寺湖の富栄養化現象に関する基礎的研究.(1984)

- ※第70号 Studies on chironomid midges in lakes of the Nikko National Park.(1984)
Part I. Ecological studies on chironomids in lakes of the Nikko National Park.
Part II. Taxonomical and morphological studies on the chironomid species collected from lakes in the
Nikko National Park.
(日光国立公園の湖沼のユスリカに関する研究
—第1部 日光国立公園の湖のユスリカの生態学的研究
—第2部 日光国立公園の湖沼に生息するユスリカ類の分類学的, 生態学的研究)
- ※第71号 リモートセンシングによる残雪及び雪田植生の分布解析.(1984)
- 第72号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究—環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究
(フィールド研究2)—昭和55~57年度 特別研究報告(第4分冊).(1985)
- ※第73号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究—昭和55~57年度 特別研究総合報告.(1985)
- ※第74号 都市域及びその周辺の自然環境に係る環境指標の開発に関する研究. 環境指標—その考え方と作成方法—昭和59年度
特別研究報告.(1984)
- 第75号 Limnological and environmental studies of elements in the sediment of Lake Biwa.(1985)
(琵琶湖底泥中の元素に関する陸水学及び環境化学的研究)
- 第76号 A study on the behavior of monoterpenes in the atmosphere.(1985)
(大気中モノテルペンの挙動に関する研究)
- ※第77号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究—昭和58年度 特別研究報告.(1985)
- 第78号 生活環境保全に果たす生活者の役割の解明.(1985)
- 第79号 Studies on the method for long term environmental monitoring—Research report in 1980-1982.(1985)
(環境試料による汚染の長期的モニタリング手法に関する研究)
- ※第80号 海域における赤潮発生のモデル化に関する研究—昭和57/58年度 特別研究報告.(1985)
- ※第81号 環境影響評価制度の政策効果に関する研究—地方公共団体の制度運用を中心として.(1985)
- ※第82号 植物の大気環境浄化機能に関する研究—昭和57~58年度 特別研究報告.(1985)
- 第83号 Studies on chironomid midges of some lakes in Japan.(1985)
(日本の湖沼のユスリカの研究)
- ※第84号 重金属環境汚染による健康影響評価手法の開発に関する研究—昭和57~59年度 特別研究総合報告.(1985)
- 第85号 Studies on the rate constants of free radical reactions and related spectroscopic and thermochemical
parameters.(1985)
(フリーラジカルの反応速度と分光学的及び熱力学的パラメーターに関する研究)
- ※第86号 GC/MSスペクトルの検索システムに関する研究.(1986)
- 第87号 光化学二次汚染物質の分析とその細胞毒性に関する研究—昭和53~58年度 総合報告.(1986)
- ※第88号 都市域及びその周辺の自然環境等に係る環境指標の開発に関する研究II. 環境指標—応用例とシステム—昭和59年
度 特別研究報告.(1986)
- 第89号 Measuring the water quality of Lake Kasumigaura by LANDSAT remote sensing.(1986)
(LANDSATリモートセンシングによる霞ヶ浦の水質計測)
- ※第90号 ナショナルトラスト運動にみる自然保護にむけての住民意識と行動—知床国立公園内100平方メートル運動と天神崎
市民地主運動への参加者の分析を中心として.(1986)
- ※第91号 Economic analysis of man's utilization of environmental resources in aquatic environments and national
park regions.(1986)
(人間による環境資源利用の経済分析—水環境と国立公園地域を対象にして)
- ※第92号 アオコの増殖及び分解に関する研究.(1986)
- ※第93号 汚泥の土壌還元とその環境影響に関する研究(I)—昭和58~59年度 特別研究総合報告 第1分冊.(1986)
- ※第94号 汚泥の土壌還元とその環境影響に関する研究(II)—昭和58~59年度 特別研究総合報告 第2分冊.(1986)
- ※第95号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(I)—汚濁負荷の発生と流出・流達—昭和58~59年度 特別研究報
告.(1986)
- ※第96号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(II)—水草帯・河口域・池沼の生態系構造と機能—昭和58~59年
度 特別研究報告.(1986)
- ※第97号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(III)—水路及び土壌による水質の浄化—昭和58~59年度 特別研究
報告.(1986)
- ※第98号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(IV)—自然浄化機能を活用した処理技術の開発と応用—昭和58~
59年度 特別研究報告.(1986)
- ※第99号 有害汚染物質による水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究—昭和56~59年度 特別研究総合報告.(1986)
- ※第100号 バックグラウンド地域における環境汚染物質の長期モニタリング手法の研究—特定汚染選択的検出法及び高感度分
析技術の開発—昭和58~60年度 特別研究報告.(1986)
- 第101号 複合ガス状大気汚染物質の生体影響に関する実験的研究—昭和57~60年度 特別研究報告.(1986)
- ※第102号 地球規模大気質変動に関する予備的研究.(1986)
- 第103号 環境調和型技術としての電気自動車の評価に関する基礎的研究.(1987)
- ※第104号 Studies on chironomid midges in lakes of the Akan National Park.(1987)
(北海道阿寒国立公園の湖におけるユスリカ相の研究)
- ※第105号 畑地土壌における水分と諸元素の動態.(1987)
- ※第106号 筑波研究学園都市における景観評価と景観体験に関する研究.(1987)
- 第107号 遠隔計測による環境動態の評価手法の開発に関する研究—昭和59~60年度 特別研究報告.(1987)

