

Université de Montréal

**Optimisation des paramètres expérimentaux pour
l'analyse des fibres d'amiante par microscopie électronique
en transmission**

par Joannie Martin

Département de Chimie
Faculté des Arts et des Sciences

Thèse présentée à la Faculté des Études Supérieures et Postdoctorales
en vue de l'obtention du grade de *Philosophiæ Doctor* (Ph. D.)
en Chimie
option Analytique

Août 2016

© Joannie Martin, 2016

Résumé

L'amiante est un matériau connu et utilisé par l'homme depuis près de 5000 ans, sa définition commerciale comprend six différents types de minéraux fibreux. En raison de leurs nombreuses propriétés thermiques et mécaniques, l'amiante a été exploité intensivement pour un usage industriel au cours du siècle dernier. Il est maintenant bien reconnu que l'exposition à l'amiante peut causer des dommages sévères pour la santé, son usage et exploitation sont donc bannis dans de nombreux pays et son exposition est strictement réglementée. L'application de ces divers règlements nécessite des méthodes d'analyse pour les soutenir. La microscopie électronique en transmission (MET) est l'outil le plus puissant et efficace pour l'analyse des fibres d'amiante. Des erreurs d'identifications causées par l'endommagement des fibres d'amiante peuvent cependant se produire, cette problématique a été étudiée en profondeur.

Des fibres d'amiante amosite ont été initialement étudiées pour évaluer les dommages causés par le faisceau d'électrons du microscope électronique à transmission. Puisque les rapports d'intensité de rayons X élémentaires, obtenus par spectroscopie des rayons X en dispersion des énergies (EDS), sont couramment utilisés pour l'identification de l'amiante, l'impact de l'endommagement sur ces rapports a été mesuré. Il a été déterminé que le rapport magnésium/silicium était le plus sensible à l'endommagement causé par le faisceau d'électrons. Différents essais ont montré que la plupart des fibres ont un seuil de densité de courant au-dessus duquel la composition chimique de la fibre est modifiée. La valeur de ce seuil de densité de courant varie en fonction de la fibre. L'existence d'une valeur seuil de dose électronique a également été démontrée. Cette valeur est dépendante de la densité de courant utilisée, et peut être augmentée lorsqu'une période de récupération entre les expositions au faisceau d'électrons est octroyée. Cette étude a également permis d'établir que le courant du faisceau d'électrons est directement lié au taux d'endommagement au-dessus d'une densité de courant de 165 A/cm^2 . Des lignes directrices ont été établies afin de veiller à ce que les fibres d'amosite ne soient pas endommagées pendant l'analyse. Il a été déterminé que l'analyse doit être effectuée en dessous d'une densité de courant de 100 A/cm^2 .

Dans la deuxième partie de cette étude, l'objectif principal était d'évaluer si la température est un facteur influençant l'endommagement des fibres d'amiante et, si oui,

comment il peut être utilisé pour minimiser cet endommagement. Il a été constaté que l'abaissement de la température jusqu'à 123 K peut inhiber, pendant un temps donné, la manifestation de l'endommagement. La diminution significative de la diffusion des atomes à basse température empêche momentanément la perte de masse, ce qui réduit considérablement la possibilité d'une identification erronée des fibres d'amiant anthophyllite. Les résultats obtenus dans cette étude suggèrent fortement que le mécanisme d'endommagement prédominant est probablement lié au modèle d'endommagement par un champ électrique induit (DIEF).

Dans un troisième temps, l'effet de la tension d'accélération sur l'endommagement de quatre types de fibres d'amiant différents; chrysotile, amosite, crocidolite et anthophyllite a été étudié. Les résultats démontrent que, contrairement à ce qui est généralement recommandé, il est préférable d'utiliser une tension d'accélération de 200 kV à 100 kV afin d'éviter l'endommagement. Les résultats mettent en lumière les mécanismes d'endommagement possibles; le plus prédominant semble être causé par un champ électrique induit, la radiolyse n'est toutefois pas exclue, mais semble de moindre importance et le « knock-on » est considéré comme négligeable dans les conditions utilisées.

Mots-clés : Microscopie électronique en transmission, Amiante, Dose électronique, Densité de courant, Mécanisme d'endommagement, Tension d'accélération

Abstract

Asbestos is a material known and used by man for nearly 5000 years, its commercial definition includes six different types of fibrous mineral. Because of their numerous thermal and mechanical properties, asbestos has been mined intensively for commercial use in the last century. It is now well recognized that asbestos exposure can cause severe damage to health and thus its use and exploitation is therefore banned in many countries and its exposure is strictly regulated. The application of those regulations requires rigorous analytical methods to support it. Transmission electron microscopy (TEM) is the most powerful and efficient tool for the analysis of asbestos fibers. However, identification errors caused by damage to asbestos fibers can occur and this problem has been investigated in depth.

Asbestos amosite fibers were initially investigated to evaluate the damage caused by a transmission electron microscope electron beam. Since elemental x-ray intensity ratios obtained by energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS) are commonly used for asbestos identification, the impact of beam damage on these ratios was measured. It was determined that the magnesium/silicon ratio was the most sensitive to damage caused by the electron beam. Various tests showed that most fibers have a current density threshold above which the chemical composition of the fiber is modified. The value of this threshold current density varied depending on the fiber. The existence of a threshold electron dose was also demonstrated. This value was dependent on the current density used and can be increased by providing a recovery period between exposures to the electron beam. This study also established that the electron beam current is directly related to the damage rate above a current density of 165 A/cm^2 . Guidelines were established in order to ensure that the amosite fibers are not damaged. It was determined that analysis should be conducted below a current density of 100 A/cm^2 .

In the second part of this study, the main objective was to assess whether temperature is a factor influencing damage to asbestos fibers and, if so, how it can be used to minimize damage. It was found that lowering the temperature to 123 K can inhibit, for a given time, the manifestation of the damage. The significant decrease of atom diffusion at low temperature momentarily prevents mass loss, greatly reducing the possibility of misidentification of

anthophyllite asbestos fibers. The results obtained in this study strongly suggest that the predominant mechanism damage is probably related to the induced-electric-field model.

In a third part, the effect of the acceleration voltage on the damage of four different types of asbestos fibers; chrysotile, amosite, crocidolite and anthophyllite, was investigated. The results support the conclusion that contrary to what is usually recommended, it is best to use an acceleration voltage of 200 kV than 100 kV in order to avoid damage. The findings shed light on possible damage mechanisms; the most predominant seems to be caused by an induced electric field, radiolysis is not excluded but seems less important and knock-on is thought to be negligible for the conditions used.

Keywords: Transmission Electron Microscopy, Asbestos, Electron dose, current density, damage mechanism, accelerating voltage.

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	v
Table des matières.....	vii
Liste des tableaux.....	x
Liste des figures	xi
Liste des abréviations, sigles et acronymes	xv
Remerciements.....	xix
Chapitre 1. Introduction	1
1.1 Amiante.....	1
1.1.1 Définition	1
1.1.2 Historique.....	4
1.1.3 Minéralogie et contexte géologique.....	5
1.1.4 Utilisation et applications commerciales de l’amiante	13
1.1.5 Dangers et toxicité associés à l’amiante	15
1.2 Problématiques concernant l’analyse de l’amiante.....	17
1.3 Techniques utilisées pour l’analyse de l’amiante	19
1.3.1 Microscopie optique en lumière polarisée (MLP)	19
1.3.2 Microscopie optique à contraste de phase (MOCP)	20
1.3.3 Microscopie électronique en transmission (MET).....	21
1.4 Structure de la thèse	36
Chapitre 2. Étude des conditions seuils concernant l’endommagement des fibres d’amiante amosite pendant l’analyse au microscope électronique en transmission (MET).....	39
Abstract.....	40
2.1 Introduction.....	41
2.2 Experimental.....	45
2.3 Results and discussion	47

2.3.1 Noticeable effect of damage	47
2.3.2 Chemical homogeneity of amosite fibers	50
2.3.3 Current density threshold and experimental error	50
2.3.4 Current density threshold vs fiber diameter.....	54
2.3.5 Effect of time on damage.....	55
2.3.6 Beam current vs current density threshold.....	58
2.4 Conclusion	61
2.5 Acknowledgments.....	62
2.6 Supporting Information.....	63
Chapitre 3. Effet de la température sur l'endommagement des fibres d'amiante dû au faisceau du microscope électronique en transmission	70
Abstract.....	71
3.1 Introduction.....	72
3.2. Materials and methods	76
3.3. Results and discussion	78
3.3.1 Damage definition.....	78
3.3.2 Temperature dependence of beam damage.....	78
3.3.3 Effect of temperature on atom diffusion	85
3.3.4 Crystalline transition and elemental distribution after damage	87
3.4. Conclusions.....	91
3.5. Acknowledgments.....	93
Chapitre 4. Effet de la tension d'accélération sur l'endommagement des fibres d'amiante dû au faisceau du microscope électronique en transmission	94
Abstract.....	95
4.1. Introduction.....	96
4.2. Experimental	97
4.3. Results and discussion	99
4.4. Conclusion	108
4.5. Acknowledgements.....	109
Chapitre 5. Conclusion.....	110

5.1 Conclusions générales.....	110
5.2 Perspectives.....	114
Bibliographie.....	i

Liste des tableaux

Tableau I-1. Informations chimiques et cristallographiques des six types d'amiante réglementés.	2
Tableau I-2. Formules chimiques brutes des six types d'amiante réglementés, écrites de façon à pouvoir identifier les sites cationiques et leurs occupants.	12
Table III-1. Comparison of the illumination time needed, at a current density of 45 A/cm ² , for complete fading of the diffraction pattern and for a significant drop in the Mg/Si intensity ratios as measured on three anthophyllite asbestos fibers.	87

Liste des figures

Figure 1.1. Photographie des six types d’amiante réglementés.	3
Figure 1.2. Image MET Haute Résolution d’une section de fibre de chrysotile le long de son axe d’enroulement [100].	9
Figure 1.3. a) Double couche tétraèdre-octaèdre de la structure des serpentines. b) Représentation schématisée de la structure des feuillets dans une fibre de chrysotile.	10
Figure 1.4. Représentations de la structure générale des amphiboles. a) Double chaîne de tétraèdres de silice indiquant les sites T1 et T2 ainsi que les positions des atomes d’oxygène. b) Localisation des sites Mi, M2, M3, M4, A et des groupements hydroxy entre les doubles chaînes.	13
Figure 1.5. Image d’un échantillon contenant des fibres de chrysotile, obtenue par microscopie en lumière polarisée observée avec l’objectif en dispersion colorante et avec le filtre de 530 nm.	20
Figure 1.6. Image d’un échantillon contenant des fibres d’amiante amosite sur filtre, prise par microscopie optique à contraste de phase.	21
Figure 1.7. Schéma simplifié du parcours optique d’un microscope électronique à transmission.	22
Figure 1.8. Aperçu des différents signaux générés par l’interaction entre le faisceau d’électrons et l’échantillon au MET.	26
Figure 1.9. Interaction inélastique de l’électron primaire avec un électron d’une orbitale atomique : ionisation et désexcitation par transition radiative et Auger.	28
Figure 1.10. Illustration des différents parcours optiques menant aux différents modes d’observation du MET.	33
Figure 1.11. Image d’une fibre d’amiante actinolite en fond clair et son cliché de diffraction correspondant.	35
Figure 2.1. Mg/Si intensity ratios for three amosite fibers of different diameters obtained at a constant current of 8,30 nA for 60 s acquisitions.	49
Figure 2.2. Two examples of fibers for which the Mg/Si ratio decreased when the ib exceeded a certain value, for 60 s acquisitions with 2σ error bars. In a) the current density threshold is	

above 255 A/cm ² , and in b) the current density threshold cannot be identified because the statistical error is too large.....	51
Figure 2.3. Bright field image of damage caused on amosite fiber after an EDS analysis of 60 s at a current density of 354 A/cm ² shown in Figure 2.2b.....	53
Figure 2.4. Current density threshold as a function of fiber diameter for 14 different fibers..	54
Figure 2.5. Variation in the Mg/Si ratio as a function of the total electron dose and time at two different current densities for an amosite fiber 525 nm in diameter.....	56
Figure 2.6. Effect of two different recovery times on the damage rate, compared to continuous exposure for an amosite fiber 320 nm in diameter and a constant current density of 123,5 A/cm ²	57
Figure 2.7. Comparison of the effect of current density for three different beam currents on an amosite fiber 270 nm in diameter for 60 s acquisitions.	59
Figure 2.8. “Threshold” surface showing values of the beam diameter, beam current and current density for which damage was not observed on 15 different amosite fibers.....	61
Figure 2S-1. Relationship between the beam current (<i>I</i>) as measured using a Faraday cage and the current density (<i>J</i>) measured on the viewing screen.	64
Figure 2S-2. a) Example of an EDS spectrum model including the experimental spectrum, the background noise, the peak modelled, the total modelled spectrum and the residual spectrum. b) An enlargement of the Mg peak showing the experimental spectrum, the modelled peak minus background, and the background noise. c) An enlargement of the Mg peak showing the experimental spectrum, the modelled peak plus background, and the residual spectrum.	65
Figure 2S-3. Absorption of the x-ray signal of oxygen and magnesium relative to the silicon signal for three iron concentrations according to fiber thickness.	66
Figure 2S-4. Variation in the Mg/Si ratio for 97 acquisitions carried out on 11 different amosite fibers from the same sample. The error bars indicated correspond to 2σ.	67
Figure 2S-5. The Mg/Si intensity ratio measured for a wide range of current densities. A significant decrease of the Mg/Si intensity ratio is not observed.	68
Figure 3.1. Change in the Mg/Si ratio as a function of current density for four different temperatures on one anthophyllite fiber.	80

- Figure 3.2.** Comparison of the EDS intensity ratio Mg/Si as a function of current density at 123 K and 298 K on five anthophyllite fibers of different thicknesses; a) 765 nm b) 400 nm c) 220 nm d) 470 nm e) 315 nm..... 81
- Figure 3.3.** Comparison of the EDS Mg/Si intensity ratios as a function of illumination time at 123 K and 298 K on three anthophyllite fibers of different thicknesses for similar current densities; a) 260 nm (49 A/cm² at 123 K and 45 A/cm² at 298 K) b) 327 nm (49 A/cm² at 123 K and 45 A/cm² at 298 K) c) 245 nm (39 A/cm² at 123 K and 45 A/cm² at 298 K)..... 82
- Figure 3.4.** Comparison of the EDS Mg/Si intensity ratio as a function of illumination time at 123 K. a) The initial analysis and b) one from the same illuminated region of the sample but after returning to room temperature. 84
- Figure 3.5.** The EDS intensity ratio I/I_0 as a function of illumination time for a constant current density. a) Total intensity ratio (O K + Si K + Mg K + Fe K) b) magnesium intensity ratio c) silicon intensity ratio d) oxygen intensity ratio (4 nA beam current, 106 nm beam diameter). 86
- Figure 3.6.** High resolution TEM image of an anthophyllite fiber and the corresponding Fourier transform, before convergent illumination, after 10 seconds illumination and after 2 minutes illumination with a current density of 45 A/cm². 89
- Figure 3.7.** a) STEM image of an anthophyllite fiber with STEM profile indications over a previously irradiated area at 298K. b) Total x-ray intensity profile (OK+MgK+SiK+FeK). c) Si, O, Mg and Fe x-ray profile. d) Oxygen x-ray intensity profile. e) Magnesium x-ray intensity profile. f) Silicon x-ray intensity profile. 90
- Figure 4.1.** The Mg/Si intensity ratios of the four types of asbestos analyzed: chrysotile, amosite, anthophyllite and crocidolite, and the Na/Si intensity ratio of crocidolite, measured by EDS on different fibers at acceleration voltages of 100 kV and 200 kV. The current densities were between 4 and 30 A/cm². 100
- Figure 4.2.** Comparison of the Mg/Si intensity ratio for a 225 nm diameter amosite fiber, at a 200 A/cm² current density and acceleration voltages of 100 kV and 200 kV. 101
- Figure 4.3.** Comparison of the percentage of the initial Mg/Si or Na/Si intensity ratios for: a) 10 amosite fibers b) 9 anthophyllite fibers c) 8 chrysotile fibers d) 7 crocidolite fibers, all measured at a 200 A/cm² current density for acceleration voltages of 100 kV and 200 kV. . 102

Figure 4.4. STEM profile of x-ray intensity. A) STEM profile over a previously irradiated area. B) Total x-ray intensity profile (OK+MgK+SiK+FeK). C) Si, O, Mg and Fe x-ray profile. D) Oxygen x-ray intensity profile. e) Magnesium x-ray intensity profile. f) Silicon x-ray intensity profile.	105
Figure 4.5. a) Mg/Si intensity ratios measured by EDS at a current density of 200 A/cm ² , expressed in percentage of the initial ratio, as a function of increasing fiber diameter, at 100 kV and 200 kV. b) The difference between the Mg/Si intensity ratios (measured at 200 A/cm ²) at 200 kV and 100 kV as a function of fiber diameter.....	106
Figure 4.6. a) Average increase of the Mg/Si and Na/Si intensity ratios, obtained by increasing the accelerating voltage from 100 kV to 200 kV for the four types of asbestos at 200 A/cm ² . b) Average increase of the Mg/Si intensity ratios, obtained by increasing the acceleration voltage from 100 kV to 200 kV, for chrysotile at 200 A/cm ² and at 100 A/cm ²	107

Liste des abréviations, sigles et acronymes

a	fraction de la raie mesurée = $IK_{\alpha}/(IK_{\alpha}+IK_{\beta})$
A	Ampère
Å	Angstrom
AFNOR	Association française de normalisation
<i>AIA</i>	<i>Asbestos International Association</i>
<i>ASTM</i>	<i>American Society for Testing and Materials</i>
C	Concentration
c/s	Compte par seconde
<i>CAS</i>	Chemical Abstracts Service
<i>CCD</i>	<i>Charge-Coupled Device</i> (Dispositif à transfert de charges)
(CM) ²	<i>Center for Characterization and Microscopy of Materials</i> Centre de Caractérisation Microscopique des Matériaux
CNESST	Commission des normes, de l'équité, de la santé et de la sécurité du travail
CSST	Commission de la Santé et de la Sécurité du Travail du Québec
D	Distance entre la tache du faisceau incident et la tache du faisceau diffracté
D	Dose électronique
<i>d</i>	Diamètre du faisceau
d_{hkl}	Distance interréticulaire
<i>DIEF</i>	<i>Damage by induced electric field</i> Endommagement par un champ électrique induit
e	Charge élémentaire de l'électron
e/cm ²	Électron par centimètre carré
<i>EDS</i>	<i>Energy-dispersive X-ray spectroscopy</i> Spectroscopie des rayons X en dispersion des énergies
<i>EELS</i>	<i>Electron Energy Loss Spectroscopy</i> Spectrométrie de la perte d'énergie des électrons

E_{pl}	Énergie du plasmon
EtOH	Éthanol
<i>EPA</i>	<i>Environmental Protection Agency</i>
<i>FEG</i>	<i>Field Emission Gun</i>
	Canon à effet de champ
<i>FIB</i>	<i>Focused Ion Beam</i>
	Sonde ionique focalisée
h, k, l	Indices de Miller
<i>HPLC</i>	<i>High-performance liquid chromatography</i>
i_b	Courant de faisceau
I	Intensité du signal des rayons X en EDS
INSPQ	Institut National de Santé publique du Québec
IRSST	Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail
ISO	Organisation internationale de normalisation
	<i>International Organization for Standardization</i>
j	Nombre quantique relatif au moment cinétique total
J_b	<i>Dose rate or current density</i>
	Densité de courant
K_α, K_β	Raies d'émission des rayons X
λ	Longueur d'onde
l	Nombre quantique azimutal
L	Longueur de caméra
LaB_6	Hexaborure de lanthane
MET	Microscopie électronique en transmission
MEB	Microscopie électronique à balayage
MLP	<i>Microscopie optique en lumière polarisée</i>
MOCP	Microscopie optique à contraste de phase
n	Nombre quantique principal
NIOSH	<i>National Institute for Occupational Safety and Health</i>
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>

NVLAP	<i>National Voluntary Laboratory Accreditation Program</i>
% m	Pourcentage massique
PEELS	Parallel Electron Energy Loss Spectroscopy Spectrométrie de la perte d'énergie des électrons en parallèle
PTFE	<i>Polytetrafluoroethylene</i>
Q	Section efficace d'ionisation
σ	<i>Standard deviation</i> Écart-type
SAED	<i>Selected Area Electron Diffraction</i> Diffraction des électrons en sélection d'aire
SDD	<i>Silicon Drift Detector</i> Détecteur de type silicium à diffusion
SEM	<i>Scanning electron microscopy</i>
STEM	<i>Scanning Transmission electron microscopy</i> Microscopie électronique en transmission à balayage
t	Épaisseur
t	Temps
TEM	<i>Transmission electron microscopy</i>
θ_B	Angle de diffraction θ à Bragg
UICC	<i>Union for International Cancer Control</i>
VDI	<i>Verein Deutscher Ingenieure</i>
ω	Rendement de fluorescence
% wt	<i>Weight pourcentage</i>
X	Moyenne
z	Numéro atomique

À ma maman,

Remerciements

Dans un premier temps, j'aimerais remercier l'IRSST, particulièrement Jacques Lesage et Martin Beuparlant qui m'ont offert un poste afin de pouvoir me consacrer presque qu'entièrement à l'accomplissement de mon doctorat. Mon directeur, Sébastien Sauvé pour m'avoir guidé pendant ce parcours. Un remerciement particulièrement sincère, pour mon codirecteur, Gilles L'Espérance, qui m'a accueilli dans son équipe de recherche et qui a consacré un temps fou à ma formation scientifique, qui a toujours été disponible pour nos discussions, qui a su me redonner courage dans les moments plus gris, tant par sa passion que par ses encouragements. Grâce à tout ça, je suis certainement devenue une meilleure chercheuse, mais j'ai aussi définitivement appris à devenir une meilleure personne.

J'ai aussi eu la chance de côtoyer Annie Ouellet à l'IRSST qui a toujours été disponible pour me dépanner, répondre à mes questions ou tout simplement transmettre un peu de sa joie de vivre. Jean-Philippe Masse, Philippe Plamondon et Arslane Bouchemit, au (CM)² de l'École Polytechnique de Montréal m'ont beaucoup aidé à me familiariser avec les techniques de microscopie et ont grandement contribué à rendre ce parcours académique agréable.

Je suis arrivée à ce point parce que depuis toujours, j'ai un soutien inconditionnel de ma chère maman. Savoir qu'il y a toujours une épaule sur laquelle s'appuyer, c'est ce qui permet de toujours regarder vers l'avant. Un gros merci à mon père, qui a su encourager et supporter mes ambitions tout au long de ces nombreuses années d'études. Ma sœur Valérie qui a toujours un mot d'encouragement pour moi et quand les mots manquent, je suis certaine de recevoir une photo!

Je ne pourrais pas omettre de souligner l'aide et le soutien de mes beaux-parents, Alain et Carole qui ont tout fait pour que j'arrive au bout de cette aventure le plus facilement et agréablement possible.

Finalement, un merci tout spécial à mon amoureux, Philippe, qui a été là pour moi à chaque étape, qui a toujours cru en moi et qui a tout fait pour me soulager le plus possible du

fardeau qu'un projet de cette envergure peut parfois devenir. Merci de ne pas me lâcher et de toujours t'assurer que j'ai un beau projet dans ma vie avec toi.

Chapitre 1. Introduction

1.1 Amiante

1.1.1 Définition

Le terme amiante désigne groupe de minéraux de silicates appartenant aux groupes des amphiboles et des serpentines qui se sont cristallisés en faciès asbestiforme, ce qui permet, lorsqu'ils sont traités ou broyés, de les séparer facilement en fibres longues, minces, flexibles et solides¹. Amiante est un nom commercial et générique provenant du mot latin « *amiantus* » provenant du grec et qui signifie incorruptible, son synonyme asbeste (du grec *asbestos*, incombustible) est aussi utilisé dans les textes plus anciens. Le terme *amiante* définit six différents minéraux des groupes des serpentines et des amphiboles qui ont été exploités commercialement. Le chrysotile est le seul amiante provenant du groupe des serpentines. Le groupe minéral des amphiboles inclut les cinq autres; l'amiante grunérite (aussi appelé amosite), l'amiante riebeckite (crocidolite), l'amiante anthophyllite, l'amiante trémolite et l'amiante actinolite. Ces six types d'amiante ont plusieurs caractéristiques communes, elles se présentent généralement sous forme de faisceaux de fibres qui peuvent facilement se séparer en fibres plus fines, elles sont dotées d'une grande élasticité, d'une bonne résistance au feu et à la biodégradation, de propriétés isolantes, elles sont chimiquement inertes face à plusieurs composés, présentent une faible conductivité thermique et ont un rapport longueur sur largeur plus grand que 3 :1 mais pouvant facilement atteindre 20 :1 et même jusqu'à 1000 :1. Pour chacun des six types d'amiante, serpentine et amphibole, il existe un minéral non asbestiforme analogue. Il s'agit d'un minéral ayant exactement la même composition chimique et la même structure cristallographique, mais qui est non fibreux. Ce dernier n'a donc pas cristallisé selon un faciès asbestiforme. Ces minéraux analogues ne sont pas des amiantes et sont beaucoup plus répandus que leurs homologues asbestiformes.

Tableau I-1. Informations chimiques et cristallographiques des six types d'amiante réglementés.

Amiante Nom commun	Numéro CAS	Formule chimique brute	Système cristallin	Minéral non asbestiforme associé
Chrysotile	12001-29-5	$[\text{Mg}_3(\text{Si}_2\text{O}_5)(\text{OH})_4]_n$	monoclinique	Antigorite
Amosite	12172-73-5	$[(\text{Mg},\text{Fe})_7\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$	monoclinique	Cumingtonite -grunérite
Anthophyllite fibreux	17068-78-9	$[(\text{Mg},\text{Fe})_7\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$	orthorhombique	Anthophyllite
Actinolite fibreux	12172-67-7 13768-00-8	$[\text{Ca}_2(\text{Mg},\text{Fe})_5\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$	monoclinique	Actinolite
Trémolite fibreux	77536-68-6 14567-73-8	$[\text{Ca}_2\text{Mg}_5\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$	monoclinique	Trémolite
Crocidolite	12001-28-4	$[\text{Na}_2\text{Fe}_5\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$	monoclinique	Riebeckite



Figure 1.1. Photographie des six types d’amiante réglementés.
(Photos tirées du site internet : <http://www.mindat.org/>, consulté le 12 juillet 2016)

L’amiante, bien que connue et utilisée depuis les débuts de l’homme, a connu un essor important au dix-neuvième siècle en étant incorporée à une multitude de procédés industriels. Le terme amiante a donc, pour des raisons principalement commerciales, initialement limité sa définition à ces six types de minéraux qui ont connu une utilisation industrielle. Lorsqu’au vingtième siècle, il est devenu évident que les fibres d’amiante aéroportées étaient une cause de maladies pulmonaires graves, cette définition commerciale n’était plus assez détaillée pour répondre aux normes de santé publique et du travail. Ainsi plusieurs autres définitions de l’amiante sont maintenant répandues et utilisées selon le contexte. Parmi les plus communes, on retrouve en plus de la définition commerciale, la définition réglementaire, la définition minéralogique et la définition analytique.

La définition commerciale énoncée plus haut est principalement basée sur les propriétés physiques de l’amiante qui lui octroie sa valeur commerciale. La définition réglementaire est plutôt utilisée dans un contexte de santé et sécurité du travail ou de santé publique et sert habituellement à faire appliquer la réglementation. Elle doit donc permettre la

distinction entre l'amiante réglementée et tous les autres matériaux qui ne le sont pas, en plus de distinguer les différents types d'amiante entre eux. La définition minéralogique de l'amiante est quant à elle très exhaustive. Elle définit l'amiante par sa structure cristalline, sa composition chimique, sa morphologie et par ses mécanismes de formation. Elle permet donc de distinguer l'amiante des fragments de clivage, qui présentent parfois beaucoup de similarités. Finalement, la définition analytique est utilisée dans les laboratoires, elle est constituée de plusieurs critères qui servent à caractériser les fibres d'amiante et de déterminer leur concentration dans différents médias². Toutes ces définitions, bien que très utiles, ne sont parfois pas cohérentes en elles et contribuent donc à la complexité de l'application des différentes réglementations et de l'analyse de l'amiante en général. Ces disparités dans les définitions causent de nombreux problèmes, par exemple, la définition analytique peut difficilement exclure les fragments de clivage appartenant des minéraux non asbestiformes analogues dont les critères morphologiques correspondent à ceux dictés par les réglementations. Il existe aussi d'autres minéraux amphiboles asbestiformes qui n'ont jamais connu d'utilisation commerciale et donc qui n'ont jamais été réglementés, pouvant causer de graves conséquences sur la santé sans pour autant être inclus dans les définitions commerciale, réglementaire ou analytique. La winchite et la richterite asbestiforme retrouvées comme contaminants de la vermiculite de la mine de Libby au Montana en sont d'excellents exemples. Il est donc important de tenter de continuer d'améliorer les techniques d'analyse de l'amiante afin de pouvoir répondre adéquatement à la demande en fonction des différents contextes, mais plus spécialement pour identifier correctement les risques liés à la santé.

1.1.2 Historique

L'utilisation de l'amiante par l'homme remonte à une époque très ancienne, les écrits relatent qu'elle était filée et tissée afin de produire des linceuls dans lesquels on enveloppait les corps des grands personnages qu'on voulait brûler pour recueillir les cendres. L'historien grec Hérodote (V^e siècle avant J.-C.) fait mention de ces linceuls particuliers réservés à l'élite³. Il semble que cet usage était particulièrement courant en Égypte ancienne où des suaires d'amiante étaient utilisés pour les pharaons défunts⁴. Plusieurs textes mentionnent aussi l'existence de lampes dites perpétuelles, puisque leurs mèches alimentées au pétrole, brûlaient constamment. Ces mèches étaient très certainement constituées de fibres d'amiante⁵.

L'une des principales utilisations de l'amiante par les anciens est le renforcement d'outils de cuisine (pots en terre cuite et ustensiles). Des fouilles archéologiques ont déterminé que l'utilisation de céramiques renforcées à l'amiante anthophyllite était courante dans l'est de la Finlande⁶. Il semble que cette pratique débutant à l'âge de pierre ait perduré jusqu'à l'âge de fer et se soit propagée à la Scandinavie et à la Russie⁷. Des personnages marquants de l'histoire sont aussi au cœur de quelques anecdotes sur l'amiante tel que Charlemagne qui selon la légende populaire aurait disposé d'une nappe en amiante, dont il aurait usé pour impressionner ses visiteurs en la jetant au feu à la fin du repas⁸. Les fibres d'amiante ont longtemps été au centre d'histoires fantastiques et considérées comme un matériau magique. Plusieurs mythes sur sa provenance ont été véhiculés à l'époque médiévale, notamment par les alchimistes qui s'y intéressaient particulièrement. Le plus connu d'entre eux est probablement celui selon lequel les fibres d'amiante poussaient sur la peau de salamandres incombustibles⁹. Des représentations artistiques de ces salamandres entourées de flammes se retrouvent dans plusieurs contextes historiques, que ce soit comme emblème royal pour la France ou comme marque de commerce pour la compagnie londonienne « *The Patent Asbestos Manufacture Company* » qui se spécialisait dans le traitement de l'amiante d'importation. Marco Polo au retour d'un voyage en Chine, pendant la dynastie Yüan à la fin du 13e siècle, fait mention dans son journal d'une « substance fossile » utilisée par les Tartares pour la fabrication de vêtements incombustibles³. Bien qu'il y décrive sa visite d'une mine et affirme que ces fibres ne proviennent en aucun cas d'un quelconque animal, mais sont plutôt d'origine rocheuse, les légendes médiévales ont continué dans certaines régions^{9,10}. Plus tard, Napoléon s'est intéressé à l'amiante et a encouragé des expériences menées en Italie⁴.

Bien que l'amiante ait été utilisé par les humains depuis plus de dix mille ans pour divers usages c'est l'industrialisation qui a causé l'importante augmentation de l'exploitation de ce matériau. À la fin du 19^e siècle, déjà l'amiante avait trouvé de nombreuses applications commerciales¹¹.

1.1.3 Minéralogie et contexte géologique

La formation d'amiante demande des conditions géologiques très particulières et ces conditions doivent avoir été stables pendant une assez longue période afin de permettre la

croissance continue des fibres. Les différentes amiantes sont toutes des roches métamorphiques, elles résultent donc d'une transformation physico-chimique de roches préexistantes. Les minéraux d'origine des amiantes sont principalement des roches magmatiques provenant des profondeurs du manteau terrestre. C'est ce qui explique que les gisements d'amiante se localisent essentiellement dans les massifs cristallins anciens de l'ère primaire tels que l'Oural en Russie, la Corse en France ou les Appalaches au Québec¹².

La roche la plus fréquemment à l'origine des amiantes est l'olivine, un silicate ferromagnésien commun, de couleur verdâtre souvent présent dans les basaltes. C'est une roche dure et basique qui étant formée dans des conditions très différentes de celles de la surface terrestre, est particulièrement sensible aux altérations.

Il existe plusieurs processus métamorphiques qui peuvent transformer l'olivine en un nouveau minéral qui peut, entre autres, être le chrysotile ou une des amiantes amphiboles.

1.1.3.1 Serpentes

Les serpentines proviennent de l'hydratation de silicates magnésiens qui constituent majoritairement les roches mantelliques. Cette transformation des serpentines est liée au départ des atomes de calcium et de fer des minéraux d'origines, sous l'effet des eaux chaudes qui s'infiltrent dans les fissures de la roche. Pour que cette transformation soit possible, des conditions physiques complexes doivent être aussi réunies telles qu'une forte pression (1 à 3 kg/cm²) et des températures élevées (400 à 500°C). Le chrysotile et autre serpentines se forment ainsi entre 1 et 12 km de profondeur dans la croûte terrestre ou océanique⁴. Les gisements de chrysotile sont donc toujours situés dans des régions où une activité tectonique intense a eu lieu, par exemple le long de la faille de San Andreas en Californie¹³.

Les feuillets qui caractérisent les minéraux serpentines sont typiques de la famille des phyllosilicates à laquelle ils appartiennent. Leur structure bidimensionnelle est un empilement de feuillets qui sont articulés par l'empilement de couches tétraédriques et octaédriques. La couche tétraédrique est un assemblage de tétraèdres Si⁴⁺ lié à quatre atomes d'oxygène. Trois de ces oxygènes seront partagés aux tétraèdres voisins alors que le quatrième, pointant vers la couche octaédrique, servira à assurer la liaison avec cette dernière. La couche octaédrique, comme son nom l'indique, est constituée d'octaèdres dont le cation central est lié à six atomes

d'oxygène et à des groupements hydroxy (-OH). La nature et la charge de ce cation varient dans les différents minéraux. Ces couches sont donc reliées entre elles par de fortes liaisons iono covalentes alors que les feuillets ne sont généralement liés entre eux que par de faibles liaisons hydrogènes¹⁴. L'espace entre chaque feuillet peut être vide ou occupée de façon plus ou moins importante par : différents types de cations, des groupements hydroxy ou des molécules d'eau. Dans le cas des serpentines, l'espace entre les feuillets (interfoliaires) est vide, et selon la composition idéale, le seul cation présent dans la couche octaédrique serait le magnésium. La couche tétraédrique, théoriquement purement silicatée, et la couche octaédrique (type brucite) partagent des atomes d'oxygène qui devraient normalement être séparés par une distance de 3,05 Å dans la couche tétraédrique et par une distance de 3,42 Å dans la couche octaédrique¹¹. Il existe alors une petite différence entre les dimensions latérales de ces deux couches constituant le feuillet. Afin d'assurer la stabilité de la structure, différents processus sont utilisés par les serpentines pour compenser ce désaccord paramétrique entre les couches du feuillet. Dans le cas du chrysotile, la solution consiste en l'adoption d'une courbure par les feuillets menant à un enroulement complet de la structure. Le chrysotile forme donc des tubes dont le centre peut être soit vide, soit rempli d'une phase amorphe¹⁵. Afin de croître, ces tubes doivent assurer la nucléation de nouveaux feuillets à l'intérieur ou à l'extérieur du tube, ils peuvent aussi s'enrouler en spirale. Le diamètre de courbure va dépendre de l'importance du désaccord entre les couches du feuillet, lequel dépend, de la substitution dans la composition chimique. Pour un feuillet de composition idéale, le rayon de courbure d'équilibre élastique est estimé à 88 Å, il va de soi qu'un seul des feuillets d'une fibre peut rencontrer ce critère de courbure. Selon ce modèle, la croissance des fibres tubulaires de chrysotile est limitée par un diamètre minimal et un diamètre maximal ainsi qu'un nombre de feuillets. Les valeurs théoriques de diamètres internes et externes moyens sont respectivement de 110 Å et de 260 Å¹⁶ alors que les valeurs expérimentales moyennes observées sur des échantillons de provenances variées sont plutôt de 70 Å à 80 Å pour les diamètres internes et de 220 Å à 270 Å pour les diamètres externes¹⁵.

Une autre façon de contrer la différence de dimension entre les feuillets est la substitution atomique. Les substitutions atomiques peuvent affecter les couches tétraédriques tout comme les couches octaédriques des feuillets. Parmi les plus communes, on retrouve

notamment la substitution d'un atome de silicium (Si) par un atome d'aluminium (Al) en position tétraédrique ou le remplacement d'un atome de magnésium (Mg) par un atome de fer (Fe) en position octaédrique. Dans les serpentines naturelles, le taux de substitution, c'est-à-dire le pourcentage de sites substitués, est généralement limité à moins de 10% en raison des déformations structurales supplémentaires induites par un trop grand taux de substitution. La substitution des atomes de Si dans la couche tétraédriques par des atomes plus volumineux ainsi que celle des atomes de Mg dans la couche octaédrique par des atomes moins volumineux est cependant l'une des trois façons par lesquelles une meilleure adéquation est obtenue entre les couches du feuillet. Les exemples de substitution mentionnés précédemment correspondent à ces critères. La troisième façon de contrer la différence de dimension entre les feuillets est la déformation des réseaux tétraédrique et/ou octaédrique. Il n'est pas rare qu'une combinaison de ces trois processus soit observée pour un même minéral. Les figures suivantes illustrent bien le phénomène d'enroulement des feuillets de chrysotile.

