



COLECCIONES TÉCNICAS
MTA/MA-072/A26

DETERMINACIÓN DE FIBRAS MINERALES
ARTIFICIALES EN AIRE

**MÉTODO DE CAPTACIÓN
EN FILTRO DE MEMBRANA
/ MICROSCOPIA ÓPTICA DE
CONTRASTE DE FASES**



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE TRABAJO
Y ECONOMÍA SOCIAL



Instituto Nacional de
Seguridad y Salud en el Trabajo



Título: MTA/MA-072/A26. Determinación de fibras minerales artificiales en aire. Método de captación en filtro de membrana / Microscopía óptica de contraste de fases.

Autor: Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST), O.A., M.P.

Organismos participantes en el Programa Nacional de Métodos de Toma de Muestra y Análisis:

Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo:

Centro Nacional de Condiciones de Trabajo – Barcelona.

Centro Nacional de Medios de Protección – Sevilla.

Centro Nacional de Nuevas Tecnologías – Madrid.

Centro Nacional de Verificación de Maquinaria – Bizkaia.

Coordinación:

Centro Nacional de Verificación de Maquinaria – Bizkaia.

Edita:

Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST), O.A., M.P.

C/ Torrelaguna, 73 - 28027 Madrid

Tel. 91 363 41 00 - Fax 91 363 43 27

www.insst.es

Maquetación:

EDITORIAL MIC

C/ Artesiano, S/N Polígono Ind. Trobajo del Camino, 24010 León

mic@editorialmic.com

Edición: Madrid, abril 2026

NIPO (en línea): 118-26-009-0

Hipervínculos: El INSST no es responsable ni garantiza la exactitud de la información en los sitios web que no son de su propiedad. Asimismo la inclusión de un hipervínculo no implica aprobación por parte del INSST del sitio web, del propietario del mismo o de cualquier contenido específico al que aquel redirija

Catálogo de publicaciones de la Administración General del Estado:

<http://cpage.mpr.gob.es>

Catálogo de publicaciones del INSST:

<http://www.insst.es/catalogo-de-publicaciones>

MTA/MA-072/A26

DETERMINACIÓN DE FIBRAS MINERALES ARTIFICIALES EN AIRE

**MÉTODO DE CAPTACIÓN EN FILTRO
DE MEMBRANA / MICROSCOPÍA
ÓPTICA DE CONTRASTE DE FASES**

01	Objeto y campo de aplicación.	05
02	Definiciones.	05
	2.1. Fibra respirable.	05
	2.2. Campo de recuento.	05
	2.3. Límite inferior de recuento, LIR.	05
	2.4. Límite de cuantificación, LOQ.	06
03	Fundamento del método.	06
04	Reactivos y disoluciones.	06
	4.1. Acetona (C_3H_6O), de calidad para análisis, N.º CAS: 67-64-1.	06
	4.2. Triacetato de glicerina (triacetina) ($C_9H_{14}O_6$), de calidad para análisis y de un índice de refracción de 1,51. N.º CAS: 102-76-1.	06
	4.3. Etanol (C_2H_6O), de calidad para análisis, N.º CAS: 64-17-5.	07
	4.4. Agua desionizada.	07
05	Aparatos y material.	07
	5.1. Equipos y material para la toma de muestra.	07
	5.2. Equipo y material para la preparación de la muestra.	08
	5.3. Equipo y material para el análisis (recuento de fibras).	08
06	Toma de muestra.	09
	6.1. Bomba de muestreo.	09
	6.2. Caudal de muestreo.	09
	6.3. Tiempo de muestreo.	09
	6.4. Volumen de muestreo.	09
	6.5. Procedimiento de muestreo.	10

07	Método de análisis.	11
	7.1. Preparación de la muestra.	11
	7.2. Calibración y ajuste del microscopio.	11
	7.3. Procedimiento para el recuento de las fibras.	11
	7.4. Número total de fibras en la muestra.	11
	7.5. Concentración de fibras en aire.	12
09	Blancos.	12
	8.1. Blancos de lote.	12
	8.2. Blancos de campo.	12
09	Características del método.	13
	9.1. Límite inferior de recuento (LIR).	13
	9.2. Precisión.	13
	9.3. Sesgo.	14
	9.4. Incertidumbre expandida del método (U).	14
10	Aseguramiento de la calidad.	14
11	Bibliografía.	15
12	Anexo A. Generador de vapor de acetona-transparentación de los filtros.	16
	Anexo B. Retículo del ocular: especificaciones y verificación.	16
	Anexo C. Recuento de fibras: criterios.	18
	Anexo D. Selección de los campos de recuento: criterios.	23
	Anexo E. Validación del método de medida.	23
	E.1. Precisión analítica.	23
	E.2. Sesgo o exactitud analítica.	24
	E.3. Incertidumbre del procedimiento de medida.	25



01 OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Este método describe el procedimiento para determinar la concentración de fibras minerales artificiales en aire mediante la captación en filtro de membrana de mezcla de nitrato y acetato de celulosa, y recuento por microscopía óptica de contraste de fases. Está basado en el método de la Organización Mundial de la Salud (OMS) *Determinación de la concentración de fibras suspendidas en el aire – Método basado en la microscopía óptica de contraste de fases*, OMS 1997.^(11.1)

Este método consiste en contar el número de fibras de diámetro entre 0,2 y 3,0 micrómetros captadas en el filtro, y permite cuantificar concentraciones de fibras cerámicas refractarias y de fibras para usos especiales (VLA-ED = 0,3 fibras/cm³) así como de fibras manufacturadas, tales como fibras de vidrio, lana mineral, p-aramida etc. (VLA-ED = 1 fibra/cm³). El método no permite diferenciar el tipo o la naturaleza de las fibras, por lo que, si se requiere su identificación, es necesario utilizar otras técnicas de análisis como son la microscopía electrónica, la difracción de rayos X, la espectroscopía infrarroja, etc.

02 DEFINICIONES

2.1. Fibra respirable

Partícula con una longitud > 5 µm, diámetro < 3 µm y una relación longitud/diámetro > 3.

2.2. Campo de recuento

Zona de la superficie del filtro delimitada por el retículo del ocular donde se realiza el recuento de las fibras.

2.3. Límite inferior de recuento, LIR

Está establecido por la OMS en 10 fibras por 100 campos contados. Esto es equivalente a, aproximadamente, 4900 fibras/filtro cuando se utiliza un filtro de muestreo estándar de 25 mm de diámetro ($A_{\text{útil}} = 385 \text{ mm}^2$) y una retícula circular de Walton-Beckett de tipo G-22 ($A_{\text{retículo}} = 0,00785 \text{ mm}^2$).

2.4. Límite de cuantificación, LOQ

Concentración de fibras minerales artificiales en el ambiente que puede ser determinada con un nivel de confianza establecido. Depende del volumen de aire muestreado y se calcula a partir del límite inferior de recuento mediante la fórmula 1.

$$\text{LOQ} = \frac{\text{LIR}}{V \times 1000} \quad (\text{fórmula 1})$$

Donde,

- LOQ: límite de cuantificación expresado en fibras/cm³.
- LIR: límite inferior de recuento, establecido en 4900 fibras/filtro.
- V: volumen de aire muestreado, expresado en l.

03 FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La muestra se recoge haciendo pasar, con la ayuda de una bomba de muestreo, un volumen conocido de aire a través de un filtro de membrana de mezcla de nitrato y acetato de celulosa. El filtro, con las fibras retenidas, se transparenta con vapor de acetona y se monta sobre un portaobjetos de microscopía. A continuación, con el objeto de lograr un contraste óptimo, se añaden unas gotas de triacetina. Finalmente, utilizando un microscopio de contraste de fases que suministre alrededor de 500 aumentos, y siguiendo unos criterios preestablecidos (véase Anexo C), se procede a contar las fibras presentes en un cierto número de campos o áreas del filtro elegidos de forma aleatoria.