- 第108号 植物の大気環境浄化機能に関する研究—昭和57～60年度 特別研究総合報告.(1987)
- ※第109号 地域環境評価のための環境情報システムに関する研究.(1987)
- 第110号 海域における赤潮発生のモデル化に関する研究—昭和59～60年度 特別研究総合報告.(1987)
- 第111号 Application of X-ray photoelectron spectroscopy to the study of silicate minerals.(1988)
(ケイ酸塩鉱物研究へのX線光電子分光法の応用)
- 第112号 光化学汚染大気中における有機エアロゾルに関する研究—有機エアロゾルの生成と挙動に関する研究—昭和58～61年度 特別研究報告.(1988)
- ※第113号 光化学汚染大気中における有機エアロゾルに関する研究—昭和58～61年度 特別研究総合報告.(1988)
- 第114号 水界生態系に及ぼす有害汚染物質の影響評価に関する研究—昭和60～61年度 特別研究報告.(1988)
- ※第115号 複合ガス状大気汚染物質の生体影響に関する実験的研究—昭和57～61年度 特別研究総合報告.(1988)
- 第116号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(V)—汚濁負荷の発生と流出・流達—昭和58～61年度 特別研究報告.(1988)
- ※第117号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(VI)—湖沼の生態系構造と自然浄化—昭和60～61年度 特別研究報告.(1988)
- ※第118号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(VII)—自然浄化機能を活用した水路・土壌による浄化と処理技術の開発—昭和60～61年度 特別研究報告.(1988)
- ※第119号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(VIII)—自然浄化システムの評価方法—昭和60～61年度 特別研究報告.(1988)
- ※第120号 自然浄化機能による水質改善に関する総合研究(IX)—昭和58～61年度 特別総合研究報告(1988)
- 第121号 Studies on the chironomid midges of lakes in Southern Hokkaido.(1988)
(北海道南部の湖におけるユスリカ相の研究)
- 第122号 擬似ランダム変調CWライダーの開発とフィールド観測への応用.(1989)
- 第123号 バックグラウンド地域における環境汚染物質の長期モニタリング手法の研究(II)—離島及び山岳地における大気汚染成分濃度とその変動—昭和58～62年度 特別研究報告.(1989)
- ※第124号 環境科学研究用に開発したニホンウズラの遺伝学的及び微生物学的特性.(1989)
- 第125号 Chironomidae of Japan: checklist of species recorded, key to males and taxonomic notes.(1989)
(日本及び東アジア産ユスリカ科のカタログと雄成虫の検索表)
- 第126号 バックグラウンド地域における環境汚染物質の長期モニタリング手法の研究(III)—摩周湖における水試料の代表性と底質中の汚染記録—昭和58～62年度 特別研究報告.(1989)
- 第127号 新潟県六日町における消雪用揚水に伴う地盤沈下性状.(1990)