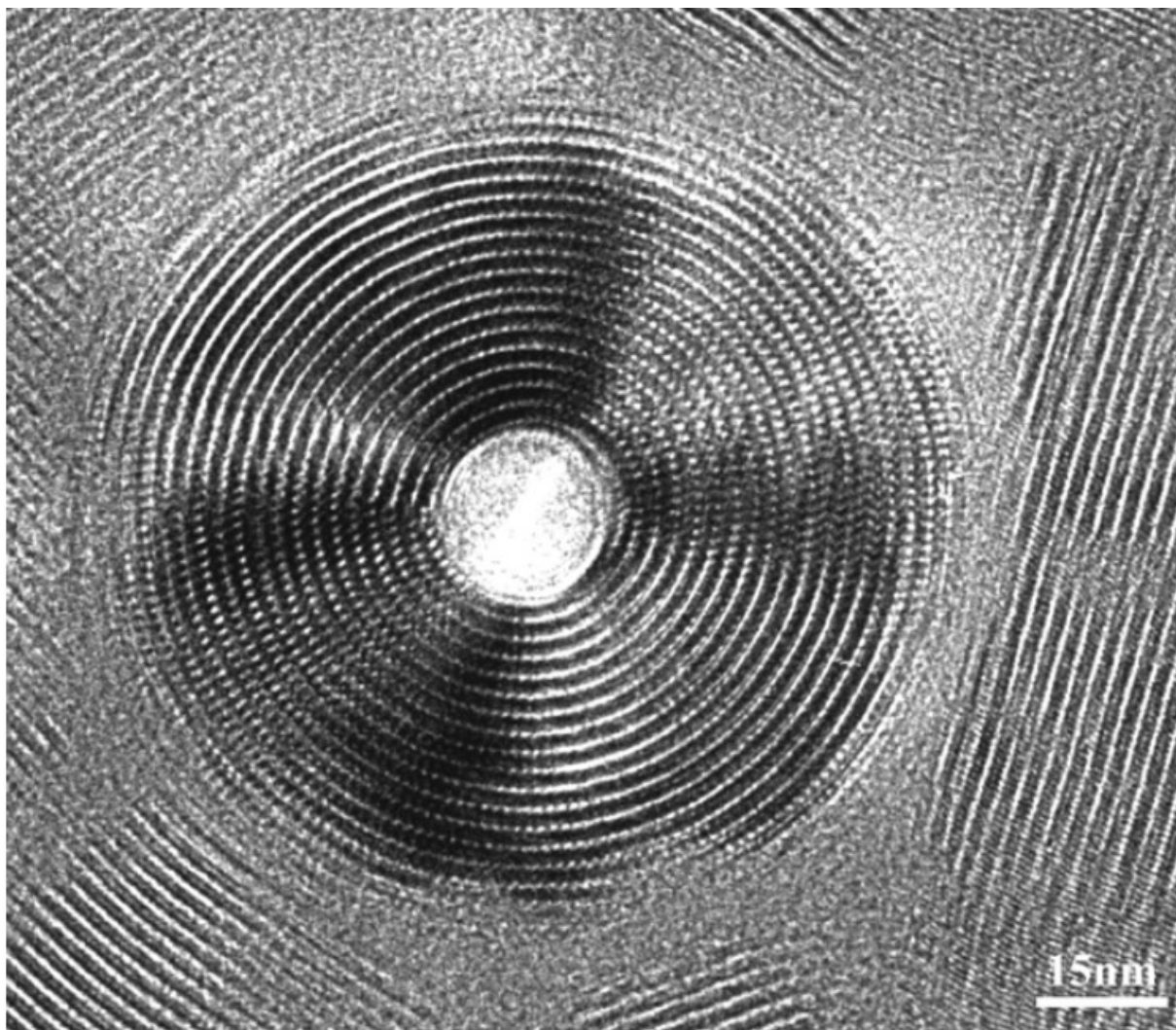


Figure 1.2. Image MET Haute Résolution d'une section de fibre de chrysotile le long de son axe d'enroulement [100]. (Image tirée de la thèse de Muriel Andreani¹⁴)

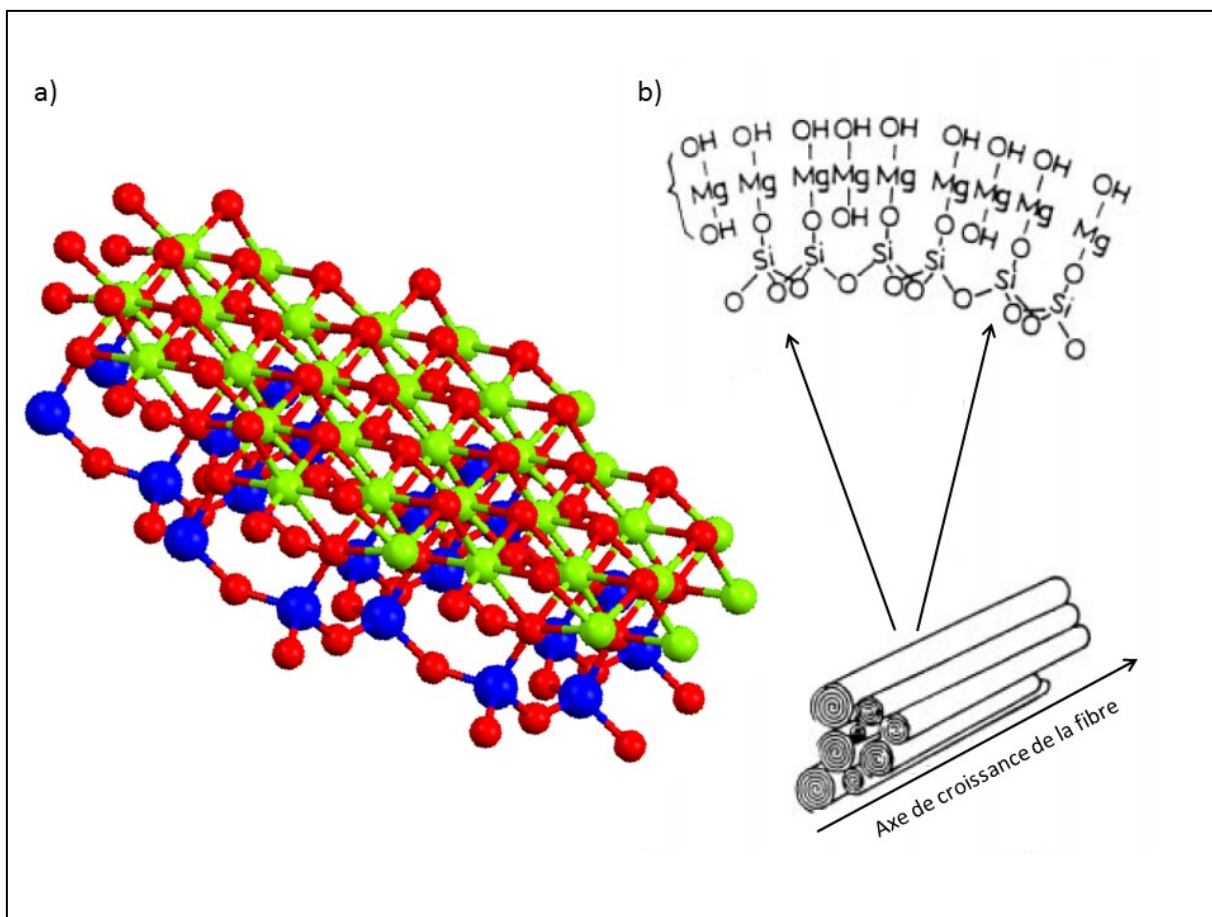


Figure 1.3. a) Double couche tétraèdre-octaèdre de la structure des serpentines. b) Représentation schématisée de la structure des feuillets dans une fibre de chrysotile.¹⁷

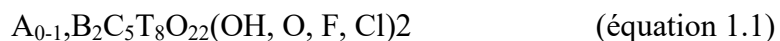
1.1.3.2 Amphiboles

Les amphiboles, tout comme les serpentines, peuvent aussi se former par métamorphisme à partir de pyroxène ou à partir de roches sédimentaires^{4,18}. L'amiante amphibole se présente généralement en fines veines, larges de 1 à 5 cm dans la roche hôte. Ces veines sont constituées d'un assemblage de fines fibres parallèles, lorsque ces agrégats fibreux sont continus, ils sont qualifiés d'asbestiforme.

Le groupe minéral des amphiboles est très présent dans la croûte terrestre. Les minéraux de ce groupe varient beaucoup dans leur composition chimique, notamment parce que leur origine géologique est diversifiée, c'est d'ailleurs pour cette raison que le groupe a ainsi été nommé. En effet, le terme amphibole, du grec « *amphibolos* » signifie ambiguë et a été choisi par Haüy¹⁹ en raison de la grande variété, en compositions et en apparences, des

minéraux de ce groupe²⁰. Des très nombreux minéraux composant le groupe des amphiboles, seulement quelques-uns existent sous forme de fibres; la riebeckite (amiante crocidolite), la cummingtonite-grunérite (amiante amosite), l'anthophyllite, l'actinolite et la trémolite.

La structure cristalline commune à tous les amphiboles consiste en deux composantes principales. La première est une double chaîne formée de groupes de tétraèdres de silice dont l'unité répétée dans chacune des chaînes simples est $\text{Si}_4\text{O}_{11}^{6-}$, cette double chaîne se répète à chaque intervalle de 5.3 Å et est parallèle à l'axe d'élongation de la fibre. La deuxième composante est une bande de cations octaédrique qui à la fois sépare et relie les chaînes. Les sites de valence anionique ainsi créés par les tétraèdres de silice sont neutralisés par des cations métalliques de nature variés, selon le type de site qu'ils occupent. Cette structure cristalline comporte 16 sites cationiques de 4 types différents qui peuvent être décrits dans la formule chimique de cette façon²¹ :



Où: A = Na, K

B = Na, Ca, Mg, Fe^{2+} , Mn, Li

C = Al, Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ti, Mg, Mn, Cr

T = Si, Al

Selon ce système, les formules chimiques des amiantes amphiboles peuvent être définies afin de clairement identifier les cations pour chacun des sites comme elles sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau I-2. Formules chimiques brutes des six types d'amiante réglementés, écrites de façon à pouvoir identifier les sites cationiques et leurs occupants.

Amiante	
Nom commun	Formule chimique brute
Amosite	$[(\text{Fe}^{2+})_2(\text{Fe}^{2+}, \text{Mg})_5\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$
Anthophyllite fibreux	$[(\text{Mg}, \text{Fe})_7\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$
Actinolite fibreux	$[\text{Ca}_2(\text{Mg}, \text{Fe}^{2+})_5\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$
Trémolite fibreux	$[\text{Ca}_2\text{Mg}_5\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$
Crocidolite	$[\text{Na}_2(\text{Fe}^{2+}, \text{Mg})_3\text{Fe}^{3+}_2\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$

Les cations A sont généralement assez gros et occupent les sites A dans la structure, il n'est toutefois pas rare de voir ces sites vacants. Les cations B, de taille variable, occupent les sites M4, c'est leur taille qui détermine de quelle façon ils seront coordonnés par les atomes d'oxygène de la bande Si_8O_{22} . Les cations C sont de taille moyenne, ils occupent les sites M1, M2 et M3 et sont coordonnés par les anions O et $-\text{OH}$, finalement les cations T occupent les sites T1 et T2. Ces différents sites sont illustrés dans la figure suivante.

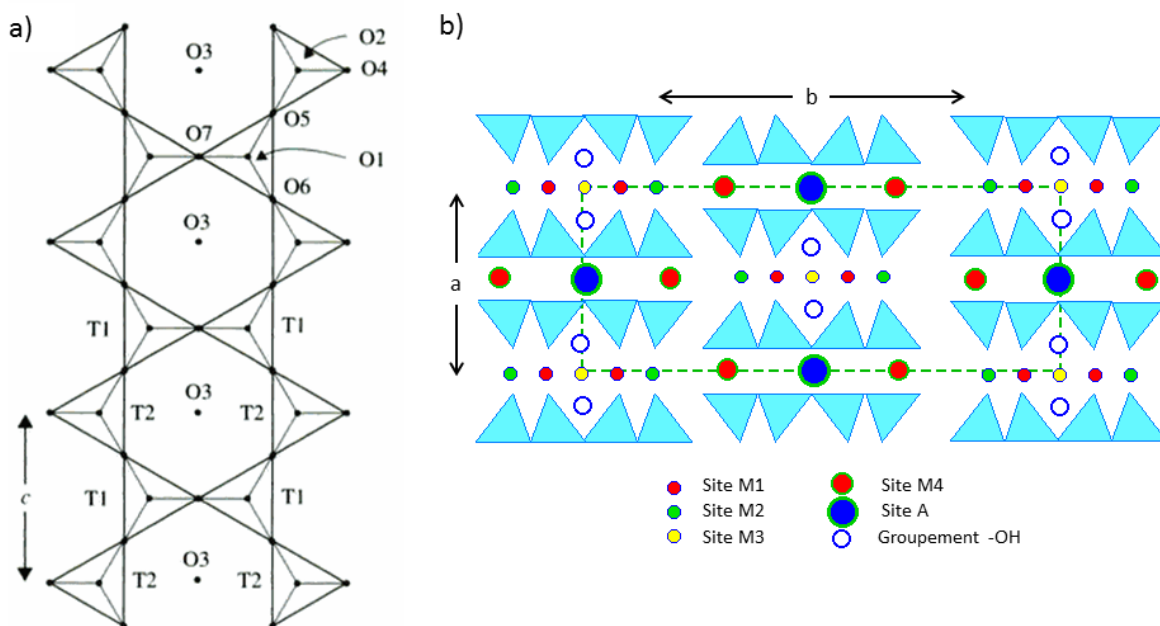


Figure 1.4. Représentations de la structure générale des amphiboles. a) Double chaîne de tétraèdres de silice indiquant les sites T1 et T2 ainsi que les positions des atomes d'oxygène²⁰. b) Localisation des sites M_i, M₂, M₃, M₄, A et des groupements hydroxy entre les doubles chaînes²².

Dans le cas du chrysotile, la nature fibreuse du minéral s'explique par la nécessité de contrer des distorsions induites par la structure cristalline, ce n'est pas le cas des amphiboles. La structure cristalline des amphiboles non fibreuses est presque en tout point similaire à celle des amphiboles fibreuses correspondantes. La seule différence observée semble être une fréquence plus élevée de défauts dans les cristaux chez les amphiboles asbestiformes en comparaison de leurs homologues non-asbestiformes²³.

1.1.4 Utilisation et applications commerciales de l'amiante

En raison de leurs nombreuses caractéristiques physico-chimiques et mécaniques avantageuses, les différents types d'amiante ont toujours représentés un grand potentiel dans plusieurs domaines de l'industrie. L'utilisation de l'amiante à grande échelle a débuté il y a plus d'une centaine d'années. Sa première utilisation importante a été introduite par John Bell en 1879 et consistait en l'isolation des moteurs à vapeur dans les bateaux et les locomotives. La marine britannique a tout de suite choisi d'appliquer cette technologie à ses navires. L'amiante

a rapidement trouvé de multiples usages, dans les rideaux de théâtre, dans les équipements de protection contre le feu, comme matériau de filtration ou comme isolant électrique.

Dès 1850, d'importantes veines de chrysotile ont été découvertes près de Thetford, dans la province de Québec au Canada. Rapidement son exploitation est devenue très importante, passant d'environ 50 tonnes de 1850 à 1876, à plus de 900 000 tonnes par année dans les années 1950²⁴. C'est dans cette même période, au début du 20^e siècle que des gisements d'amiante amphibole ont été détectés en Afrique du Sud, principalement de la crocidolite et de l'amiante grunérite, renommée amosite par la suite, en raison de sa provenance (*Asbestos Mines of South Africa*)²⁵. Parmi les autres pays où les différents types d'amiante ont été exploités, on retrouve notamment la Russie, le Kazakhstan, le Zimbabwe, le Brésil, la Chine, l'Italie, les États-Unis ainsi que l'Australie²⁶.

Lorsque l'utilisation de l'amiante était à son apogée, ce minéral fibreux se retrouvait dans plus de 3000 différentes applications industrielles ou produits. De façon générale, l'exploitation du chrysotile a, tout au long du siècle dernier, constitué environ 90% de l'exploitation totale d'amiante au niveau mondial. L'industrie de l'amiante-ciment représente l'application dont la consommation d'amiante est la plus importante du marché, on l'estimait à 80% du marché mondial en 1988 et à 98% au début du 21^e siècle. Les propriétés de renforcement de l'amiante ont été grandement utilisées dans ces produits d'amiante-ciment pour l'industrie de la construction principalement, mais on retrouve aussi de l'amiante de renforcement dans certains plastiques. L'amiante chrysotile a souvent été impliquée dans la fabrication de résines naturelles et synthétiques pour produire des matériaux de friction pour les garnitures de freins ainsi que pour différents revêtements, scellant et adhésifs, on le retrouve aussi dans les tuiles de vinyle ou d'asphalte ainsi que dans l'asphalte de pavage²¹. La crocidolite, représentant environ 3,5% de la consommation totale d'amiante a été principalement utilisée elle aussi dans les produits d'amiante-ciment et dans une moindre proportion pour des filtres résistants à l'acide ainsi que dans des produits d'isolation. L'amosite a trouvé sa principale utilisation dans les produits d'isolation. L'anthophyllite, la trémolite et l'actinolite ont été principalement utilisés comme matériau de remplissage dans différents plastiques et caoutchoucs ainsi que dans des produits d'étanchéité, de filtration et d'isolation²⁷. Tous les types d'amiante ont aussi été impliqués dans l'industrie textile dans des

produits tels que des vêtements de sécurité, des rideaux, des garnitures de frein ou des tissus calorifuges. La production et la consommation mondiale d'amiante a connu son maximum dans les années 1970, l'épuisement de certaines mines ainsi que l'accroissement des connaissances médicales concernant les effets de l'inhalation de fibres d'amiante ont ensuite contribué à faire décliner sa popularité. Une très grande quantité de pays ont maintenant banni complètement l'amiante, à l'exception de certaines applications spéciales pour lesquelles aucune solution de rechange n'a été trouvée. De nos jours, l'amiante est donc une préoccupation qui concerne principalement le secteur tertiaire de l'industrie, le secteur de la santé et sécurité du travail principalement.

1.1.5 Dangers et toxicité associés à l'amiante

Lorsqu'il est manipulé ou soumis à des pressions mécaniques, l'amiante a tendance à se fragmenter et à libérer des fibres dans l'air. Les fibres d'amiante contenues dans le minerai ne sont pas considérées comme étant des fibres respirables d'amiante à moins qu'elles ne soient libérées et dispersées dans l'air par des procédés d'extraction et de transformation. Les fibres d'amiante libérées dans l'environnement peuvent contaminer l'air, le sol, l'eau et les aliments. La contamination peut provenir de sources naturelles ou industrielles²⁸.

Il est maintenant bien connu que l'exposition à l'amiante comporte plusieurs risques pour la santé. Le lien entre l'amiante et certaines maladies affectant les mineurs et les gens la manipulant était déjà suspecté au premier siècle. Les cas de fibrose pulmonaire chez des sujets exposés à l'amiante ont été décrits pour la première fois au début des années 1900, mais ce n'est qu'en 1924 qu'on fait mention dans un journal médical, d'un type de fibrose pulmonaire attribuable spécifiquement à l'inhalation d'amiante²⁹. En 1927, le terme d'amiantose était introduit par Cooke³, et en 1930 la relation quantitative liant l'exposition cumulée à l'amiante et l'accroissement du risque d'amiantose était décrite. En 1931 la Grande-Bretagne a mis en place la première réglementation visant à réduire le risque d'amiantose³⁰. Les risques de fibrose pulmonaire (amiantose) sont les premiers à avoir été établis, en raison de leur fréquence relativement élevée aux fortes expositions, de leur délai de survenue après le début des expositions relativement court et des caractéristiques spécifiques de ces fibroses par rapport aux expositions à l'amiante. L'amiantose est définie comme étant une maladie

pulmonaire non cancéreuse qui occasionne l'inflammation des poumons et l'apparition de nombreux tissus cicatriciels qui contribue à entraver la respiration et ainsi mener à de graves problèmes cardiaques.

En raison de latences beaucoup plus longues, les risques de cancer du poumon et de mésothéliome, reliés à l'exposition à l'amiante, ont pris plus de temps à être identifiés. Le cancer du poumon est une tumeur maligne invasive qui occasionne plusieurs troubles respiratoires et qui peut ultimement être mortelle. Bien que plusieurs études aient démontré la corrélation entre l'exposition à l'amiante et le cancer du poumon³¹⁻³³, ce n'est qu'en 1977 que le Centre International de Recherches contre le Cancer déclare l'amiante cancérogène chez l'homme³⁴. Une autre forme de cancer a ensuite été associée à l'amiante, le mésothéliome. C'est une forme rare de cancer qui affecte le mésothélium, c'est-à-dire l'enveloppe qui recouvre la majorité des organes internes. Puisque cette forme de cancer est très rare et presque exclusivement associée à l'exposition à l'amiante, elle est maintenant utilisée comme marqueur épidémiologique²⁴.

Il existe maintenant plusieurs réglementations concernant l'exposition à l'amiante, en Amérique du Nord, ces normes concernent plus précisément les fibres d'amiante de longueurs supérieures à 5 µm. Cette spécification s'explique en partie, du fait que pour que les normes puissent être appliquées dans un contexte de routine en hygiène industrielle, elles devaient pouvoir être analysées facilement et rapidement. Des études semblaient aussi indiquer que l'attention devait se concentrer sur de telles fibres, par exemple le modèle de Stanton, inspiré de résultats expérimentaux sur des rats, suggère que les fibres plus longues que 8 µm sont beaucoup plus cancérogènes que les fibres plus courtes³⁵. De plus récentes études remettent en question maintenant ces conclusions et suggèrent que la concentration en fibres courtes et fines semble fortement corrélée aux risques pour la santé³⁶. Les différents paramètres affectant la toxicité des fibres d'amiante est un sujet étudié de façon extensive et ceux qui ressortent le plus fréquemment sont évidemment la dose d'exposition, mais aussi les dimensions des fibres ainsi que leurs propriétés physicochimiques^{16,37-39}.

1.2 Problématiques concernant l'analyse de l'amiante

Au Québec, l'amiante cause le plus de décès reliés aux substances chimiques en milieu de travail. Chaque année, la Commission de la santé et de sécurité du Travail (CSST) récemment devenue la Commission des normes, de l'équité, de la santé et de la sécurité du travail (CNESST) peut verser jusqu'à 13 millions de dollars pour de nouvelles lésions reliées à l'amiante. Pour la période de 2005 à 2009, on dénombre 826 nouveaux cas.

La méthode de référence au Québec pour l'évaluation du pourcentage d'amiante dans les matériaux en vrac utilise la microscopie optique en lumière polarisée (MLP)⁴⁰. Des erreurs importantes sont associées à cette méthode de quantification. Dans un premier temps, la concentration réglementaire de 1 %m est exprimée en pourcentage massique alors que la mesure par MLP est évaluée en pourcentage de volume ou d'aire². L'importance de ce type d'erreur est mise en évidence dans un programme d'accréditation américain administré par le *National Institute of Standard and Technology* (NIST)⁴¹. La résolution de ce type de microscopes est de 0,5 µm. Les fibres, dont le diamètre est plus petit que cette résolution, ne sont pas observées par l'analyste alors que les propriétés optiques des fibres avoisinant cette résolution sont difficiles à confirmer. Ces critères sont essentiels pour une détermination exacte des matériaux fibreux. Ceci conduit à une sous-évaluation du pourcentage des fibres.

La méthode de référence pour l'application des normes d'exposition respiratoire dans utilise le microscope optique à contraste de phase (MOCP)⁴². On y fait la numération des fibres sur filtres d'échantillonnage. Les méthodes utilisant la MOCP présente des avantages non négligeables et c'est ce qui explique qu'elles soient toujours autant utilisées. Parmi ces avantages, notons sa rapidité et la simplicité d'application de plus, elle est peu dispendieuse. Cette méthode présente toutefois deux principales faiblesses, l'absence de spécificité aux fibres d'amiante et la limite de résolution.

Tous les matériaux fibreux possédant les critères morphologiques sont comptés, peu importe la nature de matériaux (fibres de bois, fibres synthétiques, poils, etc.). Ceci peut conduire à une surévaluation de l'exposition. Récemment, cette limitation a été mise en évidence dans une étude de l'Institut National de Santé publique du Québec (INSPQ) parue en 2011⁴³. On peut notamment y lire : «L'analyse par MOCP permet de compter le nombre total

de fibres, sans toutefois en déterminer la nature, c'est-à-dire sans distinguer une fibre d'amiante d'une fibre de cellulose, par exemple. Cette méthode est recommandée pour mesurer les concentrations d'amiante en milieu de travail puisque la nature des fibres prédominantes y est connue a priori⁴⁴. Le grossissement obtenu par cette technique étant faible (400 à 500 fois), les fibres de diamètre inférieur à 0,25 µm ne sont pas détectées. Le protocole de comptage de fibres utilisé au Québec tient compte des fibres plus longues que 5 µm, de diamètre inférieur à 3 µm et dont le rapport longueur sur diamètre est supérieur à 3 :1⁴². Comme tous les types de fibres sont comptés, la concentration réelle en fibres d'amiante peut être surestimée, particulièrement dans des milieux où se trouvent d'autres fibres que l'amiante.»⁴³. La méthode d'analyse de l'amiante par MOCP est donc plutôt un indicateur d'exposition qu'une méthode de quantification, elle devrait être considérée comme tel².

Bien que la microscopie optique reste la méthode principale pour l'analyse de l'amiante, la tendance générale dans le domaine est de développer au maximum les possibilités qu'offre maintenant la microscopie électronique. Son utilité a été prouvée à de maintes reprises et l'avancement de la technologie permet une constante évolution des méthodes proposées. Notons que l'utilisation du microscope électronique est déjà en vigueur dans l'application de la réglementation française pour l'évaluation de l'exposition des travailleurs aux fibres d'amiante aéroportées⁴⁵ et il existe aussi plusieurs méthodes réglementaires américaines⁴⁶⁻⁴⁸ et internationales^{1,49}. La microscopie électronique en transmission est aussi devenue la méthode officielle pour l'analyse de l'amiante dans les tuiles de plancher⁴¹ ainsi que pour l'analyse des fibres d'amiante dans les tissus pulmonaires⁵⁰ puisque la microscopie optique n'offre pas la résolution nécessaire pour les tailles de fibres retrouvées habituellement dans ce type d'échantillon.

Les limites des méthodes de numération et de caractérisation de l'amiante démontrent la nécessité de développer des méthodes d'analyse d'amiante par microscopie électronique. Bien que de nombreuses méthodes d'analyse de l'amiante par microscopie électronique existent actuellement, il semble que ces méthodes laissent encore une place non négligeable à l'amélioration. La microscopie électronique est une technologie qui ne cesse d'évoluer et plusieurs possibilités autrefois inexistantes peuvent maintenant être adaptées aux méthodes d'analyse de l'amiante. L'analyse de l'amiante quant à elle reste toujours un sujet qui présente

de grands défis. Les nombreuses définitions et l'absence de consensus à ce sujet donnent un bon exemple de la pertinence de développer une méthode d'analyse complète. Il a aussi été démontré que l'application des méthodes d'analyse de l'amiantes par microscopie électronique est souvent mal effectuée ou mal interprétée². Bien que la technique de diffraction des électrons en sélection d'aire (SAED) soit très utile, certains analystes utilisent l'identification d'une seule distance inter planaire (5,3 Å) afin de conclure à l'identification d'une fibre d'amiantes amphibole sans tenir compte de l'analyse chimique. Cette pratique mène à d'importantes erreurs d'identification⁵¹. En ce qui concerne l'analyse chimique, cette dernière est communément appliquée, mais aucun paramètre expérimental ne la gouverne, dans aucune des méthodes mentionnées dans la présente étude. D'importantes variations dans l'intensité des différents signaux rayons X obtenus résultent des changements apportés à ces paramètres². L'une des possibilités négligées par ces méthodes est l'endommagement des fibres d'amiantes et les conséquences sur l'analyse résultante. L'endommagement des échantillons est une problématique bien connue des microscopistes, mais cet aspect n'est que très rarement abordé dans le contexte de l'analyse de l'amiantes. Pour toutes ces raisons, la définition des paramètres analytiques et l'obtention des données de validation semblent prioritaires afin de supporter l'application de la réglementation québécoise en santé au travail ainsi que les recherches sur la prévention des maladies causées par l'amiantes.

1.3 Techniques utilisées pour l'analyse de l'amiantes

1.3.1 Microscopie optique en lumière polarisée (MLP)

Comme la plupart des minéraux, puisqu'ils sont cristallins, les fibres d'amiantes sont optiquement anisotropes ou biréfringentes. C'est cette propriété qui est utilisée par la microscopie en lumière polarisée pour créer un contraste invisible à l'œil nu. La lumière naturelle est une onde électromagnétique qui vibre dans toutes les directions dans un plan perpendiculaire au trajet de propagation. Lorsque cette lumière traverse un filtre particulier, elle ne vibre que dans une seule direction, cette lumière est appelée lumière polarisée.

Le microscope est équipé de deux filtres polarisants; le polariseur et l'analyseur. Le premier polarise la lumière naturelle dans une seule direction et le second filtre la lumière

sortant de l'échantillon. Lorsque la lumière polarisée traverse un échantillon biréfringent, elle se sépare en deux vibrations qui se propagent à des vitesses différentes dans deux plans perpendiculaires l'un à l'autre. Une onde prend donc un certain retard par rapport à l'autre et ce retard reste constant. Ce retard est appelé déphasage et correspond à la différence de phase entre ces deux ondes. Le deuxième filtre polarisant dit « analyseur » permet de mettre en valeur ces phénomènes selon son angle de rotation par rapport au polariseur. La différence de phase se traduit par un renforcement ou pas la disparition de la luminosité. Puisque la lumière naturelle est polychromatique, les images apparaissent colorées et ces couleurs sont fonction du retard entre les ondes qui cause l'extinction de certaines longueurs d'onde. Lorsque l'épaisseur de l'échantillon est connue, la biréfringence peut être calculée à partir de la teinte observée⁵².

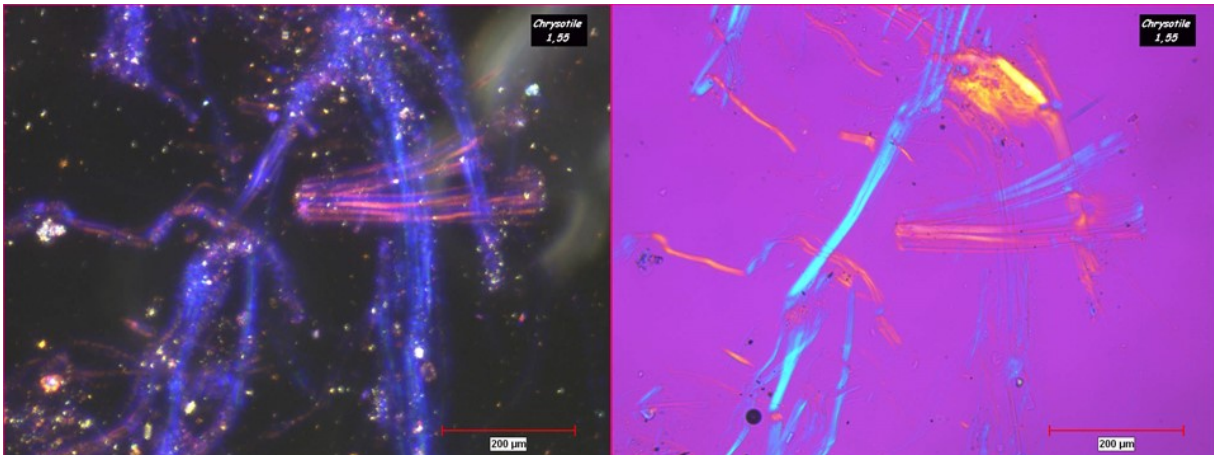


Figure 1.5. Image d'un échantillon contenant des fibres de chrysotile, obtenue par microscopie en lumière polarisée observée avec l'objectif en dispersion colorante et avec le filtre de 530 nm. (crédit image IRSST)

1.3.2 Microscopie optique à contraste de phase (MOCP)

Le principe est basé sur le fait que beaucoup de structures microscopiques ne produisent pas de changements appréciables d'intensité ou de couleur sur la lumière qui les traverse, mais induisent seulement des changements de phase, puisqu'elles ont des indices de réfraction différents. Les rayons lumineux vont donc subir des déviations en passant d'un milieu à un autre, cela se traduit par un déphasage entre les rayons.

En supprimant les rayons lumineux en fonction de leur déphasage, on obtient une image en niveau de gris qui visualise tous les changements de milieu à l'intérieur de l'objet observé. En pratique, on supprime ces rayons déphasés en plaçant des diaphragmes qui bloquent la lumière dans l'axe de l'objectif, mais laissent passer ceux de la périphérie⁵³.

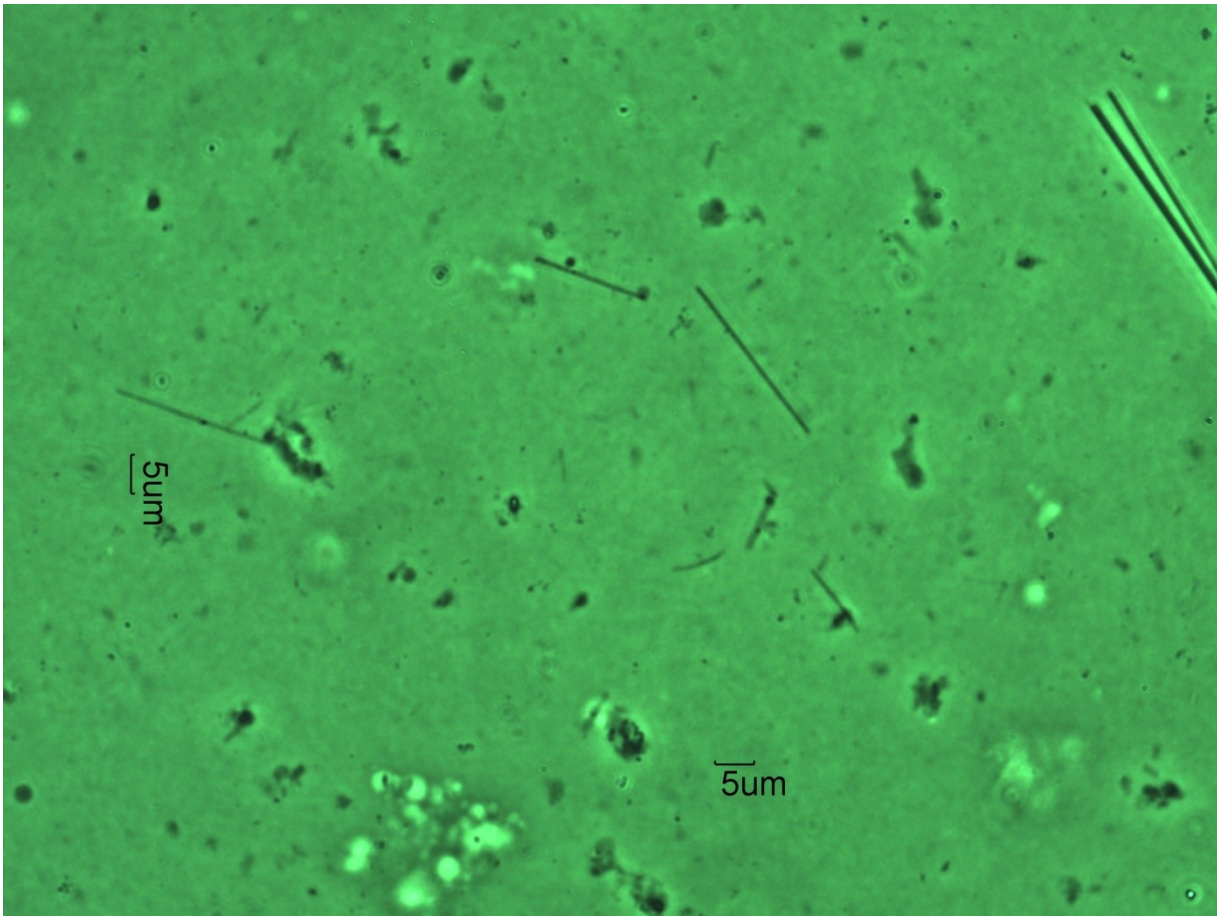


Figure 1.6. Image d'un échantillon contenant des fibres d'amiante amosite sur filtre, prise par microscopie optique à contraste de phase⁵⁴.

1.3.3 Microscopie électronique en transmission (MET)

La microscopie électronique permet l'obtention d'une image de la microstructure des matériaux avec un grossissement et une résolution de beaucoup supérieure à la microscopie à lumière visible. La microscopie électronique à transmission est l'un des deux types de microscopie électronique et c'est cette technique qui a été utilisée dans le cadre de cette étude.

Ce type de microscope utilise en général une gamme d'énergie variant de 100 000 à 400 000 eV, mais il existe des MET pour des applications particulières qui atteignent jusqu'à 4000 keV. Afin d'accélérer les électrons à une telle vitesse, un système complexe est mis en place. Il est évident que cette technique s'avère particulièrement coûteuse. Ces coûts impressionnants sont toutefois justifiés par la capacité du MET à fournir une multitude d'informations sur l'échantillon étudié. En raison des nombreuses améliorations technologiques appliquées au MET, il est aujourd'hui possible d'affirmer qu'aucune autre technique d'analyse ne permet l'obtention d'une aussi grande variété d'informations. Le chemin optique du MET est illustré à la figure suivante.

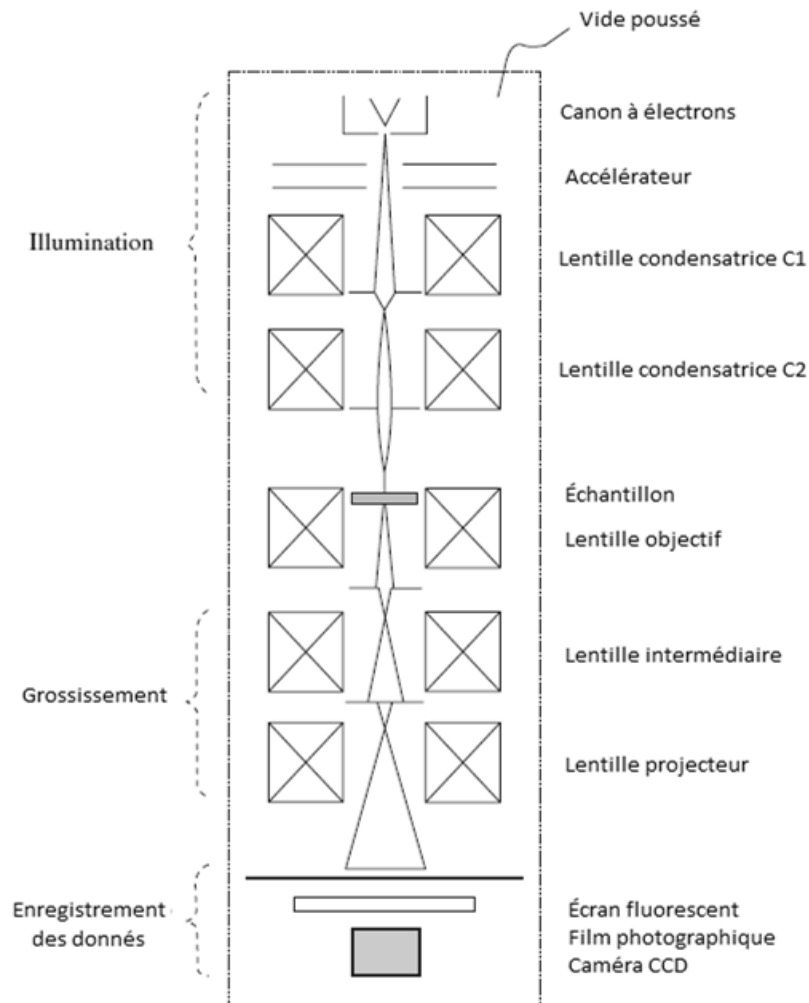


Figure 1.7. Schéma simplifié du parcours optique d'un microscope électronique à transmission⁵⁵.

1.3.3.1 Canon à électron

Le canon à électron est la source d'électrons du microscope et sert à générer un faisceau électronique de haute énergie. Dans le canon, des électrons sont émis de la cathode et sont accélérés par l'application d'une tension d'accélération (V_0) créant ainsi un faisceau électronique d'énergie $E = eV_0$. La tension d'accélération, en raison de son influence sur la longueur d'onde des électrons, a un impact prédominant sur la résolution spatiale du microscope. Il existe deux types de canon à électrons : le canon à émission thermoïonique et le canon à effet de champ ou en anglais *Field Emission Gun (FEG)*. Le canon à émission thermoïonique est le plus commun et le plus abordable. Ce type de canon utilise différents matériaux de cathode tel que le tungstène et d'hexaborure de lanthane (LaB_6). Un courant électrique est appliqué à la cathode afin de la chauffer jusqu'à des températures élevées. L'énergie cinétique acquise par les électrons, en raison de ce chauffage, leur permet de surmonter la barrière d'énergie de surface et d'ainsi s'extraire du filament pour être finalement accélérés. Le canon à effet de champ utilise une méthode d'extraction un peu différente qui ne nécessite pas d'énergie thermique. Dans ces canons l'extraction est due à l'application d'un très grand champ magnétique à une surface métallique. Les électrons de la bande de conduction peuvent surmonter la barrière d'énergie de surface grâce à l'effet tunnel ainsi créé et s'extraire de la pointe qui elle consiste généralement en un cristal de tungstène. Il existe deux sortes de canons à effet de champ, les standards qui fonctionnent à température pièce et les thermiques (ou Schottky) qui doivent être chauffés à des températures d'environ 1600 à 1800 K. Ces derniers permettent d'obtenir un courant d'émission plus stable que les canons à effet de champ standard, mais aussi moins élevé.