A partir de las fibras contadas, el número de campos observados y la superficie efectiva del filtro, se calcula el número de fibras en la muestra. Del número de fibras en la muestra, y del volumen de aire recogido, se obtiene la concentración ambiental, expresando el resultado final en fibras por centímetro cúbico de aire.

04 REACTIVOS Y DISOLUCIONES

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica para microscopía. Las indicaciones de peligro asignadas a cada reactivo se recogen en el Reglamento (CE) N.º 1272/2008 sobre clasificación, envasado y etiquetado de sustancias y mezclas (CLP)^(11.11) y en el documento *Límites de exposición profesional para agentes químicos 2026*.^(11.7)

4.1. Acetona (C₃H₆O), de calidad para análisis, N.º CAS: 67-64-1.

Precaución: sustancia inflamable e irritante. Indicaciones de peligro: H225-H319-H336-EUH066.

4.2. Triacetato de glicerina (triacetina) (C₉H₁₄O₆), de calidad para análisis y de un índice de refracción de 1,51. N.º CAS: 102-76-1.

No está clasificada como sustancia peligrosa.

4.3. Etanol (C_2H_6O), de calidad para análisis, N.º CAS: 64-17-5.

Precaución: sustancia inflamable e irritante. Indicaciones de peligro: H225- H319.

4.4. Agua desionizada.

De grado 2 de pureza como mínimo, según ISO 3696:1996. La conductividad eléctrica será menor de $0,1 \mu S/cm$ y la resistividad mayor de $1,0 M\Omega \cdot cm$ a $25^\circ C$.

05 APARATOS Y MATERIAL

5.1. Equipos y material para la toma de muestra

5.1.1. Muestreador, constituido por un portafiltro para filtro de 25 mm de diámetro; un *protector o cuerpo extensor* con una longitud entre 1,5 y 3 veces el diámetro efectivo del filtro; un *soporte de filtro*; y un *filtro* de membrana mezcla de nitrato y acetato de celulosa de 25 mm de diámetro, un tamaño de poro de $1,2 \mu m$ y cuadrícula impresa (figura 1). Existen en el mercado muestreadores que incorporan estos elementos citados para su empleo en la toma de muestra.

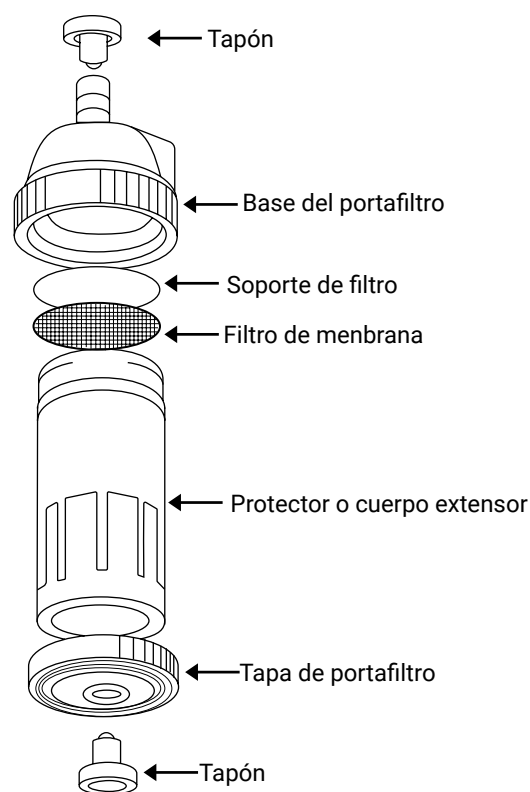


Figura 1. Muestreador de fibras.

5.1.2. Bomba de muestreo, se requiere una bomba tipo P, capaz de mantener un funcionamiento continuo durante todo el tiempo de muestreo. El caudal de la bomba ha de mantenerse constante dentro de un intervalo $\pm 5\%$. La bomba debe cumplir los requisitos recogidos en la norma UNE-EN ISO 13137:2022.^(11.13)

5.1.3. Medidor de caudal externo, para ajustar y medir el caudal de la bomba de muestreo, calibrado frente a un patrón primario (trazable a patrones nacionales o internacionales), y cuyo rango de medida incluya el caudal requerido para la bomba de muestreo.

5.2. Equipo y material para la preparación de la muestra

5.2.1. **Portaobjetos de vidrio**, adecuados al tamaño del filtro.

5.2.2. **Cubreobjetos de vidrio**, adecuados al tamaño del portaobjetos y del filtro, y cuyo grosor no interfiera en la calidad final de la imagen.

5.2.3. **Pinzas**, para la manipulación del filtro. De punta ancha o estrecha y sin ranuras.

5.2.4. **Dispensador de gota o micropipeta**.

5.2.5. **Papel**, especial para limpiar lentes.

5.2.6. **Generador de vapor de acetona**, para transparentar el filtro (véase anexo A).

5.3. Equipo y material para el análisis (recuento de fibras)

5.3.1. **Microscopio con las siguientes características:**

- Iluminación: mediante una fuente de luz Kohler o similar.
- Oculares: preferiblemente enfocables de 12,5X, que permiten obtener un mínimo de 500X aumentos.
- Telescopio centrador o lente Bertrand.
- Retículo del ocular: Walton-Beckett del tipo G-22 (véase anexo B).
- Objetivos: de contraste de fases positivo de 10 y 40 aumentos y apertura numérica entre 0,65 y 0,75.
- Condensador: de contraste de fases Abbe o acromático.
- Platina: con sujetadores del portaobjetos y dispositivo mecánico ajustable para desplazamiento x-y.

5.3.2. **Micrómetro de objeto**, debe tener una escala de 1 mm de longitud con divisiones en intervalos de 10 micras, siendo preferible que estas divisiones fueran de 2 micras (véase Anexo B). Requiere ser calibrado por un laboratorio acreditado que certifique las dimensiones.

5.3.3. **Portaobjetos de verificación del límite de visibilidad**, se utiliza el portaobjetos para contraste de fases Mark II HSE/NPL.

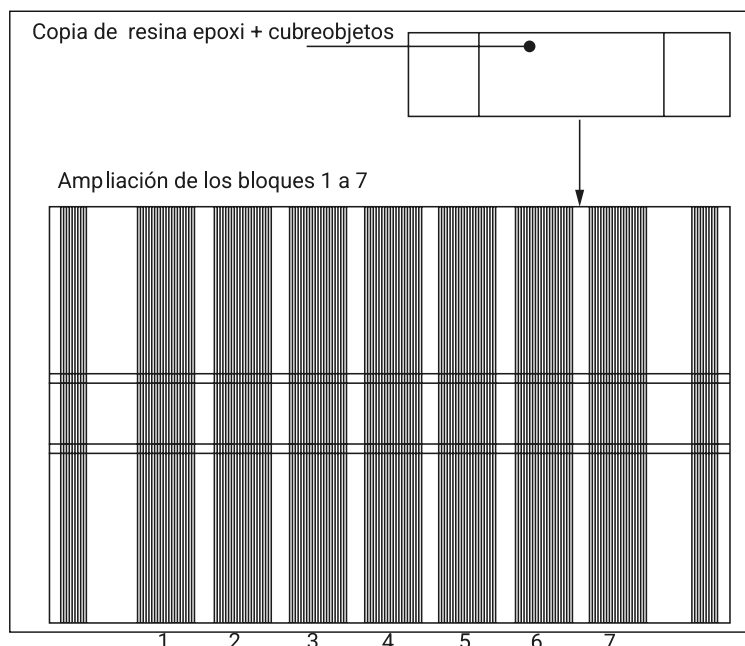


Figura 2. Portaobjetos Mark II HSE/NPL.

