

# Metodiche SEM e MOCF

## Per l'analisi di fibre di amianto

di Aldo Bottino, Gustavo Capannelli,  
Antonio Comite e Chiara Sergiampietri

Vengono affrontati alcuni aspetti legati alla valutazione e certificazione del numero di fibre di amianto presenti in un contesto ambientale sia in fase di bonifica sia di mantenimento. L'articolo cerca, attraverso valutazioni sperimentali, di dare un contributo sulle difficoltà e gli errori analitici che s'incontrano utilizzando le metodologie Microscopia elettronica a scansione (SEM) e Microscopia ottica in contrasto di fase (MOCF) attualmente previste dalle leggi europee e italiane.



Figura 1 - Cantiere temporaneo allestito a bordo di una nave utilizzato per le fasi di campionamento

Uno dei problemi legati alla definizione dei rischi da esposizione a fibre di amianto è quello di riuscire a effettuare una corretta valutazione della concentrazione del numero e del tipo di fibre presenti nell'atmosfera. Le fibre di amianto sono normalmente immesse nell'atmosfera o da manufatti deteriorati o durante attività lavorative o da interventi di bonifica. La pericolosità dell'amianto presente nell'atmosfera è talmente elevata che la tendenza del legislatore è quella di prevedere un contenuto di fibre nullo. In realtà gli attuali limiti sono rapportabili al contenuto del valore medio considerato come fondo. Da qui l'importanza di avere metodiche e procedure corrette capaci di rilevare e conteggiare il numero di fibre presenti nell'atmosfera anche a bassissime concentrazioni e definire il reale rischio di esposizione e quindi le modalità di prevenzione necessarie per limitare tali danni. Il lavoro che viene riportato, presentato in occasione della Giornata di studio sullo "Stato di attuazione del piano regionale amianto", si inserisce nelle problematiche esistenti sulla valutazione delle fibre di amianto secondo le due tecniche analitiche previste dalla nostra

A. Bottino, G. Capannelli, A. Comite, C. Sergiampietri - Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale - Università di Genova - Via Dodecaneso, 31 - 16149 Genova.  
capannel@unige.it

legislazione. In particolare saranno riportati alcuni dei risultati ottenuti dal confronto tra le due metodiche analitiche SEM (Microscopia elettronica a scansione) e MOCF (Microscopia ottica in contrasto di fase) previste nella valutazione del numero di fibre di amianto depositate sul filtro utilizzato per il campionamento. Parte di questo lavoro, in particolare quella relativa alla fase di campionamento, è stata svolta in collaborazione con l'Unità Operativa Prevenzione e Sicurezza negli ambienti di lavoro dell'Usl 3 "Genovese" e il Laboratorio Chimico sezione Controlli e Collaudi dell'Arsenale della Marina Militare di La Spezia.

Di seguito sono riportati: i risultati confrontando le letture eseguite sullo stesso filtro di Acetato di Cellulosa (AC) per l'analisi MOCF e SEM e di policarbonato (PC) per la sola analisi SEM; alcuni risultati finalizzati a verificare i benefici derivanti dall'uso di soluzioni incapsulanti per bloccare le fibre depositate su film di PC. Tutti i campionamenti, realizzati con filtri di PC per l'analisi SEM, erano condotti in doppio (parallelo) con membrane di AC sulle quali era eseguita l'analisi contemporanea con le due tecniche SEM e MOCF. Nella valutazione del numero di fibre areodisperse presenti in un comparto, le fonti d'errore possono essere numerose. Le più importanti sono riconducibili sia alla fase di campionamento sia alle procedure analitiche. Alcune fonti di errore possono essere:

- fase di campionamento:
  - variabilità delle condizioni e dei parametri durante le fasi di campionamento (tempo, portata di aspirazione, temperatura ecc.);
  - campionamento non rappresentativo o errato;
  - contaminazione e/o errori di manipolazione;
  - discontinuità delle operazioni;
- analisi:
  - errore intrinseco del metodo;
  - distribuzione non uniforme delle fibre;
  - effettiva area filtrante;
  - area di conteggio (limitata);
  - contaminazione nel laboratorio;
  - soggettività dell'osservatore (soprattutto MOCF).

