

アスベスト定性分析のための顕微鏡自動観察装置の開発

Development of an Automated Microscopic Observation System for Asbestos Qualitative Analysis

○正 川端 邦明 (理研) 森下壮一郎 (東大)
 正 竹村 裕 (東理大) 堀田 一弘 (電通大)
 三島 健稔 (埼玉大) 正 浅間 一 (東大)
 正 溝口 博 (東理大)

Kuniaki KAWABATA, RIKEN, kuniakik@riken.jp
 Soichiro MORISHITA, The Univ. of Tokyo
 Hiroshi TAKEMURA, Tokyo Univ. of Science
 Kazuhiro HOTTA, The Univ. of Elect. Comm.
 Taketoshi MISHIMA, Saitama Univ.
 Hajime ASAMA, The Univ. of Tokyo
 Hiroshi MIZOGUCHI, Tokyo Univ. of Science

Abstract: This paper describes to introduce an automated microscopic observation system for supporting asbestos qualitative analysis work. One of major method for visual asbestos qualitative evaluation method is the dispersion staining method. In a usual visual observation process of it, the operators check the asbestos fibers in the view of the microscope and count the number of the fibrous asbestos fibers. For supporting such works, we are developing an automated microscopic observation system for asbestos qualitative analysis. The system can take the images by mounted microscope and save them to the database automatically. In this paper, we introduce the system concept and the performance by using developed prototype system.

Key Words: Asbestos, Microscopic Observation system, Qualitative analysis, Automated microscopic system

1. はじめに

アスベストは軽量性、抗張力、耐熱性、耐薬品性、防音性、電気絶縁性、耐久性等に非常に優れる上に安価であるため、奇跡の鉱物として大量に使用されてきた天然鉱物である。アスベストは、一般住宅やビル、学校等を建設する際に吹き付け材や保温材、成型板等として多くの建材に広く用いられてきた。しかし、飛散したアスベストは大量に曝露すると肺に刺さり、20～40年の潜伏期間を経て悪性中皮種、肺癌、アスベスト肺などの健康被害をもたらすということが明らかになった。このようなアスベスト問題への対策の一環[1]として、建築物に使用されている建材中に健康被害を及ぼす程度のアスベストが含まれているか否かを調査するアスベスト分析が必要不可欠になっている。

アスベスト分析には建材中に健康被害を引き起こす程度のアスベスト結晶が含有しているか否かを分析する定性分析と、アスベストの含有率を算出する定量分析が存在する。定性分析ではX線回折分析法と目視による分析法の2つの方法が併用される。X線回折分析法は従来研究によって既に自動化が実現されているが、目視による大変な労力と時間が費やされ、作業効率を低下させる要因となっている。近年のアスベスト問題の深刻化に伴い、アスベスト分析の社会的なニーズが高まっており、分析作業の効率化は急務となっている。

そこで本研究では、アスベスト定性分析のうちの一手法である分散染色法による判定を支援するシステムを開発することを目的としている。具体的には、後述する分散染色法に基づいた目視による定性分析作業の支援を対象としている。本稿では、支援実現のための基盤となる分析対象試料の自動観察装置に関して報告する。

2. アスベスト定性分析

定性分析とは、試料中にアスベスト結晶が含まれているか否かを調べることを指す。定性分析にはX線回折分析法と分散染色法という2つの方法があり、その両者の結果からアス

ベスト含有の有無を判定する。X線回折分析法は、標本にX線を照射することによって得られるX線の回折ピークがアスベスト固有の回折ピークと一致するか否かによってアスベスト含有の有無を判定する方法である。目視による分析法のうち代表的なものである分散染色法は、浸液と偏光によりアスベスト結晶を分散色で識別する方法である。

顕微鏡を用いた分散染色法の具体的な方法はJIS規格[2]により、以下のように定められている。

1. 標本作成器具を用いて作製したサンプルを分散対物レンズ10倍で見て分散色を示す繊維があるかを調べ、あれば分散対物レンズを40倍に切り替える。
2. 接眼レンズ10倍の視野内の領域中に含まれる全ての粒子を1000粒子になるまで計数し、その中にアスベスト固有の分散色を示すアスベスト結晶があった場合はアスベストの種類及び数を記録する。ここで、粒子とは全ての物質であり、種類、大きさ、形状に関わらず視野内の粒子は全て1つの粒子として計数する。アスベスト固有の分散色は表1のようにJISでは規定されている。
3. 上記処理を屈折率の異なる3種類の浸液に対して行い、合計3000粒子中にアスベスト比が3.0以上のアスベスト結晶が4繊維以上存在するか否かを調べる。

