

Guia RELACRE

28

.....

AMOSTRAGEM DE ÁGUAS

.....

COMISSÕES
TÉCNICAS



RELACRE

ASSOCIAÇÃO DE LABORATÓRIOS
ACREDITADOS DE PORTUGAL

FICHA TÉCNICA




TÍTULO:

Guia RELACRE 28

AMOSTRAGEM DE ÁGUAS

EDIÇÃO: RELACRE

ISBN: 978-972-8574-42-0



Guia RELACRE 28

Edição: JANEIRO 2017

.....

AMOSTRAGEM DE ÁGUAS

.....

COMISSÕES
TÉCNICAS



RELACRE

ASSOCIAÇÃO DE LABORATÓRIOS
ACREDITADOS DE PORTUGAL

Este documento foi elaborado pelo Grupo de Trabalho **GT3**

AMOSTRAGEM

DA COMISSÃO TÉCNICA RELACRE **CTR07**

ÁGUAS

O conteúdo deste documento é da responsabilidade dos especialistas, membros da referida CTR, que colaboraram na sua elaboração.

É intenção da RELACRE proceder à revisão deste documento sempre que se revele oportuno.

Na elaboração da presente edição colaboraram:

Coordenador da CTR07: Guiomar Massa Medeiros

Coordenador do GT3: Maria das Dores Arezes F. L. Martins – Águas do Norte

Colaboradores:

Alexandre Almeida - LABELEC

Ana Filipa Pereira - Agência Portuguesa Ambiente

Ana Rita Ribeiro - Águas de Lisboa e Vale do Tejo

Clara Sofia Torres - Águas do Norte

Clélia Costa - INSA

Cristina Marin - LABELEC

Eugénia Cardoso - Águas de Lisboa e Vale do Tejo

João Pedro Pereira - CESAB

José Manuel Miranda - SMAS Loures

Lígia Maria Borges

Luís Pereira - Agência Portuguesa Ambiente

Marco Alexandre Silva - Águas do Norte

Margarida Alves Silva - Águas do Norte

Maria Ana Cunha - Agência Portuguesa Ambiente

Maria de Fátima Coimbra - Águas do Centro Litoral

Maria Margarida Valente - Águas do Norte

Martina Costa - GLOBALAB

Paula Viana - Agência Portuguesa Ambiente

Regina Marques - SMAS Loures

Rita Batista - Águas do Algarve

ÍNDICE

1	OBJETIVO E ÂMBITO	8
2	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
3	SIGLAS E ABREVIATURAS	9
4	DEFINIÇÕES	10
5	CONCEITO DE AMOSTRAGEM	10
6	BOAS PRÁTICAS	11
6.1	Preparação do processo de colheita de amostras.....	11
7	ELABORAÇÃO DE PLANOS DE AMOSTRAGEM	13
7.1	Princípios fundamentais.....	13
7.2	Considerações específicas em relação à variabilidade	14
7.3	Condições Estatísticas - Estabelecimento do programa de amostragem	15
8	METODOLOGIAS DE COLHEITAS	17
8.1	Águas destinadas a consumo humano	17
8.1.1	Processo de colheita da amostra (Controlo legal)	17
8.2	Águas subterrâneas	22
8.2.1	Colheita com Bomba à Superfície	24
8.2.2	Colheita com Dispositivos de Imersão	24
8.2.3	Colheita para Parâmetros Físico Químicos e Microbiológicos	25
8.3	Águas de rios, lagos e albufeiras	26
8.3.1	Colheita com embarcação.....	29
8.3.2	Colheita sem embarcação	30
8.3.3	Medição da Profundidade de Secchi.....	30
8.3.4	Colheita à superfície.....	31
8.3.5	Colheita em profundidade	34
8.3.6	Colheita de amostras integradas.....	35
8.3.7	Parâmetros Biológicos - Fitoplâncton	36
8.3.8	Parâmetros microbiológicos.....	39
8.3.9	Parâmetros ecotoxicológicos	40
8.4	Águas naturais salinas	41
8.4.1	Pontos de Colheita de Amostras	41
8.4.2	Equipamentos de Colheita	42
8.5	Águas residuais	44
8.5.1	Escolha da metodologia e material de colheita	44
8.5.2	Definição dos procedimentos de colheita.....	46
8.5.3	Frequência e período de colheita.....	46
8.5.4	Duração do período de colheita.....	47
8.5.5	Seleção da metodologia de colheita	48
8.5.6	Medições em contínuo.....	49
8.5.7	Procedimentos de colheita por tipologia de ponto de colheita.....	49
8.5.8	Colheita em ETAR	52

8.5.9	Colheita qualitativa	53
8.5.10	Preservação e transporte	53
8.5.11	Limpeza e manutenção dos equipamentos	54
8.5.12	Regras de Segurança	54
8.6	Águas de processo	56
8.7	Águas de piscinas	57
8.7.1	Colheita para Análise Microbiológica	57
8.7.2	Colheita para Análise Química	58
8.8	Caso específico da Legionella	58
8.8.1	Critérios de colheita	59
8.8.2	Segurança	60
8.8.3	Avaliação do local	60
8.8.4	Tipos de amostras	61
8.8.5	Recipientes de colheita	61
8.8.6	Precauções de assepsia durante a colheita	61
8.8.7	Medição da temperatura	62
8.8.8	Colheita na presença de biocida	62
8.8.9	Colheita de rotina para monitorização de Legionella	63
8.8.10	Amostras para investigação de surtos	66
8.8.11	Informação adicional	66
8.8.12	Transporte e armazenamento	67
8.8.13	Protocolos de colheita	67
9	ENSAIOS DE CAMPO	69
9.1	Cloro livre e total	69
9.1.1	Controlo de qualidade Recomendado	70
9.1.2	Manuseamento do equipamento	70
9.2	Condutividade	71
9.2.1	Controlo de qualidade Recomendado	71
9.2.2	Manuseamento do equipamento	72
9.3	Oxigénio dissolvido	72
9.3.1	Controlo de qualidade Recomendado	72
9.3.2	manuseamento de equipamento com eléctrodo de membrana	72
9.3.3	Manuseamento de equipamento com eléctrodo ótico	73
9.4	pH	73
9.4.1	Controlo de qualidade Recomendado	73
9.4.2	Manuseamento do equipamento	74
9.5	Turvação	74
9.5.1	Controlo de qualidade Recomendado	74
9.5.2	Manuseamento do equipamento	75
9.6	Temperatura	75
9.6.1	Controlo de qualidade Recomendado	75
9.6.2	Manuseamento do equipamento	75
10	CONTROLO DA QUALIDADE	76
10.1	Controlo de qualidade interno (CQI)	77
10.1.1	Parâmetros Microbiológicos	77
10.1.2	Parâmetros Físico-Químicos	80

10.2	Controlo de qualidade externo (CQE)	83
10.2.1	Fontes de Erro	83
11	PRESERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS	84
11.1	Material, equipamento de colheita e Reagentes de Conservação	84
11.1.1	Material e equipamento de colheita.....	84
11.1.2	Reagentes de Conservação	85
11.2	Colheita da amostra.....	87
11.3	Enchimento do reservatório.....	87
11.4	Manuseamento e conservação da amostra para ensaios Físico-Químicos	87
11.5	Manuseamento e conservação da amostra para ensaios biológicos	88
11.6	Manuseamento e conservação da amostra para ensaios radiológicos	89
11.7	Transporte DAS amostras	89
11.8	Receção e Armazenamento de amostras	90
12	(SUB) CONTRATAÇÃO	90
12.1	Subcontratação de ensaios	91
12.2	Prazo máximo para a entrega das amostras no laboratório (sub)contratado para cada parâmetro ou grupo de parâmetros.....	92
13	CÁLCULO DE INCERTEZAS.....	93
13.1	Abordagens no cálculo da estimativa da Incerteza.....	94
13.2	Fontes de incerteza.....	95
13.3	Métodos e cálculos	98
14	ANEXOS.....	104
14.1	ANEXO I - TÉCNICAS DE PRESERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS - ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA	104
14.2	ANEXO II - TÉCNICAS DE PRESERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS - ANÁLISE BIOLÓGICA.....	130

1 OBJETIVO E ÂMBITO

A amostragem é um elemento importante de um programa de controlo da qualidade da água porque o resultado da análise não corresponderá ao valor real, mesmo que utilizado um método analítico rigoroso, se a amostra não for representativa da água a controlar.

Assim, este documento apresenta procedimentos orientadores de planeamento e colheita de amostras de água, de modo a que os resultados das análises efetuadas sejam comparáveis.

Aplica-se à colheita de amostras de diferentes tipos de águas para análise de parâmetros físico-químicos, microbiológicos, biológicos e radiológicos.

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ISO 5667 - 1:2006 - *Guidance on the design of sampling programmes*

ISO 5667 - 3: 2012 - *Preservation and handling of water samples*

ISO 5667 - 4: 1987 - *Guidance on sampling from lakes*

ISO 5667 - 5: 2006 - *Guidance on sampling of drinking water*

ISO 5667 - 6: 2005 - *Guidance on sampling of rivers and streams*

ISO 5667 - 7: 1993 - *Guidance on sampling of water and steam in boiler plants*

ISO 5667 - 8: 1993 - *Guidance on sampling of wet deposition*

ISO 5667 - 9: 1992 - *Guidance on sampling from marine waters*

ISO 5667 - 10: 1992 - *Guidance on sampling of waste waters*

ISO 5667 - 11: 2009 *Guidance on sampling of groundwaters*

ISO 5667 - 13: 2011 - *Guidance on sampling of water, waste water and related sludges*

ISO 5667 - 14: 2014 - *Guidance on quality assurance and quality control of environmental water sampling and handling*

ISO 5667 - 16: 2017 - *Guidance on biotesting of samples*

ISO 5667 - 20: 2008 - *Guidance on the use of sampling data for decision making – Compliance with thresholds and classification systems*

ISO 5667 - 21: 2010 - *Guidance on sampling of drinking water distributed by tankers or means other than distribution pipes*

ISO 5667 - 22: 2010 - *Guidance on design and installation of groundwater sample points*

ISO 5667 - 23:2011 - *Guidance on passive sampling in surface waters*

ISO 5667 - 24 :2016 - *Water Quality - Guidance on the auditing of water quality sampling*

ISO 18593: 2004 - Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs

ISO 19458: 2006 - Water Quality –Sampling for microbiological analysis

EN 16698:2014 - Water Quality - Guidance on quantitative and qualitative sampling of phytoplankton from inland waters.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd Edition

INAG, I.P.2009. Manual para avaliação da qualidade biológica da água. Protocolo de amostragem e análise para o Fitoplâncton. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Instituto da Água, I.P.

EURACHEM/CITAC Guide. Measurement uncertainty arising from sampling. A guide to methods and approaches. First Edition 2007.

Nordtest - TR604 - Uncertainty from Sampling. – A Nordtest handbook for sampling planners on sampling quality assurance and uncertainty estimation. Edition June 2007

Recomendação ERSAR n.º 01/2017 - Procedimento para a colheita de amostras de água para consumo humano em sistemas de abastecimento

3 SIGLAS E ABREVIATURAS

AR – Água residual

ARI – Água residual industrial

CQE – Controlo de qualidade Externo

CQI – Controle de qualidade Interno

COV – Compostos orgânicos voláteis

DS – Disco de Secchi

ECI – Ensaio de Comparação Interlaboratorial

EIL – Ensaio interlaboratorial

EPI – Equipamento de proteção individual

ERSAR – Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos

ETA – Estação de tratamento de Água

ETAR – Estação de tratamento de águas residuais

FDS – Ficha de dados de segurança

LQ – Limite de quantificação

MRC – Material de referência certificado

PCQA – Programa de controlo de qualidade da água destinada ao consumo humano

4 DEFINIÇÕES

Amostras de perfil - amostras colhidas a diferentes profundidades num mesmo local.

Amostra composta - Mistura discreta ou contínua, em proporções adequadas e conhecidas, de duas ou mais amostras, ou partes de amostra, a partir da qual é possível obter o valor médio de uma, ou várias características. As proporções são normalmente baseadas no tempo ou no caudal.

Amostra pontual ou discreta - Fração discreta, colhida de forma aleatória na massa de água amostrada e circunscrita a um determinado momento.

Piezómetro - Dispositivo constituído por um tubo ou conduta com um elemento poroso ou secção perfurada (rodeada por um filtro) na parte inferior que é instalado e selado no solo a um determinado nível dentro da zona saturada para efeitos de medição do nível de água, pressão hidráulica ou colheita de águas.

5 CONCEITO DE AMOSTRAGEM

O objetivo da amostragem é colher uma porção de material suficientemente pequena para que seja possível transportá-la de forma conveniente, suficientemente grande para os fins analíticos a que se propõe e que simultaneamente seja representativa do material a ser amostrado. Este objetivo implica que as proporções relativas ou as concentrações de todos os componentes pertinentes seja o mesmo, tanto nas amostras como no material a ser amostrado e que a amostra seja manuseada de tal forma que não ocorram alterações significativas na sua composição antes dos ensaios serem efetuados.

Frequentemente, o objetivo da amostragem e ensaio é demonstrar se determinados requisitos regulamentares estão a ser cumpridos. As amostras são entregues ao laboratório para determinações específicas, sendo o técnico de colheita responsável pela colheita de uma amostra válida e representativa. Devido à crescente importância atribuída à verificação da exatidão e da representatividade dos dados, maior ênfase tem vindo a ser colocada sobre a colheita adequada da amostra, transporte e técnicas de conservação (preservação). Muitas vezes, é aconselhável que o laboratório ajude no planeamento de um programa de amostragem, em parceria com o cliente (usuário dos resultados dos testes). Esta parceria é essencial para garantir que a seleção das amostras e métodos analíticos constituem uma base válida para responder às questões que motivaram a amostragem e que irá responder às exigências específicas do projeto.