1.3.3.2 Lentilles électromagnétiques

Les lentilles dans ce microscope sont des lentilles électromagnétiques, elles permettent de faire dévier ou condenser le faisceau d'électrons en raison de l'interaction avec les charges négatives de ces derniers. Ces lentilles sont constituées d'un boîtier et de deux pôles. Ce boîtier fait d'un matériau magnétique renferme un solénoïde. Le champ magnétique créé par le solénoïde est contrôlé par le courant qui lui est appliqué et le système est conçu pour pouvoir effectuer de très petits changements et ainsi atteindre une grande précision. Les

lentilles condensatrices permettent donc de contrôler le diamètre ainsi que l'angle de convergence du faisceau alors que les lentilles de l'objectif, intermédiaires et projectrices servent au grossissement de l'image. Elles permettent aussi de modifier la focalisation sur l'échantillon, de passer du mode imagerie au mode diffraction et de sélectionner le plan de projection.

1.3.3.3 Diaphragmes

Des diaphragmes sont aussi présents dans le parcours optique, notamment au niveau de la lentille condensatrice, de la lentille objectif et des lentilles projectrices. Constitué d'un disque de métal troué au milieu, les diaphragmes servent à réduire le diamètre du faisceau, sélectionner les électrons utilisés pour la formation de l'image ou à limiter l'information en sélectionnant une région. Le trou au centre des diaphragmes a en général un diamètre variant de 5 μm à 200 μm .

1.3.3.4 Échantillon, grilles et porte-échantillons

L'échantillon est introduit environ au milieu du parcours optique. Il existe plusieurs méthodes de préparation des échantillons pour l'observation au MET et elles sont généralement bien décrites dans la littérature^{56,57}. Le procédé utilisé ne doit pas modifier les propriétés de l'échantillon. L'étape première consiste en l'obtention d'un disque de 3 mm de diamètre, puis l'on procède à un profilage grossier jusqu'à ce que l'épaisseur soit sous les 5 μm . L'amincissement final peut ensuite être fait par plusieurs techniques. Ce choix dépendra principalement de la nature de l'échantillon étudié, du matériel disponible, des aptitudes de l'utilisateur et du temps disponible pour cette préparation. Cette étape finale peut être effectuée par exemple par un polissage ionique, un polissage électrochimique, par ultra microtomie ou si c'est possible par sonde ionique focalisée ou *Focused Ion Beam (FIB)*⁵⁸. Dépendamment de la forme sous laquelle se présente l'échantillon, une grille adéquate est utilisée comme support. Ces grilles ont habituellement un diamètre de 3 mm et sont disponibles dans plusieurs matériaux tels que le cuivre, le nickel, l'or, le molybdène, l'acier inoxydable... Plusieurs autres paramètres peuvent être déterminés, les ouvertures par exemple peuvent être plus ou moins grandes et prendre des formes variées, différents enduits peuvent être ajoutés sur la grille pour un meilleur support et une meilleure conductivité électrique

(carbone, formvar, SiO₂...). Ces enduits peuvent être sous forme de couche homogène, de couche trouée ou même de couche en lacets. Certaines grilles, telles que celles utilisées pour le comptage de l'amiante comportent des ouvertures indexées afin de facilement se localiser sur la grille pendant l'analyse. Pour être insérée, la grille doit être montée sur un porte-échantillon, encore une fois, il en existe plusieurs types. Dépendamment des observations qui doivent être faites, le choix du porte-échantillon approprié est important. Le plus courant et d'ailleurs le plus simple est le porte-échantillon à simple inclinaison. Ce dernier permet d'incliner l'échantillon dans l'axe « x » afin de faire varier les conditions de diffraction ou optimiser la collection des rayons X. Il existe aussi le porte-échantillon à double inclinaison, qui lui, permet d'incliner aussi selon l'axe « y », c'est ce qui permet d'atteindre les axes de zones lors d'analyses cristallographiques plus poussées. Équivalent au porte-échantillon à double inclinaison, le porte-échantillon rotatif peut faire pivoter l'échantillon tout en l'inclinant selon l'axe « x ». Pour les applications plus spécialisées, d'autres types de porte-échantillons moins standard existent aussi tel que le porte-échantillon cryogénique qui permet d'abaisser la température de l'échantillon jusqu'à 78 K, lorsque refroidi à l'azote liquide. Il y a aussi des porte-échantillons chauffants pour les mesures à haute température, des porte-échantillons spécialement conçus pour les mesures de propriétés électriques ou pour la tomographie. Pour faire des mesures de courant, chaque porte-échantillon peut être équipé d'une cage de Faraday branché sur un ampèremètre. Tous ces types de porte-échantillons sont disponibles en version « analytique », c'est-à-dire que le bout de la tige où repose la grille est composé de béryllium. Puisque les rayons X produits par le béryllium n'interfèrent pas avec les rayons x produits par l'échantillon et ne sont généralement pas détectés lors de l'analyse par spectroscopie des rayons X en dispersion des énergies ou *Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDS)*.

Lorsque le faisceau d'électrons entre en contact avec l'échantillon, plusieurs interactions se produisent simultanément. C'est en sélectionnant l'un des signaux en particulier à l'aide d'un détecteur spécifique que l'information sur l'échantillon est obtenue. La figure suivante illustre les principaux signaux résultants.

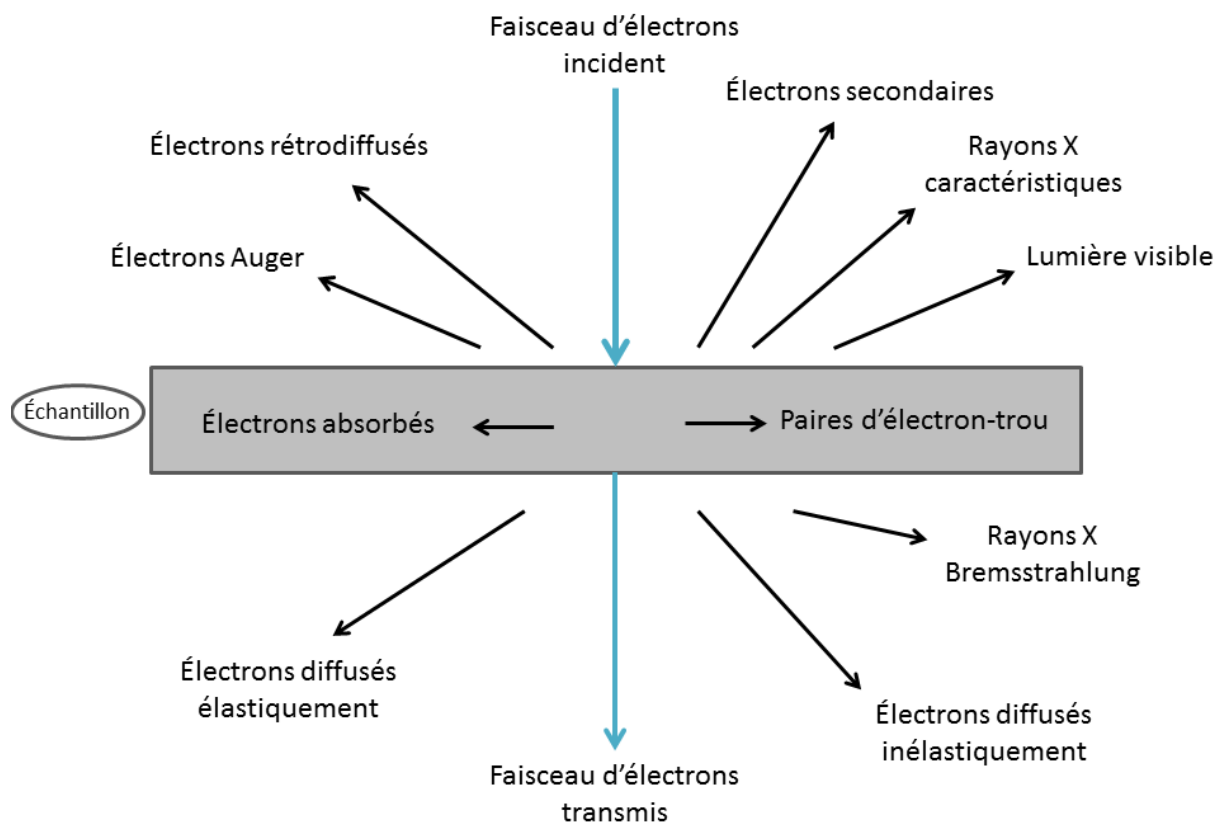


Figure 1.8. Aperçu des différents signaux générés par l'interaction entre le faisceau d'électrons et l'échantillon au MET.

1.3.3.5 Détecteurs

1.3.3.5.1 Image

Plusieurs possibilités sont possibles au MET pour recueillir l'image, anciennement des plaques photographiques étaient utilisées, elles le sont d'ailleurs toujours pour certaines applications. De nos jours deux dispositifs sont généralement utilisés; l'écran de visualisation fluorescent et une ou plusieurs caméras CCD (*charge coupled device*). L'écran de visualisation est placé dans la colonne du microscope, sous l'échantillon, à la hauteur de l'utilisateur. Ce dernier peut observer directement cet écran à travers une fenêtre en plomb. Le matériau du revêtement de l'écran de visualisation est choisi par le manufacturier, mais il s'agit habituellement d'un matériau comme le sulfure de zinc (ZnS) qui émet de la lumière visible à une longueur d'onde d'environ 450 nm, pour que cette lumière émise soit plus verte,

le composé est souvent modifié afin d'émettre à une longueur d'onde plus près de 550 nm. Les grains du revêtement ont typiquement des tailles comprises entre 10 μm et 50 μm . Certain MET plus récent ne présente plus cette fonctionnalité, l'image est directement observée, en tout temps, sur un écran d'ordinateur à l'aide d'une caméra CCD.

Une caméra de ce type est nécessaire pour faire l'acquisition d'image de bonne qualité en format digital. Tous comme pour l'écran de visualisation, les électrons atteignant la caméra doivent dans un premier temps être convertis en photons. Pour ce faire un scintillateur est utilisé, mais cette fois avec un temps de réponse beaucoup plus rapide que l'écran. Les scintillateurs sont souvent composés de Cérium dopé ou de différents types de plastiques ou de verres dopés. Lorsque les électrons sont convertis en lumière visible, cette dernière est amplifiée par un système photomultiplicateur. Le dispositif « CCD » capte alors le rayonnement lumineux et le converti en signal électrique analogue. Ce signal est ensuite à son tour amplifié et ensuite numérisé pour finalement permettre l'obtention d'une image numérique⁵⁸.

1.3.3.5.2 Rayons X

L'émission de rayons X peut être caractéristique ou provenir du fond continu. L'émission X caractéristique provient de la décroissance radiative d'un état ionisé ou excité d'un atome. Ces états étant instables, ils ont une énergie supérieure à celle de l'état fondamental alors lorsque l'atome cherche à retourner à l'état fondamental, l'émission de rayons X devient possible. Cet état excité peut être causé par un rayonnement ionisant, photons X ou particules chargées (électrons ou ions).

Lors du bombardement d'un échantillon par un faisceau d'électrons de haute énergie tel qu'employé dans la microscopie électronique à transmission, des rayons X sont émis en grande quantité. L'interaction inélastique d'un électron primaire avec un électron d'un niveau de cœur provoque un transfert d'énergie susceptible d'ioniser le niveau considéré, avec émission d'un électron secondaire. La lacune électronique créée par l'émission de cet électron cause un réarrangement de la structure électronique excitée de l'atome avec transfert vers la lacune d'un électron en provenance d'un niveau plus externe. Cela se traduit par une libération d'énergie égale à la différence des énergies des niveaux mis en cause. Cette désexcitation se

fait soit par une transition radiative, avec émission d'un rayon X, soit par une transition Auger avec émission d'un électron Auger. La figure suivante illustre ces phénomènes.

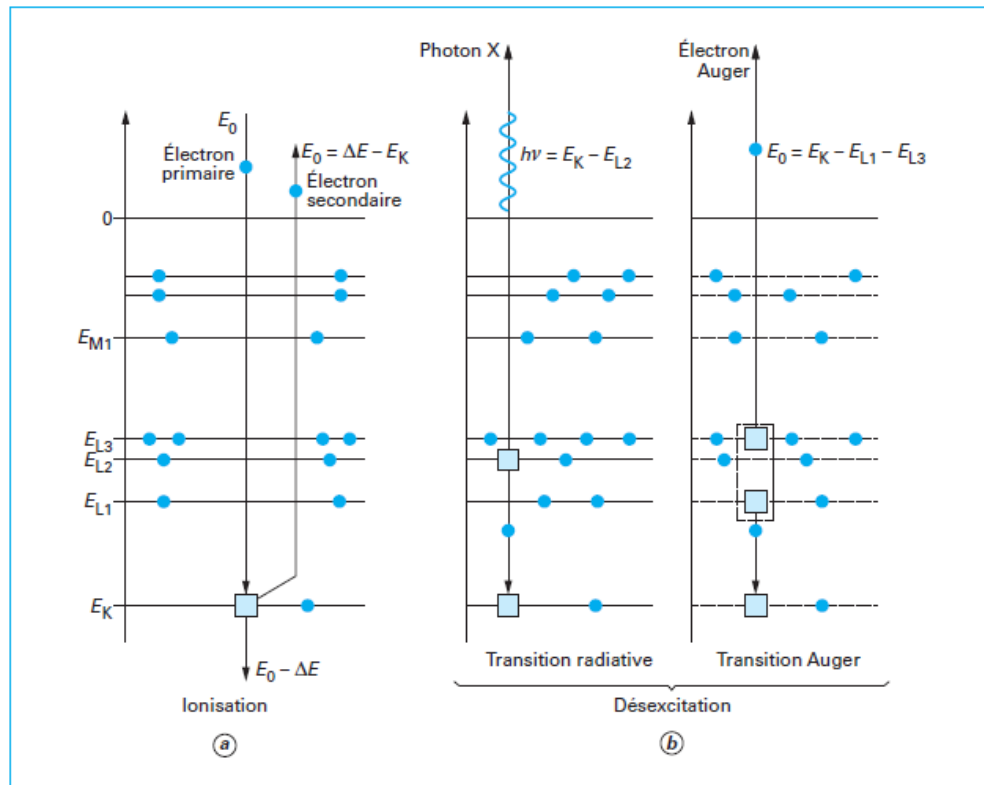


Figure 1.9. Interaction inélastique de l'électron primaire avec un électron d'une orbitale atomique : ionisation et désexcitation par transition radiative et Auger. (Image tirée de Ruste et Al.⁵⁹)

L'émission d'électrons Auger est favorisée pour les faibles numéros atomiques alors que le rendement de fluorescence prédomine pour les numéros atomiques plus élevés. Comme les niveaux d'énergie sont caractéristiques des atomes, il est possible de qualifier le rayonnement X comme caractéristique puisque son énergie correspond à la différence d'énergie entre ces différents niveaux. Ces niveaux sont définis par trois nombres quantiques. Le nombre quantique principal, n , l , le nombre quantique azimutal et le nombre quantique relatif au moment cinétique total, j . Plus ces nombres quantiques sont petits, plus le niveau est lié à l'atome.

En spectroscopie, les niveaux électroniques ont une notation particulière. Une lettre représente le nombre quantique principal; K pour $n = 1$, L si $n = 2$, M pour $n = 3$... Les sous-couches des niveaux sont quant à eux notées par des chiffres croissants. Les transitions sont le

plus souvent notées en utilisant la notation de Siegbahn utilisant la lettre de la couche vers laquelle la transition est effectuée. Comme elles peuvent provenir de différentes couches plus énergétiques, ces transitions sont classées en séries, c'est-à-dire la série K, la série L... Les transitions de la série K sont toujours les plus énergétiques que celles de la série L, celles de la série L sont plus énergétiques que celles de la série M et ainsi de suite. Il est toutefois important de noter que ces transitions ne sont pas toutes possibles, il existe des règles de sélection qui spécifient les transitions permises et interdites.

En premier lieu, pour que la lacune électronique puisse être créée, l'électron incident doit nécessairement avoir une énergie supérieure à celle de l'état initial. Comme l'énergie moyenne utilisée au MET voisine généralement les 200 keV il est possible de voir toutes les raies d'un élément. Il est donc possible avec l'acquisition de spectre rayons X de faire une analyse qualitative de l'échantillon en MET, mais il est aussi possible de faire l'analyse quantitative des différents éléments présents. L'équation suivante décrit la génération théorique des rayons X en fonction de la concentration :

$$I_A^* = \frac{cont \cdot i \cdot C_A \cdot \omega_A \cdot Q_A \cdot a_A \cdot t}{A_A} \quad (\text{Équation 1.2})$$

Où :

i = courant

C_A = concentration de A

ω_A = rendement de fluorescence de A

Q_A : section efficace d'ionisation de A

a_A : fraction de la raie mesurée = $IK\alpha/(IK\alpha+IK\beta)$

t : épaisseur de l'échantillon

A_A : masse atomique de A

La relation présentée à l'équation 1.2 met bien en évidence le caractère quantitatif du phénomène, mais l'application nécessite beaucoup plus d'informations pour permettre une quantification précise. Des standards sont nécessaires pour mesurer les facteurs de Cliff et Lorimer et les calculs d'absorbance et de fluorescence requièrent beaucoup d'informations complémentaires sur l'appareil et l'échantillon. Pour ces raisons, il est fréquent d'utiliser des ratios d'intensité des pics du spectre de rayons X à titre semi-quantitatif.

Les rayons X caractéristiques émis par l'échantillon constituent donc une source importante d'information sur la composition chimique de l'échantillon. Des analyses ponctuelles, des profils et des cartographies peuvent être réalisées au MET dans ses différents modes de fonctionnement. En raison des limitations de dimension due à la colonne et de sa rapidité d'acquisition, le détecteur de rayons X à dispersion d'énergie (EDS), est celui qui est se retrouve presque systématiquement dans un MET. Afin de capter ces signaux, le détecteur est placé au-dessus de l'échantillon et lors de l'acquisition, l'échantillon est incliné vers le détecteur pour un signal optimal. Les types de détecteurs varient, mais les plus communs sont les détecteurs de type silicium dopé au lithium Si(Li) et plus récemment de silicium à diffusion SDD (*silicon drift detector*). Lorsque le rayon X pénètre le détecteur, il est absorbé en créant une paire d'électron-trou. Il y a ensuite migration des charges vers les bornes du détecteur. La charge est proportionnelle à l'énergie du rayon X et c'est ce qui permet d'identifier l'élément chimique l'ayant émis. Les signaux ainsi traités sont obtenus au final sous forme de spectre du nombre de comptes en fonction de l'énergie. Les atomes à partir du carbone ($z = 6$) sont bien détectés, sous ce numéro atomique, les rayons X caractéristiques sont souvent absorbés par les différents constituants du système.

1.3.3.5.3 *Électrons diffusés inélastiquement*

L'autre technique d'analyse mentionnée dans ce travail pratique est la spectrométrie de la perte d'énergie des électrons ou *Electron Energy Loss Spectroscopy* (EELS ou PEELS lorsque les électrons sont parallèles). Cette technique utilise les électrons diffusés inélastiquement par l'échantillon pour en tirer de l'information. Cette diffusion inélastique cause une perte d'énergie de l'électron et un détecteur situé dans le bas de la colonne du microscope détecte ces électrons en fonction de leurs énergies. Le spectre résultant permet

d'obtenir de l'information sur les propriétés de l'échantillon telle que la structure électronique des atomes présents et donc sur la nature de ces atomes ainsi que sur les liaisons atomiques, la distribution des voisins et le moment diélectrique⁶⁰.

Le prisme magnétique est la composante principale de PEELS, il permet de séparer les électrons incidents en fonction de leur énergie ainsi que de focaliser en un seul point tous les électrons incidents de même énergie, mais de direction différente. Le spectre PEELS obtenu est constitué de 3 régions : les pertes nulles, les pertes faibles (jusqu'à environ 50 eV) et les pertes élevées (plus de 50 eV).

Les pertes nulles sont représentées par un pic très intense près de zéro. Ce pic a une certaine largeur puisque les électrons incidents, dépendamment du type de canon utilisé, présentent une faible variation d'énergie. De plus, lors du passage dans un réseau atomique d'un électron de haute énergie, la vibration occasionnée par ce passage (phonon) entraîne une perte d'énergie d'environ 0,1 eV.

Les pertes faibles sont quant à elles causées par la création de plasmons, c'est d'ailleurs le phénomène de diffusion inélastique le plus courant se produisant lors du passage d'électrons dans un matériau. Il est décrit comme une oscillation collective des électrons libres lors du passage du faisceau d'électrons à travers le nuage électronique⁶¹.

Le libre parcours moyen de ces plasmons est de l'ordre de 100 nm, mais peut varier d'environ 50 à 150 nm. Il est donc possible que certains électrons créent un deuxième ou même un troisième plasmon et donc la perte d'énergie de ces électrons, E_{pl} , devient alors $2E_{pl}$ ou $3E_{pl}$. Le libre parcours moyen étant connu, il est possible à partir des plasmons d'obtenir de l'information sur l'épaisseur de l'échantillon.

Les pertes élevées sont causées par les électrons ayant servi à l'ionisation de l'atome. Cette même ionisation donnant lieu aux rayons X et aux électrons Auger. Peu importe la conséquence de l'ionisation, l'électron incident l'ayant causée est détecté en PEELS, faisant ainsi de PEELS une technique tout indiquée pour l'analyse d'éléments légers.

En plus de fournir plusieurs informations sur la nature de l'échantillon, le PEELS permet aussi l'analyse quantitative et la cartographie. À l'aide des plasmons des pertes faibles, cette technique d'imagerie peut être utilisée et une quantification pour un système binaire peut également être faite. Pour un système plus complexe, la quantification à l'aide des pertes élevées est utilisée.

Les principaux avantages de cette technique sont sa grande résolution spatiale, les très bonnes limites de détection ainsi que la minimisation des contributions instrumentales⁶⁰⁻⁶³.

1.3.3.6 Principe du microscope électronique en transmission

1.3.3.6.1 Mode image et mode diffraction

Le microscope électronique en transmission peut être utilisé dans deux principaux modes; en mode imagerie et en mode diffraction.

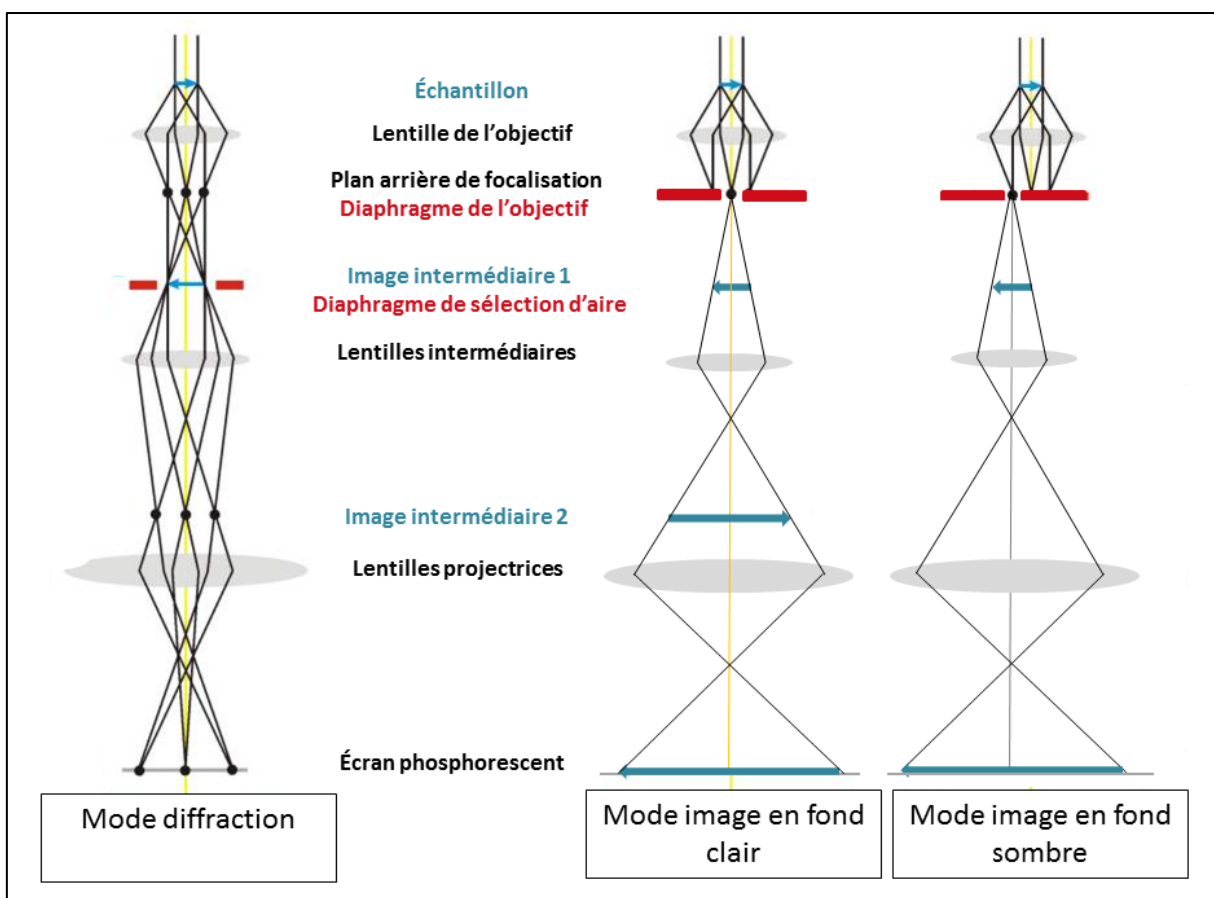


Figure 1.10. Illustration des différents parcours optiques menant aux différents modes d'observation du MET. (Image modifiée de Williams & Carter⁵⁸)

L'imagerie en MET est possible grâce à la différence de contraste créé par la déviation des électrons par rapport à leur direction initiale lors de leur passage dans l'échantillon. Ces changements de trajectoire sont dus aux phénomènes de diffusion élastiques et inélastiques. Les diffusions élastiques sont à la base de la formation de l'image pour un échantillon cristallin. L'intensité du faisceau transmis sera atténuée suite au transfert d'une partie de l'intensité dans le faisceau diffracté. La diffraction se produit lorsque les conditions de Bragg sont satisfaites donc lorsque l'angle entre le faisceau d'électrons et les plans cristallographiques de la phase observée sont à Bragg. Ces angles sont généralement très petits, c'est-à-dire moins d'un degré. Selon la sélection du faisceau transmis (fond clair) ou d'un faisceau diffracté (fond sombre) pour la formation de l'image, différentes informations pourront être obtenues.

L'autre origine possible du contraste est la différence de masse et de densité dans l'échantillon. Plus une phase est dense, plus elle contient de noyaux atomiques dont la masse est beaucoup plus importante que celle de l'électron. Des changements de trajectoires des électrons résultent de la collision entre ces électrons et les noyaux atomiques dans l'échantillon. L'intensité du faisceau transmis sera donc diminuée lorsque cette fréquence de collision augmente. Ainsi, l'intensité variera en fonction de l'épaisseur de l'échantillon ainsi que par la nature de la phase observée. Ce contraste est le plus utilisé pour l'observation d'échantillons amorphes.

Le mode diffraction quant à lui présente aussi de nombreuses possibilités. Lorsqu'exploité au maximum, ce mode permet d'obtenir une foule d'information sur un échantillon cristallin. L'analyse cristallographique des échantillons permise par la microscopie électronique en transmission est l'une des caractéristiques qui la classent parmi les techniques d'analyse les plus complètes. L'un des principes sur lesquels repose la diffraction électronique est le suivant : premièrement, comme le rayonnement utilisé est constitué d'électrons à haute énergie, ils ont donc une très petite longueur d'onde, plus petite encore que les périodes du réseau cristallin. Ceci a pour conséquence que les angles de Bragg ont des valeurs typiques de 1° et moins ainsi, les faisceaux diffractés intensément seront presque parallèles aux plans

cristallins qui diffractent. La sphère d'Ewald permet de déterminer que les points du réseau réciproque sont distants d'environ 1 \AA^{-1} pour un rayon de sphère 25 fois plus grand. En raison de cet écart, la sphère est souvent considérée équivalente à son plan tangent à l'origine. Dans le cas d'une lame mince, les domaines de diffraction sont des ellipsoïdes perpendiculaires au plan de la lame. La sphère d'Ewald intersecte généralement plusieurs domaines de diffraction, menant à autant de taches brillantes sur le patron de diffraction^{64,65}.

Concrètement, lorsqu'une famille de plans réticulaires distants de d_{hkl} , vérifie la relation de Bragg, ils sont en position de diffraction. Une partie du faisceau est ainsi diffracté d'un angle $2\theta_B$ par rapport au faisceau incident. Puisque la longueur d'onde est faible en comparaison des distances entre les plans, les approximations suivantes sont permises :

$$2d_{hkl}\theta_B \approx \lambda \quad \text{avec : } 2\theta_B \approx D/L \quad \text{ainsi : } d_{hkl} \cdot D \approx L \cdot \lambda \quad (\text{Équation 1.3})$$

Où :

D = la distance entre la tache du faisceau incident et la tache du faisceau diffracté.

L = est la longueur de caméra.

En faisant varier l'orientation entre l'échantillon et le faisceau, une caractérisation cristallographique complète est possible.

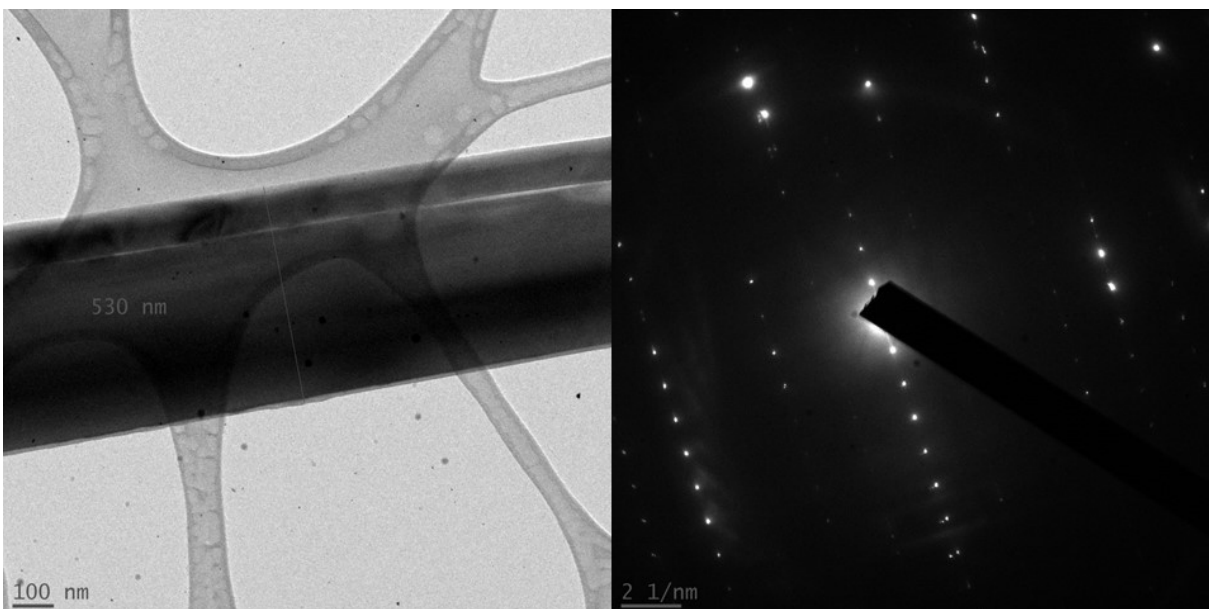


Figure 1.11. Image d'une fibre d'amiante actinolite en fond clair et son cliché de diffraction correspondant.

1.3.3.6.2 Mode TEM en balayage ou Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM)

Comme son nom l'indique, le mode STEM permet d'opérer le microscope en transmission en balayage. Une série de lentilles condense le faisceau jusqu'à ce qu'il atteigne une très faible taille. D'autres bobines électromagnétiques servent à contrôler le balayage du faisceau sur l'échantillon toujours en gardant ce dernier parallèle à l'axe optique afin de simuler un faisceau standard MET, ce qui permet d'obtenir un signal interprétable. Les images générées en mode STEM prennent beaucoup plus de temps à obtenir puisqu'un détecteur d'électron collecte le signal pour chaque point balayé et ce signal est ensuite converti pour contribuer à la construction de l'image. L'image peut être obtenue en fond clair ou en fond sombre, pour ce faire, deux détecteurs différents sont utilisés. Pour le fond clair, un détecteur recueille les électrons du faisceau transmis et ceux qui sont diffusés à angle faible. Pour le fond sombre, un détecteur annulaire qui entoure le détecteur à fond clair recueille les électrons qui sont diffractés à fort angle. Les images obtenues de ces deux détecteurs sont complémentaires et peuvent être recueillies en même temps. Il est aussi possible de recueillir les rayons X et les électrons diffusés inélastiquement à l'aide du détecteur EELS.

1.3.3.7 Paramètres expérimentaux du microscope

Selon les limites du microscope et l'objectif de l'analyse, plusieurs paramètres expérimentaux peuvent être ajustés afin d'optimiser les résultats obtenus. Les plus faciles à ajuster pour l'utilisateur sont ceux qui concernent directement le faisceau électronique tels que la tension d'accélération et le courant de faisceau. L'excitation des différentes lentilles du parcours optique peut ensuite être modifiée pour ajuster des paramètres tels que la taille du faisceau, le grossissement, la longueur de caméra ou le focus.

1.3.3.7.1 Tension d'accélération

La tension d'accélération est la différence de potentiel appliqué entre le filament et l'anode. Plus cette tension est grande, plus la vitesse et l'énergie des électrons le seront aussi et plus la longueur d'onde des électrons sera petite. L'un des impacts directs sera donc une plus grande résolution spatiale puisqu'à plus grande vitesse, moins d'électrons sont

diffusés dans l'échantillon ainsi il est possible d'atteindre de plus petits diamètres de faisceau. Une meilleure pénétration est obtenue car le libre parcours moyen est augmenté. Puisque l'énergie des électrons est plus grande, un meilleur signal est obtenu en spectroscopie des rayons X en dispersion des énergies et une plus grande intensité. Le contraste dans l'image s'en trouve toutefois diminué car moins d'évènements se produisent au sein de l'échantillon. Un autre désavantage observé lors de l'augmentation de la tension d'accélération est l'accroissement de l'endommagement des échantillons occasionné par des collisions électrons-noyaux.

1.3.3.7.2 Courant du faisceau d'électrons incidents

Le courant du faisceau représente la quantité d'électrons contenus dans le faisceau et dans un MET est généralement exprimé en pico ampère (pA) ou en nano ampère (nA). La valeur du courant a de nombreux impacts sur l'analyse, dans un premier temps l'augmentation du courant a tendance à augmenter tous les phénomènes déjà présents puisqu'en augmentant le nombre d'électrons, on augmente le nombre d'évènements. Tous les signaux sont donc augmentés. En contrepartie, l'augmentation du courant est une limitation pour atteindre de petites tailles de faisceau et cause une augmentation de l'endommagement de l'échantillon.

1.3.3.7.3 Courant des lentilles électromagnétiques

Toutes les lentilles électromagnétiques qui régissent l'orientation du faisceau d'électrons ont des valeurs de courant préétablies par le fabricant selon le mode dans lequel le microscope est utilisé. Lors de l'analyse, la variation de l'excitation de certaines de ces lentilles est nécessaire pour ajuster notamment la surface illuminée et le grossissement ainsi que pour ajuster l'image ou le cliché de diffraction au focus. Pour les utilisateurs plus expérimentés, des ajustements plus fins peuvent être faits en faisant varier le courant dans la totalité des lentilles du microscope.

1.4 Structure de la thèse

Afin d'aborder la problématique liée à l'analyse des fibres d'amiante par microscopie électronique en transmission et de façon plus spécifique, les risques d'erreur d'identification

due à l'endommagement par le faisceau d'électrons, plusieurs expériences ont été menées. Différents types de fibres d'amiantes ont été utilisés dans plusieurs contextes expérimentaux, un grand nombre de paramètres ont ainsi pu être investigués et optimisés.

Les chapitres de la thèse sont organisés de façon à former une suite logique dans l'avancement des travaux et par le fait même respectent l'ordre chronologique de la soumission des articles.

Le **chapitre 2**, article publié dans la revue scientifique «*Journal of Occupational & Environmental Hygiene*», présente une étude approfondie des différents paramètres expérimentaux au MET et leurs conséquences respectives sur l'endommagement des fibres d'amiantes amosite. L'existence d'une valeur seuil de densité de courant a été établie et l'influence de la dose électronique et du courant de faisceau a aussi été démontrée. Les résultats obtenus ont permis l'établissement de lignes directrices permettant de réaliser l'analyse de l'amiantes en évitant d'endommager les fibres, éliminant ainsi cette source potentielle d'erreurs d'identification.

Le **chapitre 3**, article soumis à la revue scientifique «*Micron*», continue dans l'optique du chapitre précédent. La relation entre l'abaissement de la température et l'endommagement des fibres d'amiantes anthophyllite y est présentée. À l'aide d'un porte-échantillon cryogénique refroidi à l'azote liquide, la comparaison des effets de l'endommagement à température pièce et à 123 K a été observée. La cause de la perte de masse observée a été établie et des indications ont permis de déterminer que des effets de charge semblaient être responsables de certains processus d'endommagement. Il a été constaté que l'abaissement de la température permette d'éliminer pour les effets de l'endommagement tant que la température reste assez basse. La diffusion des éléments se produit toutefois au retour de l'échantillon à température pièce.

Le **chapitre 4**, article soumis à la revue scientifique «*Micron*», poursuit encore une fois le travail sur les facteurs affectant l'endommagement des fibres d'amiantes au MET. Dans ce chapitre l'effet de la tension d'accélération sur quatre différents types d'amiantes est abordé. Deux tensions d'accélération, 100 kV et 200 kV, ont été testées et comparées. Contrairement aux exigences des méthodes de référence d'analyse de l'amiantes par microscopie électronique

en transmission, l'utilisation d'une tension d'accélération plus élevée semble plus judicieuse. En plus d'optimiser plusieurs conditions d'imagerie, l'endommagement des fibres d'amiante se trouve considérablement diminué.

Le **chapitre 5** présente les conclusions générales que les différents résultats ont permis d'établir ainsi que certaines perspectives pouvant assurer la continuation de ce travail.

Chapitre 2. Étude des conditions seuils concernant l'endommagement des fibres d'amiante amosite pendant l'analyse au microscope électronique en transmission (MET)

On the Threshold Conditions for Electron Beam Damage of Asbestos Amosite Fibers in the
Transmission Electron Microscope (TEM)

Joannie Martin, Martin Beuparlant , Sébastien Sauvé and Gilles L'Espérance, Journal of
Occupational and Environmental Hygiene, Accepté pour publication le 23 février 2016.

Note sur ma contribution

Ma participation aux travaux de recherche: J'ai conçu le design expérimental en collaboration avec le Prof. L'Espérance et le Prof. Sauvé. J'ai réalisé les manipulations et l'analyse, l'interprétation des résultats a été faite avec l'aide du Prof. L'Espérance.

Rédaction : J'ai rédigé l'article en m'appuyant sur les commentaires et corrections des Prof. L'Espérance et Sauvé, mes directeurs de thèse.