(改称)

国立環境研究所研究報告

- 第128号 Development of an intelligent decision support system for environmental modeling and planning.(1991)
(環境のモデリングと計画のための知的意思決定支援システムの開発)
- 第129号 先端技術における化学環境の解明に関する研究(I)—塩化ジベンゾフランとダイオキシン—昭和62年度～平成元年度 特別研究報告.(1991)
- 第130号 都市型環境汚染による健康影響・リスクの環境保健モニタリング手法に関する研究.(1993)
- 第131号 アスベストの新分析法に関する研究.(1993)

※ 残部なし

Report of Special Research Project of the National Institute for Environmental Studies:

- ※No. 1* Man activity and aquatic environment—with special references to Lake Kasumigaura—Progress report in, 1976.(1977)
- ※No. 2* Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants—Progress report in 1976-1977.(1978)

Research Report from the National Institute for Environmental Studies*:

- ※No. 3 A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus Chironomus (Diptera, Chironomidae).(1978)
- ※No. 4* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system—Progress report in 1977.(1978)
- ※No. 5* Studies on the photooxidation products of the alkylbenzene-nitrogen oxides system, and on their effects on cultured cells—Research report in 1976-1977.(1978)
- ※No. 6* Man activity and aquatic environment—with special references to Lake Kasumigaura—Progress report in 1977-1978.(1979)
- ※No. 7 A morphological study of adults and immature stages of 20 Japanese species of the family Chironomidae (Diptera).(1979)
- ※No. 8* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants—Research report in 1977-1978.(1979)
- ※No. 9* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system—Progress report in 1978.(1979)
- ※No. 10* Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants—Progress report in 1976-1978.(1979)
- ※No. 11 Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity.(1980)
- ※No. 12 Multielement analysis studies by flame and inductively coupled plasma spectroscopy utilizing computer -controlled instrumentation.(1980)
- ※No. 13 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1980)
 - Part 1. The distribution of chironomid species in a tributary in relation to the degree of pollution with sewage water.
 - Part 2. Description of 20 species of Chironominae recovered from a tributary.
- ※No. 14* Studies on the effects of organic wastes on the soil ecosystem—Progress report in 1978-1979.(1980)
- ※No. 15* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants—Research report in 1979.(1980)
- ※No. 16* Remote measurement of air pollution by a mobile laser radar.(1980)
- ※No. 17* Influence of buoyancy on fluid motions and transport processes—Meteorological characteristics and atmospheric diffusion phenomena in the coastal region—Progress report in 1978-1979.(1980)
- ※No. 18 Preparation, analysis and certification of PEPPERBUSH standard reference material.(1980)
- ※No. 19* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Lake current of Kasumigaura(Nishiura)—1978-1979.(1981)
- ※No. 20* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Geomorphological and hydrometeorological characteristics of Kasumigaura watershed as related to the lake environment—1978-1979.(1981)
- ※No. 21* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Variation of pollutant load by influent rivers to Lake Kasumigaura—1978-1979.(1981)
- ※No. 22* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Structure of ecosystem and standing crops in Lake Kasumigaura—1978-1979.(1981)
- ※No. 23* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Applicability of trophic state indices for lakes—1978-1979.(1981)
- ※No. 24* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Quantitative analysis of eutrophication effects on main utilization of lake water resources—1978-1979.(1981)
- ※No. 25* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Growth characteristics of Blue-Green Algae, *Mycrocystis*—1978-1979.(1981)
- ※No. 26* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Determination of argal growth potential by algal assay procedure—1978-1979.(1981)
- ※No. 27* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas—Summary of researches—1978-1979.(1981)
- ※No. 28* Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Progress report in 1979-1980.(1981)
- ※No. 29 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1981)
 - Part 3. Species of the subfamily Orthocladiinae recorded at the summer survey and their distribution in relation to the pollution with sewage waters.
 - Part 4. Chironomidae recorded at a winter survey.
- ※No. 30* Eutrophication and red tides in the coastal marine environment—Progress report in 1979-1980.(1982)
- ※No. 31* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants—Research report in 1980.(1981)

* Starting with Report No.3, the series title was changed.