06 TOMA DE MUESTRA

6.1. Bomba de muestreo

Bomba tipo P, capaz de proporcionar caudales de 5 l/min o superiores.

6.2. Caudal de muestreo

Se recomienda utilizar un caudal de muestreo entre 2 y 5 l/min.

6.3. Tiempo de muestreo

El tiempo de muestreo será igual o superior a 120 min o el tiempo que dure la exposición.

6.4. Volumen de muestreo

6.4.1. Volumen mínimo de muestreo (V_m). El volumen mínimo de aire utilizado para la toma de muestra debe permitir al procedimiento de medida cuantificar concentraciones medias de fibras minerales artificiales en el ambiente igual al 10 % del VLA ED establecido. El volumen mínimo de muestreo es de 163 l para las fibras cerámicas refractarias y las fibras para usos especiales, y de 49 l para las fibras manufacturadas (fibras de vidrio, lana mineral, p aramida, etc.). (fórmulas 2 y 3).^(11.8)

$$V_m = \frac{LIR}{0,1(VLA - ED) \times 1000} = 163 \text{ l} \quad (\text{fórmula 2})$$

Donde,

- LIR: límite inferior de recuento (4900 fibras/filtro).
- VLA-ED: valor límite ambiental de exposición diaria para fibras cerámicas refractarias y fibras para usos especiales. (0,3 fibras/cm³).

$$V_m = \frac{LIR}{0,1(VLA - ED) \times 1000} = 49 \text{ l} \quad (\text{fórmula 3})$$

Donde,

- LIR: límite inferior de recuento (4900 fibras/filtro).
- VLA-ED: valor límite ambiental de exposición diaria para fibras manufacturadas, fibras vítreas artificiales (fibras de vidrio, lana mineral, etc.) y fibras sintéticas (p aramida). (1 fibra/cm³).

6.4.2. Volumen máximo de muestreo. El procedimiento de medida no requiere ninguna especificación en este apartado, si bien, se recuerda que volúmenes de muestreo excesivos en ambientes laborales muy pulverulentos pueden dificultar el recuento de las fibras o provocar una caída en el caudal de aire seleccionado en la bomba de muestreo.

6.4.3. Volumen de muestreo recomendado (V_r). El volumen de aire recomendado en la toma de muestra para la determinación de fibras minerales artificiales en la atmósfera de los lugares de trabajo es entre 240 y 1000 l.

Tabla 1. Condiciones para la toma de muestra.

	Fibras cerámicas refractarias y fibras para usos especiales (VLAED=0,3 fibras/cm ³)	Fibras manufacturadas (fibras de vidrio, lana mineral, p-aramida, etc.) (VLA ED = 1 fibra/cm ³)
Bomba	Tipo P	Tipo P
Caudal (Q)	(2 - 5) l/min.	(2 - 5) l/min.
Tiempo (t)	≥ 120 min. o duración de la exposición	≥ 120 min. o duración de la exposición
Volumen mínimo (V _m)	163 l	49 l
Volumen recomendado (V _r)	(240 - 1000) l	(240 - 1000) l
N.º muestras/jornada y trabajador	1	1

6.5. Procedimiento de muestreo

6.5.1. Ajuste del caudal de la bomba. Se ajusta el caudal de la bomba empleando un medidor de caudal y un muestreador provisto de un filtro de la misma naturaleza y características que el empleado en el muestreo.

6.5.2. Montaje del filtro en el muestreador. Con ayuda de unas pinzas se monta el filtro en el muestreador. El muestreador con el filtro incorporado permanecerá convenientemente cerrado hasta el comienzo del muestreo. Antes de comenzar el muestreo, se retiran los tapones y la tapa del portafiltro. Se conecta el muestreador a la bomba mediante un tubo flexible, asegurándose de que no existen fugas ni estrangulamientos.

6.5.3. Muestreos personales. Se coloca el muestreador, orientado hacia abajo, en la zona de respiración del trabajador (por ejemplo, sujeto a la solapa). La bomba de muestreo se sujeta en el cinturón o en otro lugar apropiado de la ropa del trabajador, evitando estrangulamientos del tubo flexible.

6.5.4. Muestreos en puntos fijos. Se debe elegir una localización adecuada en el puesto de trabajo o próxima a él, de forma que los resultados se puedan considerar representativos de la exposición del trabajador (véase anexo 0).

6.5.5. Inicio de la toma de muestra. Se pone en marcha la bomba, se anotan el caudal, la hora de comienzo y, si es necesario, la temperatura y la presión atmosférica.

6.5.6. Finalización del muestreo. Finalizada la toma de muestra, se desconecta la bomba, se vuelve a colocar la tapa del portafiltro y los tapones y se retira el muestreador. De esta forma se evitan pérdidas o contaminaciones durante su traslado al laboratorio. Se anotan el tiempo transcurrido desde el inicio del muestreo, la referencia de la muestra y todos los datos relativos a la toma de muestra.

6.5.7. Verificación del caudal de muestreo. Se coloca de nuevo el muestreador con el filtro utilizado en el ajuste del caudal de la bomba, y se verifica que el caudal de la bomba es el seleccionado midiéndolo con el medidor de caudal utilizado. La muestra se considera no válida cuando la diferencia entre los caudales medidos antes y después de la toma de muestra supera el 5 %.

6.5.8. Almacenamiento y transporte. El muestreador con el filtro incluido, convenientemente cerrado, se almacena y transporta convenientemente de forma que se eviten posibles contaminaciones y/o pérdidas de muestra.

07 MÉTODO DE ANÁLISIS

7.1. Preparación de la muestra

Se abre el muestreador (orientado hacia arriba) y con la ayuda de unas pinzas se extrae el filtro que se deposita, con la cuadrícula impresa hacia arriba, sobre un portaobjetos previamente limpiado, como el resto del material de vidrio, con etanol. A continuación, el filtro se transparenta incidiendo sobre él vapor de acetona (véase anexo A) y se espera unos minutos hasta la total evaporación de la acetona. Sobre el filtro transparentado se añade una gota de triacetina (10 µl) y se coloca el cubreobjetos, verificando que no queden burbujas y que la triacetina cubre todo el filtro, evitando que sobrepase los bordes. Transcurridas 24 horas, la muestra está lista para el análisis.

7.2. Calibración y ajuste del microscopio

7.2.1. Ajuste del microscopio. Se seguirán las instrucciones del fabricante. La verificación del ajuste, incluyendo el centrado de los anillos de fase, se realizará en cada jornada de trabajo, antes de comenzar la sesión de recuentos, y siempre que se realice cualquier operación que pueda afectar al funcionamiento del microscopio.

7.2.2. Verificación del retículo del ocular. Se inserta en el ocular el retículo Walton-Beckett (véase anexo B) y se mide, con la ayuda de un micrómetro de objeto (5.3.2), el tamaño de las divisiones y el diámetro del círculo que corresponde al área del campo de recuento (véase anexo C). La verificación del retículo del ocular se realizará y anotará antes de comenzar cada sesión de recuento.

7.2.3. Verificación del límite de visibilidad. La verificación del límite de visibilidad o resolución del microscopio se realizará con la ayuda del portaobjetos de verificación Mark II HSE/NPL (5.3.3). Se considera una combinación microscopio/observador satisfactoria cuando las líneas del bloque 5 son visibles, las del bloque 6 lo son parcialmente y las del bloque 7 no se ven (figura 2). La verificación del límite de visibilidad se realizará y anotará antes de comenzar cada sesión de recuentos.