Gli errori, e in particolare quelli legati alla fase di campionamento, potrebbero essere notevolmente contenuti se le autorità preposte imponessero l'attuazione della normativa vigente (Dm 14/05/96 all. 5) la quale prevede che le valutazioni e le certificazioni devono essere eseguite da personale sufficientemente esperto del settore (laureati o tecnici).

### Metodiche analitiche usate

Le metodiche analitiche utilizzate in questo studio sono la MOCF e la SEM con sonda EDS. Tutte le procedure di campionamento (Tabella 1) e di analisi (Tabella 2) sono quelle previste dalle normative di leggi vigenti (DI 277/91 e il Dm

**Tabella 1 - Procedure previste per le fasi di campionamento**

	MOCF	SEM
Portafiltra	Materiale conduttore	Materiale conduttore
Tipo di filtro	Acetato di cellulosa (AC)	Policarbonato (PC)
Caratteristiche del filtro	Ø 25 mm, porosità 0,8 µm	Ø 25 mm, porosità 0,8 µm
Flusso	1 ±5% l/min	6-9 ±10% l/min
Volume aria campionata	circa 480 l	circa 3.000 l
Modalità di trasporto	chiuso orizzontale	chiuso orizzontale

**Tabella 2 - Procedure previste per la preparazione e valutazione analitica delle fibre di amianto**

	MOCF	SEM
Preparazione del campione	Taglio della membrana; trattamento con vapori di acetone + triacetina; stufa a 50 °C per 15'	Taglio della membrana; adesione sul portacampione mediante colla d'Argento o biadesivo al Carbone; metallizzazione con Oro o Carbone
Procedure per il conteggio delle fibre di amianto	<i>Caratteristiche:</i> tipo illuminazione; tipo di condensatore; obiettivo e oculare; reticolo Walton-Beckett <i>Criteri di conteggio:</i> lettura 200 campi per un totale di circa 1,5 mm <sup>2</sup> ; diametro minore o uguale 3 µm; lunghezza maggiore o uguale 5 µm; lunghezza/diametro maggiore o pari a 3/1	<i>Caratteristiche:</i> tipo di filamento; sonda EDS per analisi degli elementi presenti; sistema TV per visione del campione; ingr. di lavoro: 2.000x <i>Criteri di conteggio:</i> suddivisione per classi tipologiche (amianto, inorganiche, organiche); suddivisione per classi dimensionali; lettura di circa 1 mm <sup>2</sup> di campione (n. campi legati alle dimensioni del monitor: 50 campi per 17")

**Tabella 3 - Vantaggi e svantaggi riscontrabili per le due tecnologie analitiche**

	MOCF	SEM
Vantaggi	Costo limitato Esistenza di una metodica standardizzata e molto sperimentata Buona rapidità di analisi Tempestività del risultato Semplicità di allestimento e gestione dei laboratori	Potere risolutivo a ingrandimenti di lettura ≈0,1 µm Analisi dimensionale più precisa Possibilità di discriminare le fibre individuate in funzione della natura chimica (organica, minerale, amianto ecc.) e delle loro dimensioni
Svantaggi	Limitato potere risolutivo a ingrandimenti di lettura ≈0,25 µm Fondamentale il ruolo dell'operatore Indeterminatezza nell'identificazione del tipo di fibre	Analisi più lunga Costi elevati (strumentazione, gestione, formazione del personale) Maggiori errori legati alla non omogeneità delle fibre sul filtro (1 mm <sup>2</sup> )

6/9/94). Entrambe le metodiche richiedono per l'esecuzione dell'analisi una preparazione appropriata del campione. Nella Tabella 2 sono riassunte alcune procedure di campionamento relative alle due tecniche analitiche considerate. Dalle Tabelle si deduce che le due metodiche possiedono caratteristiche peculiari perciò, secondo il tipo di informazioni che si vorranno ottenere, sarà più opportuno utilizzare l'una o l'altra tecnica oppure

entrambe. I vantaggi e gli svantaggi offerti dalla due metodiche sono riassunti in Tabella 3. Occorre sottolineare che l'analisi al MOCF offre una risposta rapida a un costo modesto se paragonata a quella ottenuta utilizzando il SEM.