この結果とX線回折分析法の結果を照らし合わせて表2で示す手順によりアスベスト結晶の含有の有無を判定する。

Table 1 Dispersion color of asbestos fiber

アスベストの種類	屈折率	分散色
クリソタイル	1.550	赤紫～青色
アモサイト	1.680	桃色
	1.700	青色
クロソドライト	1.680	橙色
	1.700	青色

Table 2 Qualitative analysis decision criteria

X線回折法	回折ピーク有り	回折ピーク無し
	分散染色法	
3000 粒子中 4 繊維以上	定量分析へ	定量分析へ
3000 粒子中 4 繊維	分散染色法で 再分析	アスベスト 非含有試料

ここで、分散染色法の作業効率を低下させている最も大きな要因は、アスベスト結晶の計数を目視で行うということである。顕微鏡を用いて長時間に渡って計数し続けるため、大変な労力や時間、集中力を必要とすることは容易に想像できる。実際に、現場でのインタビューからも1日10件の試料について分析するのが限界であるということがわかっている。

3. 分散染色法支援装置

本研究では、この非常に負荷のかかる分散染色法による分析作業の効率化を支援するため技術開発を行うことを目的としている。既に、画像処理を用いたアスベスト評価手法などに取り組んでいるが、公定法においては評価のための画像を収集する（顕微鏡を用いて観察視野を選択する）ことも大きな負担となっている。

そこで、本稿では、観察対象領域を指定することで、その領域内をシームレスに撮像可能な装置の開発を試みた。これまでも、Magiscan[3],[4]やAFACS[5],[6]といった画像評価も含めたシステムが研究開発されてきたが、これらは空气中に飛散したアスベスト結晶を対象サンプルとしたものである。空气中に飛散した場合、サンプリングにはアスベスト以外には超微粒子が含まれるのみであることから、顕微鏡画像内には、視認可能なサイズの粒子はほとんど含まれない。

一方で、本研究の対象とする建材中に含まれるアスベスト結晶に関する分析では、建材そのものから試料をサンプリングすることから、他の物質やアスベスト結晶と同程度の粒子が常に含まれることになる。このため、分散染色法により、アスベスト結晶と粒子の視覚的な分別を容易にするようなアプローチがよく採用されている。つまり、建材中のアスベスト含有についての分析には、分散染色法を念頭においた装置でなければならない。

ここで、公定法[2]の分散染色法による観察を参考に以下のような機能を観察装置に最低限実装する必要があると考えられる。

- 撮像範囲や位置を任意に指定。
- 偏光板角度の指定、制御。
- 撮像画像の自動保存。
- 上記機能の計算機による同期制御

それぞれは、公定法により任意に視野を選択して粒子・アスベスト結晶の計数することが規定されていること、分散染色法の特徴である分散色変化検出を積極的に利用すること、公定法では観察後に計数結果と観察対象（の位置）の整合がとれないこと、等に対応している。

ここで、これらの点を考慮にいった自動観察装置を試作した。図1は試作システムの外観を示しており、図2はシステム構成について示している。具体的には、計算機(PC)を中心に表3に示すような機器により、システム化を行った。



Fig. 1 Outlook of developed prototype system

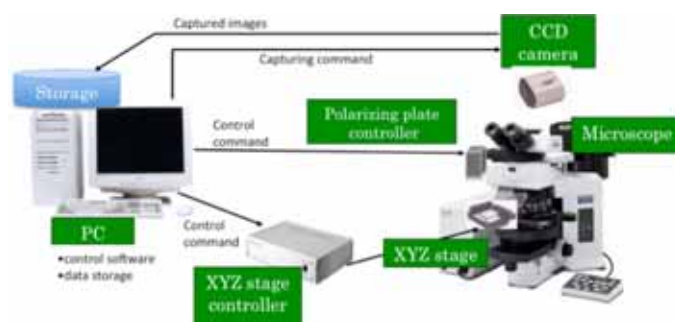


Fig. 2 System Configuration

Table 3 Specification of the devices

機器・名称	仕様
コンピューター制御型 位相差分散顕微鏡 OLYMPUS社製 BX61N-33DPH	位相差用プランクロマート 対物レンズ(×10, ×40) 分散用対物レンズ (×10, ×40) 装備
自動制御型回転アナライザ	偏光板回転角度分解能 1° (最高 0.01°)
電子冷却型カラーCCDカメラ QImaging社製 Retiga 4000R-C-Color	1" インターライン CCD 解像 度 2048×2048 ピクセルサイズ 7.4×7.4μm RGB各12bit出力 周囲温度から-25°C冷却 IEEE1394 インターフェース
電動ステージ Prior Scientific社製 ProScan H101	トラベルレンジ 108×67mm 繰り返し精度±1μm
計算機(PC), 撮像データ保存	Dual Core Xeon 3.0GHz, 4GB RDRAM, 750GB HDD×2 RAID Level10 Windows XP Professional x64

