

Arpa EMILIA-ROMAGNA	METODO DI PROVA	M/C/AM/001/RE
<i>Determinazione qualitativa e quantitativa delle concentrazioni di fibre di amianto in acque destinate al consumo umano mediante la tecnica della microscopia elettronica a scansione (SEM)</i>		Revisione 1 del 02/05/2011 Pag. 1 di 8

DETERMINAZIONE QUALITATIVA E QUANTITATIVA DELLE CONCENTRAZIONI DI FIBRE DI AMIANTO IN ACQUE DESTINATE AL COSUMO UMANO, MEDIANTE LA TECNICA DELLA MICROSCOPIA ELETTRONICA A SCANSIONE (SEM)

Indice

1. SCOPO
2. CAMPO DI APPLICAZIONE
3. AVVERTENZE E PRECAUZIONI
4. PRINCIPIO DEL METODO
5. PRODOTTI PER LE PROVE
6. APPARECCHIATURE E ATTREZZATURE
7. CONDIZIONI AMBIENTALI
8. PERSONALE
9. PROCEDIMENTO
10. ESPRESSIONE DEI RISULTATI
 - 10.1 CALCOLO, TRASFERIMENTO DEI DATI E ARCHIVIAZIONE
 - 10.2 VALIDAZIONE DEL METODO
 - 10.3 INCERTEZZA DI MISURA
11. CONTROLLO DI QUALITA' ANALITICO (CQA)
12. RIFERIMENTI
13. ALLEGATI
 - N.1 Modulo di lettura
14. TABELLA RIASSUNTIVA DELLE REVISIONI

Rev.	Natura modifica		
1	Precisazioni cap 5 e 9.5		
Redazione	Verifica	Approvazione	
RRAR G. Pecchini	RDQ di Sezione C. Guidetti	RLI S. Sparagli	
		In vigore dal 02/05/2011	

Arpa EMILIA-ROMAGNA	METODO DI PROVA	M/C/AM/001/RE
<i>Determinazione qualitativa e quantitativa delle concentrazioni di fibre di amianto in acque destinate al consumo umano mediante la tecnica della microscopia elettronica a scansione (SEM)</i>		Revisione 1 del 02/05/2011 Pag. 2 di 8

1. SCOPO

Il presente metodo di prova consente di valutare la concentrazione di fibre di amianto sospese in acque destinate al consumo umano provenienti da rete acquedottistica urbana in condotte di cemento amianto.

2. CAMPO DI APPLICAZIONE

Il metodo è applicato a campioni di acque destinate al consumo umano provenienti da rete acquedottistica urbana in condotte di cemento amianto per verificare la presenza di amianto derivante dalla cessione della rete stessa.

3. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il seguente metodo richiede l'impiego di sostanze pericolose e pertanto si devono adottare le precauzioni previste dalle schede di sicurezza depositate nella stanza L.07.

Con il seguente metodo si può venire a contatto con materiale pericoloso e/o cancerogeno e pertanto è necessario operare sotto cappa nell'apertura e preparazione del campione e degli standard ed adoperare i seguenti DPI:

- ☐ Respiratore per polveri nocive, tossiche, fumi e nebbie (codice FFP3S EN 149)
- ☐ Guanti in lattice per esplorazione deproteinizzati e ipoallergenici.

Nella manipolazione degli standard di amianto operare in momenti separati dalla preparazione e lettura delle membrane.

Nella preparazione dei campioni evitare capovolgimenti o movimenti bruschi tali da turbare la deposizione del materiale sul filtro.

Accertarsi della presenza di azoto liquido nel serbatoio del detector di raggi x del microscopio elettronico all'inizio di ogni giornata.

4. PRINCIPIO DEL METODO

Il metodo si basa sul riconoscimento mediante spettroscopia X a dispersione di energia delle fibre di amianto presenti su di un filtro a membrana di policarbonato di porosità di 0.8 µm e relativo conteggio.