- ※No. 32* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system—Progress report in 1979—Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere (Part 1).(1982)
- ※No. 33* Meteorological characteristics and atmospheric diffusion phenomena in the coastal region—Simulation of atmospheric motions and diffusion processes—Progress report in 1980.(1982)
- ※No. 34* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution—Research report in 1980.(1982)
- ※No. 35* Comprehensive evaluation of environmental impacts of road and traffic.(1982)
- ※No. 36* Studies on the method for long term environmental monitoring—Progress report in 1980-1981.(1982)
- ※No. 37* Study on supporting technology for systems analysis of environmental policy—The Evaluation Laboratory of Man-Environment Systems.(1982)
- ※No. 38 Preparation, analysis and certification of POND SEDIMENT certified reference material.(1982)
- ※No. 39* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution—Research report in 1981.(1983)
- ※No. 40* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants—Research report in 1981.(1983)
- ※No. 41* Statistical studies on methods of measurement and evaluation of chemical condition of soil—with special reference to heavy metals—.(1983)
- ※No. 42* Experimental studies on the physical properties of mud and the characteristics of mud transportation. (1983)
- No. 43 Studies on chironomid midges of the Tama River.(1983)
 - Part 5. An observation on the distribution of Chironominae along the main stream in June, with description of 15 new species.
 - Part 6. Description of species of the subfamily Orthocladiinae recovered from the main stream in the June survey.
 - Part 7. Additional species collected in winter from the main stream.
- No. 44* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system—Progress report in 1979—Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere(Part 2).(1983)
- ※No. 45* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem—Outlines of special research project—1978-1980.(1983)
- ※No. 46* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem—Research report in 1979-1980,Part 1.(1983)
- ※No. 47* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem—Research report in 1979-1980,Part 2.(1983)
- ※No. 48* Study on optimal allocation of water quality monitoring points.(1983)
- No. 49* The development and evaluation of remote measurement method for environmental pollution—Research report in 1982.(1984)
- ※No. 50* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Estimation of input loading of Lake Kasumigaura—1980-1982.(1984)
- ※No. 51* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—The function of the ecosystem and significance of sediment in nutrient cycle in Lake Kasumigaura—1980-1982.(1984)
- ※No. 52* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Enclosure experiments for restoration of highly eutrophic shallow Lake Kasumigaura—1980-1982.(1984)
- No. 53* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Seasonal changes of the biomass of fishes and crustacia in Lake Kasumigaura—1980-1982.(1984)
- ※No. 54* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Modeling the eutrophication of Lake Kasumigaura—1980-1982.(1984)
- No. 55* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Measures for eutrophication control—1980-1982.(1984)
- ※No. 56* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Eutrophication in Lake Yunoko—1980-1982.(1984)
- ※No. 57* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters—Summary of researches—1980-1982. (1984)
- No. 58* Studies on the method for long term environmental monitoring—Outlines of special research project in 1980-1982.(1984)
- No. 59* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system—Photochemical ozone formation studied by the evacuable smog chamber—Atmospheric photooxidation mechanisms of selected organic compounds—Research report in 1980-1982, Part 1.(1984)
- No. 60* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system—Formation mechanisms of photochemical aerosol—Research report in 1980-1982, Part 2.(1984)
- No. 61* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system—Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere(Part 1)—Research report in 1980-1982, Part 3.(1984)
- ※No. 62* Effects of toxic substances on aquatic ecosystems—Progress report in 1980-1983.(1984)

