

Liste des substances utilisant cette analyse

Nom	Numéro CAS
Amiante	1332-21-4
Amiante	1332-21-4

Préparation de l'analyse

Nombre d'étapes de préparation _____ 2

Commentaires sur les étapes :

Pour éviter toute contamination des échantillons, décontaminer tous les objets en verre avant de les utiliser et lorsque c'est possible, utiliser des matériels et fournitures à usage unique.

Il est recommandé de ne pas effectuer la manipulation d'échantillons d'amiante en vrac et la préparation des filtres de prélèvement dans la même zone.

2 étapes de préparation :

Étape de préparation n°

Solvant ou solution _____
■ ACIDE CHLORHYDRIQUE
■ EAU

Autres conditions de préparation :

■ Traitement des filtres prélevés :

Anant toute préparation, nettoyer l'extérieur du système porte-filtre avec une lingette humide. Retirer le substrat de collecte du système porte-filtre. Si une partie de l'échantillon doit être conservée ou si le substrat de collecte est trop chargé, découper une fraction du substrat de collecte à l'aide d'un scalpel. Cette fraction ne devra pas être inférieure à 1/8^{ème} de substrat de collecte. *Si le dépôt est manifestement hétérogène, ne pas traiter le substrat de collecte ou bien le traiter dans son intégralité.*

Placer le filtre ou la fraction de filtre sur une lame en verre (poussière en contact avec le verre).

Placer la lame horizontalement dans un tube à centrifuger ou dans un petit bécher. Le récipient utilisé est fermé par une feuille d'aluminium percée de petits trous afin de permettre les échanges gazeux.

Placer le récipient dans le four à plasma d'oxygène, l'ouverture (recouverte de papier aluminium) faisant face à l'entrée d'oxygène. La calcination est menée jusqu'à ce que le filtre soit totalement calciné (environ 2 heures).

Récupérer les particules par lavage de la lame à l'eau ultra-pure filtrée et à l'aide d'un grattoir pour décoller la totalité des particules.

Agiter manuellement la suspension obtenue et la filtrer sur un filtre en polycarbonate (0,2 µm) préalablement recouvert d'une couche de carbone en rinçant plusieurs fois le récipient contenant la suspension.

Après filtration, une deuxième couche de carbone est évaporée sur le filtre en polycarbonate de telle sorte que les fibres ou particules soient situées entre ces deux couches.

Remarque : Les poussières acido-sensibles peuvent être éliminées par traitement à l'acide chlorhydrique 1N, dans le tube ou le bécher, directement sur les résidus de calcination, avant la mise en suspension dans l'eau pendant une durée n'excédant pas 5 minutes.

Étape de préparation n°

Solvant ou solution _____
■ CHLOROFORME
■ EAU

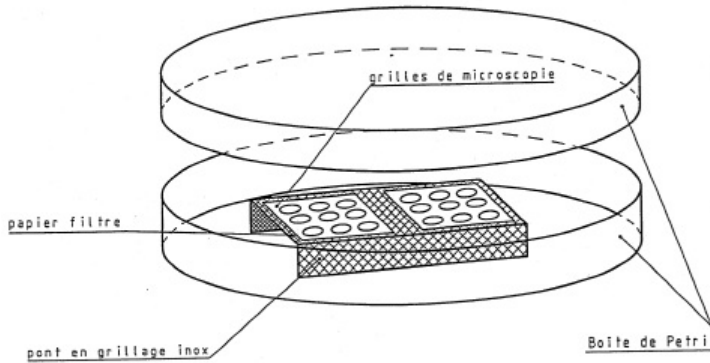
Autres conditions de préparation :

■ Préparation des grilles de microscope électronique :

Deux méthodes peuvent être utilisées :

1. Préparation des grilles par la méthode du laveur Jaffe

Montage utilisé



Mode opératoire

Placer plusieurs morceaux de papier-filtre sur le support en acier inoxydable.