7.3. Procedimiento para el recuento de las fibras

7.3.1. Exploración previa. Se coloca la muestra en el microscopio y, con un objetivo de bajos aumentos (10X), se realiza un barrido visual de la superficie completa del filtro con el objeto de verificar la uniformidad del depósito de fibras. Si se observan marcadas diferencias de densidad de fibras en los distintos campos o agregación masiva de fibras o de polvo, el filtro debe ser rechazado.

7.3.2. Recuento de fibras. Para el recuento se cambia al objetivo de 40X y se enfoca el plano de la muestra, fácilmente localizable al coincidir con el de la cuadrícula impresa de los filtros. Se procede al recuento de las fibras y a la selección de los campos de recuento aplicando los criterios que se indican en los anexos C y D, respectivamente.

El recuento finaliza al alcanzar un número de 100 fibras contadas. Si este número no se alcanzase, se continuará hasta examinar 100 campos. Independientemente, siempre se contarán un mínimo de 20 campos, aunque haya en ellos más de 100 fibras.

7.4. Número total de fibras en la muestra

Para determinar el número total de fibras en la muestra se utiliza la fórmula 4.

$$F = \frac{N \times A}{a \times n} \quad (\text{fórmula 4})$$

Donde,

- F: número total de fibras en el filtro.
- N: número de fibras contadas.
- A: superficie efectiva del filtro (mm²).
- n: número de campos contados.
- a: área correspondiente a un campo de recuento (mm²).

7.5. Concentración de fibras en aire

Para determinar la concentración total de fibras en el aire muestreado se utiliza la fórmula 5.

$$C = \frac{F}{V \times 1000} \quad (\text{fórmula 5})$$

Donde,

- C: concentración (fibras/cm³).
- V: volumen de aire muestreado (l).

08 BLANCOS

8.1. Blancos de lote

Filtros extraídos directamente de las cajas adquiridas al suministrador, que se montan y recuentan las fibras con objeto de verificar que los filtros son aptos para su uso. Se recomienda analizar 1 filtro por cada 25 de la misma caja o lote.

8.2. Blancos de campo

Filtros que se someten a las mismas operaciones que a los filtros de muestreo, pero sin quitar la tapa protectora, sin pasar aire a través de éstos y sin colocárselos al trabajador. Se preparan y analizan igual que los filtros de muestra. Se recomienda incorporar un blanco de campo en cada envío o, en su caso, un 2 % del número total de muestras tomadas.

La cantidad máxima admisible de fibras en los filtros blancos es de 5 fibras en 100 campos reticulares. Esta cantidad corresponde aproximadamente a una densidad de 6,4 fibras/mm². En caso de superar estos valores, los filtros deben desecharse.

09 CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

9.1. Límite inferior de recuento (LIR)

Definido como el número mínimo de fibras en el filtro necesario para obtener un resultado fiable y cuantificable. Está establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 10 fibras por 100 campos contados. Aproximadamente 4900 fibras/filtro cuando se utiliza un filtro de muestreo estándar de 25 mm de diámetro ($A_{\text{útil}}=385\text{ mm}^2$) y una retícula circular de Walton-Beckett de tipo G-22 ($A_{\text{retículo}}=0,00785\text{ mm}^2$). Corresponde con una densidad de 12,7 fibras/mm². Fórmula 6.

$$\text{LIR} = \frac{10 \times 385}{0,00785 \times 100} \cong 4900 \text{ fibras/fibras} \quad (\text{fórmula 6})$$

Tabla 2. Límite inferior de recuento (LIR).

LIR	4900 fibras/filtro	12,7 fibras/mm ²
-----	--------------------	-----------------------------

9.2. Precisión

La precisión se expresa como el coeficiente de variación medio del procedimiento de medida (% cv) obtenido a partir de los coeficientes de variación proporcionados por laboratorios homologados y con un sistema de calidad implantado (% cv_i). El coeficiente de variación decrece considerablemente a medida que aumenta el número de fibras contadas (anexo E). En función del número de fibras contadas, se pueden establecer distintos intervalos asignándoles a cada uno de ellos un coeficiente de variación medio.

Tabla 3. Coeficientes de variación medio (% cv_i) para los distintos intervalos, establecidos en función del número de fibras contadas.

N (N.º de fibras)	Clasificación de la muestra	Coeficiente de variación (% cv _i)
N < 10	No cuantificable < LIR	46
N = 10	LIR	37
10 < N < 50	Baja densidad	28
50 ≤ N ≤ 200	Densidad óptima	22

9.3. Sesgo

El sesgo del procedimiento de medida se ha determinado a partir de la desviación de los resultados de los recuentos respecto a valores de referencia asignados a las muestras por medio de controles de calidad internos y externos. A este respecto, los datos extraídos del Programa Interlaboratorios de Control de Fibras de Amianto (PICC-FA) proporcionan un sesgo medio de los resultados de los laboratorios participantes respecto a los valores de consenso del $\pm 12\%$.

Tabla 4. Sesgo del procedimiento de medida.

Sesgo	$\pm 12\%$
-------	------------

9.4. Incertidumbre expandida del método (U)

Se calcula la incertidumbre expandida del método para la determinación de fibras a partir de todas las fuentes de incertidumbre asociadas al procedimiento de medida. Se utiliza para el cálculo el factor de cobertura $k=2$ (anexo E).

Tabla 5. Incertidumbre asociada a cada una de las zonas en que se puede clasificar las muestras en función del número de fibras contadas.

N (N.º de fibras contadas)	Clasificación de la muestra	Incertidumbre (% U)	
		Combinada (U_c)	Expandida (U_e) (K=2)
N < 10	No cuantificable < LIR	47	94
N = 10	LIR	39	78
10 < N < 50	Baja densidad	32	64
50 ≤ N ≤ 200	Densidad óptima	26	52

10 ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Este método está basado en el recuento óptico de las fibras y, por tanto, existirán variaciones subjetivas sistemáticas entre diferentes laboratorios o incluso dentro de un mismo laboratorio que pueden dar lugar a discrepancias significativas en los resultados. Por esta razón, se requiere que el personal que aplique este método reciba previamente la formación y entrenamiento adecuado y que el laboratorio implante un sistema de calidad en el que se establezca un control de calidad interno y se participe de forma continua en programas de control de calidad externo.

11 BIBLIOGRAFÍA

- 11.1. Determinación de la concentración de fibras suspendidas en el aire. Método basado en la microscopía óptica de contraste de fase. Organización Mundial de la salud (OMS), 1997.
- 11.2. Medida fiable de las concentraciones de fibras de amianto en aire. Aplicación del método de muestra y análisis MTA/MA-051/A04 (método multifibra). Criterios y recomendaciones CR-02/2005.
- 11.3. Determinación de fibras de amianto y otras fibras en aire. Método del filtro de membrana / microscopía óptica de contraste de fases. MTA/MA-051/A04.
- 11.4. Amianto. Determinación de fibras en aire. Volumen de muestreo, Nota Técnica de Prevención, NTP 1159/2021.
- 11.5. Norma UNE-EN ISO 21832:2021. Aires en el lugar de trabajo. Metales y metaloides en partículas en suspensión en aire. Requisitos para la evaluación de los procedimientos de medición que utilizan muestreadores por aspiración.
- 11.6. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST). Protocolo de validación de los métodos de medida de metales y metaloides en partículas en suspensión en aire que utilizan muestreadores por aspiración. MTA/PV-V/A19, 2019.
- 11.7. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST). Límites de exposición profesional para agentes químicos en España 2026. Ministerio de Trabajo y Economía Social.
- 11.8. Norma UNE EN 482:2021. Requisitos generales relativos al funcionamiento de los procedimientos de medida de los agentes químicos.
- 11.9. Norma UNE EN 689:2019 + AC. Exposición en el lugar de trabajo. Medición de la exposición por inhalación de agentes químicos. Estrategia para verificar la conformidad con los valores límite de exposición profesional.
- 11.10. Norma UNE-EN 1540. Exposición en el lugar de trabajo-Terminología.
- 11.11. Reglamento (CE) N.º 1272/2008. Sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas.
- 11.12. Norma UNE-EN ISO 3696:1996. Agua para uso en análisis de laboratorio. Especificación y métodos de ensayo.
- 11.13. Norma UNE EN ISO 13137:2022. Atmósferas en el lugar de trabajo. Bombas para muestreos personales de agentes químicos y biológicos. Requisitos y métodos de ensayo.
- 11.14. La toma de muestra en el procedimiento de medida de fibras de amianto en aire (MTA/MA-051). Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST), 2025.