5. PRODOTTI PER LE PROVE

- ☐ Bacchette di grafite per carbonizzatore.
- ☐ Standard di amianto Crisotilo, Crocidolite, Amosite
- ☐ Filtri di policarbonato porosità 0.4 µm diametro 47 mm
- ☐ Filtri di esteri misti porosità 5/8 µm diametro 47 mm

Arpa EMILIA-ROMAGNA	METODO DI PROVA	M/C/AM/001/RE
<i>Determinazione qualitativa e quantitativa delle concentrazioni di fibre di amianto in acque destinate al consumo umano mediante la tecnica della microscopia elettronica a scansione (SEM)</i>	Revisione 1 del 02/05/2011 Pag. 3 di 8	

6. APPARECCHIATURE ED ATTREZZATURE

- ☐ Microscopio elettronico a scansione (SEM)
- ☐ Spettrometro a raggi X a dispersione di energia
- ☐ Carbonizzatore (Carbon coater)
- ☐ Portacampioni o stub in alluminio con relativi supporti biadesivi
- ☐ Sistema di filtrazione sotto vuoto per acque con area di deposizione utile di diametro 36mm
- ☐ Normale attrezzatura da laboratorio

7. CONDIZIONI AMBIENTALI

Non sono richieste specifiche condizioni ambientali per questo tipo di prova.

Periodicamente si verifica la presenza di fibre di amianto aerodisperse nei locali del laboratorio dedicati a tali prove, per verificare eventuali contaminazioni ambientali che possano influenzare il risultato analitico.

8. PERSONALE

Il personale addetto alle prove deve possedere comprovata esperienza all'utilizzo del microscopio elettronico.

9. PROCEDIMENTO

9.1 Preparazione del campione

Il campione conferito viene omogeneizzato con agitazione manuale. Si misura un volume di 2 l di acqua potabile con pallone tarato da 2 l precedentemente campionata dalla rete acquedottistica.

Si consiglia di procedere alla filtrazione del campione entro pochi giorni (previa conservazione in frigorifero fino al momento dell'analisi) in quanto i campioni, pur conservati in frigorifero, tendono a sviluppare una microflora che impedisce una lettura chiara degli oggetti filtrati.

Si prepara l'apparecchio per la filtrazione sotto vuoto, disponendo prima una membrana di esteri misti di cellulosa che funge da supporto alla membrana di polycarbonato. Il materiale sospeso deve essere depositato sul lato lucido della membrana di polycarbonato.

Per campioni contenenti molto materiale sospeso è bene preparare anche membrane con filtrazioni di volumi minori (1l o 500 ml).

Le membrane derivanti dalla filtrazioni sono poi lasciate asciugare in piastra petri semiaperta a temperatura ambiente per almeno 6 ore, in luogo protetto e non inquinato da polveri ambientali.

La membrana di polycarbonato asciutta si applica ad un supporto biadesivo di grafite posto sul portacampione di Alluminio. Si stende poi una porzione del filtro di prelievo,

Arpa EMILIA-ROMAGNA	METODO DI PROVA	M/C/AM/001/RE
<i>Determinazione qualitativa e quantitativa delle concentrazioni di fibre di amianto in acque destinate al consumo umano mediante la tecnica della microscopia elettronica a scansione (SEM)</i>		Revisione 1 del 02/05/2011 Pag. 4 di 8

ritagliata con attenzione, o il filtro intero, evitando la caduta della polvere ivi depositata. Durante la deposizione della porzione di filtro sul supporto adesivo occorre evitare quanto più possibile la formazione di bolle d'aria. Successivamente a questa fase il campione è ricoperto con uno strato di grafite, in un "carbon coater". Il filtro così grafitato è posto sul portacampione numerato del SEM e la posizione dello stesso viene registrata sul modulo di sequenza dello strumento.

9.2 Condizioni strumentali per la lettura

I parametri che influenzano la visibilità o la microanalisi per l'identificazione delle fibre sono:

Voltaggio di accelerazione (VA): 25 kV (risulta soddisfacente un VA compreso tra 20 e 30 kV).