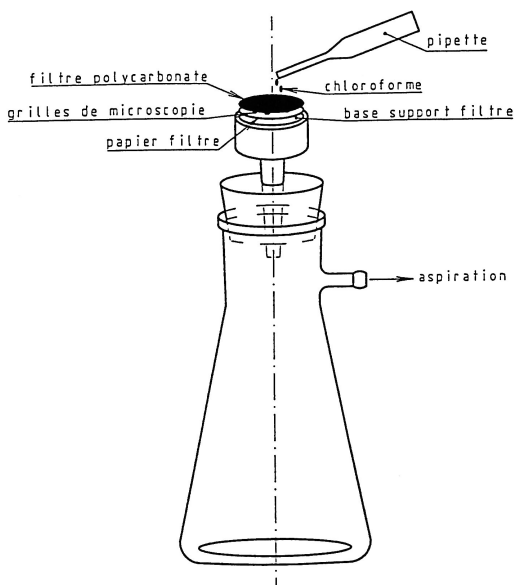
Remplir le récipient de chloroforme pour que la surface du bain soit en contact avec la face inférieure du support, de manière à saturer le papier-filtre. Placer au moins deux grilles de microscopie sur un même papier-filtre.

Découper un secteur du filtre en polycarbonate et le placer sur les grilles (réparties sur le centre et la périphérie du secteur exposé) côté carboné sur le dessus.

Mettre le couvercle et laisser dissoudre pendant au moins 8 heures.

2. Préparation des grilles à l'aide de l'appareil de filtration

Montage utilisé



Disposer un papier-filtre sur le fritté d'un appareil de filtration.

Placer quelques grilles sur ce papier et les recouvrir d'une portion du filtre en polycarbonate, surface carbonée vers le haut.

Dissoudre le filtre en filtrant quelques millilitres de chloroforme.

Commentaires :

■ Critère d'acceptation des grilles

Examiner les grilles préparées à faible grossissement (300 à 1 000) pour pouvoir observer toutes les ouvertures de la grille.

La grille sera rejetée si :

- la dissolution du filtre en polycarbonate est incomplète,
- plus du quart des ouvertures de grille est déchiré,
- l'échantillon est surchargé (la grille montre plus de 10 % d'obscurcissement sur la majorité des ouvertures),
- la répartition des particules n'est pas uniforme (ce problème peut être contourné en comptant un nombre plus élevé d'ouvertures de grilles),
- le nombre de structures fibreuses est trop important (plus de 7 000 fibres/mm²).

Les grilles acceptées seront ensuite analysées à plus fort grossissement permettant un comptage plus précis des fibres, par exemple un grossissement de 10 000 est nécessaire pour compter des fibres de longueur supérieure à 5 µm et de largeur inférieure à 3 µm.

Commentaires, conseils ou conditions particulières

Les interférences rencontrées sont liées à la présence d'autres minéraux de compositions similaires à celles de l'amiante. L'utilisation d'un diagramme de diffraction électronique à orientation aléatoire diminue le risque d'erreurs d'identification.

Des risques significatifs d'erreurs d'identification se produisent avec l'halloysite, les enroulements de vermiculite ou la palygorskite ; cependant on peut les distinguer du chrysotile par une analyse aux rayons X en dispersion d'énergie et par l'observation de la réflexion de 0,73 nm d'indice de Miller (002) du chrysotile dans le diagramme de diffraction électronique.

Condition analytique n°

Les conditions analytiques utilisées lors du développement de la méthode sont fournies avec les données de validation.

Technique analytique _____ ■ MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A TRANSMISSION

Détecteur _____ ■ MICROANALYSE X
■ MICRODIFFRACTION ELECTRONIQUE

Commentaires, conseils ou conditions particulières :

Le microscope électronique à transmission (MET) doit avoir les caractéristiques suivantes :

- tension d'accélération d'au moins 100 kV,
- résolution spatiale supérieure à 1,0 nm,
- plage de grossissements de 300 à 100 000,
- repères étalonnés pour mesurer les longueurs et largeurs des fibres,
- si besoin, un goniomètre permettant l'orientation de l'échantillon,
- système d'éclairage et condenseur capable de former un faisceau électronique de diamètre inférieur à 250 nm.

