

ANÁLISIS DE AMIANTO EN AGUA MEDIANTE FT-IR Y MICROSCOPIA ÓPTICA

A TRAVÉS DE LA ORDEN DE 7 DE DICIEMBRE DE 2001, ESPAÑA TRASPUSO LA DIRECTIVA COMUNITARIA 1999/77/CE, POR LA QUE SE PROHÍBE EL USO Y COMERCIALIZACIÓN DE TODO TIPO DE AMIANTO Y DE LOS PRODUCTOS QUE LO CONTENGAN. A PESAR DE ESTO, EXISTEN NUMEROSAS INSTALACIONES CON ESTE MATERIAL, SIENDO NECESARIA LA DETERMINACIÓN DE FIBRAS DE AMIANTO PARA EVALUAR LAS EXPOSICIONES AMBIENTALES A LAS QUE SE ESTÁ SOMETIDO. IPROMA, LABORATORIO CERTIFICADO DE ANÁLISIS, HA REALIZADO UN ESTUDIO SOBRE LA PRESENCIA DE AMIANTO EN AGUAS UTILIZANDO ESPECTROFOTOMETRÍA DE INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) Y MICROSCOPIA ÓPTICA CON CONTRASTE DE FASES.

Introducción

El amianto es un grupo de minerales metamórficos fibrosos constituidos por silicatos de hierro, aluminio, magnesio y calcio. Sus distintas formas pertenecen al grupo de las serpentinas (amianto blanco) o al grupo de los anfíboles (amianto azul), la amosita (amianto marrón), la antofilita, la tremolita y la actinolita, entre otros). El amianto puede pasar al aire en forma de fibras simples, agregados de fibras o bien agregados de fibras y partículas. Las fibras de amianto aparecen, observadas al microscopio, como unos hilos flexibles, curvados o rectos, dependiendo de su longitud y naturaleza. Normalmente, la relación longitud/anchura de las fibras suele ser muy elevada, quedando definida por convenio con una relación 3:1, con una anchura máxima de 3µm y longitud mínima de 5µm.

Gracias a las propiedades aislantes, mecánicas, químicas, resistencia al calor y a las llamas y al relativo bajo coste del amianto, se pueden entender las numerosas aplicaciones industriales (productos o acabados industriales). Casi todas las formas de amianto son muy resistentes a los ácidos y álcalis y se descomponen a altas temperaturas (800-1.000°C).

Las fibras de amianto pueden pasar al aire y/o al agua mediante erosión de depósitos naturales o desgaste de productos que las contienen. Las fibras de diámetro pequeño y partículas pequeñas que contienen fibras, pueden permanecer suspendidas en el aire largo tiempo y ser transportadas largas distancias antes de depositarse.

La EPA ha propuesto una concentración límite de 7·10⁶ fibras/L de agua potable para fibras largas (f15µm de longitud). La Administración de Seguridad y Salud Ocupacional de EE. UU. (OSHA) ha establecido límites de 0,1 fibras/cc. de aire con longitudes de f15µm en el lugar trabajo (40h/semana). En España figura dentro de la lista

Tabla 1. Sensibilidad analítica por volumen de muestra de agua filtrada (EPA 100.2).
Tabla 1. Sensibilidad analítica por volumen de muestra de agua filtrada (EPA 100.2).

Volumen de muestra filtrada (ml.) Volume of sample filtered		Sensibilidad analítica (f/L) Analytical sensitivity
Diámetro de filtro ^b Filter diameter: 25 mm	Diámetro de filtro ^b Filter diameter: 47 mm	
0,1	0,6	3,0·10 ⁷
0,5	2,8	6,0·10 ⁶
1	5,7	3,0·10 ⁶
2	11	1,6·10 ⁶
5	28	6,0·10 ⁵
10	57	3,0·10 ⁵
15	85	2,0·10 ⁵
25	142	1,2·10 ⁵
50	285	6,0·10 ⁴
100	570	3,0·10 ⁴

Asumiendo un área activa de filtro de 1,99 cm² | Assuming active filter area of 1.99 cm²
Asumiendo un área activa de filtro de 11,34 cm² | Assuming active filter area of 11.34 cm²

ANALYSIS OF ASBESTOS IN WATER USING FT-IR AND OPTICAL MICROSCOPY

EU DIRECTIVE 1999/77/EC WAS TRANPOSED INTO SPANISH LAW BY A MINISTERIAL ORDER OF DECEMBER 7 2001. THIS LEGISLATION PROHIBITS THE USE AND SALE OF ALL TYPES OF ASBESTOS AND PRODUCTS CONTAINING ASBESTOS. DESPITE THIS, MANY FACILITIES FEATURE ASBESTOS AND IT IS NECESSARY TO ANALYSE THE FIBRES TO ASSESS ENVIRONMENTAL EXPOSURE TO THIS MATERIAL. IPROMA, A CERTIFIED ANALYSIS LABORATORY, HAS CARRIED OUT A STUDY USING FOURIER-TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY (FTIR) AND PHASE CONTRAST OPTICAL MICROSCOPY.