### Valutazioni sperimentali

I campionamenti riportati nel seguente studio sono stati eseguiti in tre differenti

cantieri di decontaminazione:

- cantiere temporaneo a bordo di una nave della Marina Militare (Figura 1).
- cantiere di decontaminazione allestito in un edificio adibito ad attività commerciale, situato a Genova (Figura 2);
- cantiere fisso situato all'interno dell'Arsenale Marina Militare di La Spezia, normalmente utilizzato per decontaminazione da amianto su manufatti trasportabili (Figura 3);

Nel primo e nel terzo cantiere sono stati condotti campionamenti paralleli con lo scopo di effettuare sia uno studio comparativo tra i filtri in acetato di cellulosa e quelli in polycarbonato, sia per verificare eventuali benefici derivanti dall'utilizzo di soluzioni impregnanti.

### Risultati

#### Confronto delle analisi SEM-MOCF eseguite sullo stesso filtro di AC

Il filtro di AC è stato opportunamente suddiviso a metà per condurre contemporaneamente l'analisi MOCF e SEM. I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 4, ed evidenziano l'esistenza di un rapporto pressoché costante tra le due metodiche pari a SEM/MOCF=1,5 (dev. std 0,6), nel caso si considerino tutte le fibre lette senza la distinzione mineralogica effettuabile solo al SEM. Le fibre conteggiate con l'analisi MOCF sono quelle che forniscono birifrangenza e le cui dimensioni rientrano nello schema previsto dalla normativa vigente. Diversamente le fibre lette al SEM erano suddivise per caratteristiche morfologiche, per composizione chimica e in funzione delle loro dimensioni. I conteggi riportati si riferiscono nel caso del SEM a osservazioni eseguite da uno stesso operatore, mentre nel caso del MOCF la lettura considerata si riferisce al valore medio delle fibre individuate da almeno due lettori. L'analisi mediante SEM ha permesso di suddividere le fibre lette in base alla natura mineralogica e alle loro dimensioni. La suddivisione delle fibre costituite da materiale inorganico è la seguente:

- 68% fibre di natura inorganica;
- 19% fibre individuate come amianto (antofillite);
- 6% fibre individuate come ultrafini, (<0,3 µm).

È così possibile osservare nel cantiere considerato che il numero di fibre inorganiche individuate è elevato (68%) ma fra queste solo il 19% è stato identificato mediante l'analisi EDS come amianto. La percentuale di fibre ultrafini (>0,3 µm)



Figura 2 - Cantiere di decontaminazione allestito in un edificio adibito ad attività commerciale



Figura 3 - Cantiere fisso utilizzato per decontaminazione da amianto su manufatti trasportabili

è risultata inoltre molto bassa. Alla luce di queste ultime considerazioni emerge che il rapporto tra le fibre lette contemporaneamente con le due tecniche SEM e MOCF può assumere valori diversi a seconda della loro natura. Nei casi studiati risulta, infatti:

- rapporto medio SEM/MOCF 1,5 (dev. std 0,6) e 81% di correlazione lineare tra le due metodiche, *senza distinzione mineralogica delle fibre*;
- rapporto medio SEM/MOCF 1,4 (dev. std 0,6) e 82% di correlazione lineare, considerando le *sole fibre inorganiche individuate al SEM*;
- rapporto medio SEM/MOCF 0,3 (dev. std 0,4) confrontando le *sole fibre identificate come amianto* con analisi EDS - SEM.

In base a tali sperimentazioni si evidenzia una buona corrispondenza tra le fibre lette al SEM e al MOCF solo quando si esegue il confronto in base alle caratteristiche morfologiche senza distinzione mineralogica (rapporto SEM/MOCF da 1,4 a 1,5). In questo caso e in generale quando il contenuto del numero di fibre è alto, il rapporto ottenuto tende all'unità. Al contrario, se il confronto è realizzato considerando solo le fibre chimicamente identificate come amianto, il rapporto scende drasticamente. Perciò l'analisi al SEM, effettuata globalmente, fornisce un numero di fibre sempre maggiore. Quest'ultimo risultato dipende dalla tipologia del cantiere esaminato e dalle sue caratteristiche intrinseche che possono essere pienamente visualizzate solo con la Microscopia Elettronica. Di conseguenza, dati i vantaggi offerti dalla microscopia ottica (facilità e rapidità di esecuzione), l'analisi comparativa SEM - MOCF può essere utile per controllare casi di dubbi analitici (valori anomali o sospetti), individuare una correlazione (valida solo

per il sistema in esame) che possa permettere la prosecuzione delle valutazioni mediante l'analisi MOCF, per le osservazioni di routine nei casi di mantenimento o evidenziare evoluzioni rispetto al sistema calibrato in precedenza.