ここで、分散染色法を実施するにあたり、規格では位相差分散顕微鏡の使用が定められていることから、計算機に接続して制御可能なOLYMPUS社BX61を採用した。透過光源が顕微鏡下部に設置されており、観察対象下側から光を充ててプレパラートを観察するタイプとなっている。また、上記顕微鏡に接続するカメラとして、QImaging社のRetiga 4000Rを採用した。細かいスペックは表3に示すが、画像処理・分析ライ

ブラリソフトウェアである Image-Pro Plus と連携して動作することで、撮像条件の設定等を設定可能になっている。現在の仕様では、Multi-TIFF 形式で、36bit-color(RGB 各 12bit), 24bit-color(RGB 各 8bit), 12bit-mono, 8bit-mono として画像を保存可能となっている。分散染色法を用いるにあたり色情報は必要であるが、解像度に関してはファイルサイズとも関連するため、どの程度ものが必要かについては今後の実験や研究を通じて設定していく予定である。

撮像は顕微鏡の対物レンズ下部に設置した観察対象のプレパラートをのせる XYZ ステージを移動させるで行う。撮像のために事前に、XYZ ステージにより機械的な原点位置出しを自動的に行う。これが、以降の行程での座標原点となる。さらに観察領域指定は、顕微鏡付属のジョイスティックと PC 上の GUI により、領域の右下、左上それぞれの端点を指定する。これにより、原点と右下、左上の 3 点により撮像領域が決定される。通常のプレパラートでは用いない場合が多いが、各点でフォーカス位置を計測し、撮像対象面を計算することで面に沿ったフォーカスを調整しての撮像も可能となっている。

偏光板（アナライザーともいう）角度については、顕微鏡に設置した角度分解能 0.01° のステップモータを用いた制御装置を計算機からドライバを介して制御する方式を採用した。公定法によれば、偏光板を 90° もしくはそれ以上回転させることで分散色が視認しやすくなると記載されている。そこで、実用的な観察用角度分解能を 1° とし、 $0^\circ \sim 180^\circ$ の範囲を回転動作可能として設計した。

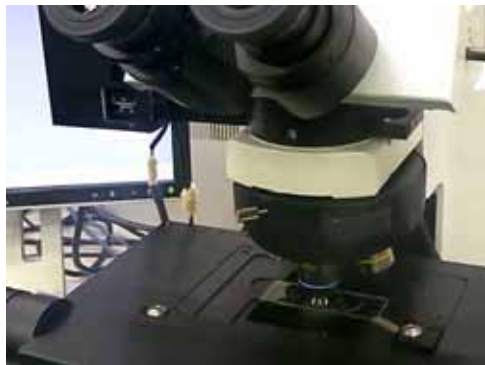


Fig. 3 XYZ-stage and automated polarizing plate

4. 開発装置による撮像

ここで試作した撮像システムを用いて動作について検証した。公定法においては、観察視野を任意に選択して粒子およびアスベスト結晶を計数することになっている。ここでは、より精度の高い評価を実施するためには観察対象に含まれる粒子やアスベスト結晶を全て計数することが重要と考え、観察視野を平行移動して全領域を撮像するアプローチをとることとした。観察対象は、一般的なスライドガラス上に人手によりセットされた 22mm 角のカバーガラスの内部としている。手作業によりセットされたカバーガラスの有効撮像領域が 10mm 角であるとすると、顕微鏡による 1 回の撮像範囲が $0.379[\text{mm}]$ 角であることから、画像 729 個分を撮像することになる。