Distanza di lavoro: adeguato all'angolo di take-off del detector EDX

Diametro del raggio elettronico: un diametro più elevato determina un conteggio di raggi X maggiore e una buona intensità del segnale, una risoluzione dell'immagine scarsa, pertanto occorre scegliere le condizioni di compromesso più soddisfacenti

L'allineamento del raggio, l'astigmatismo, l'apertura, il contrasto e la luminosità dello schermo, devono essere impostate sperimentalmente per assicurare una adeguata visibilità.

9.3 Campi microscopici da esaminare

Secondo la modalità di lettura (collegamento con stampanti, ovvero DISPLAY FILE, PRINTER, VIDEO PRINTER), le dimensioni del campo di osservazione possono essere diverse, pertanto tali dimensioni devono essere riportate nel foglio di lavoro.

Si indaga 1 mm² di superficie del filtro ad un ingrandimento pari a 5000x.

Un campo microscopico corrisponde all'area dello schermo del SEM.

9.4 Criteri di conteggio

Vengono contate tutte le fibre di amianto di qualsiasi diametro e lunghezza con rapporto lunghezza/diametro > 3:1.

Tutte le fibre che giacciono completamente entro l'area di conteggio (area del campo a 5000 x) vengono contate come una fibra.

Le fibre che si trovano a ridosso dei bordi dello schermo ed hanno un estremo visibile vengono contate come 1/2 fibra.

I campi di lettura devono essere scelti casualmente in modo da esplorare tutta la superficie del campione, evitando la sovrapposizione dei campi (è consigliabile stabilire un percorso sistematico a forma di "greca" operando sulle manopole degli assi x e y).

Un fascetto (fibra splittata) viene considerato come una fibra.

Le fibre in un agglomerato vengono contate singolarmente qualora possano essere distinte sufficientemente (anche ad alto ingrandimento) purché soddisfino le dimensioni indicate nelle definizioni (in ogni caso si deve indicare il numero di agglomerati trovato).

Arpa EMILIA-ROMAGNA	METODO DI PROVA	M/C/AM/001/RE
<i>Determinazione qualitativa e quantitativa delle concentrazioni di fibre di amianto in acque destinate al consumo umano mediante la tecnica della microscopia elettronica a scansione (SEM)</i>		Revisione 1 del 02/05/2011 Pag. 5 di 8

9.5 Identificazione delle fibre e microanalisi

Gli oggetti di dimensioni previste al punto 9.4 vengono identificati tramite lo spettrometro a raggi X a dispersione di energia (EDXS). Al fine di ottenere una microanalisi ben definita ove necessario si ingrandisce l'oggetto oltre i 5000X ingrandimenti iniziali

Le condizioni strumentali del SEM (distanza di lavoro, angolo di tilt, diametro del raggio elettronico, voltaggio di accelerazione, apertura dei condensatori, ampiezza del canale generalmente compresa tra 10 e 20 eV/canale, tempo di integrazione compreso tra 50-80 secondi) sono aggiustate posizionandosi su una fibra di crisotilo standard di 0.2 µm di diametro, in modo tale da fornire uno spettro sufficientemente chiaro.

10. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

10.1 Calcolo, trasferimento dei dati e archiviazione

I risultati sono espressi in fibre /mm². Secondo quanto esposto al punto (9.4) le fibre totali che vengono conteggiate e riportate sul foglio di conteggio si riferiscono sempre ad 1 mm².

Il risultato in fibre /mm² è quindi la somma delle fibre conteggiate.

I risultati ottenuti possono essere utilizzati per esprimere la concentrazione in fibre/litro in base alla richiesta del cliente e dei dati di campionamento forniti.

La concentrazione viene calcolata secondo la seguente formula:

$$C = (n \cdot \pi \cdot d^2) / (4 \cdot N \cdot A \cdot V)$$

dove:

C = fibre/litro;

n = n di fibre conteggiate sul filtro

N = n di campi esaminati su ogni filtro;

d = diametro utile del filtro di prelievo (area di esposizione del filtro) in mm;

A = area di un campo a 5000 x in mm²;

V = volume di acqua filtrata in litri.