- ※No. 63* Eutrophication and red tides in the coastal marine environment—Progress report in 1981.(1984)
- ※No. 64* Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Final report in 1979-1981.(1984)
- ※No. 65 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 1.(1984)
- ※No. 66 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 2.(1984)
- ※No. 67* Studies on unfavourable effects on human body regarding to several toxic materials in the environment, using epidemiological and analytical techniques—Project research report in 1979-1981.(1984)
- ※No. 68* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil—Research report in 1981-1983.(1984)
- ※No. 69 Fundamental studies on the eutrophication of Lake Chuzenji—Basic research report.(1984)
- ※No. 70 Studies on chironomid midges in lakes of the Nikko National Park.
Part I. Ecological studies on chironomids in lakes of the Nikko National Park.
Part II. Taxonomical and morphological studies on the chironomid species collected from lakes in the Nikko National Park.(1984)
- ※No. 71* Analysis on distributions of remnant snowpack and snow patch vegetation by remote sensing.(1984)
- No. 72* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system—Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere—Research report in 1980-1982, Part 4.(1985)
- ※No. 73* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system—Final report in 1980-1982.(1985)
- ※No. 74* A comprehensive study on the development of indices system for urban and suburban environmental quality—Environmental indices—Basic notion and formation.(1984)
- No. 75 Limnological and environmental studies of elements in the sediment of Lake Biwa.(1985)
- No. 76 A study on the behavior of monoterpenes in the atmosphere.(1985)
- ※No. 77* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution—Research report in 1983.(1985)
- No. 78* Study on residents' role in conserving the living environment.(1985)
- No. 79 Studies on the method for long term environmental monitoring—Research report in 1980-1982.(1985)
- ※No. 80* Modeling of red tide blooms in the coastal sea—Research report in 1982-1983.(1985)
- ※No. 81* A studies on effects of implementing environmental impact assessment procedure—With particular reference to implementation by local governments.(1985)
- ※No. 82* Studies on the role of vegetation as a sink of air pollutants—Research report in 1982-1983.(1985)
- No. 83 Studies on chironomid midges of some lakes in Japan.(1985)
- ※No. 84* A comprehensive study on the development of assessment techniques for health effects due to environmental heavy metal exposure—Final report in 1982-1984.(1985)
- No. 85 Studies on the rate constants of free radical reactions and related spectroscopic and thermochemical parameters.(1985)
- ※No. 86* A novel retrieval system for identifications of unknown mass spectra.(1985)
- No. 87* Analysis of the photochemical secondary pollutants and their toxicity on cultured cells—Research report in 1978-1983.(1986)
- ※No. 88* A comprehensive study on the development of indices systems for urban and suburban environmental quality II—Environmental indices—Applications and systems.(1986)
- No. 89 Measuring the water quality of Lake Kasumigaura by LANDSAT remote sensing.(1986)
- ※No. 90* National trust movement in Japanese nature conservation—Trustworthy or illusion?(1986)
- ※No. 91 Economic analysis of man's utilization of environmental resources in aquatic environments and national park regions.(1986)
- ※No. 92* Studies on the growth and decomposition of water-bloom of Microcystis.(1986)
- ※No. 93* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil(I)—Research report and papers(Part 1)in 1983-1984.(1986)
- ※No. 94* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil(II)—Research report and papers(Part 2)in 1983-1984.(1986)
- ※No. 95* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(I)
—Drainage and flowing down of pollutant load—Research report in 1983-1984.(1986)
- ※No. 96* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(II)
—Structure and function of the ecosystems of littoral zone—Research report in 1983-1984.(1986)
- ※No. 97* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(III)
—Self-purification in stream and soil—Research report in 1983-1984.(1986)
- ※No. 98* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(IV)
—Development and application of wastewater treatment technologies utilizing self-purification ability—Research report in 1983-1984.(1986)
- ※No. 99* Effects of toxic substances on aquatic ecosystems—Final report in 1981-1984.(1986)
- ※No.100* Studies on the methods for long-term monitoring of environmental pollutants in the background regions
—Development of highly sensitive and selective analytical methods for measurement of pollutants in the background regions—Progress report in 1983-1985.(1986)