Collaboration des coauteurs: Martin Beuparlant, Sébastien Sauvé et Gilles L'Espérance ont contribué à établir les objectifs de l'étude et à discuter des résultats.

- La version présentée dans la thèse diffère légèrement de celle publiée dans la revue *JOEH*.

Abstract

Asbestos amosite fibers were investigated to evaluate the damage caused by a transmission electron microscope (TEM) electron beam. Since elemental x-ray intensity ratios obtained by energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS) are commonly used for asbestos identification, the impact of beam damage on these ratios was evaluated. It was determined that the magnesium/silicon ratio best represented the damage caused to the fiber. Various tests showed that most fibers have a current density threshold above which the chemical composition of the fiber is modified. The value of this threshold current density varied depending on the fiber, regardless of fiber diameter, and in some cases could not be determined. The existence of a threshold electron dose was also demonstrated. This value was dependent on the current density used and can be increased by providing a recovery period between exposures to the electron beam. This study also established that the electron beam current is directly related to the damage rate above a current density of 165 A/cm^2 . The large number of different results obtained suggest that in order to ensure that the amosite fibers are not damaged, analysis should be conducted below a current density of 100 A/cm^2 .

2.1 Introduction

Asbestos is a material known and used by man for nearly 5000 years⁷. The six different types of asbestos fibers have many interesting properties such as flexibility, good mechanical strength, fire resistance, heat and electricity insulation, as well as being relatively resistant to acids. Asbestos has been mined for commercial use because of these advantageous properties. While there are many uses for asbestos, it is mainly found in textiles, insulation materials, asbestos cement and friction materials⁶⁶.

Although some studies and observations indicated a relationship between asbestos and lung-related diseases in the past^{29,67}, it was only in the 1970s that the health effects of asbestos became a real concern⁶⁸. It was at this point that its industrial use began to decline. It is now well recognized that asbestos exposure can cause asbestosis, severe and irreversible pulmonary fibrosis, lung cancer or mesothelioma, a cancer affecting the membrane lining of the lungs and abdomen and the most serious of all asbestos-related diseases²⁴.

Due to its carcinogenicity, asbestos is found to a much lesser extent in primary and secondary economic sectors, but because it has been used in several types of construction in the past, asbestos abatement sites are numerous. Asbestos is also still used in some products in which its concentration is strictly controlled. Up to 2003, common asbestos products included brake pads, automobile clutches, roofing materials, vinyl tile, cement piping, corrugated sheeting, home insulation and some potting soils⁶⁹.

In the province of Québec, Canada, which has long been a major producer of chrysotile, the demand for asbestos analysis is still very high. Concentrations in the air and in bulk materials are strictly regulated. Asbestos analysis in lung tissue is also increasingly common. Asbestos analysis can be performed using various types of instrumental techniques. Light microscopy has long been the most widely used technique, but now that the focus is more on the short and thin fibers, electron microscopy has become essential³⁸. Although several procedures exist for asbestos analysis by scanning electron microscopy (SEM)^{49,70,71}, the most complete technique remains transmission electron microscopy (TEM). This is the most powerful technique for counting and identifying asbestos fibers because its high image resolution allows observation of the smallest fibers, and the combination of x-ray energy

dispersive spectroscopy (EDS) and selected-area electron diffraction (SAED) leads to an unambiguous identification⁷²⁻⁷⁴. TEM analysis also has certain disadvantages that have been discussed in the literature and must be considered when this method is used^{75,76}. One important consideration when using TEM is the sensitivity of asbestos fibers to the electron beam.

Chrysotile is the most widespread asbestos and also the most easily damaged under a TEM beam. The ease with which the crystallinity of chrysotile fibers can be destroyed under a relatively convergent electron beam is well known. For this reason, most asbestos analysis standards stress the importance of acquiring an electron diffraction pattern prior to EDS acquisition^{46,77}. Since amphibole asbestos is known to be more robust than chrysotile, most methods of asbestos analysis by TEM leave it to the discretion of the user to decide whether to acquire a diffraction pattern before or after EDS analysis when the fiber does not show the morphology characteristic of chrysotile. Acquiring the diffraction pattern first usually eliminates the problem of crystallinity loss for all types of asbestos, but analyzing thin fibers gives rise to another phenomenon, the change in elemental composition. Elemental composition is the backbone of fiber identification.

This change in elemental composition is a result of radiation damage and seems to affect all types of asbestos at different sensitivity levels. Radiation damage can be the result of a multitude of types of electron scattering, both elastic and inelastic. The most common are atomic displacement, specimen heating, electrostatic charging, radiolysis and sputtering⁷⁸. Several studies have been carried out to identify and understand the mechanisms involved for different types of samples⁷⁹⁻⁸². In the case of inorganic materials, most authors agree that the damage is mainly caused by knock-on damage, electrostatic charging and radiolysis. In an insulating material like asbestos, radiolysis is usually assumed to be the predominant mechanism⁸³⁻⁸⁸.

Several parameters influence these different damage mechanisms. Knock-on damage is an elastic interaction in which kinetic energy from the incident electron beam is transferred to atoms, and when this energy is higher than the sputtering threshold energy or the displacement threshold energy of the atom, atomic nuclei can be displaced into interstitial positions or leave the specimen to enter the vacuum of the microscope^{78,84}. This mechanism is temperature

independent but varies with the energy of the electron beam and the electron dose. Electrostatic charging occurs principally in insulating materials with the ejection of Auger and secondary electrons; this interaction involves both elastic and inelastic scattering. When surrounding electrons cannot compensate quickly enough for the missing ones, a positive potential is created in the illuminated area which may result in a lateral migration of cations and anions, drawing anions into the irradiated area and expelling cations^{79,86,87}. Radiolysis is a consequence of the energy transfer resulting from inelastic scattering. The energy acquired by atomic electrons is converted into the momentum of the atomic nuclei by different mechanisms. In insulating materials, it mostly involves valence electrons excited into the conduction band, generating an electron-hole pair. Because of the low electron concentration in the conduction band, the exciton relaxation time can be long enough for the mechanical relaxation of the atoms to lead to bonding instabilities and atomic displacements^{83,85,86}.

It is difficult to determine in what proportion these three mechanisms affect damage, but it is likely that all three are present. To minimize the damage, it is very useful to know the critical value of the electron dose above which damage can be measured. This threshold dose is the product of the electron current density (dose rate, J_b) and exposure time (t). In the literature, it is usually this critical dose (or total dose (D) expressed in electrons per square centimeter (e/cm^2) or coulombs per square centimeter (C/cm^2)) that is used to express electron beam damage measurements:

$$D = J_b \cdot t \quad (\text{Équation 2.1})$$

More research shows, however, that in some cases the damage is more influenced by the dose rate, indicating a current density threshold^{79,83,86,89}. The current density (or dose rate) is given by⁹⁰:

$$J_b = \frac{\text{current}}{\text{area}} = \frac{i_b}{\pi \left(\frac{d}{2}\right)^2} \quad (\text{Équation 2.2})$$

where i_b is the beam current (in amperes (A) or in coulombs per second (C/s)) and d is the beam diameter.

The electron beam dose is rarely mentioned in standards for asbestos analysis by TEM. When critical doses are mentioned, it is only for the purpose of acquiring a good diffraction pattern and values are not given^{46,77}. This critical value is not mentioned in any of the asbestos analysis procedures and could lead to fiber misidentification if identification relies on the intensity ratios of elements. There are in fact several minerals in the form of fibers or cleavage fragments that can easily be confused with asbestos when the crystallographic analysis is inconclusive. For example, an electron beam damaged chrysotile fiber whose magnesium/silicon (Mg/Si) intensity ratio is significantly decreased cannot be differentiated from sepiolite, which has similar selected area electron diffraction (SAED) pattern and morphology⁹¹. This is an even more compelling issue when it comes to correctly identifying an amphibole. It has been shown that the 5,3 Å row spacing exhibited by the SAED pattern of most amphiboles is not unique to amphibole, and this pattern is generally not sufficiently indexed to distinguish one amphibole from another⁵¹. An electron beam damaged anthophyllite fiber could be wrongly identified as an amosite fiber based on the modified Mg/Si intensity ratio. Many issues arise from the different definitions (regulatory, mineralogical, commercial, etc.)² of asbestos and other asbestiform minerals, making precise characterization and correct identification of observed fibers highly relevant.

The objectives of this paper are to evaluate the influence of the electron dose and current density on asbestos fiber damage, using the Mg/Si intensity ratio as a damage indicator, measure this critical value, and determine whether this value is unique for all amosite fibers and independent of the size of the fibers. For this study, amosite asbestos $[(\text{Mg,Fe})_7\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]$ was chosen for its high thermal resistance, the wide range of fiber size, and because it was commonly used as building material⁹². It is assumed that for fibers as robust as those of amosite, it should be relatively easy to work below the damage threshold and this threshold could also be exceeded to measure the critical value. Understanding and quantifying the nature of this phenomenon could allow experimental parameters to be established for standards and research that will ensure reliable identification of both thick and fine amosite fibers.

2.2 Experimental

The type of asbestos used in this study was amosite ($[(\text{Mg},\text{Fe}^{2+})_7\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$) from the Union for International Cancer Control (UICC), also known as grunerite asbestos, from Penge mine in Northern Province, South Africa. A suspension was prepared by weighing 16 mg of amosite, which was added to 1 ml of ethanol (EtOH) (high-performance liquid chromatography (HPLC) grade filtered on 0,45 μm polytetrafluoroethylene (PTFE) filter). The solution was mixed manually. The TEM grid used was a 200 mesh lacey carbon-coated copper grid onto which 1 μl of the amosite-EtOH solution was deposited. The grid was left under negative pressure in a laboratory hood overnight to ensure complete solvent evaporation.

The experiments were carried out using a field-emission JEOL2010TEMF, operated at 200 keV in conventional TEM mode, equipped with an Oxford Inca X-sight model 6498 EDS Si-Li detector and a Gatan Ultrascan 1000 charge-coupled device (CCD) camera. A JEOL double tilt analytical holder (EM-31640) was used. The current was measured using readings on the phosphorescent screen and a pre-established calibration. Both phosphorescent screens (diameter of 2.5 cm for the small screen and 16 cm for the large screen) can be used for current readings with their own current limitations; the large screen also features calibrated gradations in the form of circles. The small screen was not used since the currents applied were often greater than the 6 nA current at which it saturates. In order to obtain a precise current reading, the larger viewing screen was used. A current density reading is obtained when the electron beam strikes the screen, but this current density is not accurate and needs to be calibrated. A sample holder equipped with a Faraday cage (Gatan model 646 double tilt analytical holder) was used for the calibration to ensure reliable current readings. For many beam current possibilities (four condenser apertures and 5 spot sizes), the current was measured by converging the beam into the Faraday cage. For each beam current measurement, a current density measurement was recorded with the viewing screen. For the latter current density measurements, the beam was converged at the center of the screen to reach a diameter of 1 cm at a magnification of 10 kX, with no sample inserted. This beam diameter and the center of the screen were chosen because the current density read on the screen was found to vary depending on where the beam was on the screen (center, middle or periphery). This procedure was repeated four times on different days and a calibration curve was constructed,

as shown in Figure 2S-1 in the Supporting Information. The colors refer to results obtained on the same day. Because the results were very reproducible (R^2 value of 0,9993), all four calibrations were used to calculate the observed linear relationship used to estimate the beam current to which the fibers were exposed. Each current density reported in this paper was initially measured on the viewing screen under the above-mentioned conditions. This current density was used to calculate the beam current with the relationship presented in Figure 2S-1. The beam diameter was measured using the CCD camera for each analysis, and this measurement was used to calculate the actual current density. Each time the condenser aperture or the spot size was changed, a new current density measurement was done.

Acquisitions of EDS spectra have been made as much as possible in the middle of the fiber width to allow approximation of the thickness by the diameter and produce comparable results for the same fiber. The intensity ratios were calculated from the intensities obtained after modeling EDS spectra using our own processing software, which allows the background noise as well as each of the peaks to be modelled with a Gaussian distribution. It also has the advantage of showing the model on the screen, thus confirming its validity.

Since EDS peaks follow a Gaussian distribution (or normal distribution), they are characterized by their means (X) and standard deviation (σ). The standard deviation of a peak can be calculated using its intensity (I):

$$\sigma = \frac{\sqrt{I}}{I} \quad (\text{Équation 2.3})$$

where I is the net intensity of the peak obtained from the area under the peak. For this type of distribution, 95% of the measurements are found between $(X-2\sigma)$ and $(X+2\sigma)$, a commonly used confidence level. Since the results are expressed as intensity ratios, thus a division, the propagation of uncertainty leads to the addition of absolute errors⁹³. An example of spectra treatment is available in the Supporting Information section (Figure 2S-2).

2.3 Results and discussion

2.3.1 Noticeable effect of damage

Damage was first observed when, for a given constant beam current, the issue arose about how far the beam size could be reduced. In chemical analysis of fine fibers by EDS, it is sometimes necessary to use a small beam to avoid illuminating other sample components that may not be of the same nature. Accordingly, various sizes of amosite fibers were analyzed by EDS for a constant current by varying the size of the beam, which was always totally included in the fiber. Since the standard methods of asbestos identification use (in addition to the diffraction pattern) intensity ratios of elements with silicon (mainly cations)^{47,94}, it is this aspect of EDS spectra that was studied to see whether there was a considerable change. The oxygen/silicon ratio (O/Si) could also have been used as a damage indicator, as it was observed that it decreases following the same trend as the Mg/Si ratio (Figure 2S-3). This observation could suggest a phase separation, the formation of MgO clusters or Mg nanoparticles. This behaviour has been observed in similar materials⁹⁵⁻⁹⁷, although usually associated with O₂ bubbles, which was not observed here. The O/Si ratio was not used in this study essentially because its variation does not have a direct impact on the identification of asbestos fiber. This ratio is also more difficult to compare from one fiber to another since the oxygen signal can easily vary depending on the thickness of the fibers. Figure 2S-4 in the Supporting Information section illustrates the absorption of both the oxygen and magnesium signals relative to the silicon signal calculated using Beer's law⁹⁸:

$$\frac{I}{I_0} = e^{-(\mu/\rho)x} \quad (\text{Équation 2.4})$$

where I/I_0 is the fraction of x-rays transmitted through a thickness, x , of a material of density ρ and (μ/ρ) is the mass absorption coefficient. Three different iron concentrations were used to observe the different possibilities encountered. 18.9% wt of iron is the mean concentration in the amosite fibers used in this study, while 6.9% wt and 29.8% wt represent the two extreme possible concentrations of iron. The decrease in the oxygen signal is larger than in the magnesium signal in all three cases shown.

Only two other possible ratios remained, namely the iron/silicon (Fe/Si) and the magnesium/silicon (Mg/Si) ratios. Since the intensity of the iron signal varied very little except for very small beams, the Mg/Si ratio seemed most appropriate. It also became clear that magnesium was the most rapidly damaged by the beam. Although knock-on damage is thought to be present⁸⁴, damage in silicates under the electron beam of the TEM is usually primarily attributed to cation displacements due to a radiolytic process or the induced electric field, leading to phase separation, precipitation of nanoparticles or volatilization^{95,99-101}. It is not yet clear if the loss of magnesium in EDS spectra is the result of surface sputtering, cation migration within the fiber but outside the illuminated area, MgO clusters or Mg nanoparticle formation, desorption, or a combination of these possibilities.

Figure 2.1 illustrates the variation in the Mg/Si ratio as the beam size varied from a value equal to the fiber diameter down to 10 nm. It clearly shows that the recorded intensity ratios decreased drastically for values smaller than a certain beam size, for each of the three fibers observed.

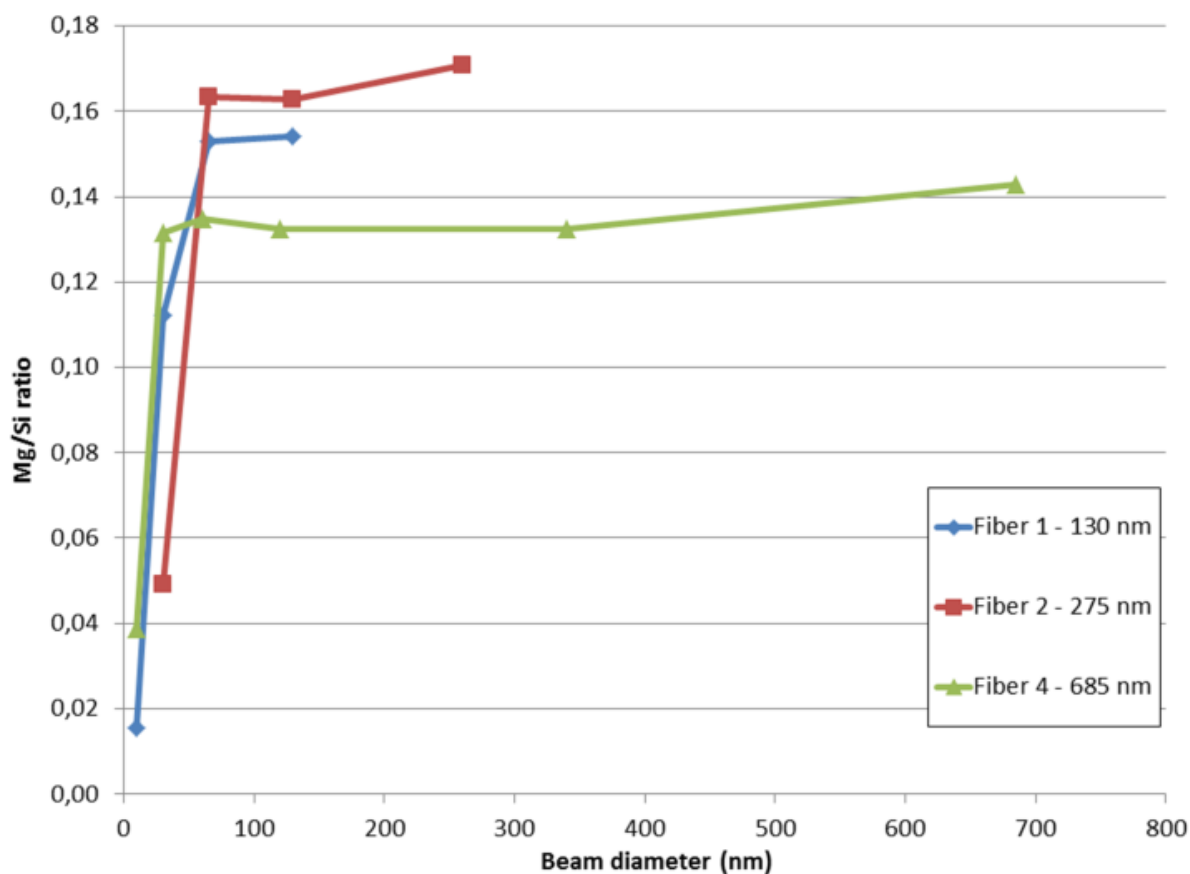


Figure 2.1. Mg/Si intensity ratios for three amosite fibers of different diameters obtained at a constant current of 8,30 nA for 60 s acquisitions.

Reducing the beam diameter while keeping the beam current constant increase the current density (dose rate) as well as the total dose. Damage was observed but it was still hard to understand how to avoid it. Large beam sizes would therefore reduce damage, but it might not be possible to use such beams for all fibers.

It is important to note, however, that the magnesium signal was also substantially absorbed, especially for thick fibers rich in iron, as shown in Figure 2S-3. This had the disadvantage of reducing the magnesium signal, in addition to suggesting a change in the Mg/Si ratio from one fiber to another. Fortunately, fiber diameter and iron concentration remain relatively constant within the same fiber so that the variations observed in the Mg/Si ratio within a given fiber can be considered to be caused by damage. However, it will be difficult to compare these observations for different fibers.

2.3.2 Chemical homogeneity of amosite fibers

Several strategies were considered to determine whether there was a critical current density and/or a critical total dose below which it was possible to avoid damage. Since damage is measured using the Mg/Si ratio, it was necessary to confirm that this ratio remained fairly constant when there was no significant damage. This is particularly relevant because amosite is a natural geological compound in which it is normal to expect a certain variation in elemental concentration. In addition to confirming that the fibers are not too different from one another, it is also important to confirm that the composition remains the same along the same fiber. Figure 2S-4 in the Supporting Information section shows the Mg/Si ratio obtained from the EDS analysis of 11 amosite fibers at several places on these fibers. Analyses were done at different total doses (different currents, current density and exposure time), but always in conditions where no damage was suspected.

As expected, some variation was observable, but this change was within the experimental error (2σ) of the x-ray microanalysis technique used. The average obtained from these acquisitions was a ratio of 0,153 with a standard deviation of 0,008. However, it must be kept in mind that these fibers all came from the same sample; a greater variation would be expected for fibers from different samples and different geological locations. For purposes of this paper, it was important to establish an average ratio for an undamaged fiber in order to be able to establish the damage threshold.

2.3.3 Current density threshold and experimental error

Tests were initially performed to determine the current density threshold for different amosite fibers. Spot EDS analyses were conducted along the same fiber with a constant beam current by gradually decreasing the beam diameter. Over 15 fibers were analyzed in this way and three types of situations emerged. In the first situation, the Mg/Si ratio of certain fibers appeared to drop considerably, decreasing 75% (from $\approx 0,16$ to $\approx 0,04$) above a certain current density (Figure 2.2a), while in the second situation, this ratio decreased less drastically for the range of current densities available (drop of 25%, from $\approx 0,157$ to $\approx 0,12$), as shown in Figure 2.2b.

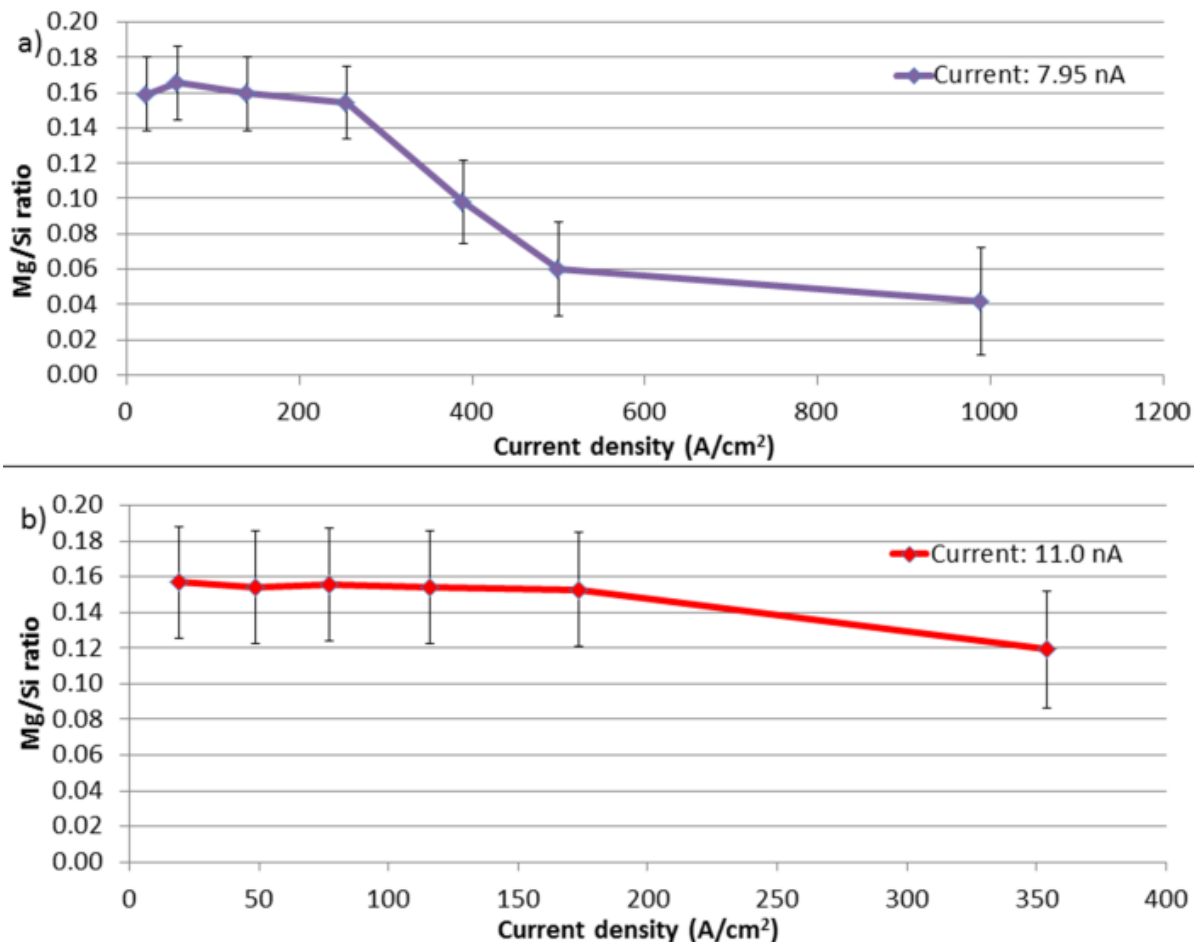


Figure 2.2. Two examples of fibers for which the Mg/Si ratio decreased when the ib exceeded a certain value, for 60 s acquisitions with 2σ error bars. In a) the current density threshold is above 255 A/cm², and in b) the current density threshold cannot be identified because the statistical error is too large.

In both cases, before determining the dose rate threshold, it is important to determine whether the difference observed in this ratio is statistically significant. To this end, the statistical error can be calculated using equation 2.3. A value of 2σ was selected to obtain a confidence level of 95%.

When these errors are taken into account, the error bars can overlap, indicating that the results are not statistically different (Figure 2.2b). When the error bars do not overlap however, the Mg/Si intensity ratios are considered to be statistically different (Figure 2.2a).

For the fiber analyzed in 2.2b, when the statistical error is added to the value, it cannot be assumed that the observed difference in ratio is significant, so it is impossible to state,

based on these data, that damage actually occurred. Higher current densities could have revealed the existence of a threshold as observed in 2-2a, since decreases in intensity ratios are very similar for comparable current densities, but since higher current densities could not be achieved for this current, it is impossible to either confirm or deny the existence of a threshold for the fiber in 2-2b. Another possible limitation arises when the intensity (number of counts) of the magnesium signal becomes really low, because then the error greatly increases. To overcome this problem in EDS, the exposure time is usually increased to obtain a larger signal and decrease the error; in this study, this could not be done because time has an effect on damage. The nature of the EDS technique is a limitation in this case as shown by the bright field image presented in Figure 2.3 which clearly shows damage to the fiber.

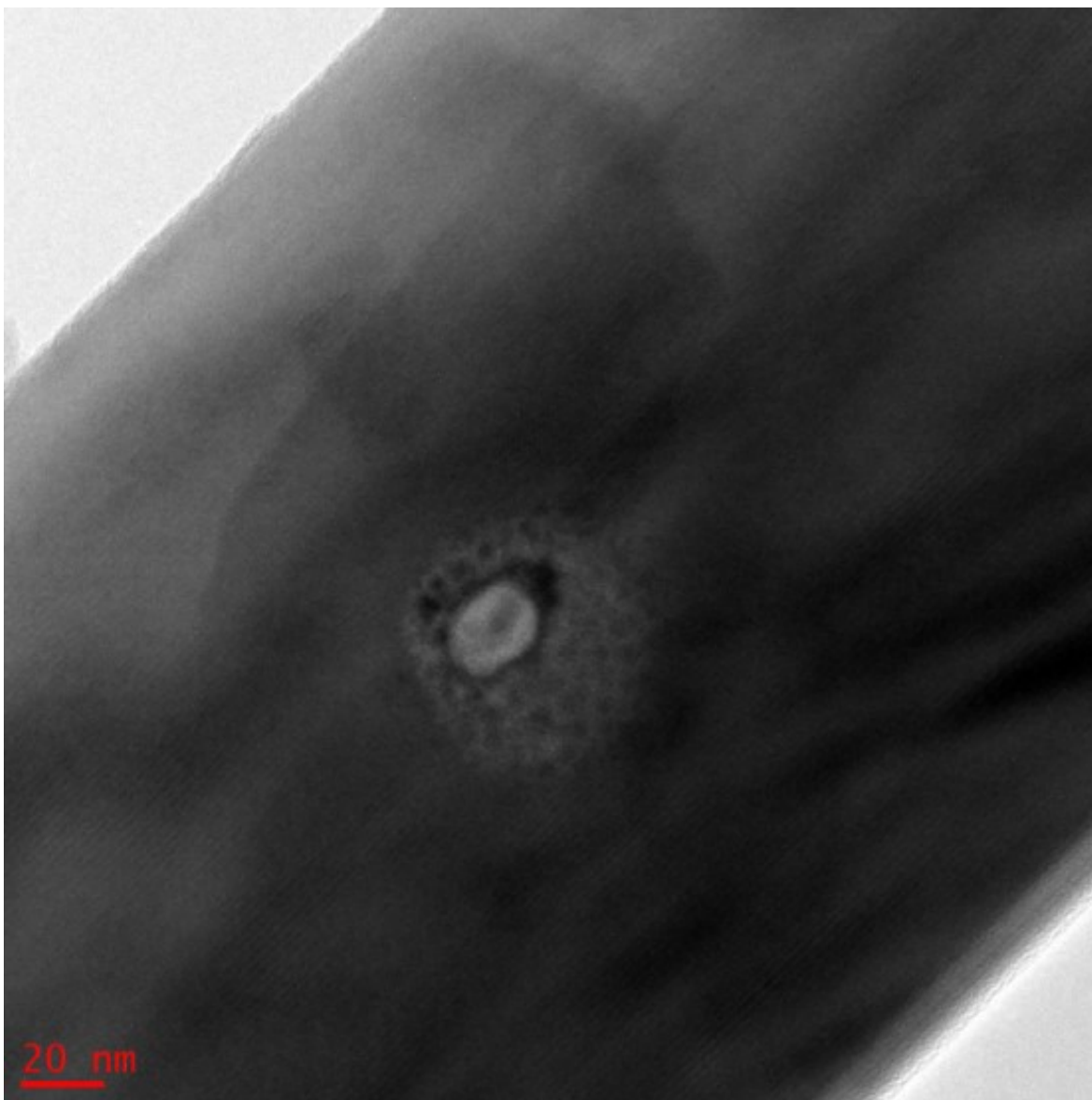


Figure 2.3. Bright field image of damage caused on amosite fiber after an EDS analysis of 60 s at a current density of 354 A/cm^2 shown in Figure 2.2b.

In the third type of situations encountered when the current density was gradually increased, damage was not observed, even for very large current density values. Figure 2S-5 in the Supporting Information section shows an example of such a situation. Damage could be caused at higher current densities, but for very high current densities, analysis is limited by the saturation of the Si(Li) EDS detector. Thus, when the x-ray signal becomes too intense, the dead time of the detector approaches 100% and the received signal becomes very weak. To avoid excessively long dead times, Si(Li) detector counting rates are usually limited to

approximately 3000 c/s. To confirm that damage will occur at high current densities, a silicon drift detector (SDD), which allows a much larger number of counts and faster processing times, could be used.

2.3.4 Current density threshold vs fiber diameter

Different fibers, for which a current density threshold was identified and considered statistically significant, were compared as a function of their diameter. A total of 14 fibers matched this criterion. Figure 2.4 illustrates the current density threshold as a function of fiber diameter.

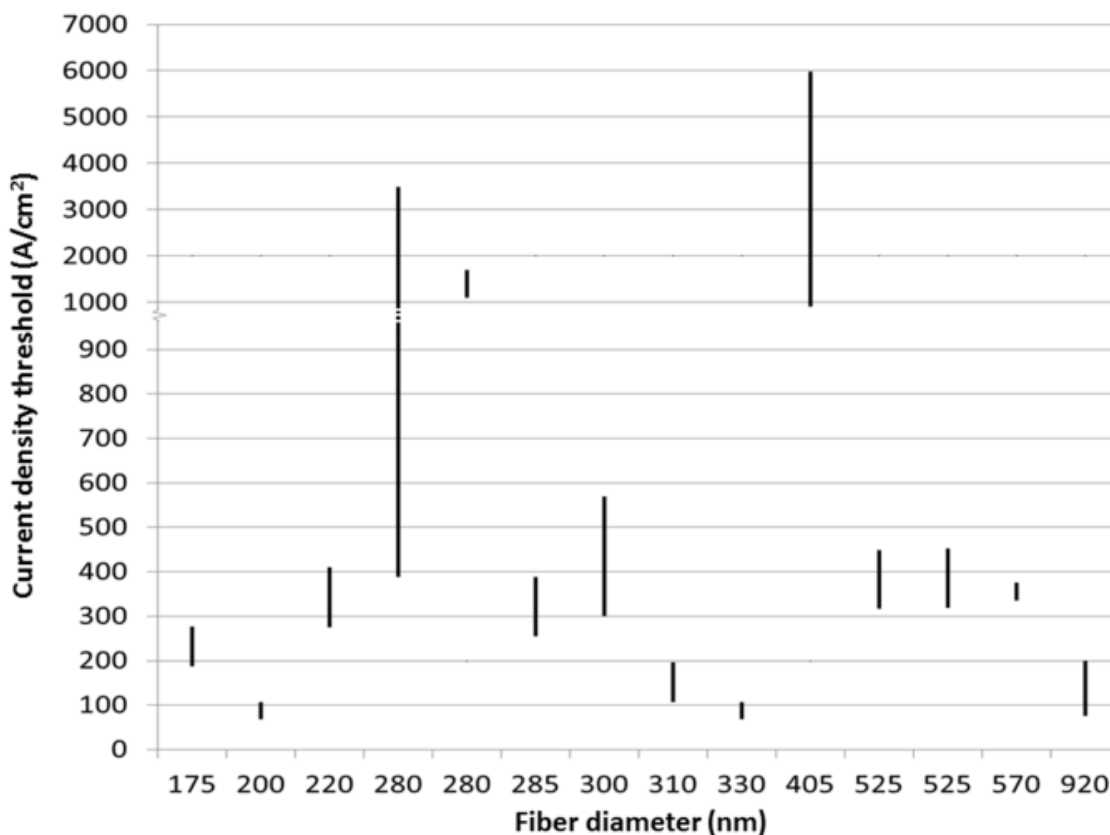


Figure 2.4. Current density threshold as a function of fiber diameter for 14 different fibers. (Note the change in scale at a current density of 1000 A/cm².)

The majority of the fibers had a current density threshold between 100 A/cm² and 600 A/cm², but some had a very high current density threshold. The large variation in the different thresholds observed does not allow us to affirm that there is a correlation between the diameter

of the fibers and their thresholds. Many of the suspected damage mechanisms are thickness dependent, but it is possible that the variation of other experimental parameters, such as beam current or beam diameter, prevents the thickness relation from being apparent. Since it seems difficult to predict the current density below which there will be no visible damage to a fiber, the only obvious solution would be to adopt a conservative method and work at a current density lower than 60 A/cm^2 . For large diameter fibers, it will be relatively easy to comply with this condition, but this will be more challenging for fine fibers.

2.3.5 Effect of time on damage

Although it appears that there is a critical current density limit value for amosite fibers, the possibility of a critical total dose is not excluded. To verify that this threshold exists, tests were carried out at a current density that did not damage the fibers for short times (around 30 s). The fiber was then illuminated for a given time and several EDS analyses were carried out during exposure to observe the damage for increasing electron doses. The same procedure was also applied at a current density where damage begins to appear. To select the appropriate current density for tests, increasing current densities were applied along a fiber to determine its threshold current density. The current density value applied just before the damage is then chosen and the lower value of current density for which damage is observed is also selected.

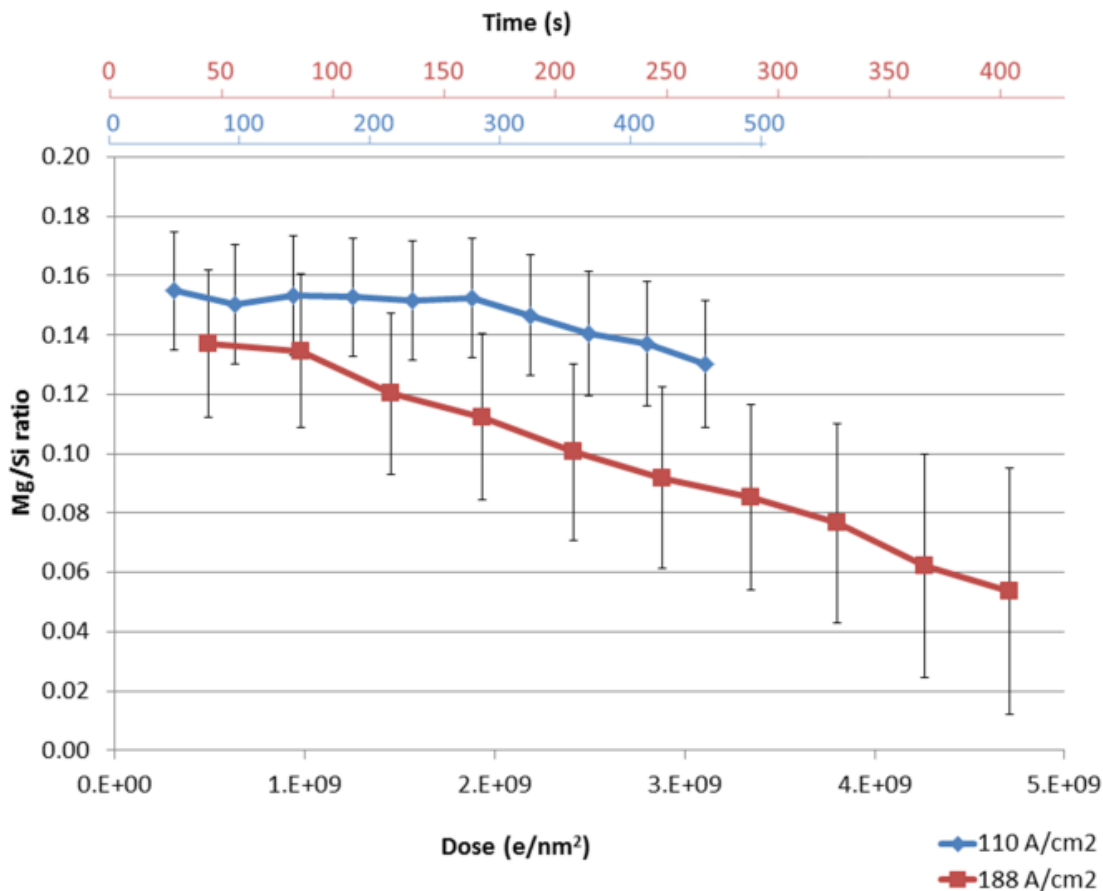


Figure 2.5. Variation in the Mg/Si ratio as a function of the total electron dose and time at two different current densities for an amosite fiber 525 nm in diameter.

Figure 2.5 shows that for the current densities used, damage clearly increased with time. In addition, for a larger current density, the rate of damage was greater. It can also be noted that for the same total dose and the same fiber, damage once again depended on the current density. A fiber can endure a higher total dose (or a longer exposure time) at a lower current density. Such tests as those illustrated in Figure 2.5 were conducted on a total of 7 different fibers. In all cases, at a fairly high current density, it is clear that the time had a great impact on the damage rate. For lower current densities (less than 100 A/cm²), the exposure time can be very long before damage appears.

Since the damage rate increased with increasing exposure time, it is of interest to investigate whether a recovery time between exposures could reduce the rate of damage. To test this hypothesis, three sets of analyses were carried out on the same fiber for comparable

total doses. The first was continuous exposure, the second involved a recovery time of 30 seconds between 30-second exposures, and the third allowed a recovery time of two minutes between 30-second exposures. During the recovery time, the beam was blanked so that the electrons could not reach the sample.