Gli operatori che hanno eseguito la prova riportano i dati sul foglio Conteggio fibre (Allegato N. 1) con allegati, se significativi, spettri e fotografie.

I risultati finali vengono riportati dagli stessi operatori sul foglio di lavoro e quindi consegnati al RRAR che li verifica e li consegna allo Sportello tecnico.

Gli allegati assieme al rapporto di prova vengono archiviati a cura dello Sportello tecnico che assicura la rintracciabilità del dato.

10.2 Validazione del metodo

Arpa EMILIA-ROMAGNA	METODO DI PROVA	M/C/AM/001/RE
<i>Determinazione qualitativa e quantitativa delle concentrazioni di fibre di amianto in acque destinate al consumo umano mediante la tecnica della microscopia elettronica a scansione (SEM)</i>		Revisione 1 del 02/05/2011 Pag. 6 di 8

La validazione del metodo viene effettuata seguendo le indicazioni riportate nella I50454/LM "Validazione, calcolo dell'incertezza e controllo dei metodi analitici per la determinazione quali-quantitativa della fibre di amianto".

I risultati sono riportati sul modulo di validazione previsto Mod 1 I50454/LM

10.3 Incertezza di misura

Variabilità del metodo: se si assume una distribuzione casuale di tipo Poissoniano delle fibre sulla membrana di prelievo, ad es. per un volume campionato di ca. 2 litri e per una superficie del filtro esaminata pari a ca. 1 mm², il ritrovamento di 1 fibra corrisponde a ca. 509 F/litro.

Assumendo valida una distribuzione Poissoniana, con il 95% di probabilità, il numero medio di fibre per mm² sul filtro sarà compreso tra 0.025 F/mm² (limite fiduciario inferiore o LFI) e 5.6 F/mm² (limite fiduciario superiore o LFS) e cioè tra 13 e 2848 F/litro (vedi tabelle della distribuzione di Poisson). Per 0 fibre trovate in ca. 1 mm², le tabelle indicano che il valore superiore della distribuzione Poissoniana è pari a ca. 4 fibre/mm². (L'esempio prodotto è stato calcolato secondo quanto riportato dal DM 06/09/1994 : allegato 2)

11. CONTROLLO DI QUALITÀ ANALITICO (CQA)

Il controllo di qualità analitico si effettua utilizzando un filtro a numero di fibre noto e letto in modo anonimo dagli operatori. Il risultato è considerato positivo quando le letture effettuate rientrano negli intervalli fiduciari calcolati con la tabella di Poisson per il valore medio della membrana.

Il laboratorio ha partecipato al controllo interlaboratorio istituito dall'ISS nel 1996 ed è inserito nell'elenco dei laboratori abilitati alle prove sull'amianto del Ministero della Salute.

12. RIFERIMENTI

- ❑ DM 06/09/1994 : allegato 2 : "Determinazione quantitativa delle concentrazioni di fibre di amianto aerodisperse in ambienti indoor".
- ❑ Circolare Ministero della Sanità n. 7 del 12/04/1995
- ❑ DM 7/7/97 "Approvazione della scheda di partecipazione al programma di controllo qualità per l'idoneità dei laboratori di analisi che operano nel settore amianto"
- ❑ **Sandra Buzzi, Giorgio Pesando, Gian Maria Zuppi.** (2000) " Hydrogeological Study on the presence of asbestos fibres in water of northern Italy. Wat.Res. Vol 34, No 6, pp 1817-1822 (2000).

13. ALLEGATI

Arpa EMILIA-ROMAGNA	METODO DI PROVA	M/C/AM/001/RE
<i>Determinazione qualitativa e quantitativa delle concentrazioni di fibre di amianto in acque destinate al consumo umano mediante la tecnica della microscopia elettronica a scansione (SEM)</i>		Revisione 1 del 02/05/2011 Pag. 7 di 8

N.1 Modulo conteggio fibre A1-m/C/AM/001/RE

14. TABELLA RIASSUNTIVA DELLE REVISIONI

Rev.	Data	Descrizione	Redazione	Verifica	Approvazione
0	01/04/2011	1° emissione			