6 BOAS PRÁTICAS

O controlo analítico da água inicia-se com a colheita da amostra, devendo esta ser efetuada de modo correto, ser colhida no recipiente adequado e nas condições de conservação e transporte apropriadas até à análise no laboratório. Para isso, é desejável que o laboratório esteja acreditado para realizar a colheita das amostras pela Norma NP EN ISO/IEC 17025, mas no caso de isto não ser possível, deve no mínimo garantir a formação adequada dos técnicos que realizam o procedimento de colheita das amostras e dos ensaios de campo.

No caso específico de colheita de amostras de água destinadas ao consumo humano no âmbito de um controlo analítico de obrigação legal deve o laboratório estar acreditado para realizar a colheita de amostras ou então a colheita ser realizada por Técnicos de Colheita Certificados para o efeito.

Apresentam-se em seguida os aspetos mais relevantes a ter em conta no procedimento de colheita das amostras de água, não dispensando a consulta das normas de ensaio aplicáveis a cada caso, da bibliografia indicada neste documento e das instruções escritas fornecidas pelo laboratório acreditado para a realização dos ensaios em causa.

Assim, recomenda-se aos responsáveis pela colheita das amostras a implementação dos requisitos seguintes no procedimento de colheita de amostras de água.

6.1 PREPARAÇÃO DO PROCESSO DE COLHEITA DE AMOSTRAS

- Verificar os pontos de colheita a controlar, tendo em conta o solicitado pelo requisitante da análise a realizar;
- Em função dos pontos de colheita, verificar se será necessário utilizar equipamento de proteção individual (EPI);
- Dispor de, ou solicitar ao(s) laboratório(s) responsáveis pela realização dos ensaios analíticos, instruções escritas sobre as condições de colheita, de conservação, de transporte e de entrega das amostras no laboratório;
- Verificar se os frascos de colheita são os adequados aos parâmetros a analisar, tendo em conta as instruções do laboratório responsável pela realização dos ensaios analíticos;
- Verificar as etiquetas a utilizar na identificação dos frascos, de modo a garantir uma correta identificação das amostras;
- Verificar as condições de transporte e os prazos de entrega das amostras no laboratório;
- Elaborar uma folha de registo da colheita onde, no mínimo, constem campos a preencher com a seguinte informação:

- Identificação da entidade requisitante;
- Identificação do ponto de colheita;
- Data e hora da colheita;
- Data e hora de entrega das amostras no laboratório;
- Registo dos resultados dos parâmetros e ensaios de campo, os quais devem ser efetuados no momento da colheita da amostra;
- Indicação dos parâmetros ou grupo de parâmetros a analisar na amostra;
- Identificação do técnico responsável pela colheita da amostra;
- Outros aspetos relevantes, tais como: conservação da amostra, condições ambientais, acessórios adaptados à torneira e não retirados ou estado de higiene do local.

O laboratório responsável pelo controlo analítico dos diferentes parâmetros deve fornecer à entidade responsável pela colheita uma instrução de trabalho escrita, sobre:

- Descrição do tipo de frascos a utilizar (material e capacidade do frasco) na colheita das amostras, para cada parâmetro ou grupo de parâmetros a analisar. O volume de amostra a colher deve ser o apropriado às análises a realizar para todos os parâmetros requeridos;
- Conservação a efetuar no local de colheita para cada parâmetro ou grupos de parâmetros a analisar. Os reagentes de conservação não devem interferir com a análise a ser efetuada e devem ser adicionados, preferencialmente, no momento da colheita para que a amostra seja preservada desde o primeiro momento; É de referir que, na análise de alguns parâmetros, não é suficiente apenas a refrigeração, sendo indispensável a adição dum agente de conservação. É, por exemplo, o caso da conservação das amostras destinadas à análise de metais, as quais devem ser acidificadas a pH inferior a 2 e da análise de parâmetros microbiológicos, devendo os frascos estéreis conter tiosulfato de sódio para neutralizar o desinfetante residual da amostra;
- Cuidados a ter no procedimento de colheita, de modo a evitar a contaminação da amostra;
- Condições de transporte, em função dos parâmetros a analisar na amostra;
- Prazo máximo para a entrega das amostras no laboratório. As amostras destinadas à análise de parâmetros microbiológicos devem ser refrigeradas e entregues no laboratório de preferência no próprio dia da colheita;
- Condições de rejeição de amostras entregues no laboratório.

No caso de amostras transportadas por períodos superiores a 8 horas, o técnico de amostragem, em articulação com o laboratório, deve estabelecer um procedimento para a verificação da temperatura de refrigeração durante o transporte, sendo o ideal de (5 ± 3) °C.

A verificação da temperatura deverá ser realizada através da sua medição num frasco dedicado, no local da colheita e à chegada ao laboratório, não devendo ocorrer um aumento da temperatura da amostra durante o transporte, sendo desejável que para este efeito, seja utilizada a primeira amostra colhida. Para curtos períodos de transporte (inferiores a 8 horas) é suficiente garantir que a temperatura da amostra seja menor ou igual à temperatura inicial da amostra. Os valores da temperatura devem ser registados no impresso associado à colheita.

7 ELABORAÇÃO DE PLANOS DE AMOSTRAGEM

Este capítulo tem por objetivo estabelecer as linhas orientadoras para elaborar programas de amostragem, para os diferentes tipos de água, nomeadamente:

- Determinar a concentração associada aos parâmetros físicos, químicos, biológicos e radiológicos no tempo e espaço;
- Estimar caudais;
- Avaliar tendências no espaço e no tempo;
- Cumprimento da conformidade com normas de qualidade ou objetivos.

As amostras colhidas devem ser representativas do meio a caracterizar e devem ser tomadas medidas para que mantenham a sua integridade no intervalo que decorre entre a colheita e a análise. A colheita de sistemas heterogéneos, tais como, águas que contenham sólidos ou líquidos orgânicos imiscíveis requerem cuidados especiais.

7.1 PRINCÍPIOS FUNDAMENTAIS

É muito importante que os objetivos do programa de amostragem sejam estabelecidos cuidadosamente, de forma a determinar-se a localização dos pontos de colheita das amostras, a sua frequência, procedimento de colheita e subsequente análise laboratorial. O grau de precisão e exatidão necessário para ter uma estimativa da qualidade da água também deverá ser tido em consideração, bem como a maneira como os resultados são expressos e apresentados.

Elaborar uma lista de parâmetros e respetivos procedimentos de colheita de amostras e de

analise, tendo sempre em consideração a sua adequabilidade à finalidade pretendida.

Pode ser necessário levar a cabo uma colheita de amostras preliminar e respetivo programa analítico antes de os objetivos finais serem definidos.

É importante que cada programa específico de amostragem seja otimizado para o estudo a que se propõe, ou seja:

- Determinar a adequabilidade da água para o uso a que se destina e se necessário e avaliar qualquer processo de tratamento e de controlo;
- Estudar o efeito das descargas de efluentes industriais ou domésticos, incluindo derrames acidentais no meio recetor;
- Verificar a qualidade da água de sistemas de tratamento, por exemplo:
 - Verificar a variação a longo prazo do processo de tratamento;
 - Determinar a eficiência de cada etapa no processo de tratamento;
 - Demonstrar a eficiência do tratamento;
 - Controlar a concentração dos contaminantes, incluindo aquelas que são prejudiciais para a saúde ou que podem inibir o processo bacteriano;
 - Controlar a concentração de substâncias que podem danificar as instalações de tratamento.
- Estudar os efeitos dos caudais de águas doces e salinas nos estuários de forma a determinar a sua estratificação, e correlacioná-los com as marés;
- Identificar e quantificar entradas e saídas de processos industriais;
- Controlar as operações dos sistemas de água de arrefecimento, de forma a otimizar a utilização da mesma e ao mesmo tempo minimizar a corrosão;
- Verificar o efeito do escoamento superficial dos solos na qualidade da água, nomeadamente, fertilizantes, pesticidas e químicos usados na agricultura;
- Avaliação da acumulação de substâncias no biota, existente na coluna de água ou nos depósitos sedimentares.

7.2 CONSIDERAÇÕES ESPECÍFICAS EM RELAÇÃO À VARIABILIDADE

Os programas de amostragem podem ser complexos em situações e locais onde existe uma variação contínua das características. Deve-se ter em consideração os seguintes aspetos:

- O programa deverá fixar técnicas que permitem avaliar erros de amostragem;
- A amostragem deverá ser evitada nas zonas de fronteira do sistema a não ser que existam objetivos para esta zona;

- Devem ser tomadas medidas para eliminar ou minimizar qualquer variação na concentração dos parâmetros de interesse, as quais podem ser produzidas pelo próprio processo de amostragem ou durante o período entre a colheita e análise;
- Amostras compostas dão uma melhor indicação da composição média.

7.3 CONDIÇÕES ESTATÍSTICAS - ESTABELECIMENTO DO PROGRAMA DE AMOSTRAGEM

O programa de caracterização da qualidade serve para estimar uma ou mais grandezas estatísticas que caracterizam a concentração de um ou mais parâmetros ou a sua variação durante um período definido, ou ambos. Por exemplo, a média ou mediana indica a tendência central dos resultados e o desvio-padrão indica a dispersão (variabilidade).

O tempo e a frequência da amostragem em qualquer programa só podem ser devidamente estabelecidos depois de um trabalho preliminar, no qual é necessário ter uma frequência da amostragem elevada para se obter a informação a fim de se aplicarem as técnicas estatísticas correspondentes.

A determinação do intervalo de confiança e do número de amostras é um exemplo de um valor aproximado, usando o método estatístico da média aritmética, assumindo uma distribuição normal aplicada aos dados existentes.

Para um número de resultados, n , estimados à volta de um valor médio, μ , e o desvio-padrão, σ , e para uma média aritmética, \bar{x} , em que s calcula-se de acordo com a seguinte equação:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \left[\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2 \right]}$$

onde x_i representa os valores individuais.

Quando n é grande, s , aproxima-se do valor verdadeiro σ , e o intervalo de confiança associado à média de um conjunto de n resultados, é dado por $\pm (k\sigma/\sqrt{n})$, em que k é o valor dado na tabela 1, que depende do nível de confiança estabelecido.

Para estimar a média para um dado intervalo de confiança L , com o nível de confiança estabelecido, o número de amostras necessário é dado por $(2k\sigma/L)^2$.

Isto é verdadeiro em sentido estrito, apenas quando σ é conhecido. Serão, no entanto necessárias mais amostras quando se tem disponível apenas uma estimativa de s . Contudo, isto terá um pequeno impacto no valor de K , caso o s seja baseado num número relativamente grande de amostras ($n \geq 150$).

Quando a estimativa é baseada num número pequeno de amostras, menos de 30 amostras, então o valor de k deve ser substituído pelo coeficiente equivalente considerando a distribuição t-Student, obtido em tabelas estatísticas para um dado nível de confiança).

Tabela 1 - Valores de k

Intervalo de Confiança (%)	99	98	95	90	80	68	50
k	2,58	2,33	1,96	1,64	1,28	1,0	0,6

A maior eficiência do programa de amostragem é colher as amostras à mesma hora e no mesmo dia da semana, pelo que o número de amostras a ser colhidas deverá ser em número suficiente atendendo à incerteza dos cálculos estatísticos.

Por exemplo, para uma distribuição normal o intervalo de confiança L de uma média de n resultados, com um nível de confiança escolhido, é dado pela equação:

$$L = \frac{2k\sigma}{\sqrt{n}}$$

Se o intervalo de confiança for de 10 % da média, o nível de confiança de 95 % e o desvio padrão de 20 %, então:

$$10 = \frac{2 \cdot 1,96 \cdot 20}{\sqrt{n}}$$

$$n = 7,84^2$$

ou seja, $n = 61$ amostras.

O que indica uma frequência de amostragem de 2 amostras por dia, se o período de interesse for um mês, ou 1 a 2 amostras por semana, se o período de interesse for 1 ano.



Figura 1 - Exemplo de um programa de Amostragem

8 METODOLOGIAS DE COLHEITAS

8.1 ÁGUAS DESTINADAS A CONSUMO HUMANO

O objetivo deste capítulo é dar instruções e disponibilizar algumas metodologias a utilizar na colheita de amostras de água destinada ao consumo humano, em particular no âmbito da legislação aplicável e das recomendações da Entidade Reguladora deste setor que estiverem em vigor.

A amostragem de água destinada ao consumo humano tem dois principais objetivos distintos:

- Avaliar a qualidade da água distribuída (por exemplo: sistema de distribuição principal e pontos de entrega);
- Avaliar a qualidade da água, tal como é disponibilizada à saída da torneira do consumidor.

Estes ou outros objetivos particulares da amostragem condicionarão a colheita com ou sem escoamento prévio e poderão determinar se é feita uma desinfecção e/ou remoção de acessórios da torneira (mangueiras, filtros ou outras aplicações).

8.1.1 PROCESSO DE COLHEITA DA AMOSTRA (CONTROLO LEGAL)

8.1.1.1 Procedimento de colheita de amostras de água em pontos de colheita localizados na ETA, nos reservatórios, na rede de adução ou rede de distribuição

Nesta secção apresenta-se sequencialmente o procedimento de colheita de amostras nos pontos de colheita indicados nos PCQA, para verificação da conformidade da qualidade da

água tratada desde a saída da ETA até à entrada das redes prediais nas instalações dos consumidores.

8.1.1.1.1 Apreciação do local de amostragem

Antes de proceder à colheita da amostra de água, o técnico de amostragem deve em primeiro lugar verificar no local de colheita se as condições, nomeadamente local, turvação e cheiro da água, são as adequadas para proceder à colheita de uma amostra de água representativa da água fornecida naquele momento pela entidade gestora. Qualquer situação anómala deve ser tratada seguindo as orientações do responsável da entidade gestora.