Le MET doit également permettre :

- un grossissement direct sur l'écran d'environ 100 000 (pour examen de la morphologie des fibres),
- la réalisation des clichés de diffraction électronique sur des surfaces suffisamment petites.

Il doit être équipé d'un analyseur en dispersion d'énergie des rayons X capable (SDEX) :

- d'atteindre une résolution meilleure que 170 eV (largeur à mi-hauteur) sur le pic K_{α} du Mn,
- de soustraire le bruit de fond,
- d'identifier les pics élémentaires,
- de calculer les surfaces nettes des pics.

Le système SDEX doit permettre de réaliser des analyses quantitatives et d'exploiter les résultats en pourcentage atomique, massique ou en pourcentage d'oxydes. Une fenêtre d'une surface minimale de 30 mm² est recommandée. En outre, il doit permettre de sauvegarder les acquisitions de spectres des standards d'amiante et les conserver en spectres de références afin d'effectuer des comparaisons avec les spectres d'échantillons de routine.

Étalonnage et expression des résultats

La méthode d'étalonnage indiquée est celle utilisée lors du développement. Elle n'a cependant pas de caractère obligatoire

Méthodes d'étalonnage pour la quantification des polluants¹

¹ <https://www.inrs.fr/dms/inrs/PDF/metropol-analyse-et-alonnage/metropol-analyse-et-alonnage.pdf>

Principe d'étalonnage _____ externe

Commentaires :

1- Étalonnage et vérification

1.1- Étalonnage et vérification des grossissements

Les grossissements de l'écran du MET sont étalonnés et vérifiés par mesure d'un étalon certifié.

1.2- Étalonnage et vérification de la constante de diffraction

Ces étapes sont réalisées sur des clichés (micrographies ou sur écran) des anneaux de diffraction d'une couche évaporée d'or pour trois longueurs de caméra différentes.

1.3- Microanalyse X

Les critères de performance de l'association MET-SDEX sont déterminés par la mesure du sodium dans la crocidolite. La détection du pic K_{α} du Na sur des fibres de crocidolite de largeur inférieure à 0,05 μ m dans les conditions d'analyse de routine doit répondre aux critères suivants :

- rapport en nombre de coups de Na/Bruit de fond supérieur à 3,
- intensité du pic K_{α} du Na en nombre de coups supérieur à 5.

L'étalonnage est réalisé à l'aide de matériaux de références (minéraux contenant Na, Mg, Al, Si, K, Ca, et Fe). Ces matériaux sont des silicates avec des matrices se rapprochant le plus possible des amphiboles ou de la serpentine et dont les fragments sont de compositions homogènes.

La calibration du système doit être effectuée régulièrement.

2- Méthode de comptage des structures par microscopie électronique à transmission

Plusieurs paramètres doivent être contrôlés :

- mesure de la surface effective de filtration,
- mesure de la surface moyenne des ouvertures de grille. Le nombre de grilles à vérifier doit être au minimum de 1 % de chaque contenant d'un même lot de fabrication et un minimum de 10 grilles au total. La surface des ouvertures de grilles est mesurée sur 10 ouvertures par grille sur 10 grilles minimum. Les ouvertures choisies sont réparties de manière aléatoire sur la grille. Le coefficient de variation de l'ensemble des surfaces doit être inférieur à 5 %,
- alignement et étalonnage des grandissements du microscope électronique à transmission,
- comptage des structures et mesure des tailles (méthode générale détaillée ci-dessous).

2.1- Méthode générale pour le comptage des structures et la mesure des tailles

(Voir Données de validation)

Utiliser au moins deux grilles préparées à partir d'un même filtre.

Placer une grille dans le microscope et observer une ouverture en ajustant le grandissement sur l'écran à la classe de fibres à dénombrer. Ajuster la hauteur de l'échantillon pour qu'il se trouve au point eucentrique.

Régler l'angle d'inclinaison du goniomètre à zéro.