ANEXO A. Generador de vapor de acetona-transparentación de los filtros

Para generar vapor de acetona y transparentar los filtros, se emplea un generador que utiliza el método del bloque caliente (figura 3). Este generador consiste en un dispositivo dotado de un calentador integral, en el que se inyecta la cantidad mínima de acetona necesaria para transparentar un filtro. La acetona se evapora y sale por un orificio en forma de chorro, directamente sobre el portaobjetos en el que se ha colocado el filtro con la cara muestreada hacia arriba y las líneas del retículo impreso paralelas a los bordes del portaobjetos. Es necesario inyectar alrededor de 250 μl de acetona para que el dispositivo genere el suficiente vapor y transparente completamente la muestra. Estos generadores son comerciales y se deben usar siguiendo las instrucciones del fabricante.

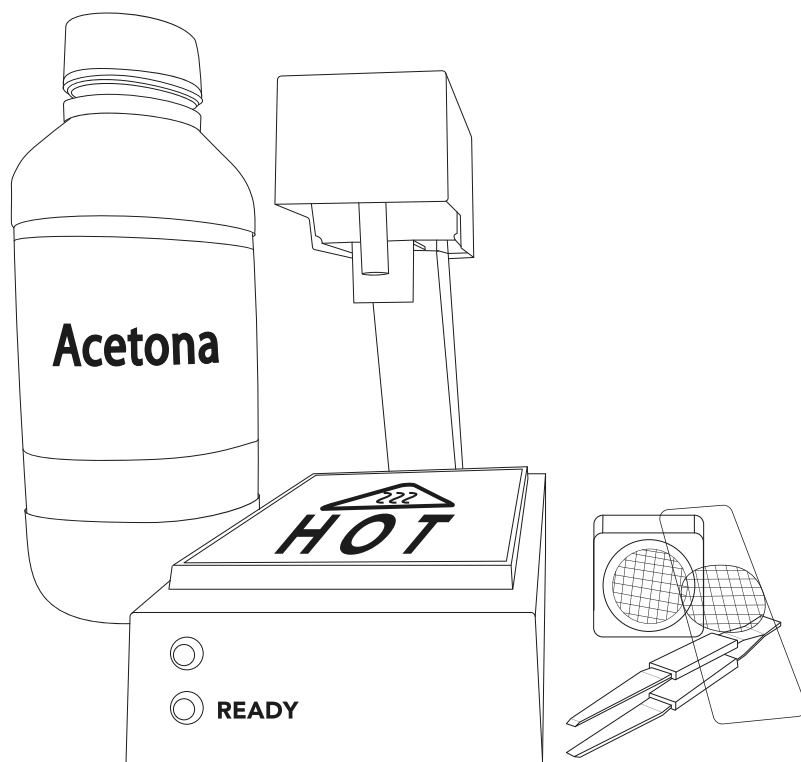


Figura 3. Generador de vapor de acetona.

ANEXO B. Retículo del ocular: especificaciones y verificación

El retículo del ocular nos permite delimitar y calcular el área del campo de visión utilizado para el recuento de las fibras, y proporciona imágenes de referencia y escalas de tamaño para medirlas. El procedimiento de medida emplea el retículo del ocular de Walton-Beckett del tipo G-22, ya que su diseño se adapta expresamente al recuento de fibras de las dimensiones especificadas en este método (figura 4). Este retículo es circular, de 100 μm de diámetro, y está dividida en cuatro cuadrantes por dos ejes, horizontal y vertical, en los que se han insertado dos escalas de 5 μm y 3 μm , respectivamente. Alrededor del círculo se sitúan una serie de figuras con la longitud, diámetro y relación longitud-diámetro que corresponden con la definición de fibra respirable, las cuales son objeto de recuento.

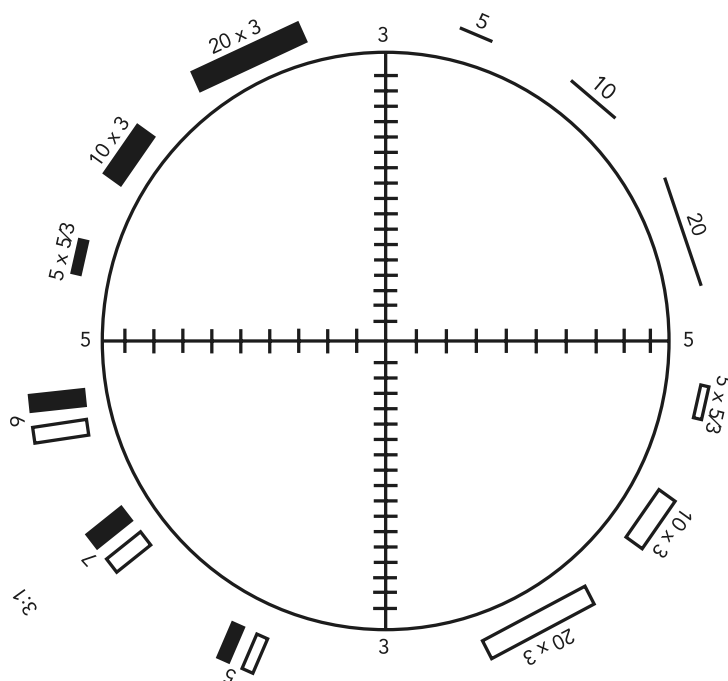


Figura 4. Retículo del ocular de Walton-Beckett del tipo G22.

Verificación del retículo del ocular: la retícula debe ser verificada a su recepción, mediante un micrómetro de objeto, utilizando el siguiente procedimiento (figura 5):

- Ajustar el microscopio a las condiciones habituales de uso.
- Colocar un micrómetro de objeto sobre la platina del microscopio.
- Verificar que la distancia inter-pupilar de los oculares está correctamente ajustada.
- Enfocar el microscopio sobre las divisiones de la escala del micrómetro de objeto.
- Situar el retículo del ocular sobre las divisiones graduadas del micrómetro de objeto. En condiciones óptimas, el diámetro del retículo del ocular abarca 10 divisiones enteras (diámetro=100 μm). Este diámetro debe estar comprendido entre 98 μm y 102 μm , en caso contrario debe rechazarse la retícula por estar fuera de especificaciones.