Verificadas as condições adequadas à colheita, proceder com os passos seguintes aplicando a ordem sequencial apresentada, conforme os parâmetros a analisar.

8.1.1.1.2 Descarga da água estagnada

Antes de efetuar a colheita de amostras de água para análise, proceder ao escoamento prévio de água estagnada no troço de conduta que serve o ponto de colheita, procedendo do seguinte modo:

- Abrir a torneira de colheita, deixar escoar a água durante 5 a 10 segundos com fluxo máximo;
- Reduzir o fluxo e deixar correr a água o tempo suficiente para garantir a descarga da água estagnada, o que pode ser avaliado, por exemplo, pelo controlo da estabilidade da temperatura. Geralmente 2 a 3 minutos são suficientes.

8.1.1.1.3 Para a análise dos parâmetros físico-químicos e radioativos

Utilizando os frascos adequados, proceder à colheita das amostras nos frascos para a análise dos diferentes parâmetros físico-químicos e de seguida nos frascos para os 9/12 parâmetros radioativos, seguindo as instruções fornecidas pelo laboratório responsável pelo respetivo controlo analítico. O escoamento da água na torneira deve manter-se constante durante a colheita.

Quando necessário, proceder à preservação das amostras de água, seguindo as instruções fornecidas pelo laboratório (conforme os métodos de ensaio a utilizar).

8.1.1.1.4 Para análise do desinfetante residual e pH

Recolhidas as amostras indicadas na fase anterior, proceder à determinação imediata dos parâmetros a analisar no local: o pH e o teor em desinfetante residual.

Registrar o valor das determinações efetuadas no local na folha de registo de colheita, devendo ser estes os resultados a considerar nos dados da qualidade da água comunicados à ERSAR.

8.1.1.1.5 Para análise dos parâmetros microbiológicos

Por último, antes de proceder à colheita das amostras para análise dos parâmetros microbiológicos, deve efetuar a desinfeção da torneira do seguinte modo:

- Fechar a torneira, desinfetar a torneira, preferencialmente por flamejamento ou, se não for possível, por outro método adequado utilizando uma solução desinfetante (solução de hipoclorito ClO^- $\approx 1\text{g/L}$ ou álcool etílico a 70%);
- No caso de torneiras com boca/terminação em plástico, limpar a boca da torneira com algodão embebido na solução desinfetante e, de seguida, mergulhar a boca da torneira na solução desinfetante durante 2 a 3 minutos;
- Abrir a torneira, deixar escoar durante 5 a 10 segundos com fluxo máximo, reduzir o fluxo e deixar correr a água o tempo suficiente para eliminar a influência do desinfetante e da temperatura do flamejamento;
- Sem fechar a torneira e garantindo condições de assepsia, recolher a amostra de água em frasco estéril para a análise dos parâmetros microbiológicos.

Fechar imediatamente o frasco que não deve estar completamente cheio. Agitar. Para evitar contaminações, garantir que as mãos estão limpas e desinfetadas ou são usadas luvas esterilizadas ou descartáveis e que o frasco estéril só está aberto pelo período de tempo estritamente necessário para a colheita da amostra.

8.1.1.1.6 Entrega das amostras no laboratório

Todos os frascos de colheita devem ser devidamente identificados, de modo a que sejam facilmente rastreáveis à folha de registo de colheita. Transportar os frascos das amostras em ambientes refrigerados ou malas térmicas com acumuladores de frio devidamente limpos, de modo a garantir a correta refrigeração das amostras, até à entrega no laboratório. A quantidade de acumuladores de frio em mala térmica dependerá da quantidade de frascos em cada mala térmica, da duração do percurso até ao laboratório e da temperatura ambiente.

Entregar as amostras no laboratório o mais rapidamente possível, devendo cumprir com os prazos de entrega estabelecidos nas instruções do laboratório.

8.1.1.2 Procedimento de colheita de amostras de água na torneira do consumidor

Nesta secção apresenta-se sequencialmente o procedimento para a colheita de amostras nos pontos de colheita indicados nos PCQA para verificação da conformidade da qualidade da água nas torneiras do consumidor.

No caso da colheita de amostras em pontos de utilização, nomeadamente da indústria alimentar ou de fontanários, o procedimento pode ser adaptado às especificidades do local.

8.1.1.2.1 Apreciação das condições do ponto de colheita

Antes de proceder à colheita de amostras de água, o técnico de amostragem deve verificar no local de colheita se as condições, nomeadamente local, turvação e cheiro da água, são as adequadas para efetuar a colheita de uma amostra de água representativa da água fornecida naquele momento pela entidade gestora. Qualquer situação anómala deve ser tratada seguindo as orientações do responsável da entidade gestora.

Ter em atenção eventuais situações que coloquem em causa a água fornecida, tais como roturas na rede local ou de misturas de água da rede pública com água de captações próprias do consumidor.

O técnico de amostragem deve confirmar sempre que possível que a rede predial está a ser abastecida exclusivamente por água da rede pública e evitar a escolha de torneiras localizadas no exterior das habitações, já que não são consideradas como normalmente utilizadas para o consumo humano e podem estar ligadas a captações próprias.

Se as condições não forem as adequadas, o técnico de amostragem deve registar a situação na folha de registo de colheita e, em articulação com a entidade gestora, avaliar alternativas a esta colheita, como por exemplo, escolher outro ponto de colheita representativo da zona de abastecimento ou alterar a data da colheita.

Avaliar visualmente o estado da torneira escolhida como ponto de colheita. A torneira deve estar em condições adequadas de conservação e higiene, não levantando dúvidas sobre a sua utilização. Preferencialmente, deve-se escolher uma torneira de água fria.

Retirar (se possível) os acessórios externos e adaptados à torneira pelo consumidor (mangueiras, filtros ou outras aplicações).

Verificadas as condições adequadas à colheita, proceder com os passos seguintes aplicando a ordem sequencial apresentada, conforme os parâmetros a analisar:

8.1.1.2.2 Para análise dos parâmetros chumbo, cobre e níquel

Quando aplicável, a primeira amostra de água a recolher servirá para avaliar os teores de chumbo, cobre e níquel na água estagnada na rede predial do consumidor. Para o efeito,

deve ser colhida uma amostra de água com o volume obrigatoriamente de 1 litro, procedendo do seguinte modo:

- Sem escoamento prévio, abrir a torneira e recolher o primeiro litro de água estagnada num frasco preparado especificamente para a análise destes metais. Fechar a torneira;
- Se necessário, proceder à preservação desta amostra de água seguindo as instruções dadas pelo laboratório (conforme os métodos de ensaio a utilizar).

Na colheita de amostras onde não se pretende analisar os metais chumbo, níquel e cobre na água estagnada (por exemplo, controlo de rotina 1 e controlo de rotina 2 do PCQA), esta fase não é necessária, procedendo-se de imediato à fase seguinte da colheita para análise dos parâmetros microbiológicos.

8.1.1.2.3 Para análise dos parâmetros microbiológicos

De seguida, efetuar a desinfecção da torneira e proceder à colheita das amostras para análise dos parâmetros microbiológicos do seguinte modo:

- Desinfetar a torneira fechada, preferencialmente por flamejamento ou, se não for possível, por outro método adequado utilizando uma solução desinfetante (solução de hipoclorito (ClO⁻)≈1 g/L ou álcool etílico a 70%). No caso de torneiras com boca/terminação em plástico, limpar a boca da torneira com algodão embebido na solução desinfetante e, de seguida, mergulhar a boca da torneira na solução desinfetante durante 2 a 3 minutos;
- Abrir a torneira, deixar escoar durante 5 a 10 segundos com fluxo máximo, reduzir o fluxo e deixar correr a água o tempo suficiente para eliminar a influência do desinfetante e da temperatura do flamejamento;
- Sem fechar a torneira e garantindo condições de assepsia, recolher a amostra de água em frasco estéril para a análise dos parâmetros microbiológicos. Fechar imediatamente o frasco que não deve estar completamente cheio. Agitar.

Para evitar contaminações, garantir que as mãos estão limpas e desinfetadas ou são usadas luvas esterilizadas ou descartáveis e que o frasco estéril só está aberto pelo período de tempo estritamente necessário para a colheita da amostra.

8.1.1.2.4 Para análise dos parâmetros físico-químicos e radioativos

Logo após encher o frasco estéril e sem fechar a torneira, proceder à colheita das amostras nos frascos destinados à análise dos diferentes parâmetros físico-químicos e de seguida nos frascos para os parâmetros radioativos, utilizando os frascos apropriados e seguindo as instruções fornecidas pelo laboratório responsável pelo respetivo controlo analítico. O escoamento da água deve manter-se constante durante a colheita.

Quando necessário, proceder à preservação das amostras de água, seguindo as instruções dadas pelo laboratório (conforme os métodos de ensaio a utilizar).

8.1.1.2.5 Para análise de desinfetante residual e pH (se aplicável)

Por último, proceder à determinação imediata dos parâmetros a analisar no local: o pH e o teor em desinfetante residual. Registrar o valor das determinações no local na folha de registo de colheita.

8.2 ÁGUAS SUBTERRÂNEAS

O objetivo deste capítulo é recomendar algumas metodologias a utilizar na colheita de amostras de água subterrânea.

A amostragem de água de poços/furos pode ter objetivos distintos:

1. Avaliar a qualidade da água de um aquífero;
2. Avaliar a qualidade da água do poço/furo/piezómetro;
3. Avaliar a qualidade da água tal como é usada pelo consumidor.

Para o **caso 1**, é necessária bombagem intensiva de modo a substituir a água do poço/furo/piezómetro pela água subterrânea (30 horas ou 3 tempos de renovação).

Para o **caso 2**, seguir o mesmo procedimento, indicado para o caso 1, sem bombagem intensiva.

Para o **caso 3**, a amostra deve ser colhida do próprio dispositivo (balde, p. ex.) usado pelos consumidores para retirar a água do poço/furo/piezómetro.

Caso 1

A fim de obter uma amostragem representativa num aquífero, o procedimento de colheita precisa de ser capaz de colher amostras cuja composição reflita a composição temporal e espacial da água subterrânea. Uma vez que a maioria dos pontos de colheita no aquífero são poços e furos, eles perturbam o sistema natural da água subterrânea, especialmente como resultado da indução vertical dos gradientes hidráulicos e químicos.

Em algumas situações de colheita de amostras, o material mineral pode acumular-se nos furos entre operações de colheita. Por outro lado, a água dentro da coluna de água do furo não é representativa da água do aquífero. Os furos devem ser purgados antes da colheita de amostras, pela bombagem de um volume de água 4 a 6 vezes o volume interno do furo. Em algumas situações, poderá ser necessário empregar 2 velocidades diferentes de bombagem. Poderá ser necessário um curto período de bombagem a alta velocidade para limpar o furo,

seguido de um período de baixa velocidade para conseguir uma estabilização adequada antes da colheita.

A estratificação vertical na qualidade da água subterrânea pode ser natural ou consequência de poluição. Por exemplo, a poluição difusa conduz a uma camada de água subterrânea mais poluída à superfície do aquífero saturado, os poluentes que são mais densos do que a água tendem a acumular-se na base do aquífero. Os métodos de colheita precisam de ser capazes de detetar variações verticais e em área na qualidade da água subterrânea.

O método de colheita precisa igualmente de refletir as complexidades do fluxo de água subterrânea assim como deve ter em consideração o mecanismo de fluxo do aquífero, a direção do fluxo e os gradientes hidráulicos no aquífero, que podem produzir fluxos naturais ascendentes e descendentes fortes na coluna do furo. Tradicionalmente são utilizados dois métodos comuns de colheita, colheita por bombagem e colheita em profundidade; ambos têm as suas vantagens e limitações que necessitam de ser cuidadosamente considerados quando se pretende identificar o objetivo do seu uso.

A profundidade a partir do nível do solo ou de um nível de referência a que a amostra for colhida deve ser sempre anotada.

Caso 2

Para poço/furo/piezómetro fixos com dispositivos de bombagem permanentes, colher a amostra de uma torneira desinfetada com álcool ou por flamejamento, antes do reservatório ou cisterna, nos casos em que existam.

A água de poços e furos revestidos com materiais suscetíveis de corrosão deve ser sempre abundantemente bombada antes da colheita, de modo a retirar do sistema todos os produtos de corrosão acumulados.

No caso de furos que tenham estado inativos durante algum tempo é conveniente, antes de efetuar a colheita, deixar correr livremente a água durante 15-30 minutos (consoante o tempo de inatividade), caso contrário a água colhida será apenas a da camada superficial e não será representativa.

Caso 3

As amostras devem ser colhidas com recurso aos dispositivos usados na rotina de utilização por parte do consumidor (balde, torneira ou outro) sem qualquer bombagem prévia ou renovação da água por qualquer outro meio.

8.2.1 COLHEITA COM BOMBA À SUPERFÍCIE

Este método de colheita é apenas recomendado em situações em que a qualidade da água subterrânea é verticalmente uniforme ou na situação em que apenas é requerida uma amostra composta vertical indicativa da composição média, como pode ser o caso quando se faz a colheita de água extraída do poço/furo/piezómetro para fins de abastecimento. Nestes casos, dependendo da construção do topo do poço/furo/piezómetro, a amostra de água deve ser colhida tão próximo quanto possível da saída do poço/furo/piezómetro, a fim de evitar problemas de instabilidade da amostra.

As amostras não devem ser colhidas de poço/furo/piezómetro por bombagem até que a bomba tenha trabalhado o tempo suficiente para remover a água estagnada na coluna de água do furo, para assegurar que a água fresca está diretamente a ser colhida do aquífero. O tempo de bombagem necessário pode ser calculado aproximadamente a partir da dimensão do furo, da velocidade de bombagem e da condutividade hidráulica, mas, pode ser confirmada com mais exatidão através da monitorização de quaisquer alterações registadas no pH, temperatura ou condutividade da água bombeada.