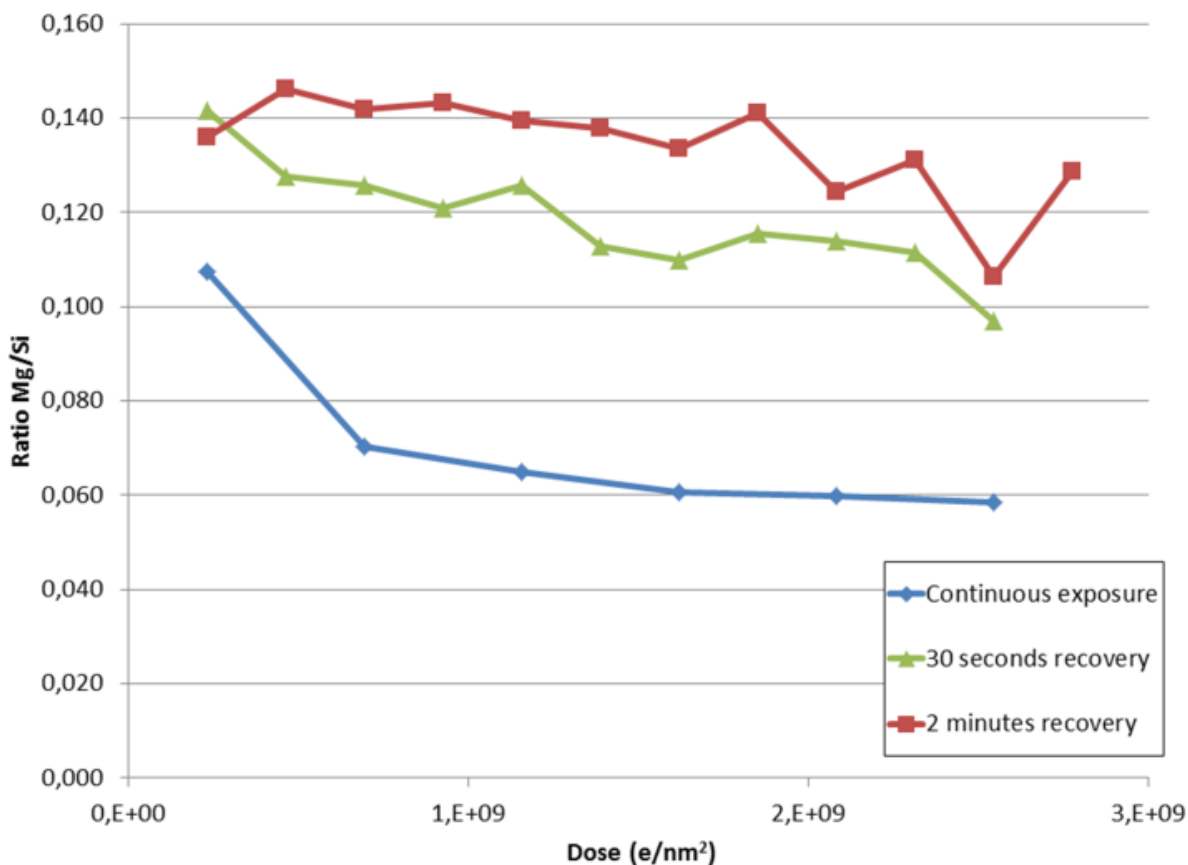


Figure 2.6. Effect of two different recovery times on the damage rate, compared to continuous exposure for an amosite fiber 320 nm in diameter and a constant current density of 123,5 A/cm².

The rate of damage was clearly reduced when exposure was not continuous. It can also be seen that the longer the recovery time, the greater the reduction in the rate of damage for the recovery times tested. Assuming that thermal equilibrium is rapidly reached, these observations indicate that there are slower repair mechanisms operating. The existence of these recovery mechanisms is known, but their different steps are complex and dependent on the damage mechanisms operating and the presence of defects in the materials. Previous studies provide insight into these recovery processes and the parameters that can affect

them^{85,86}. It is unlikely that the beneficial effects of recovery between exposures shown in Figure 2.6 are due only to the reduction in accumulated heat. Previous work showed that the heating effect is small if the beam current i_b is low⁸³. Thermal effects only become significant if the beam current approaches 1 μA , which is not the case in this study. Cooling the sample could allow a larger total dose by possibly slowing the rate of damage¹⁰². However, if recovery mechanisms are operative, cooling the samples could potentially slow them down as much as the damage mechanisms, so the desired effect may not be achieved.

2.3.6 Beam current vs current density threshold

As discussed above, it seems that the total dose does have an effect on damage, but it seems to be dependent on the current density threshold for amosite fibers. Current density and time are two parameters that directly influence the rate of damage. The effect of the electron beam current on fiber damage was also investigated. The total beam current was changed by varying the condenser aperture and the spot size. Different beam diameters were used to achieve a range of comparable current densities for the three different beam currents.

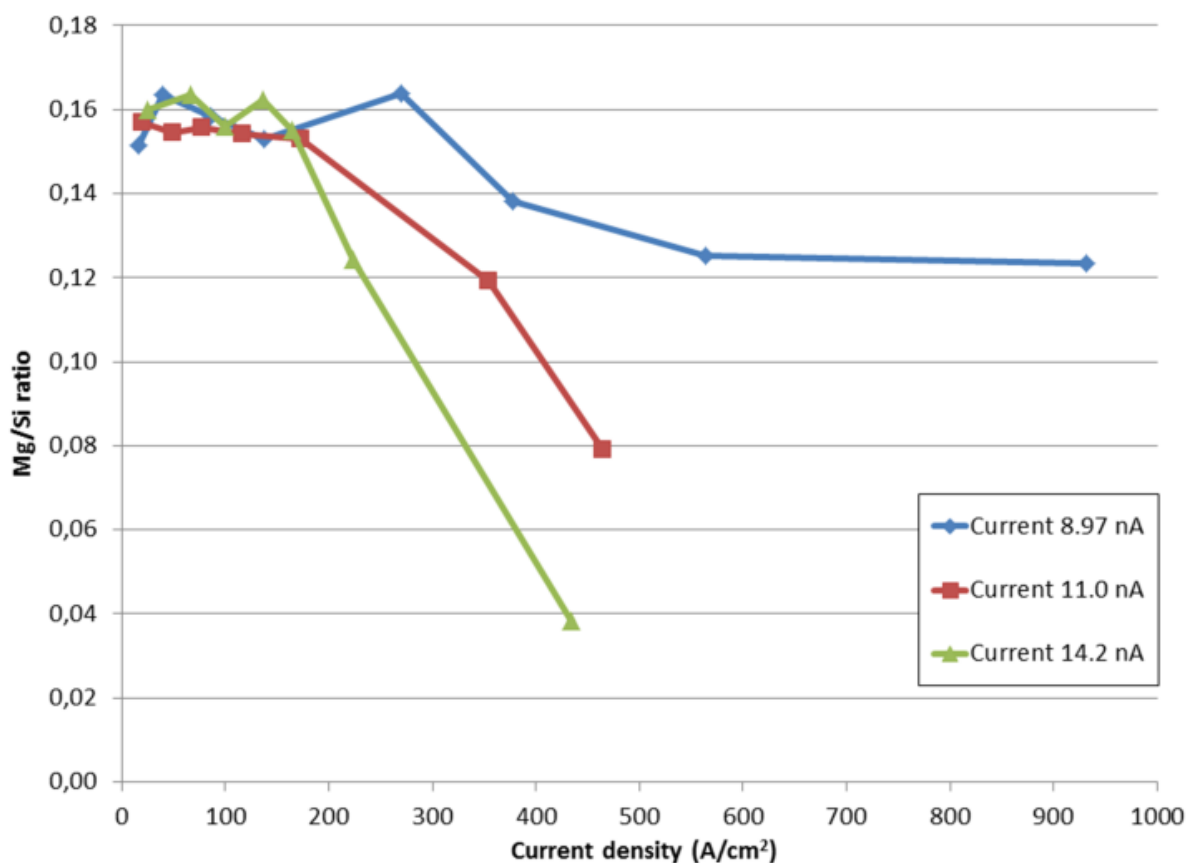


Figure 2.7. Comparison of the effect of current density for three different beam currents on an amosite fiber 270 nm in diameter for 60 s acquisitions.

For a current density below 165 A/cm², the Mg/Si ratio seems relatively stable for all three beam currents. When this current density is exceeded, different behaviours are observed depending on the current used. The greater the current, the greater the damage rate. Since the acquisition time is always the same, the only variable parameters are the total number of electrons penetrating the fiber and the beam diameter (decreasing for larger current densities). As shown in Figure 2.1, results obtained for a constant current demonstrate that the beam diameter did have an impact on the damage rate as the current density was increased beyond a certain value. In this specific case, decreasing the beam diameter resulted in an increased rate of damage. In the situation shown in Figure 2.7, the damage rate was greater for the same current density at a higher beam current and thus for a larger beam diameter. These observations show that the total number of electrons penetrating the fiber is also an important factor to consider in the analysis in order to avoid damage. If the damage is the result of a

radiolytic process or partially induced by knock-on, increasing the current would increase the ionization or collision probability, thereby increasing the damage rate. On the other hand, in the case of damage induced by electric field, the increase in damage rate could be attributed to an increased electric field due to the larger beam size¹⁰³. These two possibilities may also add up.

Figure 2.8 illustrates the relationship between the beam current, current density and beam diameter using the conditions in which damage was not observed, for 15 fibers. This figure clearly shows combinations of operating parameters of the instrument that could be “safely” used to prevent damage to the fibers. The figure also shows that for large beam sizes and small current densities, the beam current does not appear to have a great effect. It only seems to have an effect on the damage rate after the current density threshold is exceeded, similar to what is shown in Figure 2.7. To avoid reaching these current density thresholds, the current used should be chosen in relation to the minimum beam size used during the analysis.

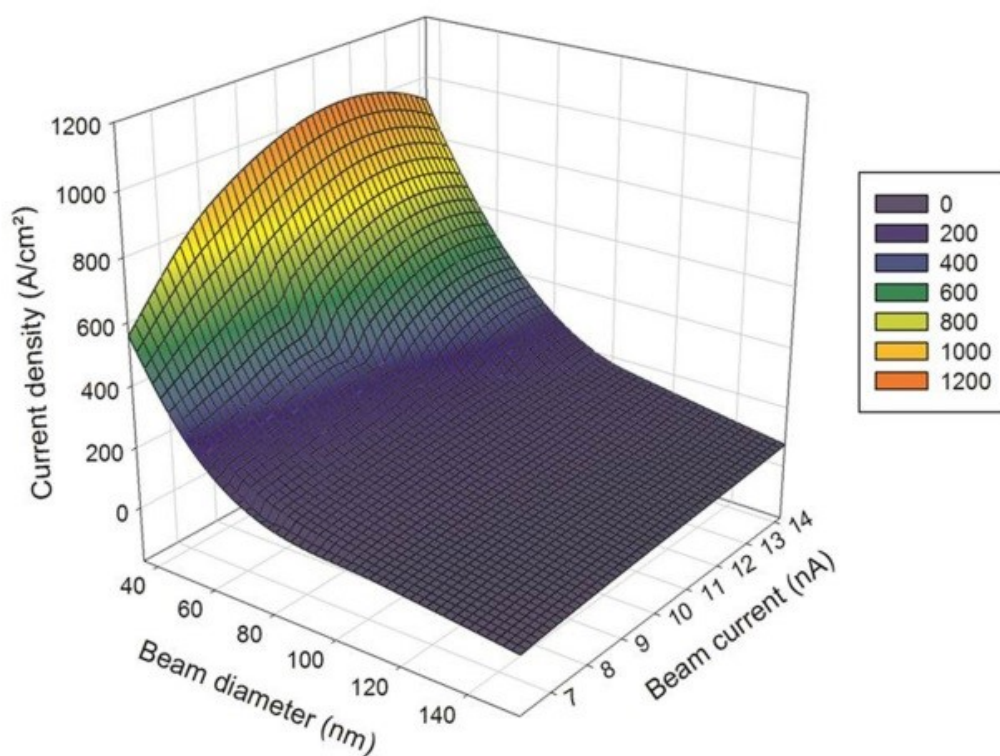


Figure 2.8. “Threshold” surface showing values of the beam diameter, beam current and current density for which damage was not observed on 15 different amosite fibers.

Figure 2.8, however, can be very helpful in determining the experimental conditions for avoiding damage. The section of the 3D graph below the surface clearly indicates an area where damage was not detected, which means that it is possible to safely work in this area during the analysis of amosite fibers. For example, when a 60 nm beam is used, working at a current density of 200 A/cm² (regardless of the beam current) should allow analysis to be carried out without damage.

2.4 Conclusion

The various parameters affecting the damage of amosite fibers by the electron beam were studied on fibers of comparable chemical composition. The main conclusions of this work can be summarized as follows:

- 11 amosite fibers from the same sample were analyzed by EDS, using conditions where no damage was suspected, in order to evaluate the normal variation in the Mg/Si ratio. The average Mg/Si ratio found was 0,153 with a standard deviation of 0,008; this small variation and the stability of the Si signal allow the use of this ratio as a damage indicator. It has been demonstrated that reducing the beam size to below 60 nm for a constant current of 8,3 nA quickly leads to similar damage on the three different fibers tested, indicating that beam size does have an effect on damage.

- The analysis of 15 different fibers has shown the existence of a current density threshold (A/cm²) over which the Mg/Si ratio decreases significantly. The value of this current density threshold varies for different fibers and this variation is independent of fiber diameter. Some fibers do not seem to have suffered damage with regard to their Mg/Si ratio, but the observed surface damage in some fibers proves otherwise.

- It has also been shown that for a given current density, damage clearly increases with time, suggesting that total dose (e/nm²) does have an effect on damage, but is not the predominant factor. The influence of time on damage appears to be related to the current density used; below a current density of 100 A/cm², a long exposure time can be used without

any visible damage. The rate of damage can be decreased considerably by avoiding continuous exposure and allowing recovery time between exposures.

- This study also establishes that the electron beam current is directly related to the damage rate above a current density of 165 A/cm^2 .
- Different tests performed in this study show that several parameters must be controlled to avoid fiber damage during the analysis of amosite by EDS in TEM. These parameters include the exposure time, beam size, current density and electron beam current. The most limiting of these parameters is certainly the current density, which should be kept below 60 A/cm^2 to avoid damage on any fiber.

Work is under way to determine whether cooling the sample lowers these threshold values, thereby allowing greater current densities and facilitating the imaging part of the asbestos analysis, and to determine if the accelerating voltage has an impact on the different threshold values.

2.5 Acknowledgments

The authors wish to thank Jean-Philippe Masse, Philippe Plamondon, both from the Center for Characterization and Microscopy of Materials, the (CM)², Annie Ouellet and Jacques Lesage from the IRSST, and the staff from JEOL for technical support and useful discussion. Professor L'Espérance also wishes to thank the IRSST for its financial support.

2.6 Supporting Information

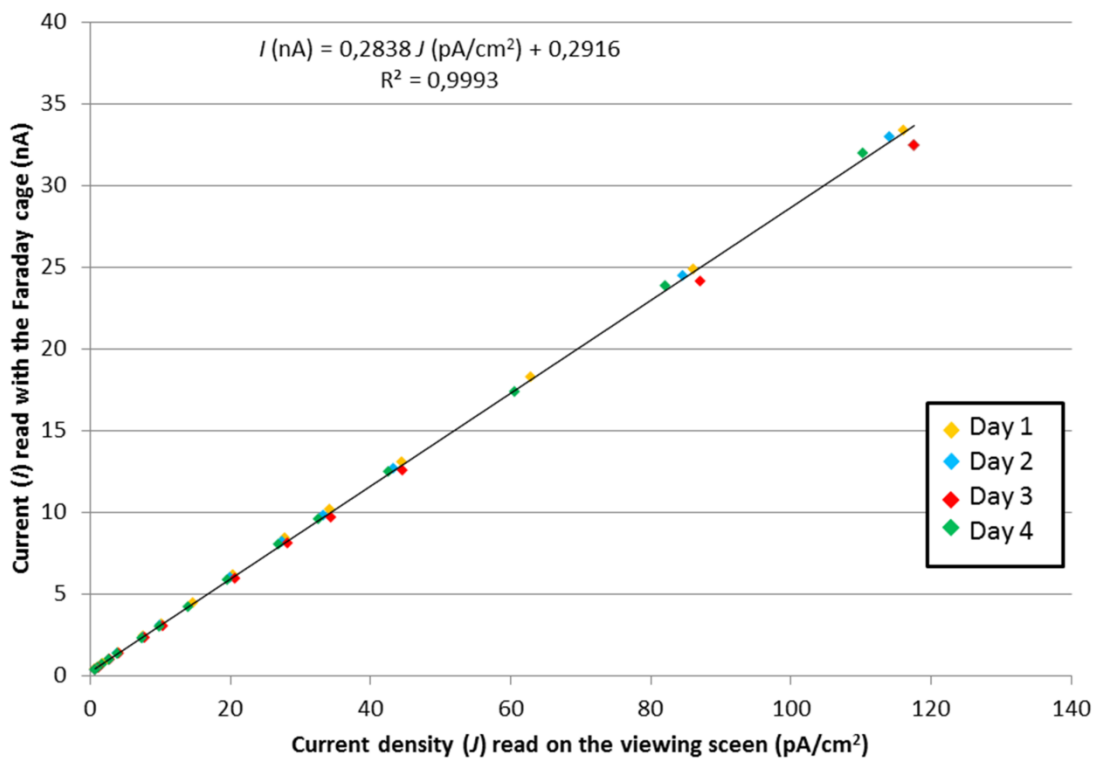


Figure 2S-1. Relationship between the beam current (I) as measured using a Faraday cage and the current density (J) measured on the viewing screen.

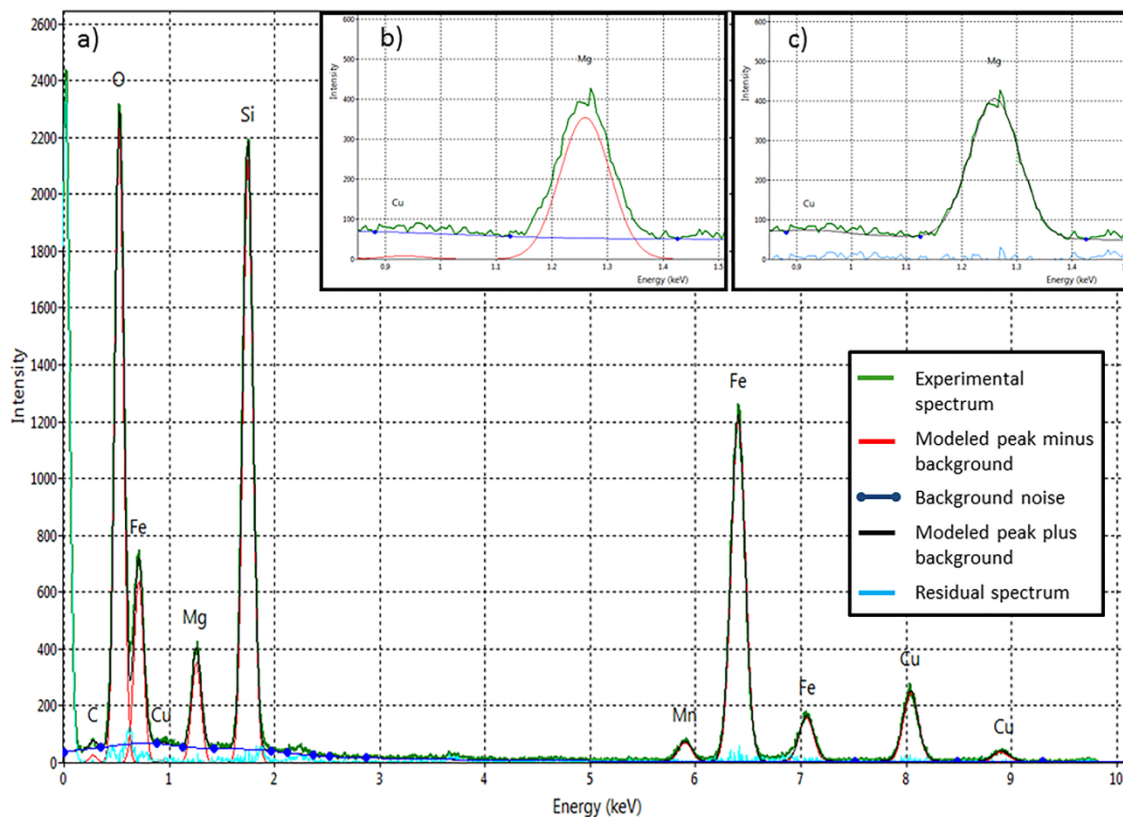


Figure 2S-2. a) Example of an EDS spectrum model including the experimental spectrum, the background noise, the peak modelled, the total modelled spectrum and the residual spectrum. b) An enlargement of the Mg peak showing the experimental spectrum, the modelled peak minus background, and the background noise. c) An enlargement of the Mg peak showing the experimental spectrum, the modelled peak plus background, and the residual spectrum.

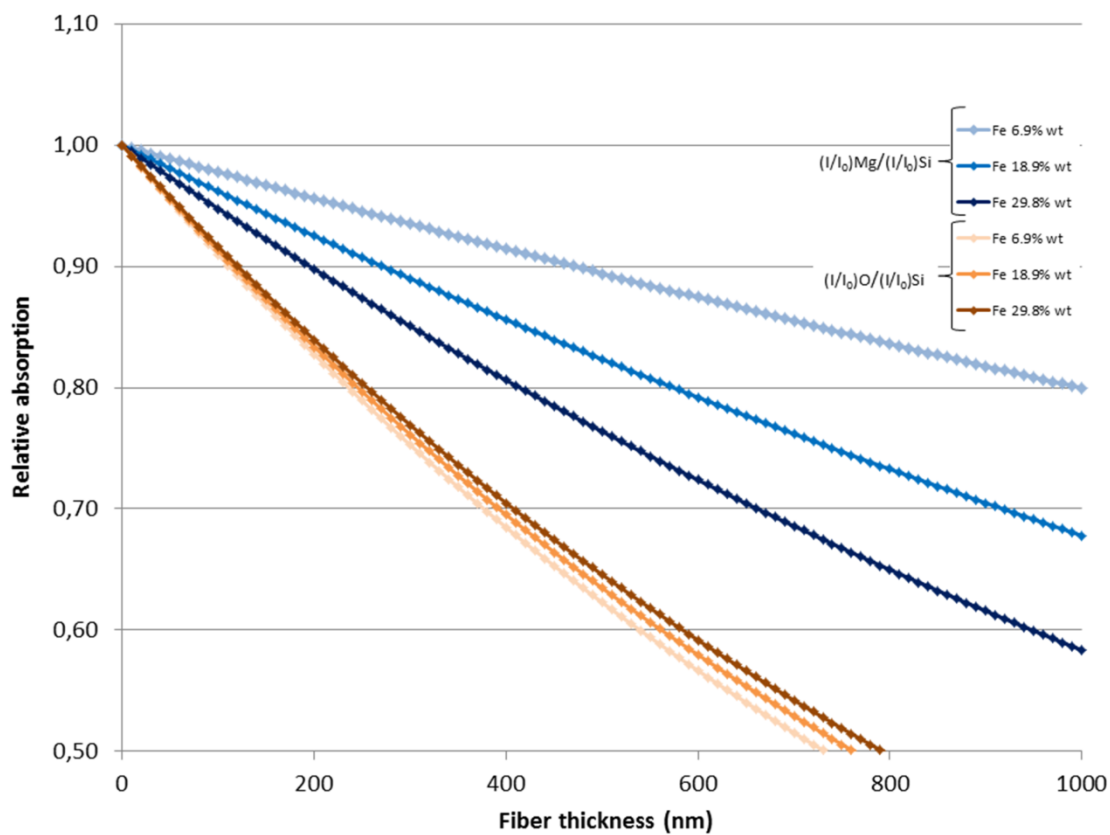


Figure 2S-3. Absorption of the x-ray signal of oxygen (in orange) and magnesium (in blue) relative to the silicon signal for three iron concentrations according to fiber thickness.

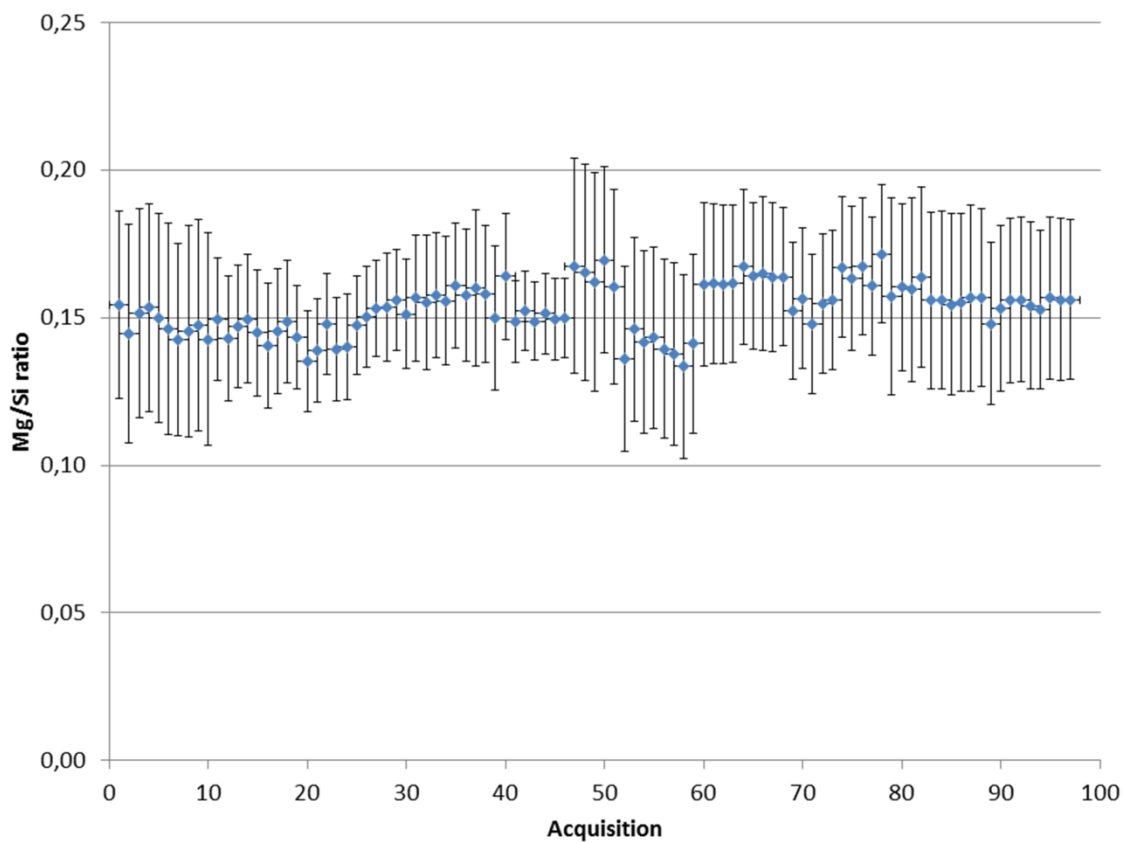


Figure 2S-4. Variation in the Mg/Si ratio for 97 acquisitions carried out on 11 different amosite fibers from the same sample. The error bars indicated correspond to 2σ .

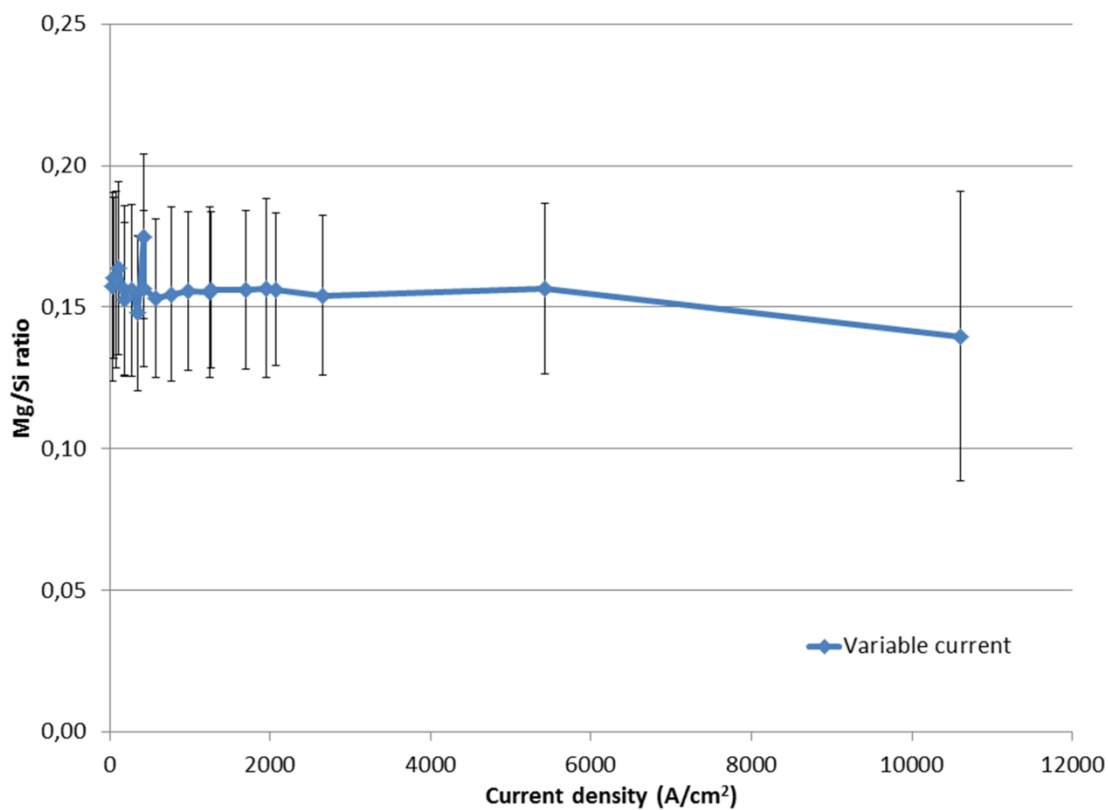


Figure 2S-5. The Mg/Si intensity ratio measured for a wide range of current densities. A significant decrease of the Mg/Si intensity ratio is not observed.

Chapitre 3. Effet de la température sur l'endommagement des fibres d'amiante dû au faisceau du microscope électronique en transmission

Effect of temperature on beam damage of asbestos fibers in the transmission electron microscope (TEM) at 100 kV

Joannie Martin, Martin Beuparlant, Sébastien Sauvé and Gilles L'Espérance, *Micron* (2016), Soumis pour publication.

Note sur ma contribution

Ma participation aux travaux de recherche: J'ai conçu le design expérimental en collaboration avec le Prof. L'Espérance. J'ai réalisé les manipulations et l'analyse, l'interprétation des résultats a été faite avec l'aide du Prof. L'Espérance.

Rédaction : J'ai rédigé l'article en m'appuyant sur les commentaires et corrections des Prof. L'Espérance et Sauvé, mes directeurs de thèse.

Collaboration des coauteurs: Martin Beuparlant, Sébastien Sauvé, Gilles L'Espérance et moi avons contribué à établir les objectifs de l'étude.

Abstract

Damage to asbestos fibers by the transmission electron microscope (TEM) electron beam is a known limitation of this powerful method of analysis. Although it is often considered only in terms of loss of crystallinity, recent studies have shown that the damage may also change the elemental composition of fibers, thus causing significant identification errors. In this study, the main objective was to assess whether temperature is a factor influencing damage to asbestos fibers and, if so, how it can be used to minimize damage. It was found that lowering the temperature to 123 K can inhibit, for a given time, the manifestation of the damage. The significant decrease of atom diffusion at low temperature momentarily prevents mass loss, greatly reducing the possibility of misidentification of anthophyllite asbestos fibers. The results obtained in this study strongly suggest that the predominant mechanism damage is probably related to the induced-electric-field model relegating radiolysis to the status of a secondary damage mechanism.

Keywords: Electron beam damage, temperature, asbestos, damage mechanisms.

3.1 Introduction

Asbestos is a commercial term applied to a group of naturally occurring, inorganic and highly fibrous silicate minerals that have grown in a specific crystal habit and exhibit characteristics of flexibility, high tensile strength, electrical resistance, and resistance to heat and chemical degradation. Six asbestiform minerals are currently regulated as asbestos by most health regulations worldwide; chrysotile, from the serpentine mineral group, and five minerals from the amphibole group: crocidolite (riebeckite asbestos), amosite (cummingtonite-grunerite asbestos), anthophyllite asbestos, tremolite asbestos, and actinolite asbestos. Asbestos has been mined because of its advantageous properties and increasingly used in many commercial applications since the second half of the 19th century until reaching a maximum global production in 1977 of $4,8 \times 10^6$ tons²¹. To a lesser extent, its use for different purposes is very old; evidence was found in Finland that asbestos fibers were incorporated in pottery as far back as 2 500 BC. Other uses of asbestos, such as in oil lamp wicks or cremation cloth, are reported in ancient writings.

Asbestos is also commonly associated with potential disease, with the first cases of asbestos-related disease being reported in the early 1900s in France and the United Kingdom³⁰. Reaction was slow to manifest even though more and more cases were identified throughout the century and research on these diseases was becoming better documented^{29,67,68}. It was only in the 1970s that the health effects of asbestos became a real concern; at this point its industrial use began to decline as many epidemiological studies were conducted on different aspects of asbestos hazards. Nowadays it is well recognized that asbestos exposure can contribute to several irreversible diseases such as asbestosis, lung cancer or mesothelioma²⁴. Although its use has been almost entirely phased out in most industrialized countries, asbestos is still frequently encountered in buildings or road constructions, mainly as insulation material or asbestos cement, and in a surprisingly wide variety of building materials, for example, vinyl floor tiles. Since asbestos abatement sites are numerous, worker exposition is strictly controlled and regulated. The toxicity of asbestos fibers is generally determined based on three main factors: fiber dose, fiber dimension, and fiber durability in lungs³⁷. According to the regulations applied, the analytical technique used may be required to determine the morphology of the fibers, their exact nature (by chemical and crystallographic

analysis) and concentrations in various media such as air, bulk materials, water or lung tissue. Optical microscopy is the experimental technique most commonly used for asbestos analysis because it offers significant advantages such as speed and low cost, but when a complete and accurate analysis is needed, transmission electron microscopy (TEM) is the technique to use. While it is quite complex, time-consuming and costly, it is one of the only one to get as much information from a single analysis. It measures the morphological criteria for each fiber with an image resolution of easily less than one nanometer, which is particularly useful for small-sized fibers such as are often found in floor tiles or lung tissue. It allows complete chemical analysis using energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) by identifying all the elements present in the fibers and their respective proportions, and also provides important crystallographic information using electron diffraction patterns obtained in selected area electron diffraction (SAED). Combining all this information allows complete characterization of asbestos fibers and thus a highly reliable identification.

Different standard procedures are available for asbestos analysis by TEM. These are often very similar to each other and describe in some detail the procedure for the analysis^{48,77}. These methods also have certain limitations and disadvantages, one of which is the sensitivity of the asbestos fibers to the electron beam. Damage due to the electron beam in the TEM is a well-known phenomenon and fairly well understood for some types of materials or samples. The signals due to elastic and inelastic interactions of electrons with the sample are used to obtain information on the physical, chemical and crystallographic properties of the sample; this is what makes this analytical technique so complete. The same types of interactions, however, can lead to damage in the sample and thus alter the properties that are to be determined. To avoid damage to the sample, the experimental conditions used vary depending on the dominant damage mechanisms, so it is very relevant to attempt to understand them.

There are many different mechanisms of radiation damage, each of which has specific effects on the sample. For some types of materials or given experimental conditions, it may be possible to know which damage mechanisms are most likely to be active. This is unfortunately not so simple with other materials, including asbestos, where the presence of several damage mechanisms is suspected.

The damage can have various impacts on the sample, including changes in the structure or chemical composition. In the case of asbestos fibers, both are observed. Amorphization of the crystal structure of the fiber is the first observable indication of electron beam damage: both the crystallographic planes and the diffraction contrast disappear. Under certain illumination conditions, it is also possible to observe a change in the chemical composition as measured by EDS analysis. This second indication of damage is more problematic than a loss of local crystallinity, since it can easily go undetected and thus lead to misidentification of the fiber. It is therefore particularly important to better understand which damage mechanisms are operating and how they work in order to reduce their impact and increase the reliability of the analysis.

Generally, damage types are classified in two categories related to the nature of the interaction leading to damage. The first is damage resulting from elastic scattering, where following an electron-nucleus interaction, the electron transfers energy to the atom. If the transferred energy exceeds the threshold energy of atomic sputtering or atomic displacement, it results in damage. These interactions are called knock-on processes and may affect all types of samples when the energy of the electron beam is sufficient, and are usually predominant in conductive samples.

The other type of damage is ionization damage or radiolytic damage, which are processes arising from inelastic interactions between electrons. Radiolytic damage occurs when energy is transferred from an electron beam to an atomic electron in the specimen, increasing the energy of the electrons from the ground state to an excited state. For this excitation to cause damage in the sample, it needs to be converted to kinetic energy and momentum of atomic nuclei and the excitation must be localized long enough for the atom to respond mechanically. When these two conditions are satisfied, which is often the case for insulating materials like asbestos, the bonding instabilities may lead to specimen damage.

Radiolysis is the main mechanism by which radiolytic damage occurs. The ionization causes the formation of radicals by bond breakage. It is also generally regarded as the predominant type of mechanism in silicate crystals.

A third possibility is electrostatic charging. This interaction, which mainly occurs in insulating materials with the ejection of Auger and secondary electrons, involves both elastic and inelastic scattering. When surrounding electrons cannot compensate quickly enough for the missing ones, a positive potential is created in the illuminated area which may result in a lateral migration of cations and anions, drawing anions into the irradiated area and expelling cations. This mechanism is also responsible for other observed phenomena, such as hole drilling and image distortion or blurring⁷⁹.

It is not easy to determine in what proportion these three mechanisms affect specimen damage for our material, but it is likely that all three are present. Since experiments were conducted for this study at a relatively low accelerating voltage (100 kV) on an insulating material, it can be assumed that knock-on damage is limited compared to radiolysis and electrostatic charging⁸¹; however, it cannot be overlooked^{84,104}.

Several strategies have been proposed for purposes of reducing damage on some types of samples for analysis by TEM, with varying efficiency. One of the most common ways, mainly used for organic samples, is to lower the sample temperature during the analysis.

Several studies have shown that lowering the temperature of the sample made it possible to significantly increase the critical electronic dose at which the diffraction spots become completely invisible and to significantly reduce the loss of mass¹⁰⁵⁻¹⁰⁸.

Knock-on processes are not influenced by temperature because it has no effect on the momentum transfer to a nucleus⁷⁸; radiolysis, on the other hand, is known to be temperature dependent to some extent^{78,109}. For radiolytic bond breakage to lead to specimen damage, the excitation energy has to be converted into momentum. When this occurs, atomic displacement can be achieved either by Coulomb repulsion, by atomic vibration or both. Atomic vibration is strongly temperature dependent and therefore radiolysis damage is generally influenced by temperature variations to the extent that the transfer of momentum by atomic vibration is present^{100,110}. It may also be possible to reduce charging effects by lowering the temperature since the mobility of ions increases with temperature.

While it is commonly accepted that lowering the temperature reduces the beam damage sensitivity of a sample susceptible to radiolysis, a great difference is observed in the damage

decrease factors reported (between 3 and 100)^{78,106,107} and the optimal temperature to use^{108,111}. This reduction in damage due to cryogenics, however, is only temporary: when the sample returns to room temperature, the atoms dislodged as a result of the chemical bond become mobile again and can easily leave the previously illuminated region^{83,112}.

As mentioned previously, the preferential mass loss observed using EDS analysis of asbestos can lead to fiber identification errors. Modification of EDS intensity ratios caused by beam damage can lead to confusing a chrysotile asbestos fiber with sepiolite, which is not asbestos but fibrous clay¹¹³. The EDS spectrum of a damaged anthophyllite asbestos fiber may also be very similar to that of intact amosite asbestos fiber. These two examples of error could be avoided by correctly indexing their respective electron diffraction pattern, unfortunately it can often be difficult to obtain a good diffraction pattern and when the latter is obtained, its indexation may be complex. Correct classification of asbestos fiber is extremely important in an occupational context. When a fiber is identified as asbestos, it is also often necessary to determine which of the six asbestos types it belongs to. Finding a simple way to reduce this error probability could significantly improve the analysis of asbestos by TEM. In this context, the main objective of this study is to evaluate the impact of lowering the temperature on the sensitivity of anthophyllite asbestos fibers to beam damage.