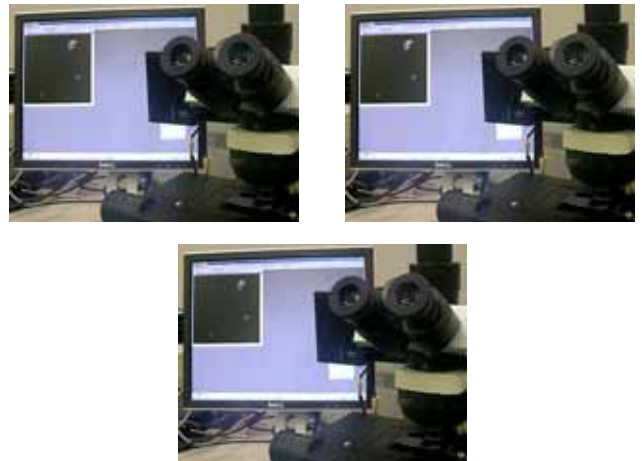


Fig. 4 Examples of image capturing experiment

ここで図 4 は、試作したシステムで実際に偏光板と撮像シャッターを同期制御（偏光板を 0° , 45° , 90° の三つに設定）して撮像している様子を示している。奥モニター上の発光が微妙ではあるが変化していることが確認できる。前述のように 36bit-color Multi-TIFF 形式で保存すると、1 枚の局所画像が約 $18.45[\text{MB}]$ 程度で、各地点で偏光角度を 3 パターンずつ 10mm 角撮像領域内で欠損無く撮像すると、1 サンプルで約 $40.4[\text{GB}]$ のファイル容量を必要とする。

撮像には、偏光板制御とカメラのシャッター制御を交互に行う必要があるが、試作システムでは、偏光板制御コマンドをコントローラに送り、回転終了レスポンスがあった後に指定されたカメラ露光時間で撮影する、というプロセスを繰り返し行うことでこれを実現している。ここで、理論値ではあるが、画像の取り込み： $1.0[\text{sec}]$ 、偏光板回転および画像データ保存、ステージ移動： $0.5[\text{sec}]$ が必要となっており、前述のカバーガラスのうち 10mm 角の面積を偏光 3 パターンで撮像するためには、 $4.5[\text{sec}] \times 729 = 3280[\text{sec}]$ （約 55 分）が必要となる計算になる。

このようにして撮像されたデータは、オンラインで HDD に試料の ID と位置を示す ID によって保存される。各撮像データは GUI 上で個別に呼び出して、拡大・縮小表示できるとともに、位置 ID に基づいてタイル状に復元して、全体像を俯瞰するといった機能も実装されている。

本稿ではこれまで把握している必要要件を満たす機能試作の報告にとどまるが、現場の作業員とのディスカッションをさらに行うことで、より実用的な仕様出しをしていく予定である。

5. まとめ

本稿では、建材中に含まれるアスベスト含有分析において重要な定性分析手法である分散染色法を支援するための自動観察装置の開発について述べた。公定法の手順に基づき、偏光板角度制御および顕微鏡による撮像、画像データ保存を自動的に実行するシステムを試作した。本システムの開発により、少なくとも観察領域を網羅的にカバーして撮像に関する省力化は実現された。

今後の課題は、現在開発中である画像処理を用いたアスベスト結晶や粒子検出手法[7], [8]との融合を行うことで、自動計数を行うシステムを構築することである。

謝 辞

本研究の一部は、環境省廃棄物処理等科学研究費補助金（課題番号：K1920）および竹田理化工業株式会社の支援を受けて実施されたものである。また、(財)建材試験センターにおいては、貴重なインタビュー・コメントの機会を頂戴した。ここに記して謝意を表する。

文 献

- [1] Furuo S., Nagakura F., Natori Y., & Nakachi S., (2001) Japanese Situation on Asbestos Issues and BANJAN's Activities, *Asbestos Taisakujouhou*, No.29-3, 42-63
- [2] JIS (Japanese Industrial Standard) A 1481: 2006(J) (2006) Determination of asbestos in building material products
- [3] Baron P. A., & Shulman, S. A. (1987) Evaluation of the Magiscan image analyzer for asbestos fiber counting, *Am Ind Hyg Assoc J*, 48(1), 39-46
- [4] Kenny L. C., Asbestos fibre counting by image analysis – the performance of the Manchester asbestos program on Magiscan, *Ann Occup Hyg*, 28(4), 401-415
- [5] Inoue Y, Kaga A, and Yamaguchi K., (1998) Development of an automatic system for counting asbestos fibers using image processing, *Particul Sci Technol*, 16(4), 263-279
- [6] Inoue Y, Kaga A, and Yamaguchi K., (1999) Cross-check between automatic counting system and visual counting facilities of asbestos fibers, *J Aerosol Res Jpn*, 14(2), 129-137
- [7] 熊谷, 森下, 川端, 浅間, 三島 (2007) “背景差分を用いたアスベスト計数法の精度向上のための背景画像ノイズ除去”, 計測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会講演論文集, pp1270-1271
- [8] 渡邊, 森下, 川端, 浅間, 三島 (2007) “アスベスト定性分析における高次自己相関自己相関特徴を用いた粒子計数”, 計測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会講演論文集, pp431-432