8.2.2 COLHEITA COM DISPOSITIVOS DE IMERSÃO

A colheita em profundidade consiste na imersão de um equipamento de colheita no poço/furo/piezómetro, até a uma profundidade conhecida, à qual se faz o enchimento com água, sendo depois transferido para o recipiente apropriado. Este método de colheita é normalmente adequado para usar em poço/furo/piezómetro de controlo que não estão a ser bombeados, embora amostras em profundidade possam ser colhidas dos poço/furo/piezómetro durante a bombagem se existir acesso livre junto a bomba ou acesso para uma tubagem instalada para esse fim.

Purgar o furo de modo a obter uma amostra homogénea recomendando-se que o furo seja bombado cuidadosamente antes de ser efetuada a colheita.



Figura 2 – Representação de um piezómetro e de um furo com bomba

8.2.3 COLHEITA PARA PARÂMETROS FÍSICO QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS

8.2.3.1 Colheita com Bomba

1. Registrar todas as informações sobre o local que se julguem importantes para avaliação posterior;
2. Verificar a profundidade da água dentro do furo/poço/piezómetro, utilizando uma sonda piezométrica;
3. Registrar a profundidade;
4. Com os meios à disposição tentar avaliar a quantidade de água disponível no poço/furo/piezómetro;
5. Introduzir no poço/furo/piezómetro a extensão de tubagem necessária para atingir o nível da água;
6. Bombar a água e deixar escoar durante alguns minutos de modo a eliminar a água estagnada na coluna de água;
7. Verificar a homogeneidade da amostra com a determinação da temperatura, condutividade e pH;
8. Deixar a bomba a funcionar e retirar a água para efetuar a lavagem dos recipientes de colheita;
9. Colher a amostra de água para a medição dos parâmetros no local;
10. Efetuar as medições e os respetivos registos;
11. Colher a amostra de água para os vários parâmetros a analisar (sempre em primeiro lugar para os ensaios microbiológicos seguido dos gases dissolvidos e só depois os restantes parâmetros);
12. Caso o funcionamento da bomba provoque turbulência, não se deve proceder à colheita da amostra de gases dissolvidos (exemplo oxigénio dissolvido) nem de compostos voláteis. Caso não seja possível minimizar ou anular o efeito da turbulência as amostras devem ser colhidas mas deve ser feito o registo dessa ocorrência;
13. Imediatamente após a colheita das amostras para os ensaios microbiológicos e gases dissolvidos colocar os frascos na mala térmica, fechada, com acumuladores de frio;
14. Caso não seja possível efetuar a colheita direta para os recipientes, efetuar a colheita indireta com o auxílio de um balde;
15. Após a realização da colheita das amostras para todos os parâmetros a analisar, retirar a tubagem do poço/furo/piezómetro;
16. Lavar a tubagem com água da rede;

17. Desligar a bomba;
18. Adicionar os reagentes de conservação (se aplicável);
19. Colocar as amostras na mala térmica, com acumuladores de frio.

8.2.3.2 Colheita com dispositivos de mergulho

Para este tipo de colheita de amostra existem diversos tipos de dispositivos de mergulho, por exemplo, frascos com cabo de suspensão, tubos cilíndricos (bailers), etc.

1. Verificar a profundidade da água dentro do furo/poço/piezómetro, utilizando uma sonda;
2. Registrar a profundidade;
3. Com os meios a disposição tentar avaliar a quantidade de água disponível no furo/piezómetro;
4. Mergulhar o dispositivo usado para colheita com o auxílio do cabo de suspensão;
5. Imergir o dispositivo;
6. Mover o cabo de modo a que a boca do frasco fique na posição pretendida;
7. Abrir o dispositivo puxando o cabo preso a rolha;
8. Lavar o dispositivo com água do local;
9. Repetir o procedimento e encher completamente até deitar por fora (se aplicável);
10. Lçar o dispositivo e colocar a tampa interior (se aplicável);
11. Adicionar os reagentes de conservação (se aplicável);
12. Fechar hermeticamente;
13. Guardar ao abrigo da luz e transportar em refrigeração.

Realça-se que para a colheita de parâmetros microbiológicos é necessário o uso de dispositivos estéreis, interna e externamente, e todos os acessórios envolvidos, por exemplo cordas ou cabos.

8.3 ÁGUAS DE RIOS, LAGOS E ALBUFEIRAS

O presente capítulo tem por objetivo fornecer orientações sobre as melhores metodologias e procedimentos a utilizar na colheita representativa de amostras de água em rios, lagos e albufeiras. As técnicas aqui descritas aplicam-se à colheita de amostras de água de superfície, de profundidade e amostras de água integradas.

Em certas condições, estas metodologias e procedimentos poderão ser adaptados às circunstâncias existentes, dependendo das condições dos locais de colheita, limitações dos equipamentos ou mesmo por limitações impostas pelos métodos. Todas as alterações aos procedimentos definidos deverão ser sempre registados e reportados.

A colheita de amostras nestas massas de água poderá ser diversificada e vai depender dos objetivos definidos, como por exemplo a monitorização da qualidade da água ao longo do tempo, a caracterização da água para um determinado uso, o cumprimento de objetivos e metas ambientais, a identificação de fontes de poluição ou outros tipos de fenómenos menos usuais.

Devido à grande heterogeneidade que poderá ocorrer nestas massas de água, quer na componente horizontal quer na componente vertical, a definição espacial dos pontos de colheita, deverá ter em consideração os aspetos morfológicos e hidromorfológicos das massas de água, nomeadamente a dimensão e a forma, o número de afluentes que drenam para a bacia e a sua profundidade. Deverão também ser tidos em conta, estruturas físicas criadas artificialmente, como pontes, passadiços, tomadas de água, barragens entre outros. Na figura 3 apresentam-se dois exemplos de possíveis pontos de colheita distribuídos horizontalmente na massa de água (lado esquerdo: albufeira de pequenas dimensões; lado direito: albufeira de grandes dimensões).

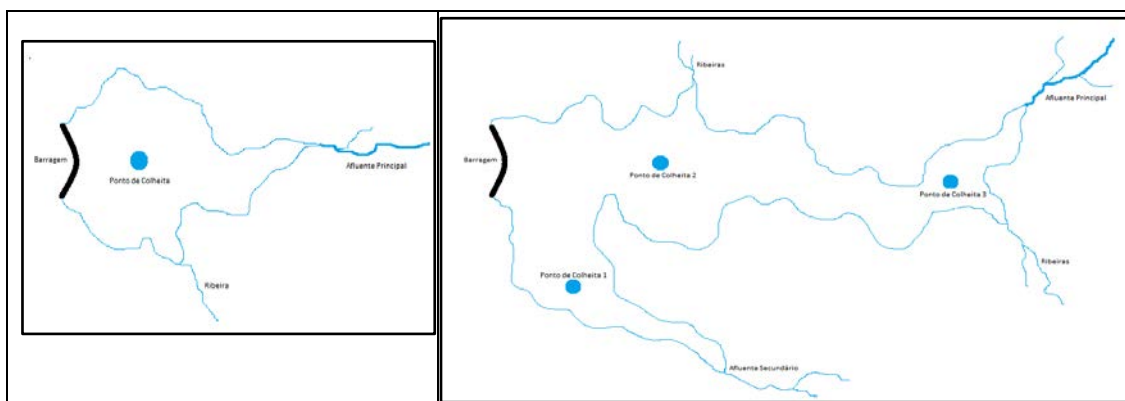


Figura 3 – Esquema horizontal de possíveis pontos de colheita de amostras de água

Um aspeto importante na colheita de amostras de água em profundidade em lagos ou albufeiras, são os fenómenos de estratificação térmica que poderão ocorrer nestas massas de água e que poderão criar estratos ou camadas de água com características físicas, químicas e biológicas diferentes. Se os pontos de colheita em profundidade não estiverem predefinidos, é aconselhável efetuar a medição de alguns parâmetros físico-químicos, tais como o perfil de temperatura e oxigénio dissolvido, ou em alguns casos a medição do pH, da condutividade e da turvação. Estes parâmetros irão permitir definir a profundidade em que ocorre a termoclina e assim estabelecer uma melhor distribuição dos pontos de colheita em profundidade. Na figura 4 apresenta-se o corte transversal de uma massa de água com os possíveis pontos de colheita distribuídos em profundidade.

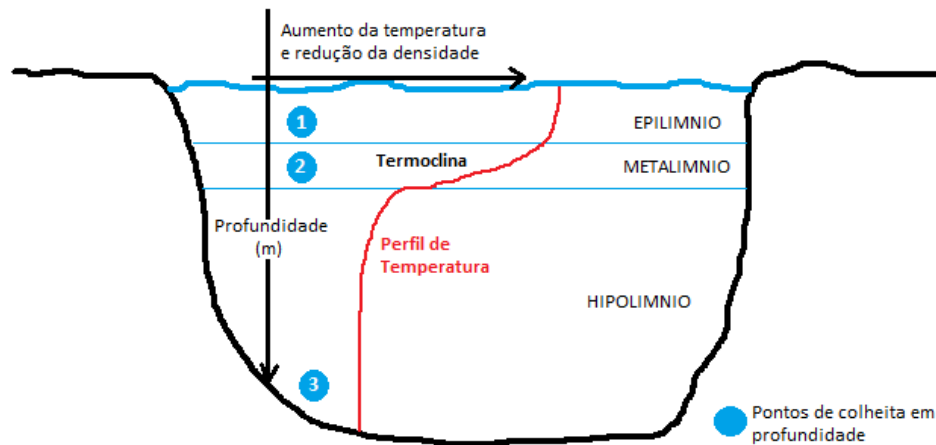


Figura 4 - Esquema vertical de possíveis pontos de colheita de amostras de água

Assim, de um modo geral, as amostras são colhidas à superfície e na zona mais central da massa de água em um ou mais pontos dependendo da dimensão da massa de água, e verticalmente serão colhidas uma ou mais amostras dependendo da profundidade da zona eufótica (epilimnio), da termoclina (metalimnio) e da profundidade máxima da massa de água.

A colheita de água à sub superfície deve ser realizada a uma profundidade de 30 cm para evitar a interferência de materiais sólidos que contaminem a amostra.

A colheita de água à profundidade máxima deve ser realizada a cerca de um a dois metros do fundo, de modo a evitar a contaminação da amostra com partículas finas de sedimentos que eventualmente possam estar em suspensão, e assim, alterar as características da água.

As colheitas de água integradas devem ser realizadas pelo menos com tomas de duas ou mais amostras discretas ou de forma contínua entre duas profundidades bem definidas. Por exemplo, a colheita de amostras integradas na zona eufótica, efetuada entre a camada superficial da coluna de água e a profundidade à qual existe penetração da luz solar necessária para a realização da fotossíntese. Convencionalmente, a zona eufótica corresponde a 2,5 vezes a profundidade de *Secchi* (*Manual para a avaliação da qualidade biológica da água em lagos e albufeiras segundo a Directiva Quadro da Água – Protocolo de amostragem e análise para o fitoplâncton, Instituto da Água, I.P., Julho, 2009*).

Os equipamentos devem ser selecionados de acordo com as melhores metodologias disponíveis em função do tipo de amostra que se pretenda colher. As amostras de água à superfície poderão ser colhidas diretamente com os próprios recipientes descontaminados e lavados de acordo com a especificidade de cada parâmetro, ou poderão ser colhidas de modo indireto com balde de plástico ou inox consoante o tipo de parâmetro a analisar. Na colheita de amostras em profundidade poderão usar-se garrafas de colheita, como por exemplo, garrafas de *Van Dorn* que são concebidas para realizar a colheita à profundidade desejada. Estas devem ter preferencialmente o corpo transparente, de forma a permitir de

uma forma rápida e expedita observar se a garrafa vem completamente cheia e se a amostra está perturbada por contacto com o sedimento de fundo. A colheita de amostras integradas pode ser realizada com o auxílio de garrafas de colheita automática destinadas a colher uma amostra ou subamostras ao longo da coluna de água, desde a superfície até à profundidade definida, ou através de amostras ou subamostras discretas colhidas com garrafas de *Van Dorn* a diversas profundidades.

8.3.1 COLHEITA COM EMBARCAÇÃO

Quando se utiliza embarcações devem-se tomar cuidados ao nível das condições de segurança dos técnicos, nomeadamente o uso de equipamento e vestuário adequado, como por exemplo, colete salva-vidas. As embarcações só deveram ser conduzidas por pessoal qualificado para o efeito.

Em qualquer ponto de colheita a embarcação deverá estar sempre que possível ancorada e posicionada no centro da massa de água o mais afastado das margens e contra a corrente. Se a embarcação utilizar motor, este deve ser desligado antes do início da colheita das amostras (ver figura 5).

Sempre que as condições da embarcação o permitam, o técnico que realiza a colheita deve posicionar-se na proa da embarcação o mais afastado possível do motor de modo a evitar a contaminação que possa ser causada por lubrificantes ou líquidos de refrigeração provenientes do motor (ver figura 5). Estas condições têm especial relevo quando se pretender colher amostras de água à superfície.