Introduction

Asbestos is a group of fibrous metamorphic minerals comprising iron, aluminium, magnesium and calcium silicates. Its different forms belong to the serpentine group (white asbestos) or the amphibole group (blue asbestos), which includes amosite (brown asbestos), antophyllite, tremolite and actinolite fibres, amongst others. Asbestos can be found in the air in the form of simple fibres, fibre aggregates or aggregates of fibres and particles. Observed under the microscope, asbestos fibres appear as flexible, curved or straight threads, depending on their length and nature. The length/width ratio of the fibres tends to be very high and long asbestos fibres have been defined by convention as having a ratio of 3:1, with a maximum diameter of 3µm and a minimum length of 5µm.

Given its insulating, mechanical, chemical, heat and flame resistant properties, added to its relatively low cost, it is understandable that asbestos has numerous industrial applications (products or industrial finishes). Almost all forms of asbestos are highly resistant to acids and alkalis and decompose at high temperatures (800-1,000°C).

Asbestos fibres are released into the air and/or water through the erosion of natural deposits or wear of the products containing them. Small-diameter fibres and small particles that contain fibres can be suspended in the air for long periods and can be carried long distances prior to settling and forming deposits.

The EPA has proposed a maximum concentration of 7·10⁶ fibres/L of water for long fibres (f15µm in length). The US Occupational Safety and Health Administration (OSHA) has established limits of 0.1 fibres/cc. of air for fibres with lengths of f15µm in the workplace (40h/week). In Spain, asbestos is on the list of carcinogenic compounds and is classified in the Limits on

Occupational Exposure to Chemical Agents (V.L.A. – Ambient Limit Values).

EPA Method 100.2 (Determination of Asbestos Structures over 10µm in Length in Drinking Water) is recommended for determining the presence and quantification of asbestos structures in potable water. Asbestos structures are identified

de los compuestos carcinógenos, y se clasifica en los Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos (V.L.A.).

El método "EPA 100.2-Determinación de estructuras de asbestos de más de 10µm de longitud en agua potable" se recomienda para la determinación de la presencia y cuantificación de las estructuras de asbestos en muestras de agua potable. Las estructuras de amianto se identifican por la morfología, difracción de electrones de área seleccionada y análisis de dispersión de energía por rayos X mediante microscopía electrónica de transmisión. Para identificar y medir todas las fibras se utiliza un filtro de se policarbonato o una membrana de filtro MCE con un tamaño de poro de 0,1µm, para las estructuras >10µm es suficiente con un tamaño de poro de 0,1-0,22µm.

Para la determinación de fibras de amianto en aire, se utiliza el método de filtro de membrana/Microscopía óptica de contraste de fases (MTA/MA-051/A04) aplicable a cualquier tipo de fibra (método multifibra).

Los resultados obtenidos representan un índice de la concentración numérica de fibras, no una medida absoluta. El intervalo de aplicación depende de los requisitos de densidad/concentración aceptables de fibras en la muestra y de los volúmenes de muestreo.

La muestra se recoge haciendo pasar un volumen conocido de aire a través de un filtro de membrana mediante una bomba de muestreo. El filtro se transparenta con vapor de acetona y se prepara con un líquido de contraste sobre un portaobjetos de microscopía. Con un microscopio de contraste de fases (≈500x) se cuentan las fibras que se encuentran en un cierto número de campos o áreas determinadas del filtro, elegidos aleatoriamente.

Con las fibras contadas, el número de campos observados y la superficie efectiva del filtro se calcula el número de fibras/muestra. Con las fibras/muestra y el volumen de aire recogido se obtiene la concentración ambiental (fibras/c.c. de aire).

Iproma, analizó la presencia o ausencia de fibras de amianto de una muestra de agua mediante microscopía óptica con contraste de fases, además de realizar un ensayo cuantitativo de amianto mediante F.T.I.R pudiendo comparar los resultados obtenidos en ambos análisis y comprobar la validez de los métodos utilizados.