3.2. Materials and methods

The type of asbestos used in this study is anthophyllite ($[(\text{Mg,Fe})_7\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$) CAS 17068-78-9, a Union for International Cancer Control (UICC) standard reference sample, from Paakkila mine in the Tuusniemi commune, Finland¹¹⁴. A suspension was prepared by weighing 16 mg of anthophyllite which was added to 1 ml of ethanol (EtOH) high-performance liquid chromatography (HPLC) grade and filtered on a 0,45 μm polytetrafluoroethylene (PTFE) filter. The suspension was sonicated for five minutes at room temperature. The TEM grid used was a 200 mesh lacey carbon-coated copper grid onto which 1 μl of the anthophyllite-EtOH suspension was deposited. The grid was left under negative pressure in a laboratory hood overnight to ensure complete solvent evaporation. Chemical composition homogeneity have been verified using EDS intensity ratios of undamaged fibers, on different fibers and on different area of the same fiber for a total of 28 measurements. A

normal variation in the Mg/Si ratio is observed given that anthophyllite is a natural mineral, but this variation is always included in a 95% confidence level.

The experiments were carried out using a field-emission JEOL2010TEMF, operated at 100 kV in conventional TEM mode, equipped with an Oxford Inca X-sight model 6498 EDS Si-Li detector and a Gatan Ultrascan 1000 charge-coupled device (CCD) camera. A Gatan liquid nitrogen cooling holder, double tilt analytical holder (model 636) as well as a SmartSet Model 900 Cold Stage Controller were used. The current was measured using readings on the phosphorescent screen and a pre-established calibration. The procedure for calibrating the phosphorescent screen using a sample holder equipped with a Faraday cup was described in a previous paper¹¹³.

Intensity ratios were calculated from the net intensities obtained after modeling the EDS spectra using our own processing software, which allows the background noise as well as each of the peaks to be modelled with a Gaussian distribution. The software has the advantage of showing the result of the modeling on the screen, thus confirming its validity. Error bars on the intensities are presented using a confidence level of 95% on the intensity measurement. The thickness of the fibers was not measured; when the thickness of the different fibers is mentioned, it is an approximation using the diameter of the fibers on the image, based on the assumption that all fibers are cylindrical. To be precise, this type of measurement using electron energy loss spectroscopy (EELS) requires the use of a small beam, knowledge of the mean free path of electrons in the sample and is limited to thin samples to avoid multiple scattering. Since small convergent beams caused fiber damage and fiber thickness often exceeds 150 nm, thickness measurements using EELS were not used.

All EDS measurements were made at the center of the fibers, beam diameter were measured using a calibrated image of the beam and the beam current was measured using the phosphorescent screen calibration.

3.3. Results and discussion

3.3.1 Damage definition

In this study, the damage caused by the electron beam is observed in two ways. It can be based on observations of the fading of electron diffraction pattern intensities, as is the case in several studies on cryoprotection in the electron microscope¹¹⁵⁻¹¹⁷. The gradual disappearance of the diffraction pattern was until recently, usually attributed to bond breakage due to radiolysis, which causes significant structural changes⁷⁸. Damage can also be characterized by a mass loss or compositional change which can be caused by many different mechanisms, such as atom displacement, sputtering, atomic or ionic diffusion. Mass loss usually happens for higher electron doses or current densities than crystalline to amorphous phase transition in organic samples¹⁰². It should, however, be noted that the order of observation of the damage does not always reflect the order of its appearance in the sample since some phenomena are observed more locally whereas others have to operate over long range order to be detected. A previous study showed that this change of elemental composition in amphibole asbestos fibers particularly affects magnesium¹¹³. Of all atoms detected by EDS in silicate analyses, magnesium is the most sensitive to damage by the electron beam. This is particularly important because the x-ray intensity ratio of Mg/Si is commonly used to identify asbestos fibers and distinguish different types of asbestos. It is therefore crucial that this ratio not be significantly altered by the electron beam during the analysis to avoid errors. In this paper, the term “beam damage” thus refers to an observed change in elemental composition, unless otherwise stated. Although only these two damage indicators are used in the context of this study, there are many other possible damage indicators, such as the formation of point defects (vacancy and interstitials)^{118,119}, nucleation and growth of clusters of point defects^{81,95} or modifications of electrical properties^{97,120}.

3.3.2 Temperature dependence of beam damage

One of the most frequently used strategies when radiolytic processes are suspected to cause damage in a sample is to cool the sample. Temperature can act directly on the displacement rate by affecting the efficiency of the mechanism itself. In other cases, reducing

the sample temperature does not affect the mechanism itself in terms of bond perturbations, but rather modifies the secondary response which concerns the displacement of the affected atoms and the recombination possibilities. Cryogenic temperatures reduce atomic mobility and can therefore delay structural or compositional changes to the material. They can also increase the possible recombination probability of displaced atoms and previously vacated atom sites. Significant reductions in damage, due to the lowering of the temperature, were observed for both organic^{106,121} and inorganic samples^{88,118,122-124}. The critical dose for complete diffraction-pattern fading as well as the critical dose required for mass loss and composition change can be improved. Although there is no consensus on the temperature to be used for optimal reduction of the damage rate, several studies agree on the necessity to achieve liquid helium temperatures to observe significant improvements^{111,123}; however, this requirement is not unanimous and several studies contradict it¹⁰⁷. Great care and special equipment are required to reach temperatures below 20 K; consequently, it becomes very interesting to see if the damage rate can be significantly reduced by using a simple sample holder cooled with liquid nitrogen, thus reaching a minimum temperature of about 78 K. Tests were carried out to compare the effect of different sample temperatures on the damage rate as a function of the current density, where the beam current is constant (3.45 nA- 3.79 nA) and the beam diameter varies between 765 nm and 25 nm. Four temperatures were used on five different fibers; typical results are presented in Figure 3.1.

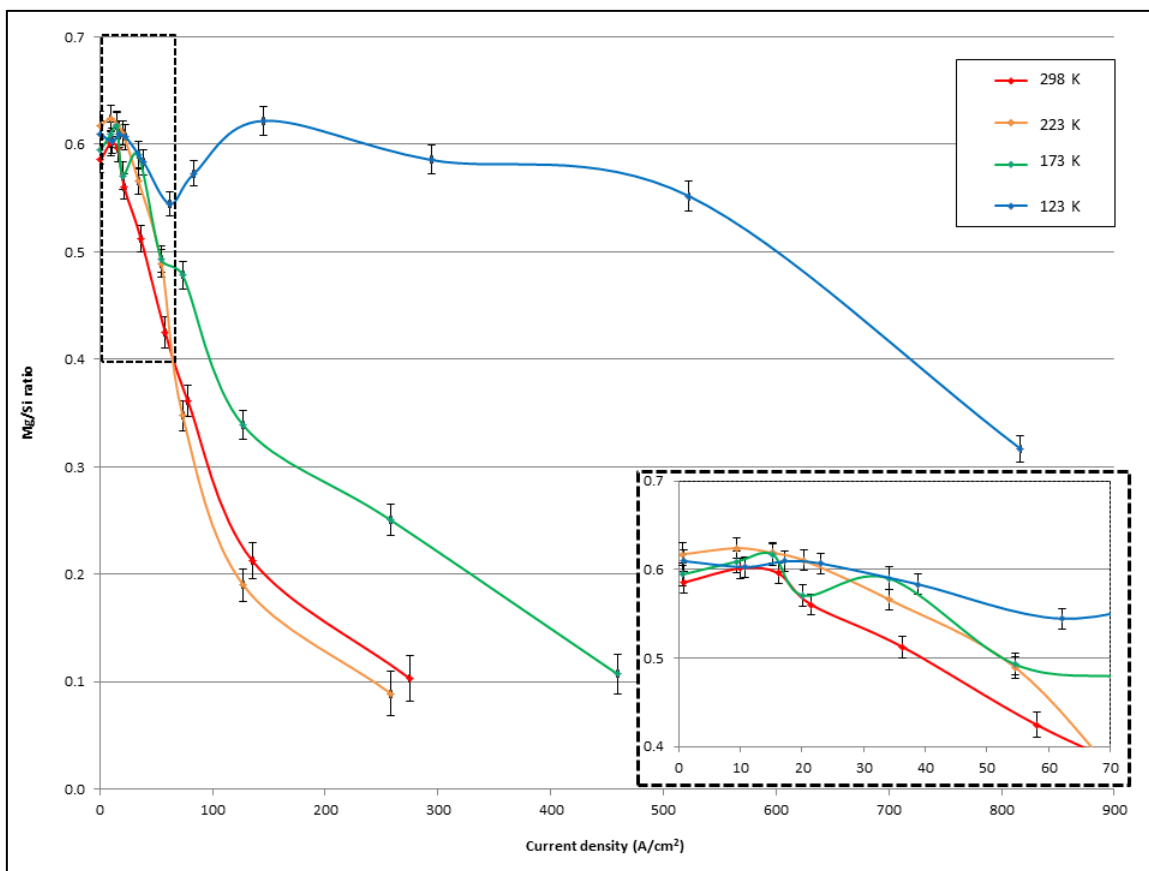


Figure 3.1. Change in the Mg/Si ratio as a function of current density for four different temperatures on one anthophyllite fiber ($d = 785$ nm).

For five different fibers analyzed, it was found that lowering the temperature to 123 K systematically decreased the rate of damage in comparison with the results obtained at room temperature (298 K). The 173 K and 223 K temperatures provided much less reproducible results, with effects on damage rate either absent or unpredictable; therefore the experiments were continued using the two temperatures of 123 K and 298 K. It is possible that when the temperature is not lowered enough, the mobility of certain atoms (here magnesium) is affected, and possibly reduced, but not quite enough for the trend to be obvious.

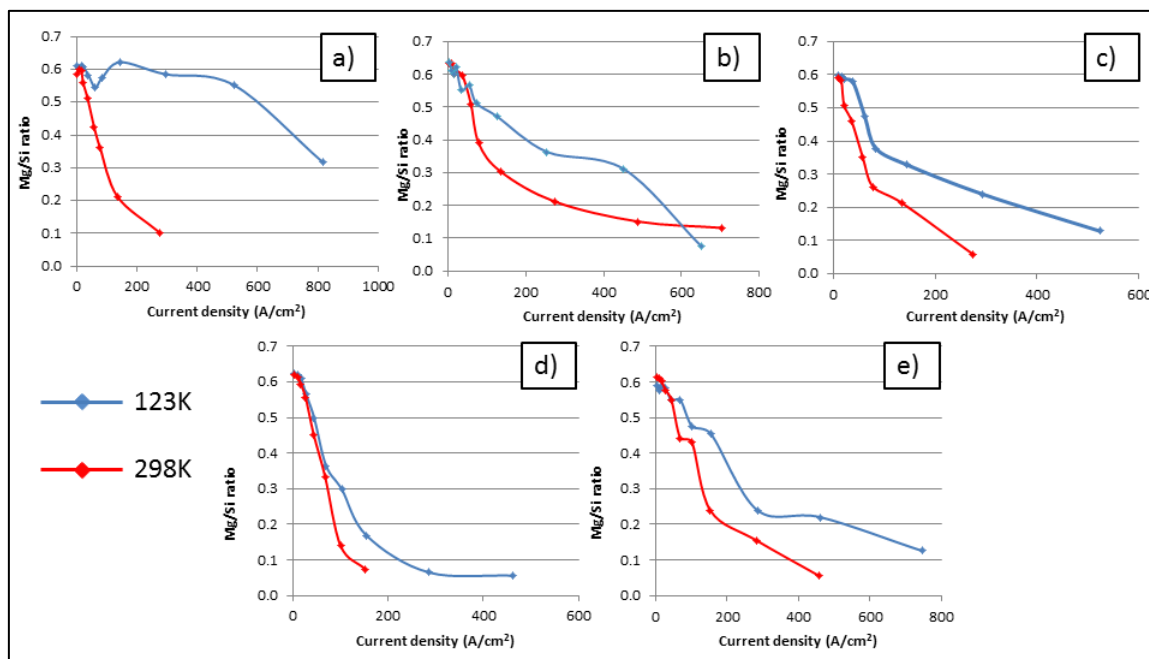


Figure 3.2. Comparison of the EDS intensity ratio Mg/Si as a function of current density at 123 K and 298 K on five anthophyllite fibers of different thicknesses; a) 765 nm b) 400 nm c) 220 nm d) 470 nm e) 315 nm.

The results presented in Figure 3.2, obtained with a relatively constant beam current (3.45 nA to 3.96 nA) and a beam diameter varying between fiber diameter and 25 nm, show that lowering the temperature to 123 K decreased the damage rate for each of the studied fibers. The significance of this effect varies depending on the fiber, but does not seem to be correlated to fiber thickness. The most significant decrease in damage rate is observed on the thickest fiber, but for the others, the effect seems rather random. For these five analyses, the difference between the rates of damage at both temperatures begins to grow in importance for current densities larger than 100 A/cm^2 . For each fiber, the resistance to damage caused by raising the beam current density is increased at 123 K in comparison to room temperature. Although it is difficult to state exactly how temperature influences resistance to beam damage, this effect can undoubtedly help to improve the reliability of EDS analyses requiring a small condensed beam. For all experiments, a significant decrease in the Mg/Si intensity ratio is observed for relatively low current densities (under 50 A/cm^2). Since a plateau is often not observed, it is possible that the value at the lowest current density has also decreased due to the damage, but preliminary tests have shown that the mean Mg/Si ratio for undamaged anthophyllite fiber is around a value of $0,6 \pm 0,03$.

Although damage also occurs at a temperature of 123 K, the experiments demonstrate that the damage rate is slower than at room temperature as it can be seen in Figure 3.3. This represents a significant advantage in certain situations.

It is common in the literature to define a critical dose expressed in electrons per square centimeter (e/cm^2) or coulombs per square centimeter (C/cm^2) to avoid damage, especially for organic samples. However, it is increasingly stated that this critical threshold may also be expressed as a function of the current density or dose rate (A/cm^2), thus implying that the damage to some samples is influenced by both beam current density and exposure time^{86,89,100,113,125,126}. It is possible to illuminate the sample, for an unlimited period, when working under these current density thresholds without detecting damage. A previous study demonstrated that there was indeed a total dose threshold value and a current density threshold value for amosite asbestos fibers¹¹³. It seems once again these two parameters have a great influence on the damage of anthophyllite asbestos fibers observed in the current study.

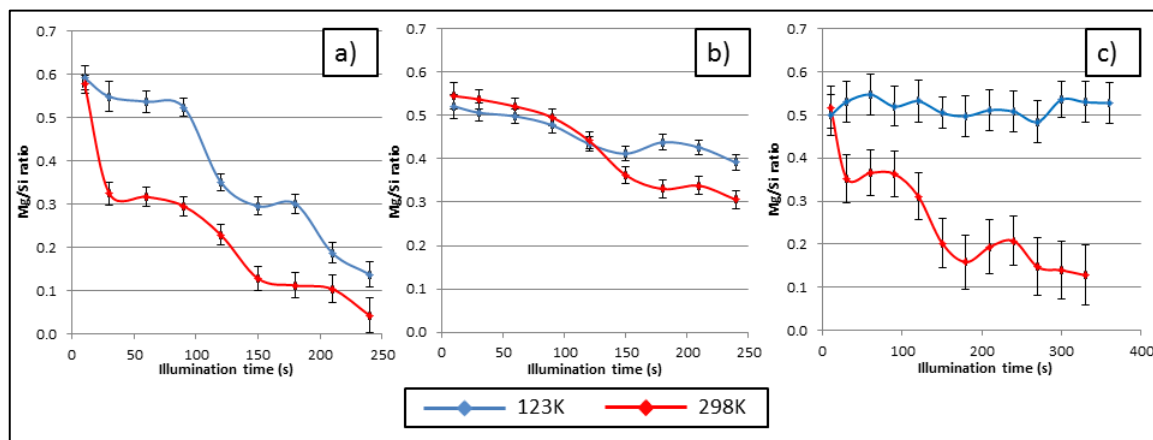


Figure 3.3. Comparison of the EDS Mg/Si intensity ratios as a function of illumination time at 123 K and 298 K on three anthophyllite fibers of different thicknesses for similar current densities; a) 260 nm (49 A/cm^2 at 123 K and 45 A/cm^2 at 298 K) b) 327 nm (49 A/cm^2 at 123 K and 45 A/cm^2 at 298 K) c) 245 nm (39 A/cm^2 at 123 K and 45 A/cm^2 at 298 K).

The results obtained at 100 kV as shown in Figure 3.2 do not confirm with certainty the existence of a current density threshold below which there is no damage, for both temperatures. It is clear, however, that the damage increases with increasing current density and that the rate of damage appears to decrease when the sample is cooled to 123 K. A similar

experiment was conducted on three different fibers to evaluate the influence of the total accumulated electron dose on damage, keeping the current density constant. The results obtained are shown in Figure 3.3, again using the Mg/Si ratio as damage indicator. At 298 K, for the three fibers analyzed at a constant current density of 45 A/cm^2 , a dose threshold value is not observed. The damage begins immediately and increases more or less rapidly with increasing total dose. At a temperature of 123 K, the same trend is observed for the first two fibers analyzed at a current density of 49 A/cm^2 . In both cases however, the damage increases less rapidly for a total dose when compared to room temperature. The results for the third fiber, shown in Figure 3.3c, obtained at 123 K, clearly demonstrate that an increased total dose does not influence the damage. The current density used was 39 A/cm^2 , namely 10 A/cm^2 less than for the other two fibers. It is possible that this current density value is under the threshold value of the current density so that the illumination time does not influence the damage.

Whether a function of current density or of total electron dose, it seems that reducing the temperature to 123 K always reduces damage in comparison to 298 K. It is not possible to determine if the threshold values increase with the decrease in temperature or if it is simply the damage rate that is reduced. It is also possible that the decrease in the observed damage is actually only a reduction of atomic diffusion in the sample, and on returning to room temperature, the atoms, released by the breaking of chemical bonds due to damage, regain their initial mobility and leave the illuminated area in the same way as at 298 K. This behaviour is often observed with volatile elements which leave for the vacuum of the microscope as the temperature increase again.

To test this hypothesis, an analysis, in every point identical to that shown in Figure 3.3c at 123 K, was made on the same zone of the fiber at 123 K, but after the sample was brought back to room temperature for several days. The two curves are compared in Figure 3.4. As the beam left a very visible mark on the fiber during the first analysis at 123 K, it was possible to return to the exact location and perform a second analysis. For this second analysis, a fixed current density of 40 A/cm^2 was used compared to 39 A/cm^2 for the first analysis (beam current $\sim 3.5 \text{ nA}$ and 105 nm beam diameter). The results demonstrate that the 10 s Mg/Si ratio is very low even for a very low illumination time and that it continues to decrease slightly with increasing illumination time.

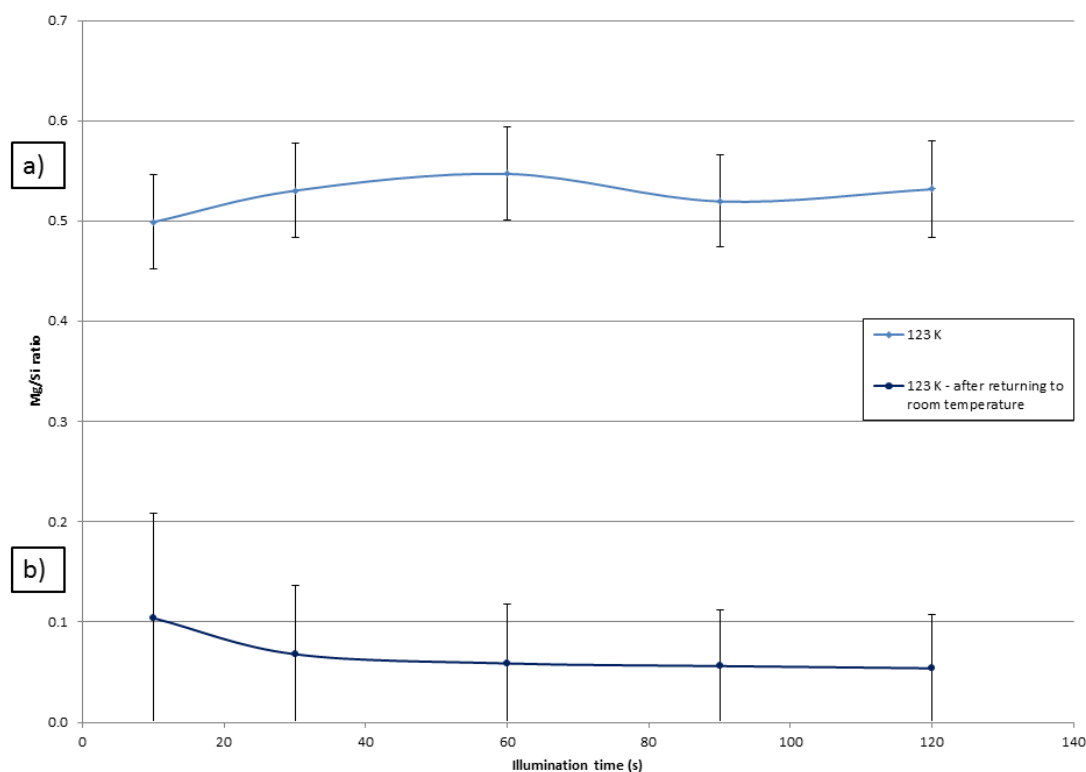


Figure 3.4. Comparison of the EDS Mg/Si intensity ratio as a function of illumination time at 123 K. a) The initial analysis and b) one from the same illuminated region of the sample but after returning to room temperature.

The second analysis, like the first, does not show a significant change in the Mg/Si ratio during analysis. The important difference to be noted is between the final ratio of the first analysis and the initial ratio of the second analysis. This large decrease proves that between these two analyses, a significant proportion of magnesium atoms left the previously illuminated area when the sample was returned to room temperature. So it seems very likely that the magnesium atoms and their chemical bonds, very sensitive to radiation in this type of sample, are equally affected at 123 K as at 298 K. At low temperature, mobility is reduced significantly, thus preventing mass loss until atoms diffuse when returned to room temperature, as mentioned previously in the literature for certain types of samples¹¹². A mass balance would be necessary to verify in what proportions the magnesium is volatilized versus diffused outside the illuminated area while remaining in the sample. Further tests will be necessary to determine if the mass loss occurs during the return to room temperature or if it

occurs very quickly during the second illumination. If volatilization is not how magnesium leaves the illuminated area, it is very possible that the damage only occurs when the beam illuminates again the sample again since it is difficult to justify other driving force for cations diffusion.

While it is unfortunate that this type of damage does occur even at low temperature, the observable mass loss prevention is still a great advantage in TEM asbestos analysis. Since damage does not affect the intensity ratios measured by EDS at low temperature, possible identification errors from variations in these ratios can be avoided.

3.3.3 Effect of temperature on atom diffusion

In order to understand what happens in the illuminated region to cause the observed damage, the intensity ratio I/I_0 (where I is the net intensity at a time (t) and I_0 is the net initial intensity ($t = 10$ s)) of the EDS signal was used as shown in Figure 3.5. The generated intensity of a characteristic x-ray I_A^* for element A is given by the following relation in thin sample⁶³:

$$I_A^* = const. \cdot C_A \cdot \omega_A \cdot Q_A \cdot a_A \cdot \tau / A_A \quad (\text{Équation 3.1})$$

where

C_A is the weight fraction of element A, ω_A is the fluorescence yield for the x-ray line of interest (K, L or M), a_A is the fraction of the total line intensity that is measured (K, L or M), for example $I_{K\alpha} / (I_{K\alpha} + I_{K\beta})$ for the K line, A_A is the atomic weight of A, Q_A is the ionization cross section of atom A in the specimen for the energy level of interest (K, L, M) and τ is the sample thickness.

By making the approximation that during the illumination, the sample thickness, absorption, fluorescence, density and the mean free path are relatively constant, the intensity of the characteristic x-ray line of element A can be correlated directly to the concentration of this element in the analyzed area. Of course, this is only an approximation since it is obvious that in this type of material, if the concentration of an element changes during illumination,

most of these parameters will be affected. However, it is very unlikely that these changes will be sufficient to exceed the effect of concentration on the signal intensity.

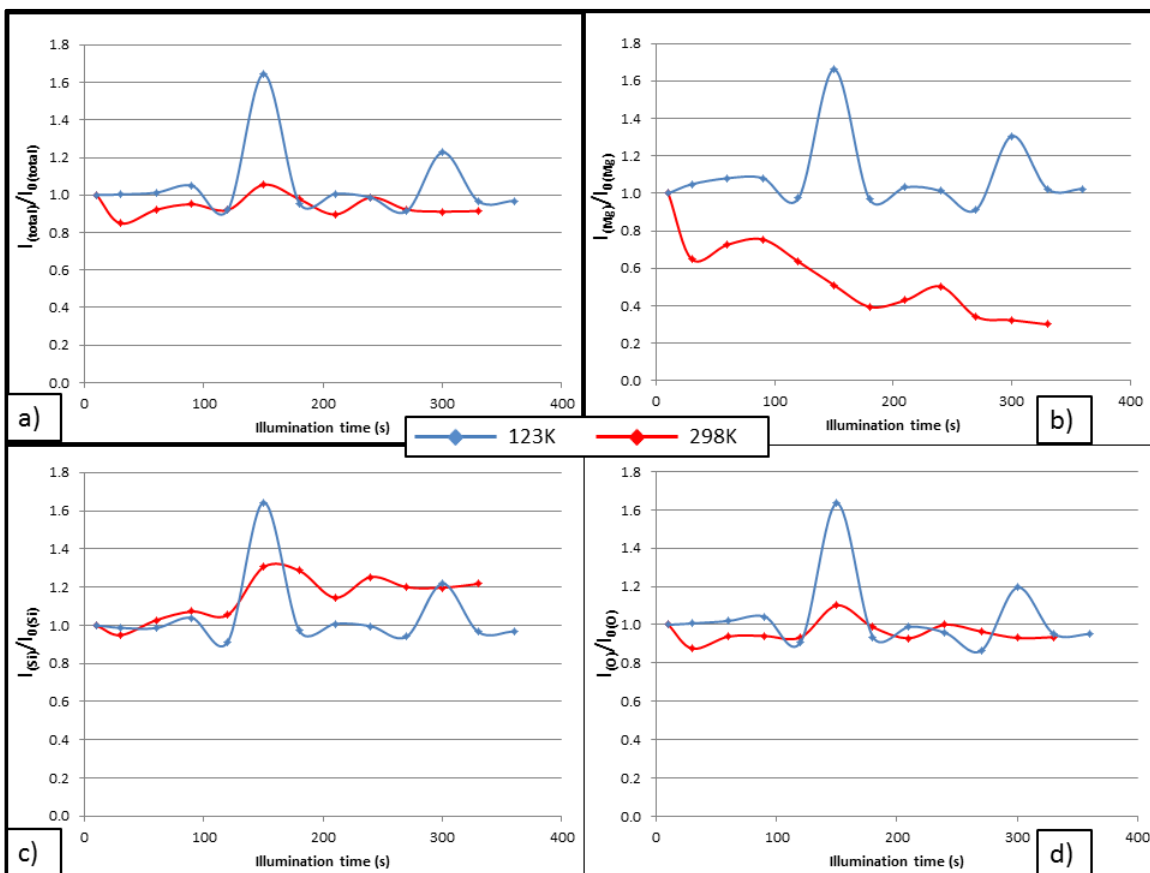


Figure 3.5. The EDS intensity ratio I/I_0 as a function of illumination time for a constant current density. a) Total intensity ratio (O K + Si K + Mg K + Fe K) b) magnesium intensity ratio c) silicon intensity ratio d) oxygen intensity ratio (4 nA beam current, 106 nm beam diameter).

The total intensity ratios are relatively constant for the two temperatures; it is possible to observe two larger intensity ratios in the curve of 123 K. For these two data points, it was not possible to identify the exact cause of this increase since the illuminated area remains the same throughout the analysis. For the 123 K curve, with the exception of these increases due to reasons that are still not clear but which are arbitrary, the behaviour of the curve remains unchanged throughout the analysis, either in the total intensity ratio or for the separate element. At room temperature however, a significant decrease of the Mg signal from its initial value is obvious, as well as an increase in the silicon signal. Since the total intensity remains relatively stable, it is unlikely that the thickness varied significantly during the analysis. The

oxygen signal also remains fairly stable and seems to follow exactly the same fluctuations of total intensity although it is not the major contributor to total intensity. Regarding the iron signal, although it was included in the calculation of total intensity, it is not presented because it is usually less than 5% of the total intensity and therefore has a large experimental error. Similar observations were made for two other anthophyllite asbestos fibers; it should be mentioned that for one of these two fibers, a slight decrease in the oxygen signal was observed. The other signals showed the same changes as in Figure 3.5.

3.3.4 Crystalline transition and elemental distribution after damage

The decrease in the Mg intensity ratio observed in Figure 3.5 was already suspected due to the previously observed decrease in the Mg/Si intensity ratio used to classify asbestos fibers. Since this decline can be reduced at lower temperatures (although the effects of damage reappear at room temperature), it seems logical to attribute the loss of magnesium to an ionization damage mechanism rather than a knock-on mechanism, especially when working with 100 kV accelerating voltage. Radiolysis is usually considered as the predominant radiolytic mechanism in insulating oxides. If the energy–momentum conversion were partly due to thermal vibration, it could explain the reduction of damage at low temperature but not the atomic diffusion observed when returned to room temperature. Indeed, if lowering the temperature prevented the transfer of energy into momentum, no mass loss would be observed. Since this type of damage mechanism has very often been attributed to the loss of crystallinity observed in silicates^{81,127,128}, tests were carried out to verify whether lowering the temperature also delayed the loss of crystallinity.

Table III-1. Comparison of the illumination time needed, at a current density of 45 A/cm², for complete fading of the diffraction pattern and for a significant drop in the Mg/Si intensity ratios as measured on three anthophyllite asbestos fibers.

Temperature (K)	Average time for complete fading of the diffraction pattern	Average time for significant drop of the Mg/Si ratio in EDS analysis
123	≈ 25 s	≈ 135 s*
298	≈ 23,3 s	≈ 70 s

*One of the three fibers analyzed at 123 K did not show a significant drop in the Mg/Si intensity ratio; the value is therefore the mean of only two measurements.

The measurements done on three different fibers show that lowering the temperature does not affect the average time needed for complete fading of the diffraction pattern, which happens significantly faster than any change in the elemental composition. The crystalline to amorphous transition in silicates initiated under an electron beam has been well studied and is usually attributed to radiolysis. The different distinct stages associated with defect formation and propagation have been described in detail in several studies^{88,100,129,130}. The disappearance of the diffraction pattern always precedes any mass loss and this is what we observed at both temperatures. Although crystalline transition is observed before mass loss, it does not necessarily mean that it occurs before it. Indeed, the disappearance of the crystallinity was observed on a surface of only a few square nanometers whereas the loss of mass, to be observable with EDS intensity ratios, must allow the diffusion of a significant quantity of atom, outside the illuminated zone, often several tens of nanometers.

There is no significant difference between the time measured for the fading of the diffraction pattern at 123 K and 298 K, although the mechanism of damage associated with this transition is usually thought to be temperature dependent. Several studies suggest that for lower temperatures to have a significant effect on the damage threshold dose, very low temperatures have to be reached, minimally below 100 K but ideally under 15 K^{106,107,111}. It is therefore possible that temperature dependent radiolysis is responsible for crystalline to amorphous transition, but that 123 K is not low enough to sufficiently slow down the processes of point defect production. Electric-field-driven cation diffusion was also identified as a possible mechanism responsible for this phase of the damage⁸⁷. The analytical techniques used in the current study do not allow the crystalline transition to be precisely followed because it occurs very rapidly. The crystallinity loss was timed using a Fourier transform of a high resolution image allowing the disappearance of the diffractogram to be related with the fading of the diffraction pattern frequently referred to in TEM damage studies.

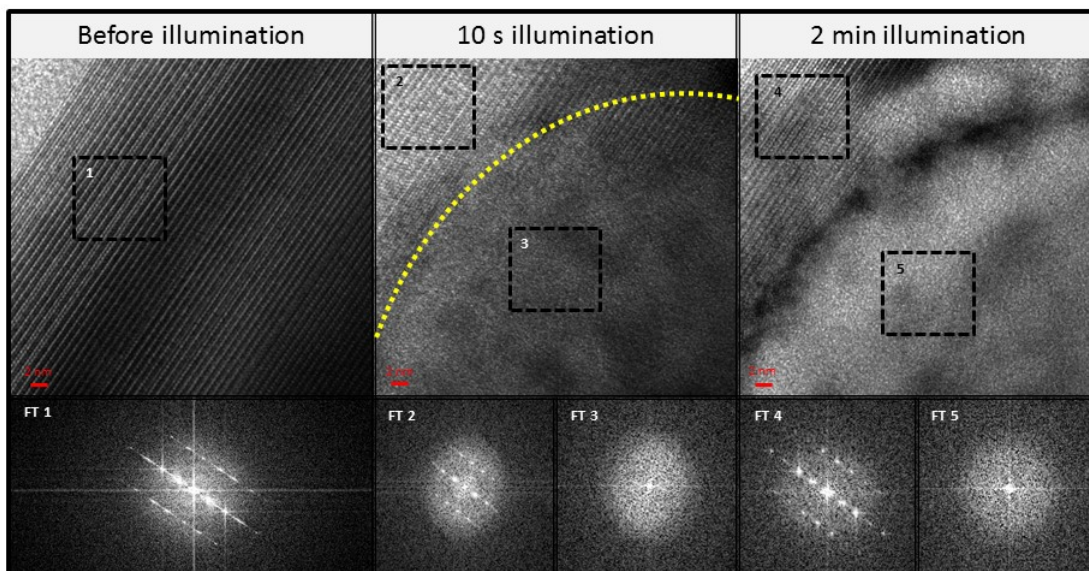


Figure 3.6. High resolution TEM image of an anthophyllite fiber and the corresponding Fourier transform, before convergent illumination, after 10 seconds illumination and after 2 minutes illumination with a current density of 45 A/cm^2 .

When the fiber is not damaged rapidly during imaging at high magnification, as in Figure 3.6, it is possible to observe the atomic planes of the crystal. The loss of crystallinity due to convergent illumination eliminates the crystal planes and this transformation is dose dependent since for a constant current density, the diffractogram fades as a function of the illumination time. To better understand how atoms diffuse into the sample during damage created by the electron beam, STEM-EDS profiles were made on a previously damaged area. Typical results are in Figure 3.7 based on the x-ray intensities of each principal atom individually and total x-ray intensity.

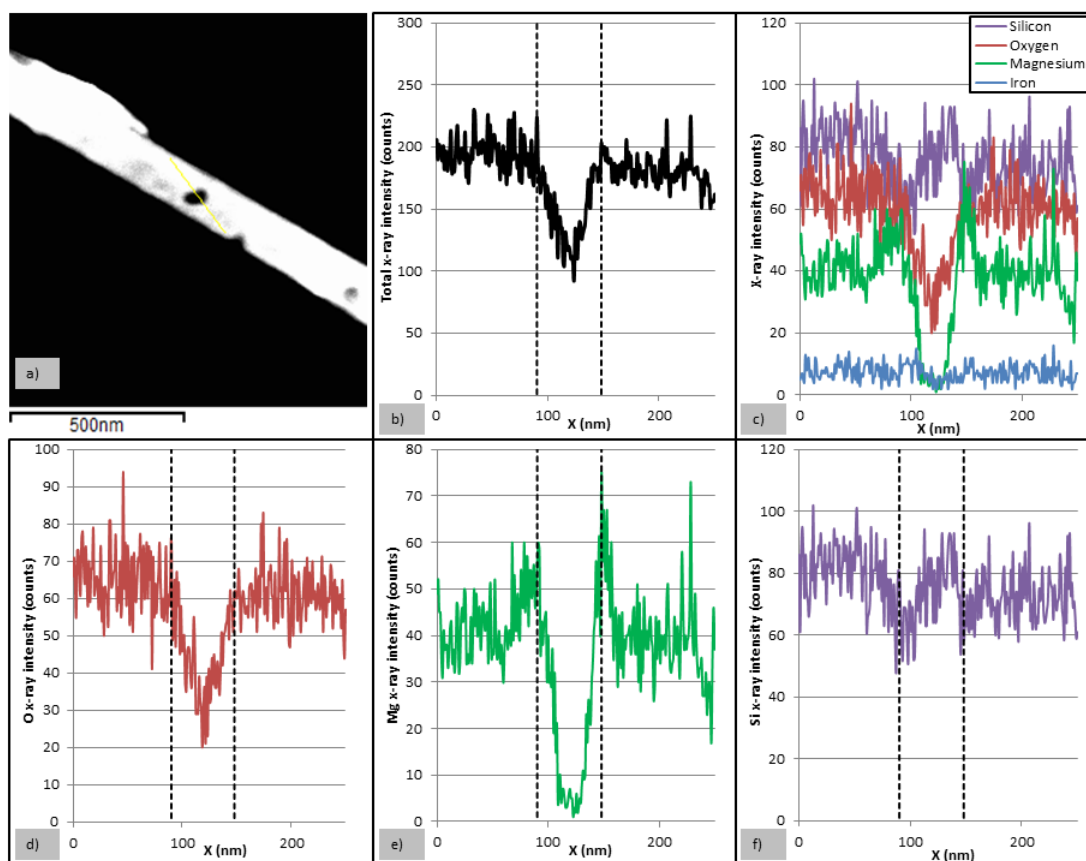


Figure 3.7. a) STEM image of an anthophyllite fiber with STEM profile indications over a previously irradiated area at 298K. b) Total x-ray intensity profile (OK+MgK+SiK+FeK). c) Si, O, Mg and Fe x-ray profile. d) Oxygen x-ray intensity profile. e) Magnesium x-ray intensity profile. f) Silicon x-ray intensity profile.

To minimize the possibility of the STEM profile altering the results by damaging the fiber, the conditions have been optimized in order to use a low current and a high scanning rate, thereby limiting the intensity of the EDS signal issued. The decrease in the total intensity of the x-rays in the damaged areas is the result of a possible reduction in thickness, as reported in previous studies^{89,95,126,131}. It is also possible that the area has undergone a significant density reduction as a result of a transformation of its composition and/or structure. Further tests are underway to determine which hypothesis is true. The trend of the EDS profiles of individual atoms is particularly interesting and helps to better define the process behind the damage mechanisms. As expected, the magnesium signal decreases drastically in the damaged area and increases slightly at the edge of the area, indicating that the diffusion is mainly limited to the illuminated area. A relatively large decrease in the oxygen signal is also

observed in the illuminated area. However, no increase is observed at the periphery. This variation in oxygen content was not observed for tests where the dose was increased for a constant current density as shown in Figure 3.5. Preliminary studies on similar materials evoke the formation of MgO nanoparticles as a result of damage, but there are no observations to support this hypothesis in this study. The loss of oxygen due to electron beam damage observed in most silicates is generally attributed to the formation of O₂ gas bubbles which ultimately coalesce and leave the sample. This phenomenon was explained as being caused by ionization and subsequent radiolysis^{97,119}, but it is also possible that the formation of these O₂ bubbles is due to the excess oxygen created by the electric-field-driven cation diffusion^{96,100}. The EDS x-ray profile of silicon is of particular importance for the investigation of damage mechanisms. The decrease in the concentration of certain atoms in the illuminated area was predictable, but in the case of silicon, a slight increase in Si intensity is observed. Moreover, this was also found in experiments with a growing electronic dose (Figure 3.5). For the concentration of silicon atoms to increase in the damaged region, despite the fact that the total amount of material in the area has decreased, a force of attraction must have caused these atoms to diffuse in the opposite direction of the diffusion of magnesium. Damage due to an induced electric field mechanism would be the most plausible explanation of the observed atomic motions. Damage in silicates is known to separate cations from the [SiO₄] network, forming amorphous SiO₂; once the cations are free of their bonds, they diffuse out of the illuminated region, creating an electric field that drive anions into the illuminated region. In addition to providing a better understanding of the magnesium diffusion and the increase of silicon, the induced-electric-field model can also explain the formation of O₂ gas bubbles in silicates. This mechanism is now regarded as possibly responsible for several observations previously attributed to radiolysis or knock-on. Recent publications describe it in full detail^{79,100,103}.