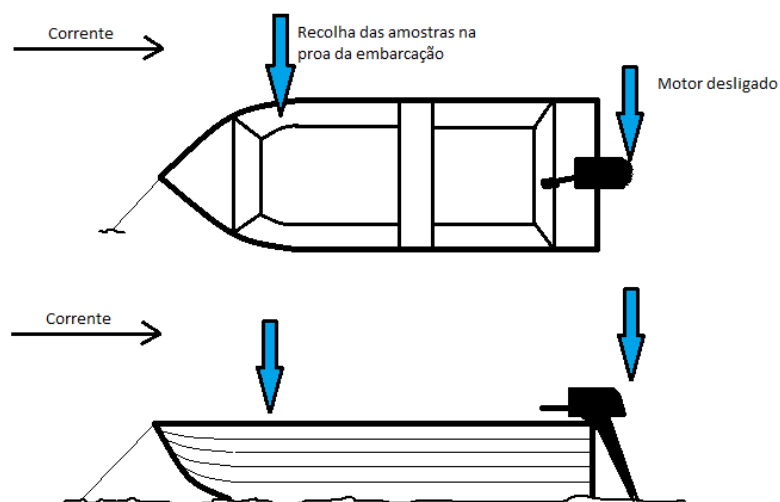


Figura 5 – Posição da embarcação e dos técnicos para uma correta colheita

8.3.2 COLHEITA SEM EMBARCAÇÃO

Quando se realiza a colheita em cima de estruturas físicas fixas, tais como pontes, passadiços, tomadas de água, plataformas ou barragens, deve-se ter em atenção a altura a que se efetua o trabalho, às condições de estabilidade da estrutura e se existe movimentação de pessoas e veículos nas proximidades (figura 6). O técnico deve escolher um local o mais afastado das margens, representativo da massa de água, e dependendo das dimensões do sistema poderá colher-se as amostras diretamente com os próprios recipientes ou poderá utilizar-se dispositivos adequados tais como varas telescópicas extensíveis ou garrafas de mergulho tipo *Van Dorn*.



Figura 6 – Alguns exemplos de estruturas fixas existentes nas massas de água

8.3.3 MEDIÇÃO DA PROFUNDIDADE DE SECCHI

Para a realização da medição da Profundidade de *Secchi*, utiliza-se um disco de *Secchi* (*DS*) como está patente na figura 7.

Proceder do seguinte modo:

1. O técnico deve colocar-se do lado do barco com sombra;
2. Mergulhar o disco de *Secchi* na água segurando na corda marcada metricamente;
3. Registrar a profundidade (metros) a que desaparece e aparece o disco de *Secchi*;
4. Considerar como uma estimativa da profundidade de *Secchi* (transparência) a média das leituras observadas.



Figura 7 – Medição da profundidade de *Secchi*

8.3.4 COLHEITA À SUPERFÍCIE

8.3.4.1 Colheita direta com os recipientes

1. Os recipientes só devem ser abertos imediatamente antes da colheita;
2. Lavar o recipiente com a água do local (quando aplicável);
3. Segurar o recipiente pela base;
4. Mergulhar com a boca virada para baixo cerca de 30 cm;
5. A boca do recipiente deve ser colocada de modo a ficar contra a corrente;
6. Debaixo de água, inverter lentamente a posição do recipiente, virando a boca para cima de modo a que fique com o gargalo ligeiramente mais alto que a base;
7. Deixar encher completamente (se aplicável);
8. Trazer o recipiente à superfície;
9. Adicionar os reagentes de conservação (se aplicável);
10. Colocar as tampas imediatamente após a colheita e fechar hermeticamente;
11. Guardar as amostras em malas térmicas refrigeradas e ao abrigo da luz.

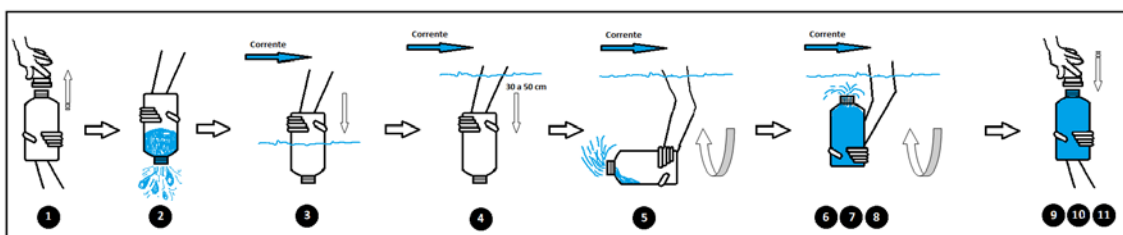


Figura 8 – Colheita de amostras diretamente com o recipiente

Esta metodologia em geral aplica-se à grande maioria dos parâmetros a analisar, embora existam casos particulares, em que se devem tomar outro tipo de medidas, e que se apresentam a seguir alguns exemplos.

No caso da colheita de parâmetros que envolvam gases dissolvidos, voláteis ou outros que estejam correlacionados com estes, devem ser cheios completamente evitando o mais possível o contacto com o ar ou a formação de bolhas de ar no recipiente, devendo estes ser fechados sempre que as condições o permitam dentro de água.

Em situações em que se pretenda colher amostras para análise de substâncias imiscíveis, tais como detergentes, hidrocarbonetos, óleos e gorduras ou outros, estes recipientes devem ser cheios abaixo do gargalo na interface ar-água da camada superficial da água.

A colheita de amostras para os ensaios microbiológicos deve ser sempre direta. Apenas em situações excecionais se pode recorrer a uma colheita indireta:

1. Desinfetar as mãos com álcool etílico a 70%, antes de dar início à colheita da amostra;
2. Colher a amostra a uma profundidade de aproximadamente de cerca de 30cm abaixo da superfície;
3. Imergir o recipiente fechado com a zona da tampa para baixo até à profundidade desejada e abri-lo inclinado;
4. Segurar o recipiente com uma das mãos e a tampa com a outra. Não deixar encher completamente o recipiente. Caso o recipiente fique totalmente cheio, deve-se remover o excedente invertendo o frasco e abrindo ligeiramente a tampa;
5. Fechar o frasco preferencialmente imerso na água;
6. Guardar ao abrigo da luz em mala térmica com os acumuladores congelados;
7. Transportar para o laboratório num período não superior a 8 horas entre o momento da colheita e a hora de entrada no laboratório.

8.3.4.2 Colheita indireta

USO DE BALDE

O balde utilizado na colheita de amostras de água poderá ser em plástico ou em aço inox, dependendo dos parâmetros que se pretendam analisar e com volume adequado à quantidade de água a recolher (figura 9).

No caso deste tipo de colheita, recomenda-se o menor manuseamento possível das amostras. Encher os recipientes por transvase direto e/ou sempre que possível encher os recipientes diretamente a partir do balde para parâmetros em que se pretenda determinar teores em gases dissolvidos ou compostos voláteis.



Figura 9 – Balde para colheita indireta de amostras

O procedimento deve ser o seguinte:

1. Lavar o balde com a água do local;
2. Mergulhar o balde evitando colher a camada superficial da água;
3. Encher o balde à profundidade desejada e emergir;
4. Lavar os recipientes com a água do local;
5. Encher os recipientes com a amostra de água do balde por transvase direto para o recipiente (no caso em que se pretenda determinar teores em gases dissolvidos ou compostos voláteis encher os recipientes mergulhando-os diretamente no balde);
6. Adicionar os reagentes de conservação (se aplicável);
7. Colocar as tampas imediatamente após a colheita e fechar hermeticamente;
8. Guardar as amostras em malas térmicas refrigeradas e ao abrigo da luz.

USO DE VARA TELESCÓPICA OU FRASCO DE MERGULHO

A vara telescópica é um dispositivo constituído por uma haste metálica extensível que sustenta numa das extremidades um copo de colheita ou em muitos casos o próprio recipiente de colheita (figura 10). O copo, normalmente em plástico, tem uma capacidade que pode variar entre 1 e 2 litros. Se a colheita for efetuada com copo ou frasco de mergulho proceder de acordo com o ponto 8.3.5 se for efetuada com o próprio recipiente, proceder de acordo com o ponto 8.3.4.1.



Figura 10 – Colheita indireta de amostras com varão extensível ou frasco de mergulho

8.3.5 COLHEITA EM PROFUNDIDADE

A colheita de amostras em profundidade é realizada de forma indireta com o auxílio de garrafas concebidas para o efeito (garrafas de *Van Dorn*), com dispositivo de fecho à distância e presas a um cabo/corda marcado metricamente para efetuar a colheita de amostras à profundidade desejada (figura 11). Estas garrafas possuem uma torneira na qual se deve acoplar um tubo ou uma mangueira de material inerte de forma a minimizar a turbulência da amostra. Na colheita de amostras à profundidade máxima deve-se ter especial atenção para que a garrafa não bata no fundo, pois pode libertar sedimentos perturbando assim a amostra. Nos casos em que a garrafa bate no fundo, levantar a garrafa cerca de um a dois metros e aguardar um tempo necessário para que haja a deposição dos sedimentos, evitando assim que a amostra venha perturbada.

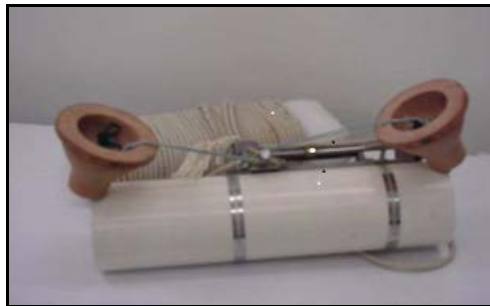


Figura 11 – Exemplo de Garrafas de *Van Dorn*

Neste caso o procedimento deve ser o seguinte:

1. Preparar a garrafa de Van Dorn, de acordo com as suas características;
2. Mergulhar a garrafa na vertical até à profundidade desejada;
3. Verificar que o cabo da garrafa se encontra na vertical;
4. Lançar o mensageiro (guia), e aguardar que a garrafa feche;
5. Içar a garrafa até à superfície;
6. Abrir a torneira e fazer uma ligeira purga para escoar a água que eventualmente possa estar no interior do tubo;
7. Lavar (quando aplicável) e encher os recipientes de acordo com a especificidade de cada parâmetro;
8. Adicionar os reagentes de conservação (se aplicável);
9. Colocar as tampas imediatamente após a colheita e fechar hermeticamente;
10. Guardar as amostras em malas térmicas refrigeradas e ao abrigo da luz.

8.3.6 COLHEITA DE AMOSTRAS INTEGRADAS

Dependendo do objetivo, a colheita de amostras integradas poderá ser efetuada de forma contínua ou de forma discreta de pelo menos duas ou mais amostras obtidas a várias profundidades. Para a colheita de amostras discretas utiliza-se, por exemplo, as garrafas de *Van Dorn* (figura 11). No caso da colheita de amostras em contínuo utiliza-se dispositivos/garrafas de colheita integrada com capacidade para serem programadas de acordo com o objetivo que se pretende (figura 12).

8.3.6.1 Colheita com garrafas de *Van Dorn*

O procedimento deve ser o seguinte:

1. Proceder de acordo com o ponto 8.3.5;
2. Encher um recipiente de 1L ou 2 L;
3. Repetir este processo tantas vezes quando as necessárias;
4. No final, juntar as várias tomas colhidas num único recipiente;
5. Homogeneizar bem e transvasar a amostra para os respetivos frascos de cada parâmetro, de acordo com a sua especificidade;
6. Adicionar os reagentes de conservação (se aplicável);
7. Colocar as tampas imediatamente após a colheita e fechar hermeticamente;
8. Guardar as amostras em malas térmicas refrigeradas e ao abrigo da luz.

8.3.6.2 Colheita com garrafas automáticas

Neste caso, proceder do seguinte modo:

1. Programar a garrafa de acordo com as suas instruções;
2. Descer a garrafa na vertical até à profundidade definida;
3. Lçar a garrafa até à superfície;
4. Abrir a torneira e fazer uma ligeira purga para escoar a água que eventualmente possa estar no interior do tubo;
5. Lavar (quando aplicável) e encher os recipientes de acordo com a especificidade de cada parâmetro;
6. Adicionar os reagentes de conservação (se aplicável);
7. Colocar as tampas imediatamente após a colheita e fechar hermeticamente;

8. Guardar as amostras em malas térmicas refrigeradas e ao abrigo da luz.



Figura 12 – Sistema automático de colheita de amostras integradas

8.3.7 PARÂMETROS BIOLÓGICOS - FITOPLÂNCTON

8.3.7.1 Determinação do número e localização dos pontos de colheita

A seleção das estações de colheita deve ser efetuada de acordo com a especificidade do elemento biológico, os objetivos da monitorização, as características morfométricas da massa de água, o regime de exploração e os recursos disponíveis.

Em lagos ou albufeiras, a colheita deve incluir sempre o ponto mais profundo (em lagos geralmente coincide com a sua área central e em albufeiras alguns metros a montante da barragem).

Em rios é frequente a realização de uma colheita sub superficial, porque habitualmente há uma boa mistura vertical, sempre em pontos a meio do rio e, se possível, também em estações localizadas junto a cada uma das margens, a montante e a jusante das fontes poluidoras. O número de amostras a colher num rio depende da extensão do mesmo, das fontes poluidoras e dos afluentes.

A colheita de amostras de fitoplâncton deverá coincidir com a colheita de amostras de água para a determinação de parâmetros físico-químicos.

8.3.7.2 Frequência de amostragem

Para a avaliação da qualidade ecológica, a frequência de amostragem recomendada para o fitoplâncton é de seis vezes ao ano, devendo coincidir uma colheita com cada período sazonal (Verão, Outono, Inverno, Primavera) e três colheitas com um intervalo mínimo de três semanas no período potencialmente crítico - de junho a setembro. A frequência estabelecida permite contemplar a variabilidade sazonal e garante uma precisão aceitável na classificação da qualidade do lago ou da albufeira. De realçar, que após enxurradas deve-se

garantir a salvaguarda de uma semana na colheita, de modo a evitar valores anormalmente elevados de concentração de nutrientes e turbidez abiogénica.

RIOS

Colheita à superfície:

1. Colher a amostra em recipiente adequado à análise a realizar;
2. Efetuar a colheita direta das amostras, a uma profundidade de cerca de 30cm da superfície;
3. No caso de não ser possível realizar a colheita direta da amostra, efetuar a colheita indireta usando um balde previamente lavado com a água do local;
4. Segurar o recipiente pela parte média, colocá-lo na horizontal, de modo a que a boca fique contra a corrente e com o gargalo ligeiramente mais alto do que a base;
5. Colher o volume necessário de amostra (evitando encher completamente, para deixar espaço para adição dos reagentes de conservação e facilitar posteriormente a agitação da amostra);
6. Guardar ao abrigo da luz e transportar com refrigeração.