Metodología

Primero fue necesario conocer la turbidez de la muestra de agua para conocer el grado de oscurecimiento de la misma y la materia en suspensión o coloidal. Posteriormente, se propusieron dos actuaciones distintas que permitieran dar la máxima información al respecto:

- Detección de la ausencia/presencia de fibras mediante microscopía óptica (recuento de fibras).
- Ensayo a para la detección de amianto mediante F.T.I.R (método VDI-3866).

Contaje de fibras con microscopía óptica por contraste de fases

Se ha efectuado un recuento de fibras mediante microscopía óptica con contraste de fases (método MTA/MA/051-04 del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo).

La microscopía óptica por contraste de fases se basa en el retraso que se produce en las ondas de luz al atravesar objetos de distintos índices de refracción, aprovechando y amplificando dichos retrasos. Si el índice de refracción del material es mayor que el del medio tiene lugar una demora, llamada cambio de fase. Este método indu-

by morphology, selected area electron diffraction and energy dispersive x-ray analysis by means of transmission electron microscopy. A polycarbonate filter or an MCE membrane filter with a pore size of 0.1µm is used to identify and measure all fibres. For structures >10µm, a pore size of 0.1-0.22µm is sufficient.

The membrane filter/phase contrast optical microscopy method (Spanish National Institute for Safety and Health at Work MTA/MA/051-04 method) applicable to any fibre type (multi-fibre method) is used to determine asbestos fibres in air.

The results obtained represent an index of the numerical concentration of fibres rather than an absolute measure. The application interval depends on acceptable density/concentration requisites of fibres in the samples and the sampling volumes.

The sample is taken by drawing a known volume of air through a membrane filter by means of a sampling pump. The filter is rendered transparent with acetone vapour and is prepared with a liquid contrast medium on a microscope slide. The fibres, which are situated in a certain number of determined fields or areas of the filter, randomly chosen, are counted using a phase contrast microscope (≈500x).

When the fibres have been counted, the number of fibres/sample is calculated using the number of observed fields and the active filter area. With the number of fibres/sample and the volume of air collected, the ambient concentration is obtained (fibras/cc of air).

Iproma analysed the presence or absence of asbestos fibres in a water sample by means of phase contrast optical microscopy, and also by undertaking a quantitative test of asbestos using FTIR, thereby enabling comparison of the results obtained in the two analyses and testing of the methods used.

Methodology

It was first necessary to check the turbidity of the water sample in order to know the degree of obscuration of the water and the suspended solids or colloidal material. Subsequently, two different actions were proposed for the purpose of obtaining the maximum possible information in this respect:

- Detection of the absence/presence of fibres using optical microscopy (counting of fibres).
- Test for the detection of asbestos using FTIR (VDI-3866 method).

Counting of fibres with phase contrast optical microscopy

A fibre count was carried out using phase contrast optical microscopy (Spanish National Institute for Safety and Health at Work MTA/MA/051-04 method).



Figura 1. Preparación de muestras. | Figure 1. Preparation of samples

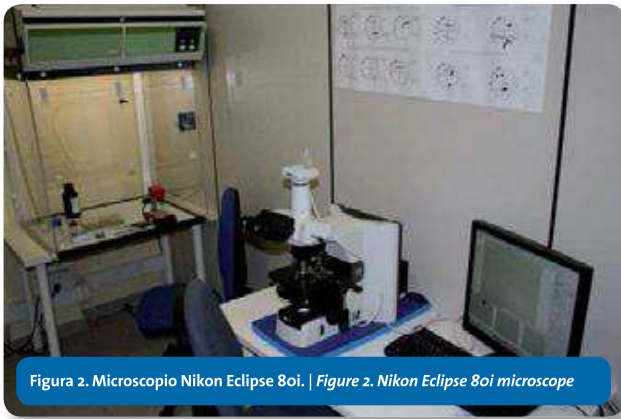


Figura 2. Microscopio Nikon Eclipse 80i. | Figure 2. Nikon Eclipse 80i microscope

ce variaciones sutiles en el índice de refracción de los especímenes translúcidos permitiendo visualizar una riqueza de detalles muy finos en la estructura. El método MTA/MA/051-04 puede estar expuesto a falsos positivos de objetos fibrosos.

Iproma ha tabajado con dos alicuotas de 10mL y 20mL de muestra previamente ozonizada, preparadas según el método EPA 100.2 "Determinación de estructuras de asbestos de más de 10µm de longitud en agua potable", empleando un filtro reticulado de 25mm de diámetro, y posterior transparentado con vapor de acetona.