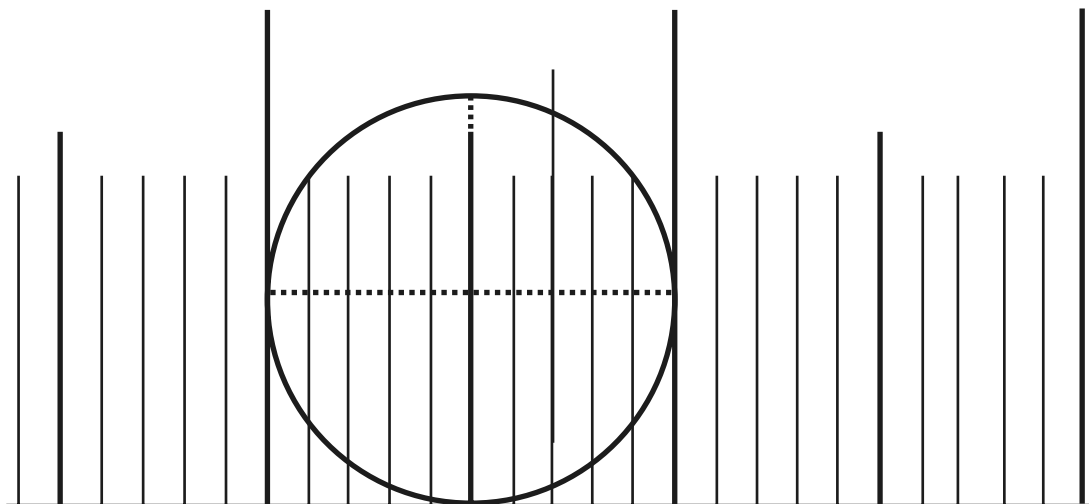


Figura 5. Retículo del ocular circular en la escala del micrómetro de objeto.

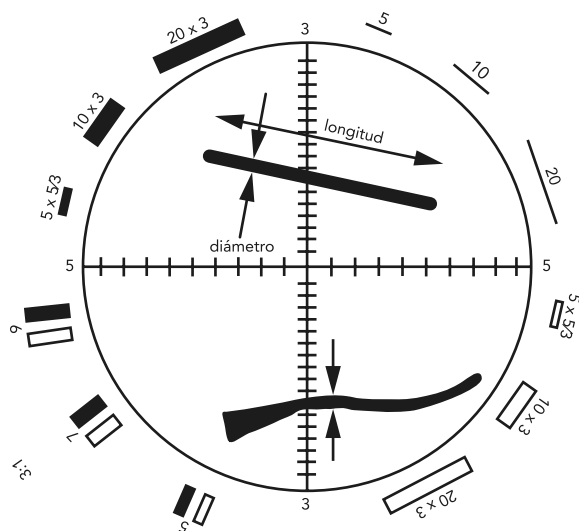
ANEXO C. Recuento de fibras: criterios

Las fibras recogidas en el filtro de membrana se presentan en diferente morfología, desde fibras aisladas y sencillas hasta configuraciones y aglomerados complejos, lo cual dificulta su caracterización y recuento. Por este motivo, es necesario realizar el recuento considerando los siguientes criterios:

Se considera "fibra" toda partícula de longitud mayor a 5 μm , diámetro inferior a 3 μm y relación longitud/diámetro superior a 3.

Fibras aisladas: si el diámetro de la fibra no es uniforme, se estimará un diámetro medio para comparar con su longitud a efectos de aplicar el criterio anterior. Las protuberancias que aparecen en las fibras, muchas veces debidas a la presencia de sustancias como resinas, otras partículas, etc. no serán consideradas en la estimación del diámetro. En caso de duda, se considerará que el diámetro es inferior a 3 μm (figuras 6).

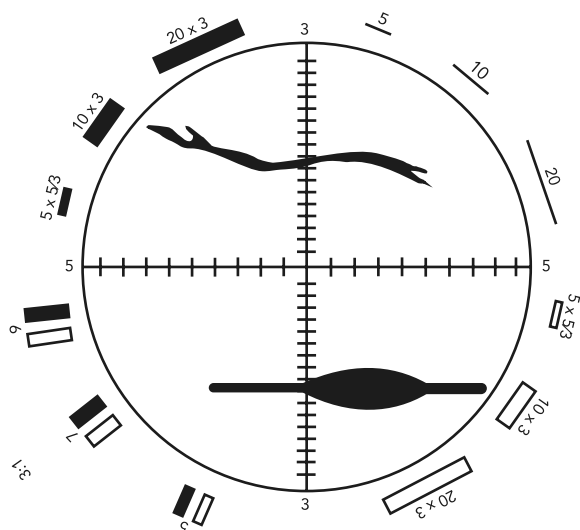
Figura 6a.



1 fibra; cumple con los criterios de longitud, diámetro y aspecto.

1 fibra; el diámetro se mide en el punto considerado como "promedio".

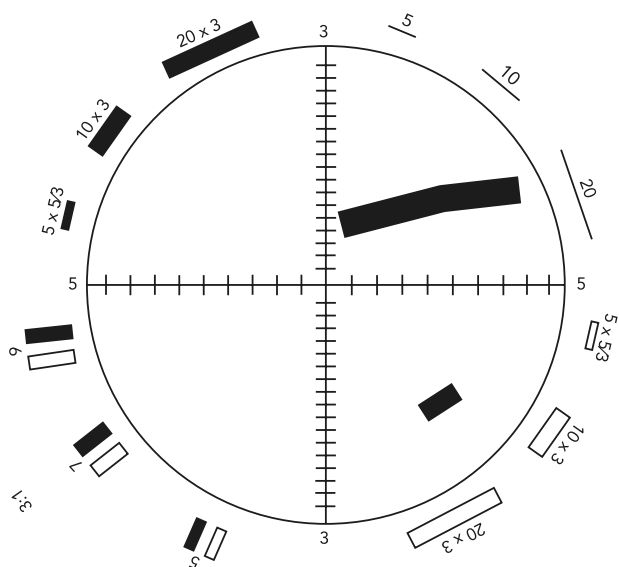
Figura 6b.



1 fibra.

1 fibra; al estimar el diámetro se ignora la partícula o "bulbo" de resina.

Figura 6c.



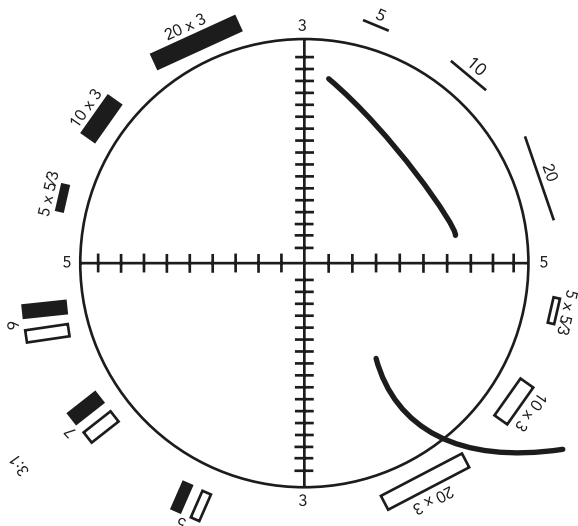
0 fibras; diámetro demasiado ancho.

0 fibras; la razón de su aspecto es menor de 3:1.

Figuras 6. Ejemplos de aplicación de los criterios para el recuento de fibras aisladas.

Fibras con extremos dentro del campo: cuando la fibra tiene ambos extremos dentro del campo de recuento, se cuenta como una unidad, y si solo tiene un extremo dentro del campo, se contará como media fibra. No se contarán las fibras que, estando parcialmente dentro del campo de visión, tienen ambos extremos fuera de él (figuras 7).

Figura 7a.

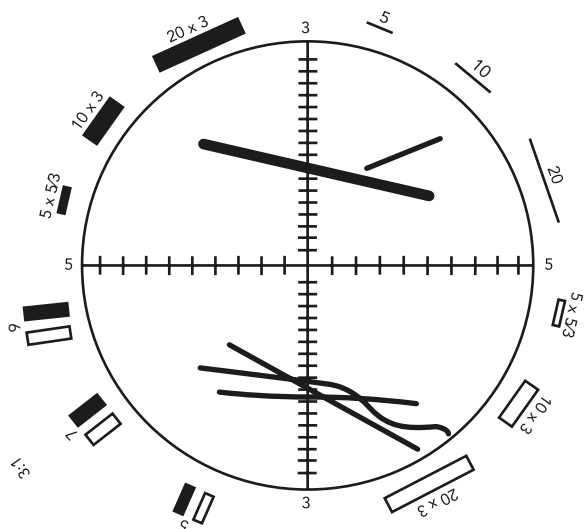


1 fibra; fibra completa dentro del campo.