LAGOS E ALBUFEIRAS POUCO PROFUNDOS

Colheita em profundidade inferior a 3 metros:

1. Colher a amostra em recipiente adequado à análise a realizar;
2. Efetuar a colheita direta das amostras a uma profundidade de cerca de 30 cm da superfície;
3. No caso de não ser possível realizar a colheita direta da amostra, efetuar a colheita indireta usando um balde previamente lavado com a água do local;
4. Segurar o recipiente pela parte média, colocá-lo na horizontal, de modo a que a boca fique contra a corrente e com o gargalo ligeiramente mais alto do que a base;
5. Colher o volume necessário de amostra (evitando encher completamente, para deixar espaço para adição dos reagentes de conservação e facilitar posteriormente a agitação da amostra);
6. Guardar ao abrigo da luz e transportar com refrigeração.

Colheita em profundidade igual ou superior a 3 metros (amostra integrada da coluna de água):

1. Com o equipamento de colheita automática de amostras compostas, obter uma amostra desde a superfície até cerca de 1 m do fundo, para evitar o levantamento de sedimentos;
2. Em alternativa utilizar uma garrafa hidrográfica. Neste caso, colher amostras discretas à superfície (cerca de 30 cm), a profundidade intermédia e a cerca de 1 m do fundo;
3. Num garrafão graduado colocar igual volume de cada amostra discreta colhida, para assim se reconstituir um perfil vertical;
4. Homogeneizar a amostra integrada;
5. Distribuir para os recipientes adequados e devidamente etiquetados o volume necessário de amostra (evitando encher completamente, para deixar espaço para adição dos reagentes de conservação e facilitar posteriormente a agitação da amostra);
6. Guardar ao abrigo da luz e transportar com refrigeração.

LAGOS E ALBUFEIRAS PROFUNDAS

Não estratificadas (amostra integrada na coluna de água):

1. Registrar os perfis de temperatura, de oxigénio dissolvido e, quando aplicável, pH e condutividade, de preferência com uma sonda multiparamétrica;
2. Do lado do barco com sombra, medir a transparência utilizando o disco de Secchi (DS). Registrar a profundidade a que desaparece e aparece o disco;
3. Estimar a profundidade da zona eufótica, que corresponde a 2,5 vezes a profundidade de Secchi (2,5 DS), medida no ponto anterior;
4. Com o equipamento de colheita automática de amostras compostas, obter uma amostra desde a superfície até uma profundidade correspondente a 2,5 DS. Quando a profundidade do lago ou albufeira for inferior a 2,5 DS, deve realizar-se a colheita integrada como indicado para massas de água pouco profundas;
5. Se se utilizar uma garrafa hidrográfica, colher amostras à superfície (cerca de 30cm), à profundidade de Secchi e a 2,5 DS;
6. Num garrafão graduado colocar igual volume de cada amostra colhida, para assim se reconstituir um perfil vertical;
7. Homogeneizar a amostra composta;
8. Distribuir para os recipientes adequados e devidamente etiquetados o volume necessário de amostra (evitando encher completamente, para deixar espaço para

adição dos reagentes de conservação e facilitar posteriormente a agitação da amostra);

9. Guardar ao abrigo da luz e transportar com refrigeração.

Estratificadas (amostras a profundidades relevantes):

1. Realizar procedimento de colheita igual ao descrito para lagos e albufeiras não estratificadas;
2. Adicionalmente ou em alternativa, colher uma amostra discreta a cada profundidade relevante, nomeadamente, superfície e no mínimo duas amostras representativas de profundidades onde tenham sido detetados gradientes nos perfis medidos. Estas amostras não deverão ser misturadas;
3. Distribuir cada amostra para recipiente adequado e devidamente etiquetado (evitando encher completamente, para deixar espaço para adição dos reagentes de conservação e facilitar posteriormente a agitação da amostra);
4. Guardar ao abrigo da luz e transportar com refrigeração.

Em todos os casos e sempre que se realize a colheita de fitoplâncton com rede, deve ter-se em conta o seguinte procedimento:

1. Utilizar uma rede de plâncton com malha de 20 µm;
2. Arrastar a rede verticalmente na coluna de água. Se a profundidade o não o permitir, arrastar a rede na horizontal;
3. Quando se obtiver um filtrado visível, colher a amostra para recipiente adequado;
4. Conservar a amostra com solução de Lugol (\pm 15 gotas para 125 mL);
5. Guardar ao abrigo da luz e transportar com refrigeração.

8.3.8 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS

A colheita de amostras para os ensaios microbiológicos deve ser sempre direta. Apenas numa situação excecional se pode recorrer a uma colheita indireta.

8.3.8.1 Colheita direta

1. Levar a mala térmica com os acumuladores congelados para o local da colheita;

2. Desinfetar as mãos com álcool etílico a 70%, antes de dar início à colheita da amostra, ou usar luvas esterilizadas;
3. Imediatamente antes de se proceder à colheita, retirar o invólucro que protege o recipiente bem como o anel de plástico, caso exista, que fixa a tampa ao recipiente;
4. Imergir o recipiente fechado com a zona da tampa para baixo até à profundidade de 30cm abaixo da superfície e abri-lo inclinado;
5. Segurar o recipiente com uma das mãos e a tampa com a outra;
6. Não encher completamente o recipiente. Caso o recipiente fique totalmente cheio, deve-se remover o excedente invertendo o frasco e abrindo ligeiramente a tampa;
7. Fechar o frasco preferencialmente imerso na água;
8. Guardar ao abrigo da luz em mala térmica com os acumuladores congelados;
9. Transportar para o laboratório num período que não ultrapasse 8 horas entre a colheita e a realização da análise ou em veículo com sistema de refrigeração que garanta uma temperatura de transporte de $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$.

8.3.9 PARÂMETROS ECOTOXICOLÓGICOS

A toxicidade pode ser avaliada através da realização de uma bateria de testes, utilizando organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos.

Para a colheita destes parâmetros seguem-se as mesmas regras gerais enunciadas para os parâmetros físico-químicos, consoante o local e método de colheita:

1. Caso o ensaio seja efetuado dentro de 24 horas após a colheita (48 horas para o ensaio utilizando a bactéria *Vibrio fischeri* – Microtox), a amostra pode ser colhida em recipiente de vidro (ou plástico);
2. Se o ensaio estiver previsto para um período superior a 24 horas após a colheita, a amostra deve ser colhida em recipiente de plástico;
3. Colher amostras pontuais;
4. Colher a amostra em recipiente com tampa de rosca (dimensão variável);
5. Efetuar preferencialmente a colheita direta, a uma profundidade entre 30 e 50 cm da superfície;
6. No caso de não ser possível realizar a colheita direta da amostra efetuar a colheita indireta usando um balde que, previamente, deverá ser lavado com a água do local;
7. Para a situação referenciada no ponto 1., encher completamente o recipiente, tapar com “Parafilm”, fechar e roscar bem a tampa;

8. Guardar e transportar em mala térmica, fechada, ao abrigo da luz e em refrigeração;
9. Para a situação referenciada no ponto 2., não encher completamente o recipiente, tapar com “Parafilm”, fechar e roscar bem a tampa.

Guardar ao abrigo da luz e transportar em mala térmica, fechada, em refrigeração até laboratório. No caso do Microtox se as análises não forem realizadas dentro de 24h ou 48h as amostras podem ser congeladas durante 2 meses.

8.4 ÁGUAS NATURAIS SALINAS

Este capítulo destina-se à realização de colheitas e preservação de amostras efetuada em água do mar sujeita a marés, como por exemplo estuários, regiões costeiras e mar aberto.

Na caracterização qualitativa de uma massa de água é necessário realizar a monitorização espacial e temporal, de modo a conhecer os efeitos das alterações climáticas, a atividade biológica, a hidrodinâmica, os efeitos antropogénicos e para prever futuras alterações.

O controlo da qualidade da água ao longo do tempo em vários locais pré-definidos, permite de forma criteriosa definir o tipo de utilização dessa massa de água, por exemplo se possui qualidade para água balnear, para constituir uma zona protegida da vida marinha, para dessalinização ou arrefecimento de unidades industriais.

8.4.1 PONTOS DE COLHEITA DE AMOSTRAS

A definição dos pontos de colheita é determinante na abordagem e interpretação dos resultados analíticos pelo que muitas vezes esta escolha deve ser baseada em estudos preliminares do local sobre qual influência de marés, ventos predominantes e descargas. Deve-se ter em atenção as distâncias entre pontos de colheita, para que dada a influência da maré, não se corra o risco de estar a amostrar a mesma massa de água em dois pontos distintos.

Normalmente, para realizar colheitas em mar aberto são utilizadas embarcações. A localização dos pontos de colheita depende da área a avaliar.

8.4.1.1 Zonas de marés

A qualidade da água em zonas de marés é fortemente influenciada pela erosão, descargas de efluentes e de rios e pelas características da maré. Como resultado as massas de águas nestas zonas apresentam características muito heterogéneas, de mistura, por vezes com um padrão de mistura que pode ser facilmente avaliado pela variação de parâmetros como a

temperatura, condutividade (salinidade), concentração de oxigénio dissolvido, turvação e concentração de clorofila.

Por vezes, a presença de um poluente é visível à superfície sendo facilmente identificável o local para a realização da colheita pretendida. Estas situações podem ainda fornecer informação sobre a dinâmica da pluma do poluente.

8.4.1.2 Zonas costeiras

Estas massas de água são fortemente influenciadas pela erosão, marés e ventos, descargas de efluentes e de rios apresentando características verticais e espaciais muitas heterogéneas.

Nestes locais, dadas as fortes influências de fatores externos, a contaminação destas zonas por poluentes, por exemplo nutrientes, está muitas vezes relacionada com outros fatores, para além da distribuição de temperatura e salinidade, o que requer uma análise mais detalhada.

8.4.1.3 Mar aberto

Nestes locais a variação da qualidade da água é menos importante, verificando grandes alterações nas zonas fronteiras de correntes verticais/horizontais e correntes de “upwelling”.

Os perfis de temperatura, salinidade e oxigénio, permitem rápida e facilmente perceber a dinâmica das regiões, permitindo a definição dos pontos de colheita adequados.

8.4.2 EQUIPAMENTOS DE COLHEITA

8.4.2.1 Frascos

É necessário evitar contaminações ou perdas de analito, por vezes em concentrações muito diminutas na água do mar, por adsorção nas paredes dos frascos de colheita, efeito particularmente importante na água salgada, devido ao seu elevado potencial iónico, em comparação com outras matrizes naturais. É dada preferência à utilização de frascos de vidro ou outro material inerte.

8.4.2.2 Amostradores

As amostragens à superfície podem, sempre que as condições de acessibilidade o permitam, ser realizadas diretamente mergulhando com o frasco na água. O frasco deve ser aberto e lavado várias vezes com água a analisar antes do acondicionamento da amostra.

Para minimizar possíveis contaminações deve-se usar luvas esterilizadas e realizar a colheita em contra corrente, contra o vento e à proa, caso se utilize uma embarcação (figura 5), de modo a evitar contaminações de óleos e tintas da embarcação.

Este tipo de colheita minimiza as eventuais perdas por adsorção às paredes interiores dos outros sistemas de colheita como:

Vara telescópica (figura 10) – este sistema permite realizar colheitas à superfície ou logo abaixo (subsuperfície)

Garrafas de colheita – podem ser garrafas de Van Dorn ou de Niskin, que são constituídas por um cilindro munido de válvulas ou tampas que permitem reter uma amostra de água a uma profundidade selecionada.

A garrafa de Van Dorn não deve usar-se quando as paredes são de PVC e se pretende colher amostras para determinar compostos orgânicos e/ou metais. No primeiro caso devido a fenómenos adsorção do PVC e no segundo caso devido à provável existência de metais neste material, que contaminam a amostra. Estas condicionantes aplicam-se às águas marítimas devido aos níveis de concentração dos poluentes a detetar serem da ordem de ultratraços.

Recomenda-se assim a utilização da garrafa de Niskin cujo princípio de funcionamento é semelhante à de Van Dorn mas de PTFE (teflon). Para se atingir concentrações de ultra traços usam-se frequentemente garrafas de Niskin agrupadas num amostrador denominado por "Rosette" que permite a colheita de vários litros de amostra. (ver figura 13).

A garrafa de Van Dorn pode, no entanto, ser usada em águas marinhas para colheita de nutrientes.



Figura 13 - Rosette

Bombas peristálticas ou centrifugas - os tubos, auxiliados por um cabo métrico são introduzidos na massa de água até à profundidade desejada da colheita, antes de colher a amostra a bomba expelle a água entretanto retida no tudo, permitindo a colheita da amostra à profundidade definida.

Este tipo de colheita de amostra é adequada à análise de analitos químicos estáveis, particulados ou dissolvidos, não é aconselhável a utilização deste sistema de colheita para a análise de compostos voláteis ou gasosos.

8.5 ÁGUAS RESIDUAIS

8.5.1 ESCOLHA DA METODOLOGIA E MATERIAL DE COLHEITA

A colheita pode ser efetuada com recurso a dois tipos de metodologias:

- a) Colheita em modo manual (balde, frasco de mergulho, haste telescópica com frasco acoplado)

Para que a mesma seja representativa da água residual a caracterizar, o seu volume não deve ser inferior a 100 mL, devendo situar-se de preferência em volumes compreendidos de 1 a 3 litros. O material de colheita deve estar limpo e ser inerte em relação ao componentes a determinar. Para a maioria dos parâmetros o frasco de colheita pode ser passado uma a duas vezes pela amostra antes da toma definitiva. São exceções a esta regra a colheita para parâmetros microbiológicos e para os parâmetros óleos e gorduras, hidrocarbonetos totais, tensoativos, pesticidas e trihalomentanos, cujas colheitas devem ser realizadas em frascos de vidro.