Se empleó un microscopio Nikon Eclipse 80i (con objetivos de contraste de fases), verificado frente a un portaobjetos de verificación Mark II HSE/NPL (magnificación de 500x).

La retícula de conteo empleada ha sido Walton-Beckett calibrada frente a un micrómetro de pletina con certificado NIST.

Cuantificación mediante Espectrofotometría de Infrarrojo por Transformada de Fourier

FTIR está basada en los principios de la espectroscopía molecular. El principio básico detrás de la espectrometría molecular es que las moléculas absorben energía de la luz en longitudes de ondas específicas, conocidas como sus frecuencias de resonancia (vibración).

Un espectrómetro infrarrojo funciona con una pequeña muestra que es colocada en una celda infrarroja, donde es sometida a una fuente de luz infrarroja. Se puede calcular la cantidad de luz absorbida mediante la diferencia entre la intensidad de la luz antes y después de pasar por la celda de muestra.

Iproma ha utilizado una alicuota de 400mL de muestra previamente ozonizada, filtrada en filtros de acetato de celulosa de 47mm y 0,2µm de tamaño de poro.

A continuación el filtro es calcinado a 500 °C en un horno mufla, para eliminar la materia orgánica y la celulosa del filtro y que las cenizas contengan los compuestos inorgánicos. Se mezclan las cenizas con 300mg de KBr, efectuando una pastilla de 13mm mediante prensa hidráulica a 10Tm para, posteriormente, efectuar un barrido por FT.I.R.

Se ha empleando un espectrofotómetro BIO-RAD – Varian Modelo FTS-2.000 Series, efectuando un barrido desde 4.000 hasta 3.500cm⁻¹ (máximos de absorción del crisotilo, crocidolita y amosita (formas de amianto más empleadas)).

Resultados

A continuación, se presentan los resultados obtenidos durante la ejecución del estudio para ambas actuaciones: análisis mediante microscopía óptica por contraste de fases y FT.I.R.

Phase contrast optical microscopy is based on the delay that occurs in light waves on passing through objects with different refraction indexes, availing of and amplifying such delays. If the refraction index of the material is greater than that of the surrounding medium, a delay, known as a phase change, occurs. This method induces subtle changes in the refraction index of translucent specimens, enabling very fine details to be seen in the structure. The MTA/MA/051-04 method can give rise to false positives of fibrous objects.

Iproma worked with two aliquots of 10mL and 20mL pre-ozonated sample, prepared in accordance with EPA method 100.2 (Determination of Asbestos Structures over 10µm in Length in Drinking Water), using a reticulated filter with a diameter of 25mm, subsequently rendered transparent with acetone vapour.

A Nikon Eclipse 80i microscope (with phase contrast lenses) was used, verified against a Mark II HSE/NPL phase contrast test slide (500x magnification).

A Walton-Beckett gratiue calibrated against a NIST certified micrometer was used to count the fibres.

Quantification by means of Fourier-Transform Infrared Spectroscopy

FTIR is based on the principles of molecular spectroscopy. The basic principle behind molecular spectroscopy is that the molecules absorb energy from light in specific wavelengths, known as their resonance frequencies (vibration).

An infrared spectrometer works with a small sample placed in an infrared cell, where it is subjected to a source of infrared light. The quantity of light absorbed can be calculated by the difference between the intensity of the light before and after passing through the sample cell.

Iproma used an aliquot of 400mL of pre-ozonated sample, filtered through cellulose acetate filters of 47mm with a pore size of 0.2µm.

The filter was then burnt at 500°C in a muffle furnace to remove organic matter and cellulose, so that the ash contained the inorganic compounds.

The ash was mixed with 300mg of KBr and a lozenge of 13mm was made using a hydraulic press at 10Tm prior to scanning with an FTIR spectrometer.



Figura 3. Espectrofotómetro BIO-RAD–Varian Modelo FTS-2.000 Series. | Figure 3. BIO-RAD–Varian Model FTS-2.000 Series spectrometer

Tabla 2. Resultados para el conteo de fibras mediante microscopía óptica.
Table 2. Results of fibre counting with optical microscopy.

Parámetros Parameters	Resultados Results
Turbidez Turbidity	78 U.N.F.
Fibras contadas Fibres counted	2 y 4 fibras 2 y 4 fibres
Campos contados Fields counted	100 campos/filtros 100 fields/filters
Fibras Fibres	254 y 508 fibras 254 y 508 fibres
Filtros Filters	10 y 20 fibras/c.c. 10 and 20 fibres/c.c.
volumen filtrado Volume filtered	25 c.c. 25 c.c.