Explorer la totalité de l'ouverture de grille. Lorsqu'une structure fibreuse est observée, mesurer sur l'écran la longueur et la largeur de l'image de la structure et effectuer les opérations d'identification.

Au moins 4 ouvertures de grille doivent être examinées à partir de 2 grilles minimum.

3- Méthode d'identification des fibres

Étudier dans un premier temps la morphologie des fibres et les classer en deux catégories : les fibres à morphologie tubulaire et les fibres sans morphologie tubulaire.

Pour éviter d'endommager les structures cristallines de certaines fibres, procéder comme suit.

3.1- Analyse en diffraction électronique

Observer un diagramme de diffraction électronique réalisé à partir d'une fibre à orientation aléatoire et comparer ces mesurages à ceux effectués à partir de structures minérales connues.

3.2- Analyse en dispersion d'énergie des rayons X

Effectuer un spectre d'analyse sur la fibre à identifier.

Comparer le spectre obtenu pour l'échantillon aux spectres de différentes variétés d'amiante pour obtenir la composition chimique de la fibre.

Cette technique peut être qualitative ou quantitative.

Remarque

La constitution d'une base de données comportant des spectres de différentes variétés d'amiante et de fibres de diamètres variables permet de réaliser rapidement des identifications en analyse de routine.

Calcul de la quantité de substance sur le dispositif :

La concentration en fibres d'amiante par litre d'air est donnée par :

$$C = N \times SA$$

avec : SA : sensibilité analytique, en nombre de fibres d'amiante par litre d'air

N : nombre total de fibres d'amiante comptées.

La sensibilité analytique est calculée à partir de la formule :

$$SA = \frac{S}{n \times s \times V}$$

avec : S : surface effective de filtration, en mm², sur le filtre en polycarbonate

n : nombre d'ouvertures de grilles examinées

s : surface moyenne des ouvertures de grille, en mm²

V : volume d'air prélevé, en L, sur la fraction analysée de la surface du substrat de collecte en mélange d'esters de cellulose (si le substrat de collecte n'a pas été traité dans son intégralité et a été découpé).

Calcul de l'intervalle de confiance

En fonction du nombre total de fibres d'amiante dénombrées et en admettant une statistique de Poisson, l'intervalle de confiance de la concentration est calculé de la façon suivante :

Si le nombre total de fibres d'amiante comptées est inférieur à 4, la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % correspond à moins d'une fibre dénombrée et n'a donc pas de signification. Le résultat est rendu sous la forme "inférieur à" la limite supérieure de l'intervalle de confiance unilatérale à 95 % de la concentration. Par exemple, pour 0, 1, 2 ou 3 fibres dénombrées, les limites supérieures du nombre de fibres à utiliser pour calculer la limite supérieure de la concentration sont respectivement 2,99 - 4,74 - 6,20 et 7,75.

Si le nombre total de fibres d'amiante comptées est supérieur à 4, les limites inférieures et supérieures de l'intervalle de confiance bilatérale à 95 % de la concentration sont calculées à partir de l'intervalle de confiance du nombre de fibres dénombrées tel qu'il est donné dans le tableau ci-dessous :

Nombre de fibres comptées	Limite inférieure	Limite supérieure	Nombre de fibres comptées	Limite inférieure	Limite supérieure
4	1,09	10,24	30	20,24	42,83
5	1,62	11,67	35	24,38	48,68
6	2,2	13,06	40	28,57	54,47
7	2,81	14,42	45	32,82	60,21
8	3,45	15,76	50	37,11	65,92
9	4,11	17,08	60	45,78	77,23
10	4,79	18,39	70	54,57	88,44
15	8,4	24,74	80	63,44	99,57
20	12,22	30,89	90	72,37	110,63
25	16,18	36,9	100	81,36	121,66

Calcul de la concentration atmosphérique²

²<https://www.inrs.fr/dms/inrs/PDF/metropol-resultat-calcul-concentration/metropol-resultat-calcul-concentration.pdf>

Compléments :