- b) Colheita automática - amostradores automáticos (normalmente de bomba peristáltica)

Consiste na colheita de amostras com recurso a equipamentos automáticos, alimentados por ligação à corrente elétrica ou por baterias recarregáveis. Existem diversos tipos de amostradores, podendo estes ser portáteis, fixos e/ou refrigerados, podendo estar equipados apenas para colheita baseada no tempo, dispõem de módulos de medição de caudal ou de interfaces que permitam a ligação a caudalímetros no local. Usualmente são utilizados para a colheita de amostra composta, que podem ser baseadas apenas num volume único recolhido para um reservatório comum, intervalando as frações consoante o tempo e/ou caudal ou podem as diversas frações serem recolhidas para diferentes frascos (carrocel de 24 frascos), sendo as tomas em função do caudal ou a intervalos de tempo e volume fixos.



Figura 14 – Exemplo de um amostrador automático de amostra composta

O amostrador automático deve apresentar algumas características de referência, nomeadamente deve:

- a) Ser robusto, resistentes ao vandalismo e situações climáticas e fáceis de transportar, no caso de serem portáteis;
- b) Ser fácil de programar;
- c) O tubo da receção da amostra deve ter um diâmetro interno mínimo de 9 mm;
- d) A velocidade de sucção deve ser superior 0,5m/s;
- e) A precisão e exatidão de volumes recolhidos deve ser pelo menos 5 % do volume pretendido;
- f) O intervalo entre amostras deve ser ajustado entre 5 minutos e 1 hora;
- g) Os recipientes de colheita e as tubagens de colheita devem ser de fácil desencaixe de forma a permitir a sua adequada limpeza e substituição quando necessário;
- h) Os amostradores devem ter autonomia para operar durante períodos mais longos de amostragem (diversos dias);
- i) Devem ter baixo risco de explosão, especialmente em ambientes com índices relevantes de gás metano ou solventes voláteis;
- j) Preferencialmente os amostradores devem ter a capacidade de manter as amostras entre (5 ± 3) °C.

Salientam-se ainda alguns conselhos de ordem prática na escolha dos equipamentos de colheita automática que podem ser relevantes para a operação em campo:

- k) O manual do equipamento deve ser de fácil consulta e leitura e deve estar na idioma que o utilizador dominar;

- l) A disponibilidade para fornecimentos de serviços e peças acessórias após aquisição;
- m) Os requisitos elétricos do equipamento ou de ar comprimido devem ser compatíveis com os recursos disponíveis no local.

8.5.2 DEFINIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS DE COLHEITA

A definição do programa de amostragem deve incluir a escolha do local, a frequência da colheita, identificando se a mesma é em função do tempo em função do caudal e o número de amostras a recolher, o tipo de amostras a recolher, pontual ou composta. Deve ainda identificar qual a informação que é necessário registar no **relatório de colheita**, podendo a título de exemplo referir-se que **este deve conter no mínimo a seguinte informação**:

- a) Localização ponto colheita;
- b) Identificação da amostra e/ou ponto de colheita;
- c) Tipo de colheita: manual ou automática;
- d) Frequência de colheita no caso de ser composta, identificando as horas de início e fim e o volume de cada amostra;
- e) Tipo de amostra composta: simples ou proporcional ao caudal;
- f) Resultados de ensaios de campo;
- g) Procedimentos de controlo de qualidade;
- h) Outros factos relevantes para a colheita.

8.5.3 FREQUÊNCIA E PERÍODO DE COLHEITA

A frequência de colheita e período de colheita referem-se à definição do momento/duração da colheita e respetivo número de amostras que devem ser recolhidas nesse dado período de tempo e ao intervalo de tempo entre cada fração a recolher. Em situação ideal, de forma a caracterizar a variação aleatória e sistemática de um dado caudal de água residual, seria conveniente a realização de amostragens em contínuo, contudo esta opção não é na maior parte dos casos exequível, pelo que a realização dos ensaios deve ser baseada em amostras recolhidas em intervalos regulares durante um certo período de tempo. As amostras devem ser compostas se o objetivo for a avaliação de características médias de uma dada água residual, devendo o período de controlo ser definido estatisticamente (ISO 2602, ISO 2854, ISO 5667-1) ou em legislação e licenciamentos aplicáveis.

Resumidamente:

- a) O número de amostras deve ser baseado numa amostra composta e consoante um período de tempo, devendo ser definida uma determinada frequência;

- b) A frequência pode variar, podendo ser diária, semanal ou e em dias intercalados da semana, mensal e/ou conforme a tendência (consoante a identificação da natureza e magnitude do pico existente);
- c) Devem ser registadas as horas de descarga dos efluentes no caso das indústrias;
- d) O plano de amostragem deve ser planeado com ponderação e mensalmente.

8.5.4 DURAÇÃO DO PERÍODO DE COLHEITA

Entende-se por período de colheita o intervalo de tempo durante o qual deve ser recolhida uma amostra composta. Quando se define esse período devem ser tidos em consideração os seguintes fatores:

- a) O objetivo da colheita, por exemplo se for necessário aferir cargas poluentes médias devem ser recolhidas amostras compostas de 24 horas, na qual é conveniente ter em consideração as variações diurnas ao longo dia através da toma de proporcionais ao caudal, sempre que tal seja possível;
- b) A estabilidade da amostra, devendo o período ser definido de modo que a composição da amostra em termos de matéria orgânica não sofra alterações significativas.

A duração do período de colheita pode variar de várias horas (monitorização de concentrações vestigiais de compostos orgânicos), até vários dias quando se trata de compostos inorgânicos muito estáveis. A estabilidade da amostra condiciona a duração do período de colheita, devendo ser tidas em consideração as regras de preservação adequadas para os analitos a determinar, bem como as especificidades das técnicas analíticas a serem utilizadas.

Geralmente quando se procede à colheita de águas residuais (tratadas e não tratadas) e se define o período em que as mesmas devem ser realizadas é importante ter em consideração as fontes que mais frequentemente podem afetar as variações na qualidade:

- a) Variações diurnas;
- b) Variações entre dias de uma mesma semana;
- c) Variações entre semanas;
- d) Variações entre meses e semanas;
- e) Possíveis tendências.

Se as variações diurnas ou entre dias de uma mesma semana forem pequenas ou inexistentes, então a seleção da hora do dia ou do dia da semana para realizar a colheita não é relevante, podendo ser escolhido os que do ponto de vista operacional sejam mais convenientes.

Quando se pretende a caracterização de picos de carga as tomas de amostras devem ser restritas ao período em que os mesmos ocorrem.

No caso da colheita de efluentes industriais é fundamental ter em consideração as características específicas do processo industrial que se pretende caracterizar, de forma a obter informação de possível sazonalidade ou descontinuidade das descargas (descargas por bombagens escalonadas no tempo e dependentes do processo industrial). Neste caso as descargas não são contínuas e este facto deve ser tido em consideração.

No que concerne à aferição de tendências é indispensável um planeamento cuidadoso, por exemplo, quando são detetadas tendências entre meses é adequado realizar a colheita no mesmo dia da semana, de forma a reduzir a interferência das variações diurnas ou diárias na variabilidade total.

8.5.5 SELEÇÃO DA METODOLOGIA DE COLHEITA

A escolha da metodologia de colheita está relacionada com o tipo de amostras a recolher e com a respetiva frequência e duração das colheitas. Existem dois tipos de amostras a considerar:

Amostras pontuais - São aplicáveis quando se pretende avaliar características ou o cumprimento de valores de referência que não dependam da composição média da água residual e são essenciais para certas determinações, por exemplo óleos e gorduras, hidrocarbonetos, sulfuretos, oxigénio dissolvido, cloro total /livre.

Amostras compostas - São aplicáveis quando se pretende avaliar características ou o cumprimento de valores de referência (em termos de concentração ou carga) que dependam da composição média da água residual.

As amostras compostas podem classificar-se em dois tipos:

- a) Amostras compostas simples - As várias frações que constituem uma amostra composta simples, são colhidas ao fim de intervalos de tempo iguais e têm todas, o mesmo volume. Esta amostra composta final representa a composição média de origem durante o período de colheita, somente nos casos em que a variação de caudal da massa de água é relativamente constante durante esse intervalo de tempo;
- b) Amostras compostas proporcionais ao caudal - Se a variação de caudal for significativa (superior a 15% do valor médio) deverão ser colhidas amostras compostas proporcionais ao caudal de modo a obter uma amostra representativa das condições

reais de origem (ISO 5667-2). Para a obtenção deste tipo de amostras é indispensável que durante o período de colheita exista conhecimento do perfil de caudal no ponto de colheita. Para tal, caso o sistema de colheita seja automático, o amostrador deverá estar dotado de um medidor de caudal ou ser compatível com um caudalímetro já existente no local (variável de equipamento para equipamento). As amostras compostas proporcionais ao caudal aplicam-se quando se pretende avaliar em termos de composição média, as cargas poluentes associadas a um determinado ponto de colheita (por exemplo em termos de CBO5, CQO, SST, nutrientes).

Várias amostras pontuais no mesmo período de tempo com uma determinada frequência podem gerar na sua junção uma amostra composta, simples ou proporcional ao caudal. As amostras proporcionais ao caudal podem ser obtidas recolhendo:

- a) Um volume de amostra variável, proporcional ao caudal no momento da colheita, em intervalos de tempo constantes;
- b) Frações pontuais de volume fixo, recolhidas quando uma quantidade fixa de caudal é registada no ponto de colheita.

8.5.6 MEDIÇÕES EM CONTÍNUO

As medições em contínuo são uma alternativa de análise a uma determinada colheita. Estas medições podem ser feitas no local por sondas imersas, e seguidas as orientações do laboratório e apropriadas para este efeito e/ou feitas com elétrodos/sensores de campo colocados no local. Quando seja tecnicamente viável e economicamente justificável este tipo de opção, face à enorme variabilidade da água residual, pode fornecer um conjunto de informação relevante para a caracterização da composição da AR em cada momento. Exemplos de parâmetros que podem ser medidos são o pH, temperatura, oxigénio dissolvido, sólidos dissolvidos totais, potencial redox, condutividade, salinidade, entre outros.

8.5.7 PROCEDIMENTOS DE COLHEITA POR TIPOLOGIA DE PONTO DE COLHEITA

As técnicas de colheita variam consoante a localização dos pontos de colheita a caracterizar, sendo determinante a sua correta identificação para que a amostra a recolher seja representativa. Identificam-se diversos tipos de possibilidades em termos de tipologia/localização de pontos de colheita:

- a) Efluentes não tratados no interior das indústrias;
- b) Efluentes de descargas industriais nos pontos de ligação à rede de coletores;
- c) Na rede de coletores urbanos (troços gravíticos ou com elevação de efluente);

- d) No interior das ETAR (entre fases de tratamento);
- e) No efluente final das ETAR.

8.5.7.1 Colheita de águas residuais em caixas de visita na rede de coletores, interceptores ou no interior de uma indústria

Quando se procede à colheita de amostras na rede de coletores, deve ser realizada uma avaliação prévia do sistema de drenagem através do estudo do cadastro da rede, identificando possíveis pontos de colheita. Caso necessário podem ser utilizados traçadores químicos, com vista a confirmar os dados de cadastro e ajudar à adequada definição do ponto de colheita de forma a recolher uma amostra representativa. Adicionalmente devem ser observados alguns cuidados prévios antes de iniciar a colheita:

- a) O local deve ser devidamente escolhido e limpo de resíduos depositados nas paredes;
- b) Deve ser escolhido um ponto com caudal com turbulência suficiente para garantir adequada nível de mistura da toma de amostra;
- c) Deve evitar-se locais com turbulência excessiva, dado que podem inviabilizar a estabilidade da tubagem de sucção do amostrador na massa de água, fazendo flutuar o mesmo á superfície, impedindo ou limitando a toma do volume programado;
- d) Caso o ponto de colheita disponível seja único e se caracterize por uma turbulência elevada, deve ser acoplado ao acessório de sucção um peso de forma a impedir a sua flutuação à superfície da massa de água;
- e) Deve proteger-se os equipamentos de colheita e sondas de campo por meios de dispositivos fechados para que se impeça a sua vandalização, adaptados com perfuração para passagem de tubagem e resistentes às condições climatéricas (por exemplo em contraplacado marítimo ou “casotas com porta”);
- f) Sempre que colocados na via pública, devem estar protegidos de acordo com dispositivos mencionados alínea e) e devem ser sinalizados.



Figura 15 - Exemplo de dispositivo para a alínea e)

Uma vez que os canais de efluentes são geralmente dimensionados para receber quer efluentes quer águas pluviais e/ou caudais mais elevados dos que ocorrem habitualmente em tempo seco, podem ocorrer a formação de fluxos laminares. Na ausência de uma localização com condições adequadas de mistura, estas podem ter de ser induzidas por meios artificiais, designadamente através de um deflector. Esta represa deve ser executada para que não ocorra sedimentação acima do ponto de represa. Nestas condições a localização do ponto de colheita deve ser sempre abaixo do ponto de restrição e regra geral deve estar localizado a uma distância igual a 3 vezes o diâmetro do coletor abaixo do ponto de restrição. A entrada do acessório de sucção deve estar preferencialmente voltada na direção do caudal/ fluxo de água, mas pode ser colocada na direção contrária se se verificar a ocorrência de colmatção do acessório de sucção.

Em pontos de colheita que se caracterizem por elevada quantidade de resíduos grosseiros recomenda-se a instalação de rede em aço inox de tamanho adequado, especialmente fabricada para o amostrador em causa, esta pode ainda ter a dupla função de funcionar como peso adicional.