3.4. Conclusions

The objective of the study was to determine the effect of lowering the temperature of a sample of anthophyllite asbestos fibers, using liquid nitrogen, on the damage caused by the electron beam during TEM analysis. Using the Mg/Si x-ray intensity ratio as a damage

indicator, it was found that of the three temperatures investigated, only the lowest (123 K) showed a significant difference compared to damage at room temperature (298 K), indicating the existence of a relationship between the damage and the temperature as well as the non-proportionality of the latter. Thus, using a 123 K temperature, it was shown that lowering the temperature reduces the rate of damage, especially for current densities greater than 100 A/cm². The influence of the illumination time for a constant current density was also studied. Again, a reduction in the rate of damage was observed at lower temperature but, as for the current densities tested in Figure 3.2, a threshold was not identified. It is therefore impossible to say if the temperature has an effect on the latter. However, it is undeniable that the rate of damage is diminished at lower temperature. Results suggested that lowering the temperature decreased mass loss damage to anthophyllite fibers for comparable beam conditions. Additional tests, however, showed that only the diffusion due to the damage was reduced and not the damage strictly speaking. Mass loss occurs when the sample is brought back to room temperature. For the same current density, the electron doses (and by extension, the illumination time) required for complete fading of the diffractogram are the same for the two temperatures tested: 123 K and 298 K. Either the temperature does not influence the crystalline to amorphous transformation or the temperature was not low enough to have a visible impact on this type of damage. Analysis of the collected EDS signals both in STEM profiles and in TEM spot analysis with increasing dose have shown that a significant amount of magnesium is lost in the illuminated area due to damage, but also that a non-negligible amount of oxygen is lost as well. An increase in magnesium levels towards the edge of the illuminated area shows that magnesium is partially diffused out of the illuminated area, which is not the case for oxygen, which probably leaves the sample in the form of gas bubbles. This behaviour is typical of oxygen in silicates but must be confirmed because there is no clear evidence in this study of this hypothesis. Finally, an increase in silicon intensity in the damaged area strongly suggests significant implication of the damage mechanism by induced-electric-field model, implying that radiolysis is not the predominant mechanism involved in the damage to this sample, for the experimental conditions used in this study. Although the study has demonstrated that the damage mechanisms involved are mainly due to ionization and thus possibly influenced by temperature, the temperatures used for this study do not show that the damage is actually decreased. The only significant gain is a non-negligible one, when

working at 123 K, mass loss does not happen as long as the sample remains at this temperature, thus misidentification of anthophyllite asbestos fiber caused by a change in the x-ray intensity ratios is avoided. Most asbestos testing laboratories are not equipped with a cooling sample holder, however, the results of this study can help them better assess the uncertainties associated with the identification of asbestos fibers by EDS analysis. More data will be needed in order to quantify this uncertainty but initially, simply acknowledge this possibility constitutes an improvement in the application of this type of analysis.

3.5. Acknowledgments

The authors wish to thank Jean-Philippe Masse, Philippe Plamondon, both from the Center for Characterization and Microscopy of Materials, the (CM)² of École Polytechnique de Montréal and Annie Ouellet from the IRSST for technical support and useful discussion. Interesting discussions with Prof. R. F. Egerton of Alberta University were very helpful. The financial support of IRSST is also acknowledged.

Chapitre 4. Effet de la tension d'accélération sur l'endommagement des fibres d'amiante dû au faisceau du microscope électronique en transmission

Effect of accelerating voltage on beam damage of asbestos fibers in the transmission electron microscope (TEM)

Joannie Martin, Martin Beuparlant, Sébastien Sauvé and Gilles L'Espérance, *Micron* (2016), Soumis pour publication.

Note sur ma contribution

Ma participation aux travaux de recherche: J'ai conçu le design expérimental en collaboration avec le Prof. L'Espérance. J'ai réalisé les manipulations et l'analyse, l'interprétation des résultats a été faite avec l'aide du Prof. L'Espérance.

Rédaction : J'ai rédigé l'article en m'appuyant sur les commentaires et corrections des Prof. L'Espérance et Sauvé, mes directeurs de thèse.

Collaboration des coauteurs: Martin Beuparlant, Sébastien Sauvé, Gilles L'Espérance et moi avons contribué à établir les objectifs de l'étude.

Abstract

Transmission electron microscopy (TEM) is a powerful and efficient tool for the analysis of asbestos fibers. Although this analysis technique is common and several standard methods exist for asbestos analysis, questions remain about the optimal conditions to be used. Because asbestos fibers are relatively sensitive to the electron beam, it is important to better understand the phenomena of damage in order to avoid them. This study specifically investigates the effect of the acceleration voltage on damage to four different types of asbestos fibers: chrysotile, amosite, crocidolite and anthophyllite. The results support the conclusion that, contrary to what is usually recommended, it is best to use an acceleration voltage of 200 kV rather than 100 kV in order to avoid damage. The findings shed light on possible damage mechanisms, the most predominant of which seems to be caused by an induced electric field.

Keywords: Accelerating voltage, asbestos fibers, current density, damage mechanism.

4.1. Introduction

Several materials are sensitive to irradiation by an electron beam and subject to physical and chemical changes under such a beam. Silicates, both synthetic and natural, are materials known to be susceptible to electron beam damage^{80,85,95,97,132}. Although well studied, this sensitivity to the electron beam is not always well understood as it is quite complex. The difficulty is significant for several reasons; first, it is important to mention that many changes due to damage can be observed simultaneously and/or sequentially. The only indicators of such damage are the observable consequences, which should be used to determine their causes. The damage, in addition to being highly dependent on the nature of the sample, is also a function of the various experimental parameters and characteristics of the electron beam^{78,86}. It is important to consider that when the structure and/or sample composition are altered by damage, they vary throughout the analysis and this variation influences the relative importance of the different damage mechanisms, with the influence of the latter changing in time. Knowing that it can be difficult to accurately determine the presence of all the damage mechanisms and their relative importance, it remains very relevant to attempt to determine the damage mechanisms that may be dominant initially. Limiting the effectiveness of these mechanisms may decrease, or at least delay, the ensuing damage cascade and thereby increase the analysis time during which the sample is not significantly altered.

The sensitivity of some materials to electron beams is a problem encountered in different contexts, but it is particularly important in the context of analysis by transmission electron microscopy (TEM). This technique, using a high energy convergent electron beam, is typically used for high accuracy and detailed information, and it is critical to avoid altering the samples during the analysis. It is therefore important to try to minimize the effects of damage to obtain a representative analysis of the analyzed materials.

As part of this study, four different types of asbestos fibers were analyzed by TEM. This technique is being increasingly used for the analysis of asbestos fibers, as both fine and short fibers raise workplace health and safety issues. Given the significant implications of these analyses for legal aspects, labor protection measures or financial compensation, it is especially important to perform reliable and representative analyses and minimize the risk of

identification errors. The identification of asbestos fibers is partially based on the fiber's chemical composition and crystallography, but these two parameters can unfortunately be affected by the electron beam if damage occurs.

Several studies have led to better identification and understanding of the various transformations affecting silicates. Materials of this family are, however, numerous and different in many aspects, and conclusions vary for different studies^{81,84,100,122,124,126,127,133-137}. In the literature, the interactions responsible for the damage to the majority of materials are generally classified into two categories: elastic and inelastic scattering. The first describes interactions between electrons of the incident beam with atomic nuclei of the sample. Although these interactions are needed in order to obtain several useful TEM signals, they may also lead to damage to the sample by different mechanisms, such as atomic displacement, electron beam sputtering, etc. The different damage mechanisms resulting from these interactions are often grouped under the term “knock-on displacement processes.”

Inelastic interactions include interactions between the electrons of the incident beam and the electrons in the irradiated sample. When these interactions lead to ionization of the atoms of the sample, damage may occur, mainly by radiolysis or charging effect. These mechanisms are often designated as “ionization damage.”

The various parameters affecting the damage of asbestos fibers and the possible damage mechanisms in play were recently studied¹¹³. It appears that as for most silicates that have been studied, damage is mainly governed by mechanisms resulting from ionization due to inelastic scattering. One of the factors which greatly influence damage in this context is the accelerating voltage. This study attempts to determine the nature and extent of its influence on the damage to four different types of asbestos fibers: amosite, anthophyllite, crocidolite and chrysotile.

4.2. Experimental

All asbestos fibers used in this study are Union for International Cancer Control (UICC) standard reference samples Amosite ($[(\text{Mg},\text{Fe}^{2+})_7\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$) CAS 12172-73-5, also known as grunerite asbestos is from the Penge mine in Norther Province, South Africa,

anthophyllite ($[(\text{Mg,Fe})_7\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$) CAS 17068-78-9 is from the Paakkila mine in the Tuusniemi commune, Finland, crocidolite ($[\text{Na}_2\text{Fe}^{2+}_3\text{Fe}^{3+}_2\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2]_n$) is from the Koegas mine in South Africa and Chrysotile B ($\text{Mg}_3(\text{Si}_2\text{O}_5)(\text{OH})_4$) is sourced from eight different Canadian mines. For all four asbestos samples, a suspension was prepared by weighing a given amount of asbestos (6 mg of amosite for suspension A, 16 mg of anthophyllite for suspension B, 13 mg of crocidolite for suspension C and 3,5 mg of chrysotile for suspension D), which was added to 1 mL of ethanol (EtOH) high-performance liquid chromatography (HPLC) grade and filtered on a 0,45 μm polytetrafluoroethylene (PTFE) filter. Suspensions were sonicated for five minutes at room temperature. A single TEM grid was used for each suspension (200 mesh index carbon-coated copper grid), onto which 1 μl of the solution was deposited. The grid was left under negative pressure in a laboratory hood overnight for complete solvent evaporation.

All experiments were carried out using a field-emission JEOL2010TEMF, operated both at 100 kV and 200 kV in conventional TEM mode, equipped with an Oxford Inca X-sight model 6498 EDS Si-Li detector and a Gatan Ultrascan 1000 charge-coupled device (CCD) camera. A JEOL double tilt analytical holder (EM-31640) was used. The current was measured using readings on the phosphorescent screen and a pre-established calibration. The procedure for calibrating the phosphorescent screen using a sample holder equipped with a Faraday cup was described in a previous paper¹¹³.

Intensity ratios were calculated from the net intensities obtained after modeling the EDS spectra using our own processing software, which allows the background noise as well as each of the peaks to be modelled with a Gaussian distribution. The software also shows the result of the modeling on the screen, thus confirming its validity. Error bars on the intensities are presented using a confidence level of 95% on the intensity measurement.

The thickness quoted for the different fibers analyzed in this study is an approximation of the diameter of the fibers measured in the image, based on the assumption that all fibers are cylindrical.

Times reported for the disappearance of the diffraction pattern were timed manually using the image directly observed on the CCD camera. The same imaging conditions were used in all cases.

4.3. Results and discussion

As mentioned previously, one of the criteria for identification of asbestos fibers by electron microscopy uses the intensity ratios of elements obtained by energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS). When the morphological criteria of the object indicate a fiber, chemical analysis combined with crystallographic analysis is used to identify the nature of the fiber. Because of the speed and simplicity of the analysis (semi-quantitative), EDS analysis is done on each of the fibers found on a sample and is, in several standard methods, the basis for identification. A diffraction pattern must also be obtained for these analyzes, but since this is sometimes difficult to acquire and is longer and more complex to analyze, it is often done on only a small proportion of the detected fibers to reduce the time and cost.

Whether for chemical or crystallographic analysis, damage to the sample by the electron beam can significantly alter the results. Damage to certain materials in transmission electron microscopes is quite well known and documented in the literature. This is, however, not the case for asbestos. A recent study attempted to understand the damage phenomena observed and to determine the parameters governing it, but much work still needs to be done¹¹³. The most widely used standard methods only mention fiber damage in relation to controlling the electron dose in order to avoid destroying the crystallinity of the fiber; these methods also recommend not exceeding an acceleration voltage of 120 kV for the analysis of asbestos^{45,48,77,138}. This study mainly addresses this recommendation.

It has previously been observed that magnesium is significantly affected when asbestos is damaged by the electron beam. It is also not uncommon to observe for silicates, a significant migration of non-network cations, at the periphery of the illuminated region, ejected into the vacuum of the microscope or redistributed to other crystallographic sites in the illuminated area^{100,134}. These cations are directly involved in all of the silicate damage phenomena, and their concentration in the sample is directly related to the sensitivity of the silicates under the electron beam¹⁰⁰.

Four different types of asbestos were analyzed to observe the effect of the accelerating voltage on this damage. All types of asbestos are composed of silica tetrahedron-based structure separated by cation layers. Three amphibole (chain silicates), amosite, crocidolite and anthophyllite, were analyzed, as well as a serpentine (sheet silicate), chrysotile. In these four materials, cations are present and can be analyzed by EDS to follow their evolution during illumination. For each type of asbestos, the magnesium/silicon intensity ratio (Mg/Si) was measured; for crocidolite, since magnesium is only present in a very small amount, sodium was also measured (Na/Si). Figure 4.1 shows the Mg/Si and Na/Si intensity ratios measured for different asbestos fibers at 100 kV and at 200 kV, using a current density below 30 A/cm^2 .

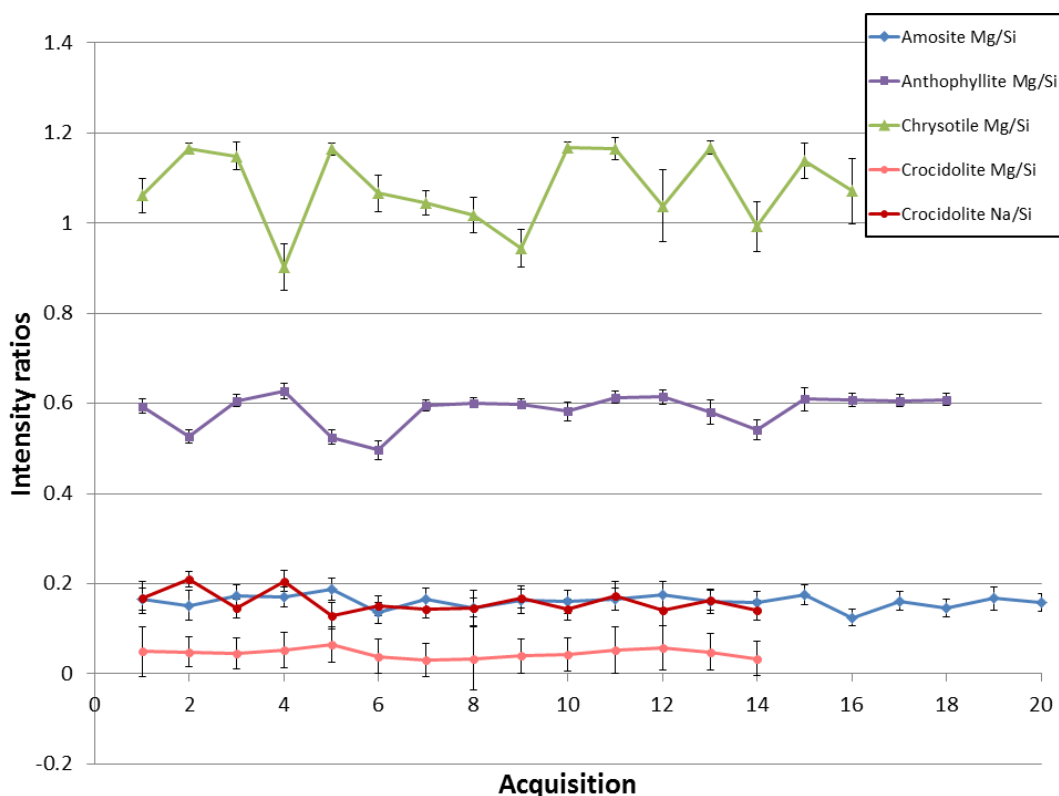


Figure 4.1. The Mg/Si intensity ratios of the four types of asbestos analyzed: chrysotile, amosite, anthophyllite and crocidolite, and the Na/Si intensity ratio of crocidolite, measured by EDS on different fibers at acceleration voltages of 100 kV and 200 kV. The current densities were between 4 and 30 A/cm^2 .

The intensity ratios measured for the different types of asbestos and shown in Figure 4.1 show that when there is little or no damage, the Mg/Si and Na/Si ratios are quite stable for different fibers of the same type of asbestos.

Larger variations are observed for some chrysotile fibers and the lowest Mg/Si intensity ratios were measured on very fine fibers (25 nm, 40 nm and 56 nm). In order to illuminate them with a low current density while using a current comparable to the one used for the other fibers, larger beam sizes are needed. The x-ray signal from the fiber is lower, increasing experimental error; it is also possible that the damage is already in progress when these fibers are initially measured. For all these reasons, damage is observed here with a percentage of the initial ratio rather than a given intensity ratio threshold value.

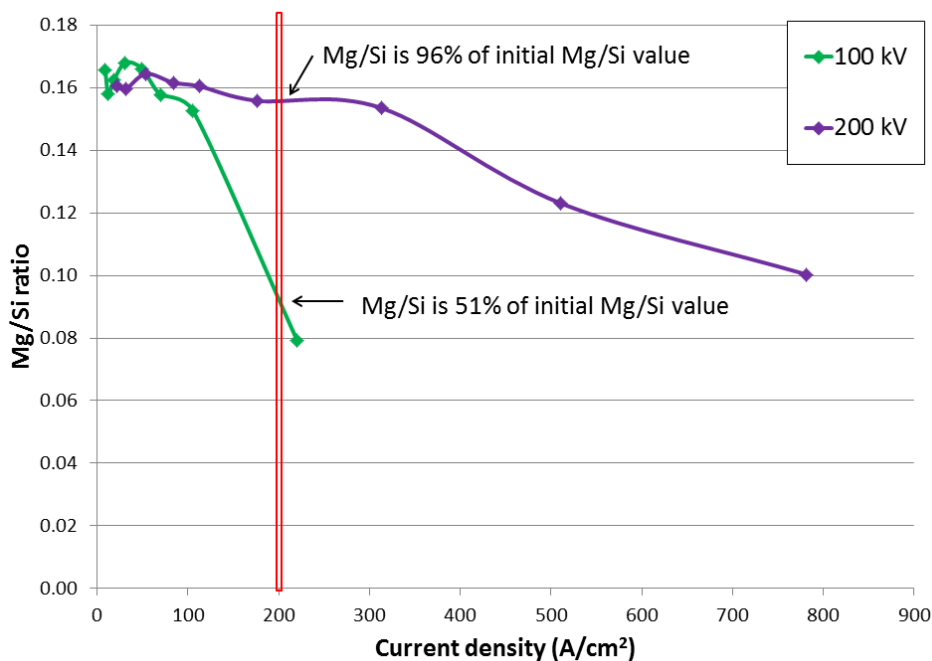


Figure 4.2. Comparison of the Mg/Si intensity ratio for a 225 nm diameter amosite fiber, at a 200 A/cm² current density and acceleration voltages of 100 kV and 200 kV.

Figure 4.2 illustrates how the effect of the acceleration voltage on the damage was studied using the Mg/Si and Na/Si intensity ratios obtained by EDS analysis. Since four types of asbestos were studied, and for each type, several fibers were analyzed, a large amount of results was generated. In order to correlate the results obtained for the different fibers and the

four types of asbestos without overburdening the text, the value of the ratio was observed for a single current density.

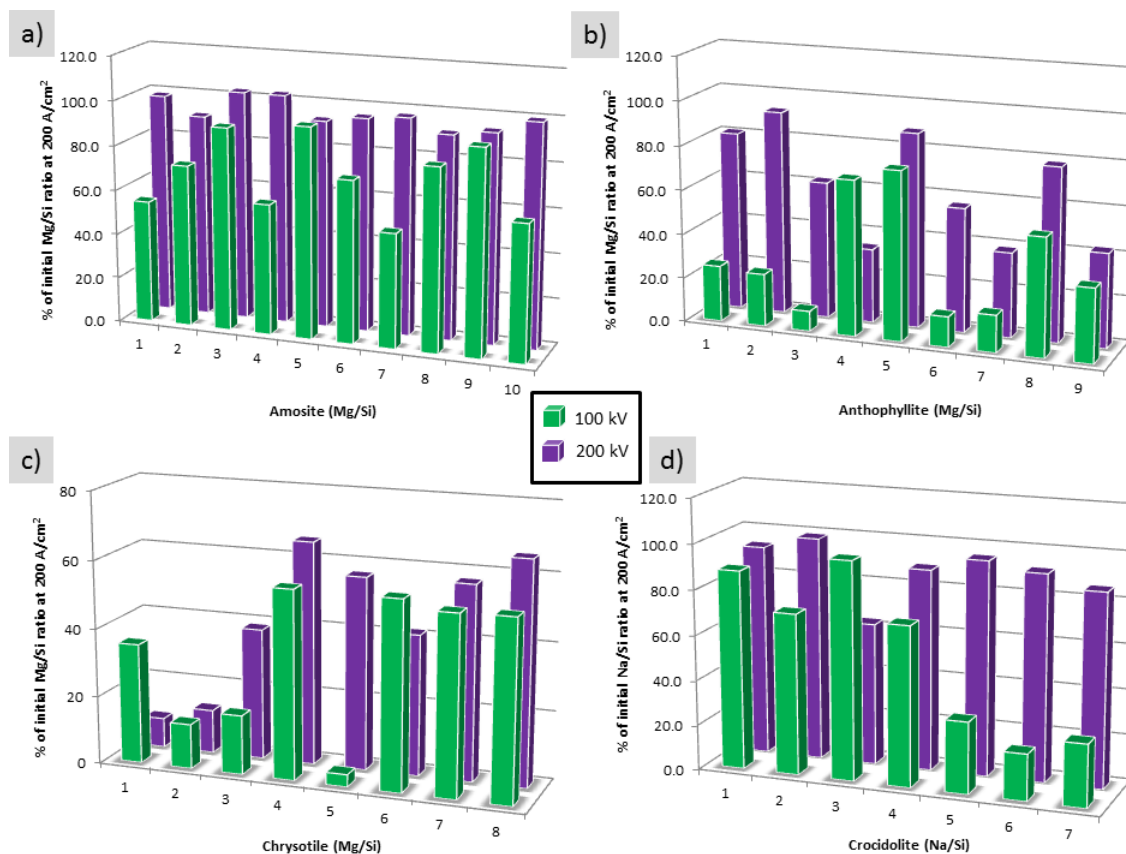


Figure 4.3. Comparison of the percentage of the initial Mg/Si or Na/Si intensity ratios for: a) 10 amosite fibers b) 9 anthophyllite fibers c) 8 chrysotile fibers d) 7 crocidolite fibers, all measured at a 200 A/cm² current density for acceleration voltages of 100 kV and 200 kV.

Since most standard methods for asbestos analysis by TEM limit the acceleration voltage to 120 kV, it is surprising that for the vast majority of fibers of all types, damage causing cation depletion (magnesium and sodium) is greater at 100 kV than at 200 kV for the same current density (200 A/cm²). In fact, for 28 of 34 fibers analyzed in total, the Mg/Si and Na/Si ratios undergo a considerably less significant drop when an accelerating voltage of 200 kV is used.

This observation is important for many reasons. Obviously, it questions the relevance of working with an accelerating voltage of less than 120 kV for the analysis of asbestos. If, as

the results of this study indicate, damage to asbestos fibers by the electron beam is less significant for an acceleration voltage of 200 kV, it could be very useful to use this acceleration voltage for analysis in certain situations. Using a higher accelerating voltage improves several aspects of the analysis, including brightness of the beam, spatial resolution and penetration of electrons. The electron diffraction patterns are generally more easily acquired at 200 kV, especially for thick fibers. Although contrast is more important for lower electron energy, it is sometimes better to compromise on contrast to optimize the proportion of transmitted electrons.

Besides increasing the performance of asbestos analysis by TEM and reducing identification errors due to damage, the results obtained also provides insight into some aspects of the damage mechanisms occurring.

The accelerating voltage has an impact on both types of radiation damage described previously. Ionization effects usually predominate at accelerating voltages below the atomic displacement threshold and direct collision between the electron beam and the sample atoms are predominant above it. These characteristic threshold energies have been calculated for different atoms in many materials and are well documented in the literature^{62,82,84,139}. Although ionization is usually regarded as predominant for silicates^{81,127}, knock-on damage is still considered since the accelerating voltage is high and elements present in the sample are of relatively low atomic numbers^{128,140,141}. The relative importance of these two types of radiation damage varies according to several experimental parameters of the beam and the sample (electron energy, beam current, chemical composition and bonding, etc.). Various studies on silicates found the occurring damage to be either radiolytic or knock-on, and more and more frequently a combination of both^{84,86,113}. The results obtained by increasing the acceleration voltage show that knock-on damage processes are not prominent mechanisms in asbestos fibers for the experimental conditions we used. Knock-on damage undoubtedly increased significantly when the electron energy doubled, but without affecting a sizeable enough proportion of the damage to have a noticeable effect on the overall outcome measured. It becomes obvious that the damage in this study is mainly determined by mechanisms resulting from ionization processes such as radiolysis and charging effects. In the case of ionization damage, unlike knock-on damage, the cross section for inelastic scattering varies inversely

with the beam energy and therefore the damage cross section is higher at low incident energies.

Based on the results of this study, it is difficult to determine whether the dominant damage mechanism is a radiolytic process in which the production of radicals induces breakage of chemical bonds or if ionization creates an electric field that would eventually cause the damage. Although charging effects are often mentioned as partly responsible for the damage in insulating materials like silicates^{79,126}, most studies attribute the observed damage to radiolytic mechanisms. Recent studies show that most of the damage caused to silicates by the TEM beam can be explained by a single model: damage by induced electric field (DIEF)^{100,103}. This fairly complex model, which is well explained in other papers, consists mainly of the creation of an electric field in the sample due to the accumulation of charges in the illuminated region. The ejection of Auger electrons and secondary electrons, following the excitation of the atomic electrons of the sample, produces holes in the valence band which cannot be neutralized fast enough in the insulating material, thus leading to an accumulation of positive charges^{79,100}. Under the influence of this electric field, the O-metal bonds are polarized, and when the field becomes sufficiently large, these polarized bonds can break and several types of ion displacement can then occur.

A previous study on damage to asbestos fibers by the TEM electron beam showed behaviours that point to the DIEF model more than to any other damage mechanism¹¹³. It has, for example, been shown that the damage is mainly dependent on the current density, which is more consistent with the DIEF model than with radiolytic mechanisms. It has also been shown that the beam current affects the damage rate when the threshold current density is exceeded; the exact relationship, however, has not been clearly established. Since the current has a direct effect on the electric field, it is very possible that the observed effect comes from this dependence. Finally, previous chemical analyses in STEM profiles through damaged areas on anthophyllite¹¹³, and more recently on chrysotile (see Figure 4.4), show that the observed atomic displacements are also compatible with the DIEF model. Indeed, it seems that the metal cations (here magnesium) are expelled from the illuminated area and found in larger quantities at the periphery.

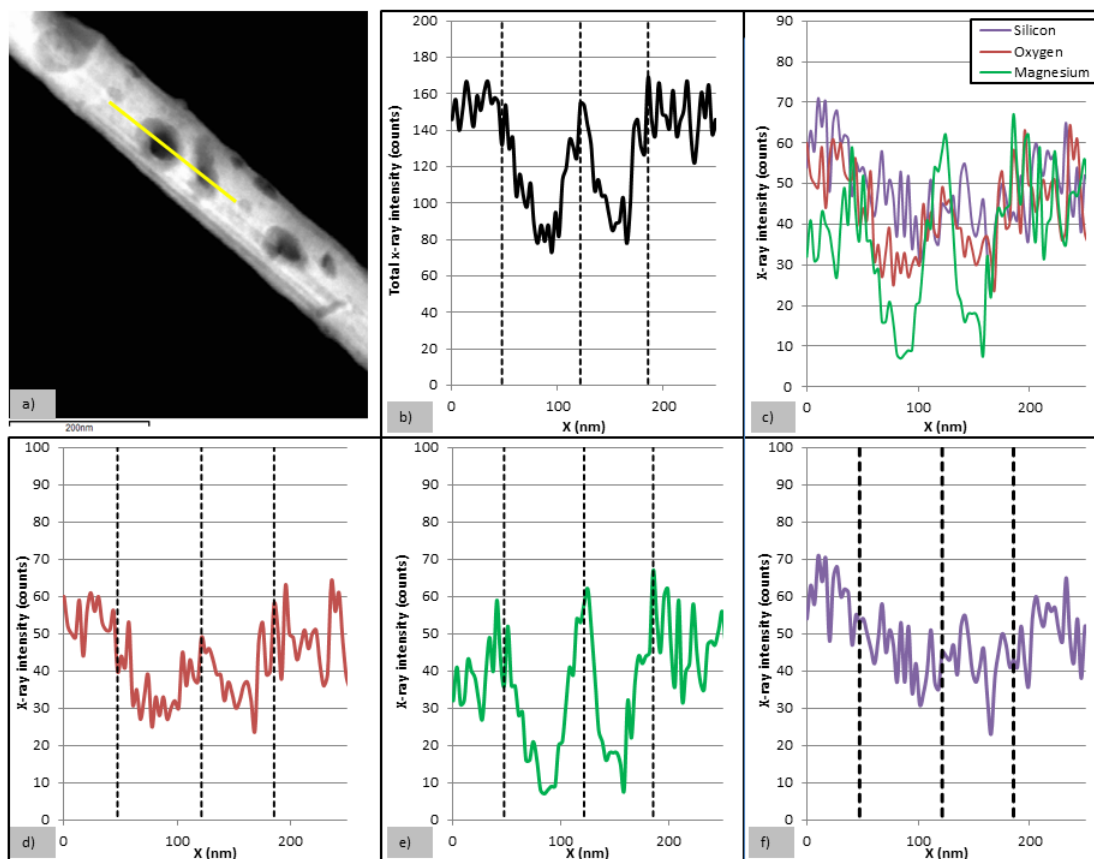


Figure 4.4. STEM profile of x-ray intensity. a) STEM profile over a previously irradiated area. b) Total x-ray intensity profile (OK+MgK+SiK+FeK). c) Si, O, Mg and Fe x-ray profile. d) Oxygen x-ray intensity profile. e) Magnesium x-ray intensity profile. f) Silicon x-ray intensity profile.

It seems that oxygen also decreases significantly in the illuminated areas, but unlike magnesium, it does not seem to accumulate at the periphery. The oxygen signal in the vicinity of the craters is not significantly larger than further away from the area. It is more likely that the O-O defects created by the depletion of cations in the area create O_2 , in the form of gas, which leaves the sample for the microscope vacuum. Regarding silicon, although a moderately large decrease in intensity may be observed in the illuminated areas, it is difficult to comment on this behaviour in the vicinity of such areas since the signal is more or less stable. While it is clear that a non-negligible quantity of both silicon and oxygen remains in the illuminated areas, both apparently decreased in concentration. Further experiments are needed to confirm the different atomic processes. With chrysotile fibers, however, which are thin and sensitive to the electron beam, it is difficult to achieve results in STEM-EDS using a sufficiently small

beam to avoid damaging the fiber during the profile analysis while obtaining an adequate EDS signal.

In order to verify the relationship between the damage and the thickness of the fibers, all the results of intensity ratios obtained at 200 A/cm^2 , for each of the analyzed fibers of all asbestos types, were used to construct a graph based on their respective diameters. The results are shown in Figure 4.5. The fiber diameter, measured on the image, is used as an approximation of the thickness. Figure 4.5a) shows clearly that a correlation between the degree of damage to the fibers and their diameter is not observed, as indicated by the intensity ratio Mg/Si. At both accelerating voltages tested, increasing the diameter of the fibers, and therefore their thickness, does not reduce the observed damage as predicted by the DIEF model¹⁰³. Figure 4.5b) indicates that the effect of the acceleration voltage on the damage is also independent of the fiber diameter. It is therefore very likely that a substantial component of the damage is independent of the sample thickness, at least in the range of observed thicknesses.

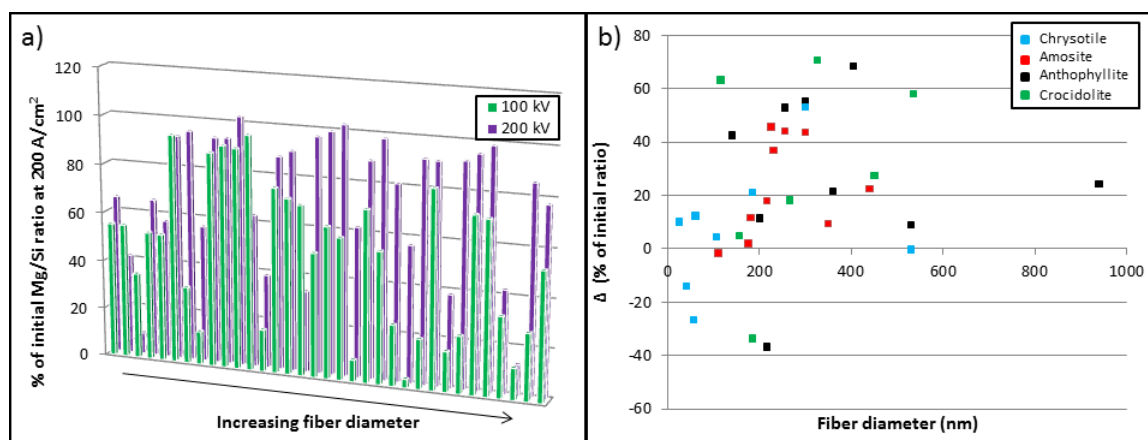


Figure 4.5. a) Mg/Si intensity ratios measured by EDS at a current density of 200 A/cm^2 , expressed in percentage of the initial ratio, as a function of increasing fiber diameter, at 100 kV and 200 kV. b) The difference between the Mg/Si intensity ratios (measured at 200 A/cm^2) at 200 kV and 100 kV as a function of fiber diameter.

Figure 4.3 compares the intensity ratio at both accelerating voltages, for each of the analyzed fibers of all four asbestos types analyzed. In some cases, the gain obtained by increasing the acceleration voltage is less significant than for others. By separating the results by type of asbestos, as presented in Figure 4.3, it can be seen that for amosite, anthophyllite and crocidolite, the damage is almost always more significant at a lower accelerating voltage,

while for chrysotile, larger variations are observed. Although five of the eight chrysotile fibers analyzed are less damaged at 200 kV than at 100 kV, it is important to try to understand why this proportion is lower than for the other three types of asbestos. Figure 4.6a) highlights the difference observed in the improvement of damage between chrysotile and the other three types of asbestos fibers. It is well known in the literature that chrysotile asbestos is the asbestos type most sensitive to damage caused by the beam⁷⁷, but the information is generally limited to metamictization (crystalline-to-amorphous transition). The latter is generally attributed to radiolysis and is therefore associated with electron dose thresholds for which a value is not given for asbestos. The results obtained in this study show that chrysotile is also the most sensitive to the beam with respect to the degradation of chemical composition due to the damage. It is very likely that, if the damage behind the strong decrease in magnesium (and sodium) in the illuminated region is mainly due to DIEF, the crystalline-to-amorphous transition will be directly involved. Indeed, these two observations should be almost simultaneous since, according to the DIEF model, it is the movement of cations that transforms the crystalline covalent network SiO_4 of silicates into amorphous SiO_2 in the illuminated region¹⁰⁰. Since of the four types of asbestos studied, chrysotile is the one that contains the largest concentration of cations, if DIEF is indeed the predominant mechanism, greater sensitivity to the electron beam would be expected to be observed for chrysotile.

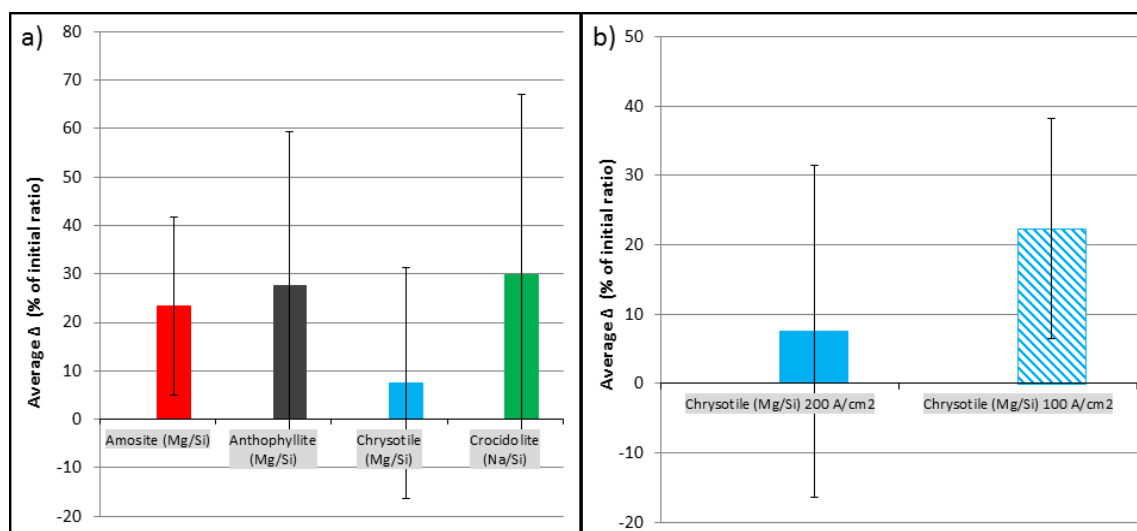


Figure 4.6. a) Average increase of the Mg/Si and Na/Si intensity ratios, obtained by increasing the accelerating voltage from 100 kV to 200 kV for the four types of asbestos at 200 A/cm². b) Average increase of the Mg/Si intensity ratios, obtained by increasing

the acceleration voltage from 100 kV to 200 kV, for chrysotile at 200 A/cm² and at 100 A/cm².

To confirm that the reduction of damage observed when the accelerating voltage is increased from 100 kV to 200 kV is equally advantageous for chrysotile as for the other three types of asbestos measured, the same analysis was conducted, but this time with a lower current density of 100 A/cm². The increase in the Mg/Si intensity ratio measured at the two accelerating voltages is shown in Figure 4.6b). If a current density for which less damage is observed is used, the Mg/Si intensity ratio measured can be increased by over 22% using an acceleration voltage of 200 kV rather than 100 kV. This increase was less than 7% for a current density of 200 A/cm²; it is quite possible that at this current density, the chrysotile damage is already too advanced for the acceleration voltage to have a significant effect on it. The other three types of asbestos, stronger by their amphibole chain structure and less sensitive to the beam due to a lower concentration of cations, all exhibit an increase in the measured intensity ratio of between 20% and 30% for a current density of 200 A/cm².

4.4. Conclusion

Experiments conducted in this study on four different types of asbestos allowed the optimization of certain experimental conditions for TEM analysis. For the three amphibole asbestos analyzed, a significant reduction in the damage, as measured by the Mg/Si and Na/Si intensity ratios, was observed when an accelerating voltage of 200 kV was used compared to 100 kV. For amosite, anthophyllite and crocidolite, increases in the intensity ratios of 23%, 27% and 30%, respectively, were obtained. For serpentine asbestos (chrysotile), a lower improvement of 7% in the Mg/Si intensity ratio was observed using the same current density as for the other asbestos types (200 A/cm²); this increase, however, jumps to 22% when a lower current density (100 A/cm²) is used. These results indicate that the predominant damage mechanism is the result of ionization processes. Although knock-on processes cannot be completely excluded from the whole damage process if they were predominant, damage should be more significant for a larger accelerating voltage. The atomic movements resulting from the damage were observed by EDS-STEM profile on damaged areas of a chrysotile fiber. The final distribution of magnesium suggests that charging effects could be the predominant

mechanism, as suggested by the DIEF model. Further tests, including on metamictization, could help corroborate these assumptions.