½ fibra.

Fibras agrupadas: cuando varias fibras están agrupadas, pero es posible distinguir cada una de ellas, se contarán por separado. Si no es posible distinguir las fibras fácilmente, no se considerarán a menos que el aglomerado se ajuste a las dimensiones de una fibra individual, en cuyo caso se contará como una unidad (figura 9).

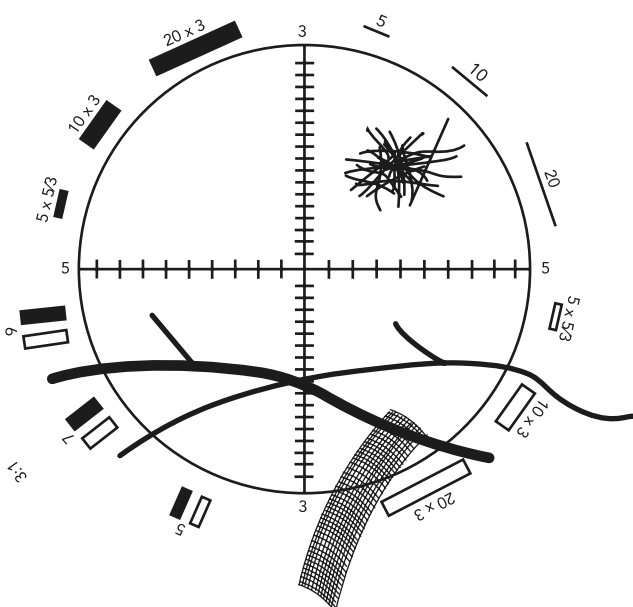
Figura 9a.



2 fibras.

3 fibras.

Figura 9b.



0 fibras.

0 fibras.

Figuras 9. Ejemplos de aplicación de los criterios de recuento a fibras agrupadas.

Fibras unidas a partículas: las fibras unidas a partículas no fibrosas se consideran, a efectos del recuento, como si las partículas no existieran. La longitud de la fibra se considera únicamente en su parte visible, salvo en el caso de que se observe claramente que la fibra continua al otro lado de la partícula (figura 10).

Figura 10a.

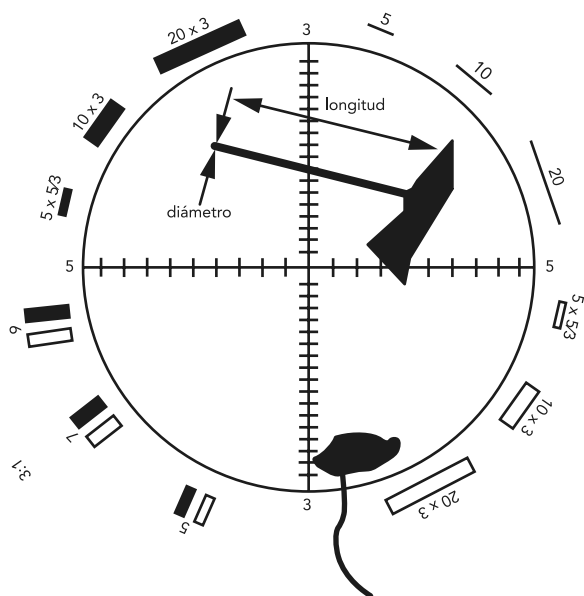
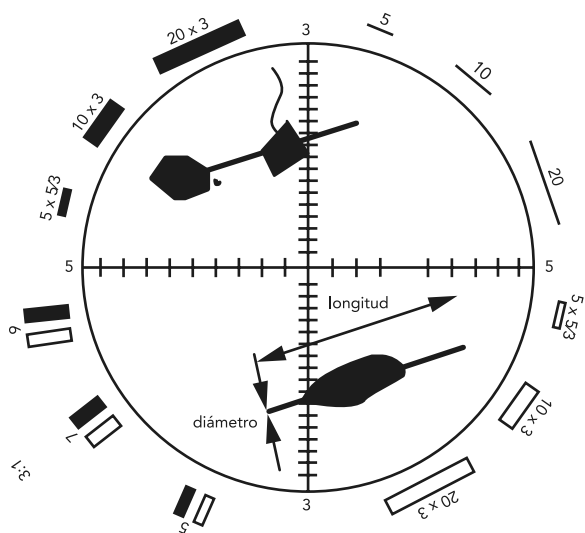


Figura 10b.



Figuras 10. Ejemplos de aplicación de los criterios de recuento de fibras unidas a partículas.

ANEXO D. Selección de los campos de recuento: criterios

La selección de los campos de recuento se realizará aplicando los siguientes criterios:

1. Los campos en los que se realizarán los recuentos se elegirán, al azar, en toda el área del filtro y deberán ser representativos de la superficie de este.
2. Se evitarán aquellos campos situados a menos de 4 mm del borde del filtro.
3. Para la elección de los campos, se puede realizar una división hipotética del filtro en partes iguales (por ejemplo, cuadrantes), seleccionando en cada una de ellas un número aproximadamente igual de campos.
4. Los campos se localizarán por desplazamientos aleatorios y alternativos X-Y de la platina. El enfoque del microscopio se debe ajustar en cada campo y, posiblemente, en cada una de las fibras contadas.

Se rechazarán aquellos campos en los que:

1. Una de las líneas de la retícula impresa en el filtro obstruye total o parcialmente el campo.
2. Un aglomerado de fibras y/o partículas, partículas aisladas o burbujas de aire ocupan una superficie superior a la octava parte del campo de recuento.
3. El microscopista estima que la imagen de las fibras no está suficientemente clara para que puedan ser contadas de manera fiable.

Si el número de campos rechazados es superior al 10 % del número de campos aceptados, o si el microscopista considera que la muestra es inadecuada para el recuento, se rechazará la muestra y se indicará la razón en el informe.

ANEXO E. Validación del método de medida

Para la validación del método de medida se han utilizado los resultados remitidos por laboratorios homologados en su participación en el Programa Interlaboratorios de Control de Calidad para el recuento de Fibras de Amianto (PICC-FA). A partir de estos resultados se ha calculado la precisión, la exactitud y la incertidumbre del procedimiento de medida de fibras minerales artificiales en aire.

E.1. Precisión analítica

La precisión se expresa como el coeficiente de variación medio (% cv) obtenido en el recuento de fibras. El recuento de fibras en el filtro se ajusta con bastante fidelidad a una distribución de Poisson. Para este tipo de distribuciones, la desviación estándar (σ) se calcula mediante la expresión $N^{1/2}$, siendo N el número total de fibras contadas. El coeficiente de variación del método se calcula a partir de la desviación estándar mediante la expresión: $\% cv = \frac{100 \sigma}{N}$. A continuación, se indican los valores obtenidos para el coeficiente de variación a partir de la ecuación de Poisson y a partir de resultados experimentales de laboratorios que disponen de sistemas de control de calidad para tales determinaciones.

Tabla 6. Coeficientes de variación (% cv) para distintos números de fibras contadas.