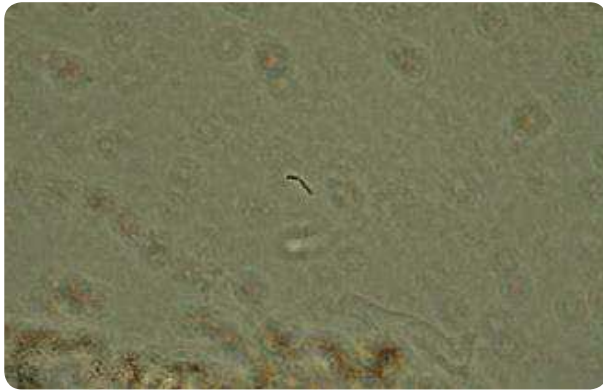


Figura 4. Algunas fibras contadas. | Figure 4. Some counted fibres

No existe valor paramétrico en nuestra legislación, ni tampoco referencias por parte de la O.M.S. Se puede tomar el valor propuesto por E.P.A. de 7.000 fibras/c.c. para aguas de consumo, por tanto, la muestra analizada cumple con este parámetro.

Cuantificación mediante espectrofotometría F.T.I.R.

La F.T.I.R., con un límite de detección estimado de 0,10mg/L, no ha detectado amianto en la muestra analizada tal y como se puede observar en el espectro que se presenta.

Conclusiones

De los análisis efectuados en la muestra de agua residual mediante las dos técnicas ensayadas en el laboratorio de Iproma, se puede concluir que:

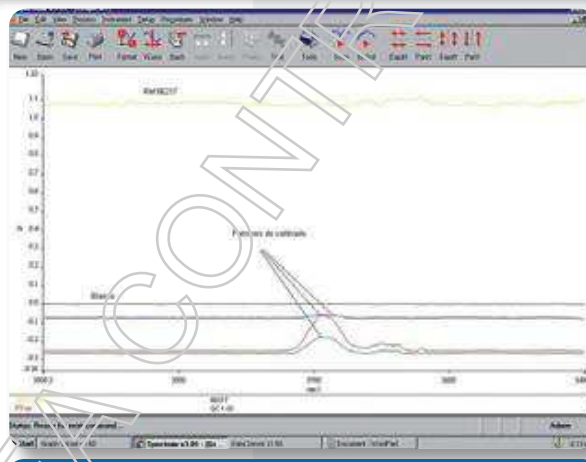
- No ha sido detectada la presencia de amianto, con un límite de detección establecido en 0,10 mg/L mediante Espectrometría F.T.I.R.
- Se han detectado estructuras fibrosas mediante microscopía óptica, que equivalen a 25 fibras/c.c., muy por debajo de las 7.000 fibras/c.c. máximas que propone E.P.A.

Para la determinación de amianto en agua, se puede concluir con que la combinación de ambas técnicas puede ofrecer resultados satisfactorios para el objetivo de los análisis.

A BIO-RAD – Varian Model FTS-2.000 Series spectrometer was used and a scan was carried out from 4,000 to 3,500 cm⁻¹ (maximum values for absorption of chrysotile, crocidolite and amosite (most commonly used forms of asbestos)).

Results

The results obtained in the study for the two actions –analysis by phase contrast optical microscopy and FTIR- are presented below.



Gráfica 1. Espectros obtenidos (FT-IR). | Graph 1. Spectrums obtained (FT-IR).

Parametric value limits are not set out in our legislation or by the WHO.

The EPA proposes a maximum of 7,000 fibras/cc for drinking water and the sample analysed complies with this limit.

Quantification by FTIR

The FTIR test, with a detection limit of 0.10mg/L, did not

detect asbestos in the sample analysed, as can be seen from the spectrum presented.

Conclusions

Based on the tests carried out on the wastewater sample with the two techniques implemented at the Iproma laboratory, it can be concluded that:

- The presence of asbestos was not detected by means of FTIR spectroscopy, with a detection limit of 0.10 mg/L
- Fibrous structures, the equivalent of 25 fibres/cc, were detected using optical microscopy, well below the maximum of 7,000 fibres/cc proposed by the EPA.

For the analysis of asbestos in water, it can be concluded that both techniques offer satisfactory results in terms of the objective of the analysis.

Rosado, A.; Ruiz, S.T.
 Investigación y Proyectos Medio Ambiente, S.L. (IPROMA).