These results indicate that with regard to damage to asbestos fibers by TEM, it is preferable to use an accelerating voltage of 200 kV rather than 100 kV. If contrast is not an issue, working at this accelerating voltage presents multiple advantages, including greater brightness, higher spatial resolution and increased transparency for electron diffraction pattern acquisition.

4.5. Acknowledgements

The authors wish to thank Jean-Philippe Masse from the Center for Characterization and Microscopy of Materials, the (CM)², Annie Ouellet from the IRSST, and the staff from JEOL for technical support and useful discussion.

Chapitre 5. Conclusion

5.1 Conclusions générales

L'amiante est un minéral qui a été impliqué dans une multitude de procédés industriels au cours du siècle dernier. Sa nature fibreuse et ses nombreuses propriétés thermiques et mécaniques lui confèrent des avantages importants pour plusieurs applications. Il a ainsi connu un essor important dans la deuxième moitié du vingtième siècle et se retrouve maintenant dans la plupart des constructions datant de cette époque, que ce soit dans les matériaux de construction ou dans l'isolation thermique et électrique des bâtiments résidentiels et commerciaux ou dans les infrastructures de plus grande envergure telles que les routes et les ponts. À cette présence importante, il faut ajouter la possibilité de le retrouver à l'état naturel, comme contaminant d'un autre minéral dont l'exploitation minière est toujours en vigueur.

Puisqu'il est maintenant connu que les fibres d'amiante aéroportées constituent un risque important pour la santé dont les conséquences varient de la fibrose pulmonaire au cancer du poumon ou du mésothéliome. Les répercussions d'une importante exposition (aiguë ou prolongée) aux fibres d'amiante sont irréversibles. La médecine étant maintenant au fait de ces implications, la majorité des pays industrialisés ont maintenant complètement banni l'amiante par des législations sévères. Il existe toutefois encore une grande possibilité de contextes où certains travailleurs (dans certains cas, des populations complètes) peuvent être exposés à l'amiante dans des concentrations assez importantes pour constituer un risque à la santé. Ces contextes concernent en grande partie les travailleurs de la construction, dans plusieurs secteurs, mais la problématique a aussi été remarquée dans les bâtiments scolaires, dans des navires de l'armée et dans des villages avoisinants des mines.

La pertinence de l'analyse de l'amiante reste encore et restera probablement pour un certain temps encore d'actualité. Maintenant que plusieurs réglementations sont en vigueur, des méthodes d'analyse adéquates sont nécessaires pour permettre leur application. Ces règlements concernent l'amiante dans différents médias, les plus fréquents sont l'air et les matériaux en vrac, mais les analyses dans l'eau et dans les tissus pulmonaires sont aussi

fréquentes. Dans tous les cas, la technique de microscopie électronique s'avère un outil utile pour l'application des différentes normes. Les techniques d'analyse les plus courantes utilisent la microscopie optique. Il est maintenant démontré que ces techniques, bien qu'utiles comme indicateur de risque, ne permettent ni l'identification précise de l'amiante ni sa quantification, en plus d'être limité en termes de résolution. Lorsqu'une analyse précise et détaillée est nécessaire pour un échantillon contenant de l'amiante, la microscopie électronique est incontournable. Plusieurs méthodes standards internationales sont utilisées et reconnues, elles recommandent généralement la microscopie électronique en transmission, mais certaines existent aussi pour la microscopie électronique à balayage^{71,142}.

L'application telle quelle de ces méthodes est bien sûr possible, c'est d'ailleurs ce que la majorité des laboratoires d'analyse font. Il a été prouvé qu'encore une fois, plusieurs erreurs d'identification peuvent se produire, malgré la profondeur possible de ces analyses. En plus de la possibilité d'erreur, une autre difficulté se situe dans la définition du terme « amiante » et son interprétation. Les différentes définitions possibles comportent dans certains cas des nuances très subtiles et pour pouvoir arrimer les analyses à ces définitions, une bonne compréhension de la technique et des résultats générés est primordiale.

En tenant compte de ces problématiques, une étude systématique de l'effet des différents paramètres expérimentaux ajustables au microscope électronique en transmission a été effectuée. L'une des conséquences importantes observées, lors d'un mauvais ajustement de ces paramètres, est l'endommagement des fibres d'amiante par le faisceau électronique. Cet endommagement affecte les fibres à différents niveaux, une transformation de l'état cristallin à amorphe est fréquemment observée, ce qui fait perdre toute l'information cristallographique en ce point. L'autre conséquence notable de l'endommagement est une modification de la composition chimique. Dans les deux cas, ce sont des informations nécessaires à l'identification qui sont perdues ou modifiées, et qui par le fait même peuvent facilement mener à une identification erronée. Cette source d'erreur a donc été au centre de la présente étude et une investigation systématique des effets des différents paramètres sur l'endommagement des fibres d'amiante a été exécutée. L'emphase a été mise sur la modification de la composition chimique observée et sur les possibles mécanismes d'endommagement.

Dans un premier temps, l'effet de la densité de courant, de la dose électronique, de la taille du faisceau et du courant de faisceau a été approfondi. Pour ce faire, onze fibres d'amiante amosite ont été analysées par EDS afin de vérifier l'homogénéité de la composition chimique au sein d'une même fibre ainsi que sur différentes fibres. Il a été démontré, suite à l'analyse de quinze différentes fibres, que le facteur prédominant pour l'endommagement est la densité de courant. Une valeur seuil, sous laquelle il n'y a pas de changement de composition, a été identifiée pour chacune des fibres, cette valeur varie toutefois d'une fibre à l'autre et n'est donc pas fixe. Il est commun de considérer que la sensibilité des matériaux à l'endommagement par le faisceau électronique est fonction de la dose électronique. Ce paramètre ayant aussi été étudié, il a été déterminé que bien que la dose électronique ait effectivement une influence sur l'endommagement des fibres d'amiante, elle n'a d'impact que lorsque la densité de courant a excédé la valeur seuil mentionnée précédemment. La même observation a été constatée pour l'effet du courant de faisceau. L'augmentation de ces paramètres (dose électronique et courant de faisceau) permet d'accélérer le taux d'endommagement lorsque ce dernier est amorcé. Les conséquences sont facilement observables pour des densités de courant excédant 100 A/cm^2 . Sous la valeur seuil de densité de courant, il n'y a pas d'effet observé sur la composition chimique tel que déterminée par EDS. Ces nouvelles informations ont permis d'importants éclaircissements concernant les mécanismes d'endommagement possiblement présents en plus de permettre l'établissement de conditions expérimentales permettant d'éviter l'endommagement des fibres d'amiante pendant l'analyse par MET. De façon générale, pour être certain de n'affecter aucune fibre, une densité de courant de 60 A/cm^2 ne doit pas être excédée, ainsi le temps d'exposition peut être assez long et le courant peut aussi être varié. Pour des temps d'exposition ou des courants de faisceau très élevés, les conditions à utiliser pour éviter l'endommagement peuvent être déterminées à l'aide du graphique présenté au chapitre 2.

La deuxième étape de ce travail a consisté en l'étude de l'effet de l'abaissement de la température de l'échantillon sur l'endommagement. Pour cette partie, des fibres d'amiante anthophyllite, dont l'homogénéité de la composition chimique a préalablement été vérifiée, ont été utilisées. Un porte-échantillon cryogénique refroidi à l'azote liquide a été employé. Trois températures différentes ont été testées (223 K, 173 K et 123 K) afin de comparer

l'endommagement observé à celle obtenue dans les mêmes conditions à température pièce. Seule la température la plus basse testée a permis de voir une diminution reproductible des signes de l'endommagement affectant la composition chimique. Pour des densités de courant plus grandes que 100 A/cm^2 , il a été démontré que l'abaissement de la température à 123K permet de réduire significativement le taux d'endommagement. Dans un deuxième temps, il a été démontré que la perte de masse associée à l'endommagement a finalement lieu lors du retour de la fibre à la température pièce. L'abaissement de la température n'a donc pas un effet direct sur l'endommagement au niveau des bris de liaison atomique, mais plutôt sur la diffusion de ceux-ci. Son effet est donc temporaire, mais permet toutefois d'exécuter une analyse dont les résultats sont inaltérés pendant la durée de cette dernière. L'influence de la température sur la transition cristalline à amorphe n'a pas été observée. Une étude en profil STEM-EDS de zones endommagées a permis de déterminer que les atomes de magnésium dont la concentration diminue fortement se retrouvent en périphérie de la zone illuminée. Une diminution moins importante, de la concentration d'oxygène a aussi été constatée. Il a aussi pu être observé qu'en contrepartie, la concentration de silicium est augmentée. Ces observations permettent d'identifier l'un des mécanismes prédominants de l'endommagement comme étant gouverné par des effets de charge alors que cette possibilité est habituellement sous-estimée.

La dernière partie de cette étude visait l'évaluation des répercussions de la variation de la tension d'accélération au MET sur l'endommagement des fibres d'amiante en fonction de leur composition chimique. Bien qu'un seul paramètre soit investigué à cette étape, son effet a été testé sur quatre différents types d'amiante. C'est le seul paramètre expérimental dont les valeurs minimales et maximales sont stipulées dans les méthodes standards de l'analyse de l'amiante, ces dernières sont de 80 kV et de 120 kV. Les tests ont été faits pour des tensions d'accélération de 100 kV et de 200 kV, dans tous les cas une diminution significative de l'endommagement a été observée à 200 kV en comparaison de 100 kV. Pour l'amosite, l'anthophyllite et la crocidolite, des augmentations des ratios d'intensité de 23%, 27% et 30% respectivement, ont été obtenus. Pour l'amiante serpentine (chrysotile), une amélioration plus faible de 7% du rapport d'intensité Mg/Si a été observée en utilisant la même densité de courant que pour les autres types d'amiante (200 A/cm^2), cette augmentation a toutefois passée à 22% lorsqu'une densité de courant inférieure (100 A/cm^2) est utilisée. Ces résultats ont

permis de déterminer que l'endommagement observé ne provient pas de collisions électrons-noyau. Combinés à ceux obtenus à la deuxième étape, ces résultats indiquent que le mécanisme d'endommagement prédominant suit probablement le modèle de l'endommagement par un champ électrique induit (DIEF). Il est aussi clairement établi que les tensions d'accélération stipulées dans les méthodes standards ne sont pas optimales et gagneraient à être augmentées.

De façon générale, l'endommagement des fibres d'amiante par le faisceau électronique du MET a été étudié, son mécanisme d'action prédominant a été établi et les conditions expérimentales pour éviter cet endommagement ont été déterminées. De plus amples expériences sont nécessaires pour pouvoir appliquer les conditions optimisées aux méthodes d'analyses actuelles, néanmoins, ces travaux devraient être particulièrement utiles pour les laboratoires d'analyses d'amiante, qui peuvent maintenant avoir un meilleur contrôle sur les conditions expérimentales qu'ils utilisent ainsi que sur les probabilités d'erreur de leurs analyses. L'étude des mécanismes d'endommagement est particulièrement instructive et ouvre de nouvelles possibilités quant aux conditions qui devraient être stipulées dans les méthodes standards. Cette étude a permis d'apporter des améliorations et dans certains cas, des changements, aux méthodes d'analyses de l'amiante par MET qui pourront ultérieurement être validés pour l'application aux méthodes standards.

5.2 Perspectives

Plusieurs problématiques concernant l'analyse des fibres d'amiante par microscopie électronique en transmission ont été abordées dans le cadre de ce projet. Il y a toutefois encore beaucoup de travail possible afin de rendre cette technique d'analyse plus efficace dans le contexte de l'amiante. Les enjeux concernant l'analyse de l'amiante sont toujours au cœur de certains débats et de plus en plus de fibres minérales inorganiques attirent l'attention des toxicologues. Les possibilités offertes par la technologie de la microscopie électronique, en constante évolution, permettent une précision dans l'analyse qui n'était autrefois pas exigée. Afin de pouvoir fournir des résultats fiables, en incluant les différences subtiles présentées par les fragments de clivage et les fibres minérales similaires, la technique se doit d'être optimisée. Les deux difficultés principalement rencontrées sont la complexité de l'analyse et

son coût élevé. Il est important d'identifier les sources d'erreur possible et de les réduire au maximum. L'une de ces sources d'erreur provient de la difficulté d'appliquer l'analyse cristallographique à des matériaux présentant une symétrie si basse. Il est difficile d'obtenir des clichés de diffraction dont les éléments sont propres exclusivement à l'amiante. Afin de réduire les erreurs potentielles associées à cette difficulté, des logiciels d'indexation peuvent être créés et utilisés en complément de l'analyse chimique pour faire une identification précise. Les conditions utilisées pour réduire l'endommagement peuvent permettre une étude cristallographique plus poussée sur certaines fibres puisque le temps d'exposition peut être allongé et la taille de faisceau diminué.

Les coûts d'analyse pourront aussi éventuellement être considérablement abaissés si l'adaptation d'un logiciel d'analyse d'image peut être conjuguée à une analyse par cartographique STEM. C'est une option qui a été considérée et pour laquelle le travail se poursuit. Même imparfaite, cette méthode pourrait permettre d'abaisser considérablement les coefficients de variation obtenus dans les méthodes de comptage conventionnelles.

Bibliographie

- 1 ISO. 10312: Air ambient -- Détermination des fibres d'amiante -- Méthode de microscopie électronique à transmission directe. (Organisation internationale de normalisation, Genève, 1995).
- 2 Strohmeier, B. R. *et al.* What is asbestos and why is it important? Challenges of defining and characterizing asbestos. *International Geology Review* **52**, 801-872, doi:10.1080/00206811003679836 (2010).
- 3 Cooke, W. E. Pulmonary Asbestosis. *Br Med J*, 1024 (1927).
- 4 De Launay, F. *L'amiante*. (Médiamonde, 1997).
- 5 Orbigny, C. & Gente, A. *Géologie appliquée aux arts et à l'agriculture, comprenant l'ensemble des révolutions du globe*. (A. Gente, 1851).
- 6 Hajdú, P. *Les peuples ouraliens: leur culture, leurs traditions*. (Corvina, 1980).
- 7 Ross, M. & Nolan, R. P. History of asbestos discovery and use and asbestos-related disease in context with the occurrence of asbestos within ophiolite complexes. (Geological Society of America 2003).
- 8 Maines, R. *Asbestos and Fire: Technological Tradeoffs and the Body at Risk*. (Rutgers University Press, 2013).
- 9 Alleman, J. E. & Mossman, B. T. in *Scientific American* Vol. 227 70-75 (1997).
- 10 Stellman, J. M. & Dufresne, C. *Encyclopédie de sécurité et de santé au travail*. (Bureau international du travail, 2000).
- 11 Skinner, H. C. W., Ross, M. & Frondel, C. *Asbestos and Other Fibrous Materials : Mineralogy, Crystal Chemistry, and Health Effects: Mineralogy, Crystal Chemistry, and Health Effects*. (Oxford University Press, USA, 1988).
- 12 Béland, J. & Bergeron, R. Esquisse géologique du Québec méridional. *Cahiers de géographie du Québec* **3**, 131-138, doi:10.7202/020172ar (1959).
- 13 Kirby, S. H., Wang, K. & Brocher, T. M. A large mantle water source for the northern San Andreas fault system: a ghost of subduction past. *Earth, Planets and Space* **66**, 1-18, doi:10.1186/1880-5981-66-67 (2014).

- 14 Andreani, M. *Les microstructures de déformation des serpentines et la partition sismique-asismique: exemple de la Californie*. Ph.D thesis, Université Joseph-Fourier, (2003).
- 15 Yada, K. Study of microstructure of chrysotile asbestos by high-resolution electron microscopy. *Acta Crystallographica Section A* **27**, 659-664, doi:doi:10.1107/S0567739471001402 (1971).
- 16 Whittaker, E. The structure of chrysotile. V. Diffuse reflexions and fibre texture. *Acta Crystallographica* **10**, 149-156, doi:doi:10.1107/S0365110X57000511 (1957).
- 17 Fubini, B. & Otero Arean, C. Chemical aspects of the toxicity of inhaled mineral dusts. *Chemical Society Reviews* **28**, 373-381, doi:10.1039/a805639k (1999).
- 18 Bellair, P. & Pomerol, C. *Éléments de géologie*. (Armand Colin, 1977).
- 19 Haüy, R. J. *Traité de minéralogie*. (Louis, 1801).
- 20 Deer, W. A., Howie, R. A. & Zussman, J. *Rock-forming Minerals: Chain silicates*. Vol. 2 (Longman, Green and co, 1963).
- 21 Virta, R. L. *Asbestos: Geology, Mineralogy, Mining, and Uses*. (U.S. Department of the Interior, 2002).
- 22 <http://jaeger.earthsci.unimelb.edu.au/msandifo.html>.
- 23 Whittaker, E. *Short Course in Mineralogical Techniques of Asbestos Determination*. **4** (1979).
- 24 Dodson, R. F. & Hammar, S. P. *Asbestos: Risk Assessment, Epidemiology, and Health Effects, Second Edition*. (Taylor & Francis, 2011).
- 25 Hammar, S. P. & Dodson, R. F. in *Dail and Hammar's Pulmonary Pathology: Vol. 2* (ed J.F. Tomashefski) 950-1031 (Springer 2008).
- 26 Virta, R. L. Vol. Circular 1298 80 (U.S. Geological Survey, 2006).
- 27 Hendry, N. W. The Geology, Occurences, and Major Uses of Asbestos. *Annals of the New York Academy of Sciences* **132**, 12-21, doi:10.1111/j.1749-6632.1965.tb41086.x (1965).
- 28 Lajoie, P. & al. INSPQ-2003-053: *Fibres d'amiante dans l'air intérieur et extérieur : état de la situation au Québec*. (Institut national de santé publique du Québec 2003).
- 29 Cooke, W. E. Fibrosis of the lungs due to the inhalation of asbestos dust. *British Medical Journal* **2**, 147 (1924).

- 30 Murray, R. Asbestos: A Chronology of Its Origins and Health Effects. *British Journal of Industrial Medicine* **47**, 361-365 (1990).
- 31 Gloyne, S. R. Two cases of squamous carcinoma of the lung occurring in asbestosis. *Tubercle* **17**, 5-IN2, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0041-3879\(35\)80795-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0041-3879(35)80795-2) (1935).
- 32 Selikoff, I. J., Churg, J. & Hammond, E. ASbestos exposure and neoplasia. *JAMA* **188**, 22-26, doi:10.1001/jama.1964.03060270028006 (1964).
- 33 McDonald, J. C., McDonald, A. D., Gibbs, G. W., Siemiatycki, J. & Rossiter, C. E. Mortality in the chrysotile asbestos mines and mills of Quebec. *Arch Environ Health* **22**, 677-686 (1971).
- 34 Douguet, D., Carteron, H., Janiaud, P. & Pinhas, N. Effets sur la santé des principaux types d'exposition à l'amiante. (Institut national de la santé et de la recherche médicale, Paris, 1997).
- 35 Stanton, M. F. *et al.* Relation of Particle Dimension to Carcinogenicity in Amphibole Asbestos and Other Fibrous Minerals. *Journal of the National Cancer Institute* **67**, 965-975, doi:10.1093/jnci/67.5.965 (1981).
- 36 Suzuki, Y., Yuen, S. R. & Ashley, R. Short, thin asbestos fibers contribute to the development of human malignant mesothelioma: pathological evidence. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* **208**, 201-210 (2005).
- 37 Lippmann, M. Effects of fiber characteristics on lung deposition, retention, and disease. *Environmental health perspectives* **88**, 311-317 (1990).
- 38 Misericocchi, G., Sancini, G., Mantegazza, F. & Chiappino, G. Translocation pathways for inhaled asbestos fibers. *Environmental Health* **7**, 4 (2008).
- 39 Goodglick, L. A. & Kane, A. B. Cytotoxicity of Long and Short Crocidolite Asbestos Fibers in Vitro and in Vivo. *Cancer Research* **50**, 5153-5163 (1990).
- 40 IRSST. 244-2:Caractérisation des fibres dans les poussières déposées ou dans les matériaux en vrac. (Institut de recherche en santé et en sécurité du travail du Québec, 1999).
- 41 NVLAP. (National Institute of Standards and Technology (NIST). Gaithersburg, MD, 2007).
- 42 IRSST. 243-1:Numération des fibres. (Institut de recherche en santé et en sécurité du travail du Québec, 1995).

- 43 Dubé-Linteau, A., De Guire, L. & Adib, G. Amiante : connaissances acquises sur l'exposition et les maladies des travailleurs et de la population générale du Québec de 2003 à 2009. (Institut national de santé publique du Québec, 2011).
- 44 Bourgault, M.-H. & Belleville, D. Présence de fibres d'amiante dans l'air intérieur et extérieur de la ville de Thetford Mines : estimation des risques de cancer du poumon et de mésothéliome. (Institut national de santé publique du Québec, Montreal, 2009).
- 45 AFNOR. (Association française de normalisation, Paris, 1996).
- 46 ASTM. (American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 2006).
- 47 NIOSH. (Diane Publishing Company, Cincinnati, 1994).
- 48 EPA. (United States Environmental Protection Agency, Washington, 1993).
- 49 AIA. in *AIA Health and Safety Publication* (Asbestos International Association London, 1984).
- 50 Adib, G., Labrèche, F., De Guire, L., Dion, C. & Dufresne, C. Biométrie des fibres dans les tissus pulmonaires de travailleurs québécois atteints d'une maladie professionnelle reliée à l'amiante entre 1988 et 2008 167 (Institut national de santé publique du Québec, Québec, 2011).
- 51 Van Orden, D. R., Allison, K. A. & Lee, R. J. Differentiating Amphibole Asbestos from Non-Asbestos in a Complex Mineral Environment. *Indoor and Built Environment* **17**, 58-68, doi:10.1177/1420326x07087006 (2008).
- 52 Caron, J. M. & Alain Gauthier, G. *Planete terre*. (Ophrys, 2007).
- 53 Murphy, D. B. & Davidson, M. W. *Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging*. (Wiley, 2012).
- 54 Crutcher, R. <http://www.microlabgallery.com>.
- 55 Leng, Y. *Materials Characterization: Introduction to Microscopic and Spectroscopic Methods*. (Wiley, 2009).
- 56 Mitra, S. *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*. (Wiley, 2004).
- 57 Ayache, J., Beaunier, L., Boumendil, J., Ehret, G. & Laub, D. *Sample Preparation Handbook for Transmission Electron Microscopy: Methodology*. (Springer New York, 2010).
- 58 Williams, D. B. & Carter, C. B. *Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science*. (Springer, 2009).

- 59 Ruste, J. & Paqueton, H. Microscopie électronique à balayage Principe et équipement. *Techniques de l'ingénieur Techniques d'analyse par imagerie base documentaire : TIB387DUO* (2013).
- 60 Ahn, C. C. *Transmission Electron Energy Loss Spectrometry in Materials Science and the EELS Atlas*. (Wiley, 2006).
- 61 Egerton, R. F. *Electron Energy-Loss Spectroscopy in the Electron Microscope*. (Springer US, 2012).
- 62 Buseck, P. R., Cowley, J. M. & Eyring, L. *High-Resolution Transmission Electron Microscopy : and Associated Techniques*. (Oxford University Press, USA, 1988).
- 63 Joy, D. C., Romig, A. D. & Goldstein, J. *Principles of Analytical Electron Microscopy*. (Springer, 1986).
- 64 Martin, J. L. & George, A. *Caractérisation expérimentale des matériaux*. (Presses polytechniques et universitaires romandes, 1998).
- 65 Esnouf, C. *Caractérisation microstructurale des matériaux: analyse par les rayonnements X et électronique*. (Presses polytechniques et universitaires romandes, 2011).
- 66 Liddell, F. D. K. & Miller, K. *Mineral Fibers and Health*. (CRC Press, 1991).
- 67 Castleman, B. I. & Berger, S. L. *Asbestos: Medical and Legal Aspects*. (Aspen Publishers, 2005).
- 68 Baron, P. A. Measurement of Airborne Fibers: A Review. *Industrial Health* **39**, 39-50 (2001).
- 69 Bowker, M. *Fatal Deception: The Untold Story of Asbestos; Why It Is Still Legal and Still Killing Us*. (Rodale Books, 2003).
- 70 ISO. (International Organization for Standardization, Geneva, 2002).
- 71 VDI. 3492: Indoor air measurement - Ambient air measurement - Measurement of inorganic fibrous particles - Scanning electron microscopy method. (Verein Deutscher Ingenieure Düsseldorf, 2004).
- 72 Santee, K. & Lott, P. F. Asbestos Analysis: A Review. *Applied Spectroscopy Reviews* **38**, 355-394, doi:10.1081/asr-120024393 (2003).

- 73 Samudra, A. V., Harwood, C. F. & Stockham, J. D. Electron Microscope Measurement of Airborne Asbestos Concentrations: A Provisional Methodology Manual. (US Environmental Protection Agency, Chicago, 1978).
- 74 Langer, A. M. Identification and enumeration of asbestos fibers in the mining environment: Mission and modification to the Federal Asbestos Standard. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **52**, S207-S217 (2008).
- 75 Chatfield, E. J. & Dillon, M. J. in *Scanning electron microscopy* (ed O Johari) 487-496 (SEM, inc, 1978).
- 76 Steel, E. B. & Small, J. A. Accuracy of transmission electron microscopy for the analysis of asbestos in ambient environments. *Analytical Chemistry* **57**, 209-213, doi:10.1021/ac00279a049 (1985).
- 77 ISO. (International Standards Organization, Geneva, 1995).
- 78 Egerton, R. F., Li, P. & Malac, M. Radiation damage in the TEM and SEM. *Micron* **35**, 399-409, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2004.02.003> (2004).
- 79 Cazaux, J. Correlations between ionization radiation damage and charging effects in transmission electron microscopy. *Ultramicroscopy* **60**, 411-425, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991\(95\)00077-1](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991(95)00077-1) (1995).
- 80 Chen, G. S., Boothroyd, C. B. & Humphreys, C. J. Electron-beam-induced damage in amorphous SiO₂ and the direct fabrication of silicon nanostructures. *Philosophical Magazine A* **78**, 491-506, doi:10.1080/01418619808241915 (1998).
- 81 Inui, H., Mori, H., Sakata, T. & Fujita, H. Electron irradiation induced crystalline-to-amorphous transition in quartz single crystals. *Journal of Non-Crystalline Solids* **116**, 1-15, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0022-3093\(90\)91039-T](http://dx.doi.org/10.1016/0022-3093(90)91039-T) (1990).
- 82 Egerton, R. F., McLeod, R., Wang, F. & Malac, M. Basic questions related to electron-induced sputtering in the TEM. *Ultramicroscopy* **110**, 991-997, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultramic.2009.11.003> (2010).
- 83 Egerton, R. F. Control of radiation damage in the TEM. *Ultramicroscopy* **127**, 100-108, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultramic.2012.07.006> (2013).
- 84 Ugurlu, O. *et al.* Radiolysis to knock-on damage transition in zeolites under electron beam irradiation. *Physical Review B* **83**, 113408 (2011).

- 85 Hobbs, L. W. Radiation damage in electron microscopy of inorganic solids. *Ultramicroscopy* **3**, 381-386, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3991\(78\)80058-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3991(78)80058-8) (1978).
- 86 Jiang, N. & Spence, J. C. H. On the dose-rate threshold of beam damage in TEM. *Ultramicroscopy* **113**, 77-82, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultramic.2011.11.016> (2012).
- 87 Jiang, N., Qiu, J., Ellison, A. & Silcox, J. Fundamentals of high-energy electron-irradiation-induced modifications of silicate glasses. *Physical Review B* **68**, 064207 (2003).
- 88 Kabler, M. & Williams, R. Vacancy-interstitial pair production via electron-hole recombination in halide crystals. *Physical Review B* **18**, 1948-1960 (1978).
- 89 Salisbury, I. G., Timsit, R. S., Berger, S. D. & Humphreys, C. J. Nanometer scale electron beam lithography in inorganic materials. *Applied Physics Letters* **45**, 1289-1291, doi:<http://dx.doi.org/10.1063/1.95115> (1984).
- 90 Goldstein, J. *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis: Third Edition*. (Springer US, 2003).
- 91 Millette, J. R., Boltin, W. R., Clark, P. J. & Brackett, K. A. in *Advances in Environmental Measurement Methods for Asbestos, ASTM STP 1342* (ed Eds. M. E. Beard and H. L. Rook) (American Society for Testing and Materials, 2000).
- 92 Harper, M. *et al.* Characterization of Lone Pine, California, Tremolite Asbestos and Preparation of Research Material. *Annals of Occupational Hygiene* **59**, 91-103, doi:10.1093/annhyg/meu074 (2015).
- 93 Dahlquist, G. & Björck, Å. *Numerical Methods in Scientific Computing: Volume 1*. (Society for Industrial and Applied Mathematics (SIAM, 3600 Market Street, Floor 6, Philadelphia, PA 19104), 2008).
- 94 *Environmental Laboratory Approval Program Certification Manual* (ed New York State Department of Health) (Albany (NY)).
- 95 Carrez, P., Leroux, H., Cordier, P. & Guyot, F. Electron-irradiation-induced phase transformation and fractional volatilization in (Mg, Fe)₂SiO₄ olivine thin films. *Philosophical Magazine A* **81**, 2823-2840, doi:10.1080/01418610108217167 (2001).

- 96 Jiang, N. & Silcox, J. Electron irradiation induced phase decomposition in alkaline earth multi-component oxide glass. *Journal of Applied Physics* **92**, 2310-2316, doi:<http://dx.doi.org/10.1063/1.1496148> (2002).
- 97 Davoisne, C. & Leroux, H. Structural and compositional modifications of fayalite Fe₂SiO₄ under electron irradiation. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* **243**, 371-376, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.nimb.2005.09.012> (2006).
- 98 Fultz, B. & Howe, J. M. *Transmission Electron Microscopy and Diffractometry of Materials*. (Springer Berlin Heidelberg, 2002).
- 99 Bursill, L. A., Thomas, J. M. & Rao, K. J. Stability of zeolites under electron irradiation and imaging of heavy cations in silicates. *Nature* **289**, 157-158 (1981).
- 100 Jiang, N. Electron beam damage in oxides: a review. *Reports on Progress in Physics* **79**, 016501 (2016).
- 101 Wang, S. X., Wang, L. M. & Ewing, R. C. Electron and ion irradiation of zeolites. *Journal of Nuclear Materials* **278**, 233-241, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3115\(99\)00246-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3115(99)00246-9) (2000).
- 102 Isaacson, M. Electron beam induced damage of organic solids: Implications for analytical electron microscopy. *Ultramicroscopy* **4**, 193-199, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3991\(79\)90193-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3991(79)90193-1) (1979).
- 103 Jiang, N. Beam damage by the induced electric field in transmission electron microscopy. *Micron* **83**, 79-92, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2016.02.007> (2016).
- 104 Crozier, P. A., McCartney, M. R. & Smith, D. J. Observation of exit surface sputtering in TiO₂ using biased secondary electron imaging. *Surface Science* **237**, 232-240, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0039-6028\(90\)90534-F](http://dx.doi.org/10.1016/0039-6028(90)90534-F) (1990).
- 105 Hall, T. A. & Gupta, B. L. Beam-induced loss of organic mass under electron-microprobe conditions. *Journal of Microscopy* **100**, 177-188, doi:10.1111/j.1365-2818.1974.tb03927.x (1974).
- 106 Knapek, E. & Dubochet, J. Beam damage to organic material is considerably reduced in cryo-electron microscopy. *Journal of Molecular Biology* **141**, 147-161, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0022-2836\(80\)90382-4](http://dx.doi.org/10.1016/0022-2836(80)90382-4) (1980).

- 107 Group, I. E. S. Cryoprotection in electron microscopy. *Journal of Microscopy* **141**, 385-391 (1986).
- 108 Chinte, U. *et al.* Cryogenic (<20 K) helium cooling mitigates radiation damage to protein crystals. *Acta Crystallographica Section D* **63**, 486-492, doi:10.1107/S0907444907005264 (2007).
- 109 Hobbs, L. W. in *Surface and Defect Properties of Solids* (eds M. W. Roberts & J. M. Thomas) 152 (The Chemical Society, 1975).
- 110 Hobbs, L. W. in *Scanning Microscopy Supplement 4*. 171-183.
- 111 Meents, A. *et al.* Reduction of X-ray-induced radiation damage of macromolecular crystals by data collection at 15 K: a systematic study. *Acta Crystallographica Section D* **63**, 302-309, doi:doi:10.1107/S0907444906053261 (2007).
- 112 Egerton, R. F. Measurement of radiation damage by electron energy-loss spectroscopy. *Journal of Microscopy* **118**, 389-399, doi:10.1111/j.1365-2818.1980.tb00288.x (1980).
- 113 Martin, J., Beauparlant, M., Sauvé, S. & L'Espérance, G. On The threshold conditions for electron beam damage of asbestos amosite fibers in the transmission electron microscope (tem). *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 1-35, doi:10.1080/15459624.2016.1191638 (2016).
- 114 Bowes, D. R. & Farrow, C. M. Major and trace element compositions of the UICC standard asbestos samples. *American Journal of Industrial Medicine* **32**, 592-594, doi:10.1002/(SICI)1097-0274(199712)32:6<592::AID-AJIM3>3.0.CO;2-S (1997).
- 115 Glaeser, R. M. & Hobbs, L. W. Radiation damage in stained catalase at low temperature. *J Microsc* **103**, 209-214 (1975).
- 116 Chiu, W., Knapek, E., Jeng, T. W. & Dietrich, I. Electron radiation damage of a thin protein crystal at 4 K. *Ultramicroscopy* **6**, 291-295, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3991\(81\)80165-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3991(81)80165-9) (1981).
- 117 Wade, R. H. The temperature dependence of radiation damage in organic and biological materials. *Ultramicroscopy* **14**, 265-270, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991\(84\)90094-9](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991(84)90094-9) (1984).
- 118 Buckton, M. R. & Pooley, D. The radiation damage process in MgF₂. *Journal of Physics C: Solid State Physics* **5**, 1553 (1972).

- 119 Hobbs, L. W. Application of Transmission Electron Microscopy to Radiation Damage in Ceramics. *Journal of the American Ceramic Society* **62**, 267-278, doi:10.1111/j.1151-2916.1979.tb09480.x (1979).
- 120 Hodgson, E. R. Radiation enhanced electrical breakdown In fusion insulators from dc to 126 MHz. *Journal of Nuclear Materials* **191-194**, 552-554 (1992).
- 121 Meents, A., Gutmann, S., Wagner, A. & Schulze-Briese, C. Origin and temperature dependence of radiation damage in biological samples at cryogenic temperatures. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**, 1094-1099, doi:10.1073/pnas.0905481107 (2010).
- 122 Pascucci, M. R., Hutchison, J. L. & Hobbs, L. W. The metamict transformation in alpha-quartz. *Radiation Effects* **74**, 219-226, doi:10.1080/00337578308218415 (1983).
- 123 Hobbs, L. W. Electron-beam sensitivity in inorganic specimens. *Ultramicroscopy* **23**, 339-344, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991\(87\)90244-0](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991(87)90244-0) (1987).
- 124 van Aken, A. P., Sharp, G. T. & Seifert, F. Electron-beam induced amorphization of stishovite: Silicon-coordination change observed using Si K-edge extended electron energy-loss fine structure. *Physics and Chemistry of Minerals* **25**, 83-93, doi:10.1007/s002690050090 (1997).
- 125 Fan, H. J. & Marks, L. D. Phase transitions in V₂O₅ in a high resolution electron microscope. *Ultramicroscopy* **31**, 357-364, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991\(89\)90334-3](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991(89)90334-3) (1989).
- 126 Humphreys, C. J., Bullough, T. J., Devenish, R. W., Maher, D. W. & Turner, P. S. in *Scanning Electron Microsc. Suppl. 4* 185-192 (1990).
- 127 Hobbs, L. W. & Pascucci, M. R. Radiolysis and defect structure in electron-irradiated α -quartz. *Journal de Physique Colloques* **41**, C6-237-C236-242 (1980).
- 128 Csencsits, R. & Gronsky, R. Damage of zeolite Y in the TEM and its effects on TEM images. *Ultramicroscopy* **23**, 421-431, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991\(87\)90253-1](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991(87)90253-1) (1987).
- 129 Bae, I.-T., Zhang, Y., Weber, W. J., Higuchi, M. & Giannuzzi, L. A. Electron-beam induced recrystallization in amorphous apatite. *Applied Physics Letters* **90**, 021912, doi:<http://dx.doi.org/10.1063/1.2430779> (2007).

- 130 Zhang, Y., Bae, I.-T. & Weber, W. J. Atomic collision and ionization effects in oxides. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* **266**, 2828-2833, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.nimb.2008.03.197> (2008).
- 131 Berger, S. D., Salisbury, I. G., Milne, R. H., Imeson, D. & Humphreys, C. J. Electron energy-loss spectroscopy studies of nanometre-scale structures in alumina produced by intense electron-beam irradiation. *Philosophical Magazine Part B* **55**, 341-358, doi:10.1080/13642818708208619 (1987).
- 132 Blanford, C. F. & Carter, C. B. Electron Radiation Damage of MCM-41 and Related Materials. *Microscopy and Microanalysis* **9**, 245-263, doi:doi:10.1017/S1431927603030447 (2003).
- 133 Yada, K. Microstructures of chrysotile and antigorite by high-resolution electron microscopy. *The Canadian Mineralogist* **17**, 679-691 (1979).
- 134 Denatale, J. F. & Howitt, D. G. A mechanism for radiation damage in silicate glasses. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* **1**, 489-497, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0168-583X\(84\)90114-9](http://dx.doi.org/10.1016/0168-583X(84)90114-9) (1984).
- 135 Treacy, M. M. J. & Newsam, J. M. Electron beam sensitivity of zeolite L. *Ultramicroscopy* **23**, 411-419, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991\(87\)90252-X](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3991(87)90252-X) (1987).
- 136 Erni, R., Browning, N. D., Dai, Z. R. & Bradley, J. P. Analysis of extraterrestrial particles using monochromated electron energy-loss spectroscopy. *Micron* **36**, 369-379, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2004.12.011> (2005).
- 137 Lee, S., Kim, Y.-M. & Kim, Y.-J. Formation of crystalline silicon in kaolinite by electron beam irradiation and in situ heating in the HVEM. *Journal of Electron Microscopy* **56**, 153-155, doi:10.1093/jmicro/dfm015 (2007).
- 138 Small, J., Steel, E., Agency, U. S. E. P. & Chemistry, C. f. A. *Asbestos standards: materials and analytical methods : proceedings of the NBS/EPA Asbestos Standards Workshop held at the National Bureau of Standards, Gaithersburg, MD, October 1-3, 1980*. (The Bureau, 1982).

- 139 Girit, Ç. Ö. *et al.* Graphene at the Edge: Stability and Dynamics. *Science* **323**, 1705-1708, doi:10.1126/science.1166999 (2009).
- 140 Reyes-Gasga, J. & García-García, R. Analysis of the electron-beam radiation damage of TEM samples in the acceleration energy range from 0.1 to 2 MeV using the standard theory for fast electrons. *Radiation Physics and Chemistry* **64**, 359-367, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0969-806X\(01\)00578-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0969-806X(01)00578-3) (2002).
- 141 Egerton, R. F., Wang, F. & Crozier, P. A. Beam-Induced Damage to Thin Specimens in an Intense Electron Probe. *Microscopy and Microanalysis* **12**, 65-71, doi:doi:10.1017/S1431927606060065 (2006).
- 142 ISO. 14966: Air ambient — Détermination de la concentration en nombre des particules inorganiques fibreuses — Méthode par microscopie électronique à balayage. (Organisation internationale de normalisation, Genève, 2002).