N (N.º de fibras contadas)	Densidad Fibras/mm ² (100 campos)	% cv (Poisson)	% cv (experimental)	Límites de confianza del 90 % para la media de determinaciones repetidas (número de fibras)		Clasificación de la muestra
				inferior	superior	
5	5,4	45	49	2,0	11,0	No cuantificable < LIR
7	8,9	38	43	3,2	14,0	
10	12,7	32	37	5,1	18,5	LIR
20	25,5	22	30	11,7	33,2	Baja densidad
50	63,7	14	25	33	76	
80	102	11	23	53	118	Densidad óptima
100	127	10	22	68	149	
200	254	7	21	139	291	

La precisión analítica depende, principalmente, del número de fibras contadas en la muestra y de la uniformidad de su distribución en la superficie del filtro. A partir de recuentos de 50 fibras el coeficiente de variación (% cv) se reduce considerablemente y se hace prácticamente constante, alcanzando los valores óptimos para recuentos entre 80 y 100 fibras. En la práctica, el coeficiente de variación experimental es superior al coeficiente teórico obtenido (distribución de Poisson), esto se debe a que a la variación de Poisson hay que añadir otros componentes de variación subjetivos que influyen en los resultados en los ensayos intra e interlaboratorios.

La densidad óptima de fibras en la muestra (LIR=12,7 fibras/mm²) se sitúa entre 100 y 650 fibras/mm². Los recuentos en densidades inferiores a 64 fibras/mm², que equivalen a recuentos inferiores a 50 fibras en 100 campos, tienen poca precisión y esta circunstancia deberá indicarse en el informe.

E.2. Sesgo o exactitud analítica

El sesgo se ha evaluado a partir de los resultados de los recuentos, obtenidos de los controles de calidad internos y externos, respecto a unos valores de consenso o referencia asignados a las muestras. A este respecto, los datos extraídos del Programa Interlaboratorios de Control de Calidad de Fibras de Amianto (PICC-FA) indican una desviación media de los resultados de los laboratorios españoles respecto a los valores de consenso del 12 %.

Tabla 7. Sesgo obtenido en el recuento de fibras minerales artificiales.

Sesgo	±12 %
-------	-------

La presencia en una muestra de diferentes tipos de fibras y la superposición casual de partículas no fibrosas puede afectar a la exactitud del resultado. Por otra parte, los microscopistas tienden a contar por defecto cuando la densidad de fibras es alta y por exceso cuando la densidad es baja, lo que puede conducir a una subestimación o sobrestimación respectivamente. No deben hacerse correcciones por este motivo.

Las particularidades de la muestra que pueden afectar a la disminución de la exactitud del recuento de las fibras deben ser indicadas en el informe de resultados.

E.3. Incertidumbre del procedimiento de medida

Los principales componentes de incertidumbre en la medida de la concentración de fibras minerales artificiales en aire son los asociados al muestreo y al recuento. La incertidumbre asociada a cada apartado, expresada en (%), se ha estimado haciendo uso de la información obtenida durante la validación del método.

Tabla 8. Incertidumbre del método de medida de fibras minerales artificiales en aire.

INCERTIDUMBRE EN EL MÉTODO DE MEDIDA DE FIBRAS MINERALES ARTIFICIALES		
A. TOMA DE MUESTRAS		
Factores	Incertidumbre (%)	Notas
1. Volumen de aire muestreado		
1.1. Medida del caudal	0,7	Obtenido del certificado de calibración del medidor de caudal utilizado.
1.2. Estabilidad del caudal de la bomba	2,9	El flujo debe ser mantenido en un $\pm 5\%$ del valor seleccionado. Requisito UNE EN ISO 13137/2022 ¹ .
1.3. Medición del tiempo de muestreo	0,0	Se considera despreciable para periodos de medida superiores a 2 horas. Para periodos inferiores, despreciable si el cronómetro posibilita la lectura en segundos.
2. Eficacia del muestreo	No se aplica	
3. Almacenamiento y transporte	No se aplica	
Incertidumbre en la toma de muestra	3,0	2
B. ANÁLISIS		
1. Recuperación del método		
1.1. Recuperación analítica	No se aplica	
1.2. Sesgo del método	12	Obtenido de los controles inter e intralaboratorios.
1.3. Concentración de la atmósfera	No se aplica	
1.4. Efecto de la humedad	No se aplica	
1.5. Efecto de la temperatura	No se aplica	

¹ Incertidumbre de la estabilidad de la bomba: $\% u = \frac{5\%}{\sqrt{3}} = 2,9\%$. En ISO 13137 requisito del 5 % en variabilidad de la bomba (distribución rectangular).

² Incertidumbre de la toma de muestra: $\% u = \sqrt{0,7^2 + 2,9^2} = 3,0\%$.

2. Variabilidad del método

	N < 10 (< LIR) No cuantificable	46	Media de los coeficientes de variación obtenidos para recuentos de fibras para cada uno de los intervalos ³ .
2.1. Precisión analítica	N = 10 (LIR)	37	
	10 < N < 50 Densidad baja	28	
	50 < N < 200 Densidad óptima	22	
2.2. Precisión del método	No se aplica		
2.3. Concentraciones disol. calibración	No se aplica		
2.4. Función de calibración	No se aplica		
2.5. Dilución de las muestras	No se aplica		
2.6. Deriva respuesta instrumental	No se aplica		
Incertidumbre en el análisis	N < 10 (< LIR) No cuantificable	48	4
	N = 10 (LIR)	39	
	10 < N < 50 Densidad baja	31	
	50 < N < 200 Densidad óptima	25	

³ Incertidumbre debido a la precisión analítica, en cada uno de los intervalos de recuento de fibras.

- N < 10 (< LIR) No cuantificable: $\% u = \frac{43 + 49}{2} = 46 \%$.
- N = 10 (LIR): $\% cv = 37 \%$.
- 10 < N < 50 Densidad baja: $\% cv = \frac{30 + 25}{2} = 28 \%$.
- 50 ≤ N ≤ 200 Densidad óptima: $\% cv = \frac{23 + 22 + 21}{3} = 22 \%$.

⁴ Incertidumbre en el análisis, en cada uno de los intervalos de recuento de fibras.

- N < 10 (< LIR) No cuantificable: $\% u = \sqrt{12^2 + 46^2} = 48 \%$.
- N = 10 (LIR): $\% u = \sqrt{12^2 + 37^2} = 39 \%$.
- 10 < N < 50 Densidad baja: $\% u = \sqrt{12^2 + 28^2} = 31 \%$.
- 50 ≤ N ≤ 200 Densidad óptima: $\% u = \sqrt{12^2 + 22^2} = 25 \%$.

Incertidumbre Combinada (U_c)	N < 10 (< LIR) No Cuantificable	48	5
	N = 10 (LIR)	39	
	10 < N < 50 Densidad baja	31	
	50 < N < 200 Densidad óptima	25	
Incertidumbre expandida U ($k=2$)	N < 10 (< LIR) No cuantificable	96	6
	N = 10 (LIR)	78	
	10 < N < 50 Densidad baja	62	
	50 < N < 200 Densidad óptima	50	

⁵ Incertidumbre típica combinada (U_c), en cada uno de los intervalos de recuento de fibras.

- N < 10 (< LIR) No cuantificable: $\% U = \sqrt{12^2 + 46^2 + 3^2} = 48 \%$.
- N = 10 (LIR) $\% U = \sqrt{12^2 + 37^2 + 3^2} = 39 \%$.
- 10 < N < 50 Densidad baja: $\% U = \sqrt{12^2 + 28^2 + 3^2} = 31 \%$.
- 50 ≤ N ≤ 200 Densidad óptima: $\% U = \sqrt{12^2 + 22^2 + 3^2} = 25 \%$.

⁶ Incertidumbre expandida (U), en cada uno de los intervalos de recuento de fibras (K = 2).

- N < 10 (< LIR) No cuantificable: $\% U = 48 \times 2 = 96 \%$.
- N = 10 (LIR): $\% U = 39 \times 2 = 78 \%$.
- 10 < N < 50 Densidad baja: $\% U = 31 \times 2 = 62 \%$.
- 50 ≤ N ≤ 200 Densidad óptima: $\% U = 25 \times 2 = 50 \%$.