#### Tipo di filtro utilizzato

Nella metodica riportata dal Dm 6/9/94, per l'analisi al SEM è previsto l'utilizzo di filtri in policarbonato anziché quelli in acetato di cellulosa. Nella realtà comune dei laboratori a tutt'oggi vengono ancora diffusamente utilizzati anche i filtri in AC che possano permettere sullo stesso campionamento la doppia determinazione analitica SEM e MOCF. Tuttavia proprio per le caratteristiche tipiche delle

membrane di AC, al SEM la visione del campione risulta molto difficoltosa per l'operatore, impegnandolo maggiormente nella ricerca delle fibre rispetto alla struttura nodosa del fondo. Tali difficoltà sono facilmente deducibili osservando la morfologia tipica di questo tipo di membrana riportata in Figura 4a. Nel caso invece dell'utilizzo di membrane in policarbonato, dotate di una superficie speculare, la visione delle fibre è più semplice e veloce (Figura 4b). In questo caso le fibre sembrano semplicemente appoggiate ed è facile supporre che le stesse possano essere perse con facilità durante la manipolazione del filtro dopo la fase di campionamento. In considerazione di questo, è stato realizzato un lavoro di

**Tabella 4 - Confronto fra i risultati ottenuti sugli stessi filtri di AC dall'analisi al SEM e al MOCF**

n. Campioni	Volume d'aria campionata	n. fibre MOCF**	n. fibre SEM*	SEM/MOCF
17	180	6,4	16	2,5
24	480	8,6	8	0,9
48	480	7,8	12	1,5
54**	480	41,1	72	1,8
51	120	9,5	13	1,4
57	480	5,7	9	1,6
58	480	6,3	3	0,5
168	480	3,2	5	1,6
169	480	4,1	8	2,0
172	480	7	3	0,4
173	480	3,8	7	1,8
200	480	6,9	14	2,0
255	480	1,1	2	1,8
262	480	1,9	2	1,1
264	480	1,8	2	1,1
265	480	2,4	6	2,5
Media		5,1	7,3	1,5
Dev. std		2,7	4,7	0,6

\*Il confronto considera tutte le fibre senza distinzione mineralogica  
 \*\*Il numero di fibre lette sono riferite a 1 mm<sup>2</sup> (Fibre/mm<sup>2</sup>)

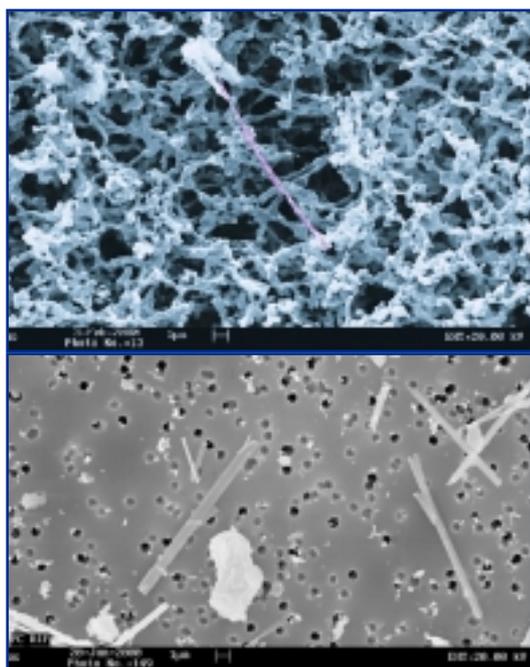


Figura 4 - Superficie delle membrane dopo campionamento (analisi SEM).  
a. Membrana AC; b. Membrana PC

spetto a quelle lette sulle membrane di AC. In base ai risultati ottenuti è possibile osservare, contrariamente a quanto ipotizzato, che le membrane di PC non hanno mostrato alcuna perdita di fibre. Anche in questa serie di campionamenti, usando filtri in AC, esiste la possibilità di un confronto fra le letture eseguite alla SEM e MOCF. I risultati hanno confermato che quando non si esegue nessuna distinzione mineralogica il rapporto SEM/ MOCF è pari a 1,1-1,5. Risultati molto incoraggianti, ottenuti in una precedente esperienza, si sono riscontrati utilizzando membrane da microfiltrazione di tipo asimmetrico a base di polivinilidenefluoruro. Queste presentando come quelle di PC una superficie con una struttura speculare permettono anche loro una rapida identificazione delle fibre depositate.