- No.101* Experimental studies on the effects of gaseous air pollutants in combination on animals.(1986)
- ※No.102* A review on studies of the global scale air quality perturbation.(1986)
- No.103* Technological assessment of electric vehicle from the environmental protection viewpoint.(1987)
- ※No.104 Studies on chironomid midges in lakes of the Akan National Park.(1987)
Part I .Distribution of chironomid larvae in Lake Akan, Lake Panke and Lake Kussyaro.
Part II.Chironomid midges collected on the shore of lakes in the Akan National Park, Hokkaido
(Diptera, Chironomidae)
- ※No.105* Formulation of the dynamic behavior of water and solutes leaching through the field soil.(1987)
- ※No.106* Appraised landscape and thier environmental value in Tsukuba Science City.(1987)
- No.107* Studies on remote sensing for spatial and temporal analysis of environment--Research report in 1984-1985.
(1987)
- No.108* Studies on the role of vegetation as a sink of air pollutants--Final report in 1982-1985.(1987)
- ※No.109* Studies on environmental information system for regional environmental evaluation.(1987)
- No.110* Modeling of red tide blooms in the coastal sea--Final report in 1984-1985.(1987)
- No.111 Application of X-ray photoelectron spectroscopy to the study of silicate minerals.(1988)
- No.112* Study on the organic aerosols in the photochemically polluted air--Studies on formation and behavior of organic aerosols--Research report in 1983-1986.(1988)
- ※No.113* Study on the organic aerosols in the photochemically Polluted air--Final report in 1983-1986.(1988)
- No.114* Studies on the assessment of the hazard of chemical substances to aquatic ecosystems--progress report in 1985-1986.(1988)
- ※No.115* Experimental studies on the effects of gaseous air pollutants in combination on animals--Final report in 1982-1986.(1988)
- No.116* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(V)
-Drainage and flowing down of pollutant load--Research report in 1983-1986.(1988)
- ※No.117* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(VI)
-Lake restoration and ecosystems--Research report in 1983-1986.(1988)
- ※No.118* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(VII)
-Use of self-purification in soil and stream, and development of biological waste water treatment technology--Research report in 1985-1986.(1988)
- ※No.119* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(VIII)
-Evaluation methods of self-purification water treatment system--Research report in 1985-1986.(1988)
- ※No.120* Comprehensive studies on effective use of natural ecosystems for water quality management(IX)
-Final report in 1983-1986.(1988)
- No.121 Studies on the chronomid midges of lakes in Southren Hokkaido.(1988)
- No.122* Development of pseudo-random modulation CW lidar and its application to field measurements.(1989)
- No.123* Studies on the methods for long-term monitoring of environmental pollutants in the background regions (II)
-Atmospheric pollutants on the remote island and mountains : concentrations and variations--Research report for FY 1983-1987.(1989)
- ※No.124* Studies on the genetic and microbiological characteristics of the Japanese quail exploited for the research of environmental science.(1989)
- No.125 Chironomidae of Japan : checklist of species recorded, key to males and taxonomic notes.(1989)
- No.126* Studies on the methods for long-term monitoring of environmental pollutants in the background regions (III)
-Representativeness of water samples and historical change of pollutants in sediment of Lake Mashu--
Research report for FY 1983-1987.(1990)
- No.127* Land subsidence caused by pumping for melting snow in Muika-machi, Niigata Prefecture.(1990)
- No.128 Development of an intelligent decision support system for environmental modeling and planning.(1991)
- No.129* Studies for a systematic evaluation of chemospher under highly advanced technologies (I)--Chlorinated dibenzofurans and chlorinated dibenzodioxins--Research report for FY 1987-1990.(1991)
- No.130* A comprehensive study on the methods of monitoring on the hearth effects/risk of environmental pollutions in urbanized area.(1993)
- No.131* Studies on the new methods of asbestos analysis.(1993)

* in Japanese
※ out of stock

編集小委員会

委員長	高松 武次郎	委員	瀬山 春彦
委員長代理	松本 幸雄	〃	鈴木 明
委員	栗原 崇	〃	鶴野 伊津志
〃	原島 省	〃	田中 浄
〃	永田 尚志	〃	大坪 国順子
〃	高橋 慎司	事務局	松井 文子
〃	山形 与志樹		

【平成5年4月27日編集小委員会受付】

【平成5年6月11日編集小委員会受理】

RESEARCH REPORT FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

No. 131

国立環境研究所研究報告 第131号
(R-131-'93)

平成5年9月30日発行

発行 環境庁 国立環境研究所

〒305 茨城県つくば市小野川16番2

電話 0298-51-6111(代表)

印刷 株式会社 エリート印刷

〒300-12 茨城県牛久市柏田町3269

Published by the National Institute for Environmental Studies
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305 Japan
September 1993

本報告書は再生紙を使用しています。