comparazione numerica tra campioni prelevati in parallelo nel cantiere fisso installato presso la Marina Militare (nelle stesse condizioni operative) aventi come unica differenza il tipo di filtro utilizzato, cioè AC e PC. I valori osservati con le diverse tecniche per questa serie di prelievo sono riassunti in Tabella 5. Come si può notare confrontando i risultati ottenuti mediante l'analisi SEM, con le membrane in PC si riscontrano sistematicamente un numero di fibre maggiore ri-

#### Utilizzo di soluzioni incapsulanti

Lo studio di eventuali benefici legati all'utilizzo di una soluzione impregnante, scelta e ottimizzata in precedenza in laboratorio, è stato svolto eseguendo campionamenti a bordo di una nave posta in bacino per lavori di manutenzione. Alcune gocce della soluzione impregnante opportunamente diluita venivano poste sotto la membrana (lato opaco) che per capillarità risaliva la stessa fino alla superficie esposta bloccando le fibre

o il materiale depositato dopo il prelievo. Tale operazione era condotta al termine del campionamento mentre la valutazione del numero di fibre era effettuata successivamente mediante analisi SEM controllando in questo caso sia il grado di occlusione dei pori che il numero di fibre individuate. I risultati riportati in Tabella 6 sono tutti caratterizzati da un'elevata densità di fibre e hanno evidenziato che l'utilizzo della soluzione impregnante nel nostro caso ha portato un lieve aumento nel numero di fibre lette.

Come si può constatare, esiste un'apprezzabile differenza nel rapporto solo nel caso in cui il filtro sia meno carico di fibre. Da tale sperimentazione è possibile osservare che l'uso della soluzione impregnante può essere consigliabile:

- quando si ipotizza una bassa densità di fibre sul filtro campionato;
- quando vi è il sospetto della perdita di fibre nel trasporto (esempio: spedizione del campione).

Diversamente i moderati vantaggi osservati non giustificano il suo utilizzo generalizzato considerando la delicatezza e l'aumento nel numero di operazioni necessarie.

#### Conclusioni

La microscopia elettronica SEM con EDS permette di avere l'identificazione morfologica e chimica delle fibre osservate. Le membrane con una superficie liscia come quelle di PC si sono rivelate migliori per l'analisi delle fibre con il SEM. Usando le membrane in AC esiste la possibilità di un confronto fra SEM e MOCF solo quando non si esegue alcuna distinzione mineralogica (rapporto SEM/MOCF: 1,1-1,5). Tuttavia vi è da osservare che anche se il rapporto SEM - MOCF è sempre >1, nei casi considerati l'analisi al MOCF fornisce sempre un numero di fibre maggiore rispetto a quelle individuate chimicamente e morfologicamente come amianto mediante l'analisi SEM - EDS. L'analisi comparativa SEM - MOCF può essere proficuamente utile ad esempio: nel controllo di dubbi analitici (valori anomali, valori sospetti, basso numero di fibre); nell'individuazione di una correlazione specifica (fibre totali rispetto a quelle di solo amianto) per il sistema in esame in modo da proseguire le analisi su campo con valutazioni MOCF.

**Ringraziamenti** - Gli autori ringraziano i tecnici del laboratorio di Microscopia Elettronica, Maura Michetti e Claudio Uliana.

**Tabella 5 - Confronto sui campioni eseguiti in parallelo con filtri di AC e PC**

Campione	Acetato di cellulosa al MOCF	Acetato di cellulosa al SEM	PC di riferimento
A	79	120	140
B	211	215	260

I valori riportati si riferiscono alle fibre lette senza distinzione mineralogica normalizzate a 1 mm<sup>2</sup> di superficie

**Tabella 6 - Confronto tra campionamenti eseguiti in parallelo tra le membrane trattate con soluzione impregnante e tale quale**

Campioni	n. di fibre/mm <sup>2</sup> per la membrana di PC di riferimento	n. di fibre/mm <sup>2</sup> per la membrana di PC trattata con soluzione	Rapporto ( $\frac{PC + soluzione}{PC}$ )
2B	56	82	1,4
3B	75	112	1,5
5B	115	121	1,1

I valori riportati si riferiscono a fibre lette senza distinzione mineralogica normalizzate a 1 mm<sup>2</sup> di superficie