Sempre que exequível é conveniente a definição de locais de colheita fixos, de forma a garantir condições de colheita reprodutíveis.

No que se refere à colheita de descargas de efluentes industriais, antes das mesmas serem realizadas é fundamental registar as condições de operação da indústria que possam ser relevantes para a interpretação dos resultados analíticos (taxas de processo e produção), bem como os riscos potenciais relacionados com o local de colheita (por exemplo a existência de pavimentos excessivamente escorregadios, locais pouco ventilados e/ou com atmosfera perigosa).

8.5.8 COLHEITA EM ETAR

Quando se procede à colheita de amostras no interior das Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR), estas podem ser recolhidas com o objetivo de:

- a) Caracterizar a eficiência global da ETAR, devendo ser recolhidas amostras nos pontos de entrada e saída da instalação;
- b) Caracterizar a eficiência das diversas fases de tratamento, devendo os locais ser adequadamente escolhidos entre os diversos pontos de entrada e saída de cada fase de tratamento, de forma a controlar o processo.

A colheita representativa é muitas vezes facilitada pela utilização de locais a jusante de um canal de medição. Quando se realiza a colheita à entrada da ETAR, o objetivo do programa de colheita deve ser cuidadosamente avaliado. Em algumas condições pode haver necessidade de recolher amostra de afluente num ponto de mistura com efluentes de processo recirculados, em outros casos pode ser indispensável excluir estes contributos (por exemplo na aferição dos contributos domésticos/ industriais a uma dada ETAR ou no controlo de qualidade de descarga de um dado efluente industrial).



Figura 16 – Exemplo de amostrador portátil para colheita de afluente a uma ETAR de pequena dimensão

Amostras representativas são mais facilmente obtidas com recurso a:

- Pontos de colheita, localizados abaixo de um ponto de medição de caudal.;
- Quando se pretende obter amostras de uma dada fase de tratamento, constituído por diversas linhas de tratamento do mesmo órgão, deve ter-se cuidado para escolher um ponto que seja representativo da totalidade das linhas em funcionamento e não apenas de uma parte do mesmo, a menos que o objetivo seja caracterizar uma dada linha de tratamento de forma unitária.

A localização dos pontos de colheita dentro da instalação deve ser revista com frequência adequada, de forma a assegurar que sejam tidas em consideração alterações operacionais que possam ter ocorrido. Finalmente refere-se que sempre que se efetua a colheita de águas residuais **deve ser minimizada a falta de homogeneidade da amostra devido à presença de concentrações elevadas de sólidos suspensos**, assim como **deve ser tido em atenção na colheita de efluentes industriais possíveis estratificações térmicas de diferentes fluxos de águas residuais industriais**, devendo ser adotadas medidas que permitam a homogeneização dessas estratificações antes da colheita.

8.5.9 COLHEITA QUALITATIVA

Em algumas situações pode ser necessário proceder à colheita à superfície da lâmina de água com o objetivo de obter informação qualitativa relativa aos contributos de substâncias emulsionadas ou flutuantes. São adequados para esta colheita frascos de boca larga mas devem ser seguidas as orientações do laboratório que recebe as amostras.

- A estabilidade da amostra, devendo o período ser definido de modo que a composição da amostra em termos de matéria orgânica não sofra alterações significativas;
- A duração do período de colheita pode variar de várias horas (monitorização de concentrações vestigiais de compostos orgânicos), até vários dias quando se trata de compostos inorgânicos muito estáveis. A estabilidade da amostra condiciona a duração do período de colheita, devendo ser tidas em consideração as regras de preservação adequadas para os analitos a determinar, bem como as especificidades das técnicas analíticas a serem utilizadas.

8.5.10 PRESERVAÇÃO E TRANSPORTE

A colheita de amostras compostas deve idealmente ser conduzida em condições refrigeradas, com recurso a amostradores capazes de manter a temperatura entre $5\pm 3^{\circ}\text{C}$. A forma mais comum de conservar amostras de águas residuais é a refrigeração, não podendo alguns parâmetros ser analisados se forem adicionados conservantes químicos (ex. CBO_5 , SST). Para outros analitos podem ser adicionados conservantes, devendo estas regras ser aplicadas de acordo com o método analítico. Para alguns parâmetros é possível a conservação por períodos mais longos através do congelamento a temperaturas inferiores a 18°C .

O laboratório responsável pelos ensaios deve sempre ser consultado antes do início das colheitas.

8.5.11 LIMPEZA E MANUTENÇÃO DOS EQUIPAMENTOS

O equipamento de colheita quer seja manual ou automático deve limpo com recurso a detergentes adequados e que não interferiam com os analitos a analisar. No caso específico dos amostradores e devido à existência de diversas tubagens e outros acessórios é conveniente que sejam submetidos a limpeza regular pelo menos os seguintes componentes:

- Parte exterior das tampas e caixa de suporte dos reservatórios;
- Reservatórios de colheita após cada colheita de amostra;
- Tubagem e acessórios de sucção após cada colheita (solução de água+ hipoclorito sódio e passagem abundante por água).

Recomenda-se ainda a existência de um plano de verificação periódica que compreenda:

- A verificação de fugas e eventual renovação de tubagem da bomba de sucção e de toma de amostra;
- A verificação do estado das sílicas para controlo de entrada de humidade no controlador.

8.5.12 REGRAS DE SEGURANÇA

Durante o desenvolvimento de trabalho em estações de tratamento, caixas de visita em coletores/interceptores, estações elevatórias e outras infraestruturas de drenagem e tratamento deve ter-se especial atenção relativamente a alguns **riscos associados**:

- Formação de atmosferas perigosas, devido à possibilidade de ocorrência de misturas gases explosivos;
- Risco de envenenamento e asfixia por formação de gases tóxicos (H₂S - sulfureto de hidrogénio e CO - monóxido de carbono) e ausência de O₂ – oxigénio;
- Risco microbiológico por contacto com agentes patogénicos presentes na água residual;
- Riscos de queda, afogamento, impacto de objetos.

8.5.12.1 Trabalhos em espaços confinados

Este tipo de trabalhos deve ser levado a cabo adotando as seguintes medidas:

- Monitorizar a eventual existência de atmosferas explosivas ou gases tóxicos mediante a utilização de equipamentos adequados (sensores específicos);

- Verificar o teor de oxigénio no ar (deve ser 20% (V/V) e ventilar o espaço se necessário. O trabalho deve ser interrompido e só deve ser retomado uma vez garantidas as condições adequadas;
- Caso seja necessário descer a caixas de visita ou outros espaço confinado, esta descida deve ser devidamente realizada por pessoal treinado e equipado para o efeito (máscara de respiração autónoma, luvas, capacetes, vestuário e calçado adequados) e pelo menos o seu planeamento deve ser articulado com os técnicos de Higiene e Segurança no Trabalho;
- O trabalho não se deve realizar sem uma equipa de suporte, que em caso de necessidade possa prestar socorro e esteja devidamente formada e equipada (pelo menos dois técnicos com máscara respiratória integral);
- Deve ser monitorizada a atmosfera enquanto decorre o trabalho de colheita de forma a garantir que as condições de segurança se mantêm. Caso isso não aconteça os trabalhos devem ser interrompidos até estas estarem garantidas;
- Devem ser escrupulosamente cumpridas as regras de higiene: não se deve comer, fumar ou adotar qualquer outro comportamento que possa aumentar o risco de contaminação por contacto com a água residual. Todo o equipamento/fardamento deve ser lavado e descontaminado após utilização.

8.5.12.2 Trabalhos na Via Pública

Em muitas situações é necessário o acesso a infraestruturas de drenagem e tratamento que se localizem na via pública, que devido à livre circulação de pessoas e veículos representam, a título de exemplo, os seguintes riscos:

- Queda de transeuntes em caixas de visita abertas;
- Atropelamento dos técnicos de amostragem;
- Danos dos equipamentos de trabalho ou de viaturas;
- Contacto acidental com água residual ou equipamento contaminado.

Nestas situações os trabalhos devem decorrer em articulação com as autoridades locais, devendo ser devidamente sinalizadas, através de luzes, sinais e barreiras adequadas e deve minimizar-se a sua duração.



Figura 17 – Exemplo de colheita no ponto de ligação de um efluente industrial à rede de coletores

8.6 ÁGUAS DE PROCESSO

Neste capítulo do guia pretende-se fornecer orientações úteis para a colheita representativa de amostras de água de caldeiras, torres de refrigeração, hemodiálise e águas para uso industrial.

O ponto de colheita no circuito de uma instalação deve ser definido de modo a que seja possível colher uma amostra representativa do ponto do circuito a analisar. Os pontos de colheita no circuito devem estar posicionados onde a composição ou as mudanças de composição da água ou vapor necessitam de ser determinadas. Em casos em que exista a mistura de águas de origem diferente, ou em águas sujeitas a condicionamento químico, as tomas de amostra devem estar posicionadas na zona em que a mistura seja homogénea.

A linha de colheita deve ser o mais curta possível de modo a minimizar o tempo de colheita e evitar a deposição da matéria particulada. Nas linhas de colheita deverão ser instaladas válvulas por forma a reduzir a pressão e controlar o fluxo da amostra. É importante que a montante da colheita das amostras sejam instalados medidores de caudal, de forma a permitir regular o fluxo da amostra (fluxo laminar), que não deverá ser demasiado elevado, para evitar a perturbação da amostra com ar.

As amostras de um sistema de refrigeração de uma caldeira, devem preferencialmente ser colhidas a uma temperatura na gama de 25 °C a 30 °C.

O ponto de colheita deve ser inequivocamente identificado pelo técnico de amostragem.

Devem ser utilizados recipientes em polietileno de alta densidade ou similar no caso da determinação de espécies iónicas. Recipientes em borosilicato no caso da determinação de oxigénio dissolvido ou componentes orgânicos. Os recipientes para a determinação

microbiológica devem ser estéreis. Geralmente são usados frascos de 0,5 L ou de 1 L. Sempre que aplicável, os recipientes devem ser lavados com uma solução de ácido clorídrico ou nítrico diluído, e depois passados por água desionizada.

Devem encher os frascos completamente sem bolhas de ar e fechá-los hermeticamente evitando a contaminação atmosférica (especialmente em águas ultra puras de baixa condutividade). Isto tem especial importância, quando se pretende determinar oxigénio dissolvido, hidrazina, sulfitos, dióxido de carbono, cloro residual livre, ferro (II), amónia, condutividade, pH e alcalinidade. Nestes casos, adaptar um tubo flexível de material inerte, na toma de amostra; Inserir o tubo no frasco até à base e colher a amostra; Antes da colheita, é importante verificar que a superfície exterior do tubo está limpa. Devem ser realizados ensaios em branco antes da colheita de forma a controlar a eficiência da lavagem dos recipientes.

8.7 ÁGUAS DE PISCINAS

A colheita de uma amostra de água no tanque da piscina, para análise microbiológica e/ou química, deve ser efetuada num ponto afastado do local de injeção do desinfetante e das entradas de água (onde a sua concentração seja estável), junto ao rebordo interno da piscina.

NOTA: O técnico que efetuar a colheita deve dirigir-se à zona do cais da piscina usando proteção no calçado.

8.7.1 COLHEITA PARA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Devem ser utilizados frascos, contendo tiosulfato de sódio e estéreis tanto no interior como no exterior, com um volume mínimo, por exemplo, de 500 mL para a pesquisa dos parâmetros constantes do Decreto-Regulamentar 5/97 de 31 de março.

8.7.1.1 Técnica de colheita à subsuperfície

A técnica mais comum de colheita em piscinas descrita na ISO 19458 consiste em:

1. Submergir o frasco, na horizontal à profundidade de 10 cm a 30 cm; para evitar a perda de tiosulfato, depois virar na vertical até ao volume adequado de amostra;
2. O frasco não deverá ficar completamente cheio.

NOTA: À superfície da água pode formar-se uma película gordurosa com acumulação de microrganismos como Estafilococos presentes em fragmentos de pele. Assim, a contaminação superficial pode também ser avaliada pela da água drenada à superfície.

8.7.2 COLHEITA PARA ANÁLISE QUÍMICA

8.7.2.1 Técnica de colheita para análise de parâmetros químicos de rotina (mais comuns)

1. Mergulhar o frasco de colheita de 500 mL de capacidade na vertical até cerca de 10 a 30 cm de profundidade e enxaguar;
2. Tapar o frasco e voltar a submergi-lo na vertical até à profundidade de 10 a 30 cm;
3. Destapar e encher o frasco;
4. Retirar o frasco da água e fechá-lo no exterior.

8.7.2.2 Técnica de colheita para análise de cobre

Para a determinação de cobre, o frasco de colheita contém ácido conforme descrito no Anexo A:

1. Mergulhar um frasco de 500 mL vazio, sem conservante, entre 10 e 30 cm de profundidade, abrir e enxaguar;
2. Voltar a mergulhar o frasco e encher;
3. Transferir para o frasco de colheita de 500 mL de capacidade, contendo 1 mL de ácido nítrico a 65% ácido (Anexo A), não enchendo completamente;
4. Fechar o frasco e agitar suavemente de forma a dissolver o ácido na amostra.

8.7.2.3 Técnica de colheita para análise de Trihalometanos e outros compostos orgânicos voláteis (COVs)

Usar frascos de vidro com septo de teflon (PTFE) e/ou silicone ou outro material para o qual o laboratório evidencie não existirem perdas ou contaminações. Aquando da colheita direta no meio hídrico (10 a 30 cm de profundidade), não deixar ar no interior do frasco, a menos que este seja para utilizar diretamente no equipamento cromatográfico em “espaço de cabeça”.

Com a presença de cloro livre, adicionar antes da colheita a quantidade necessária de tiosulfato de sódio pentahidratado ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ao frasco da colheita de COVs.

Colher a mesma amostra em 2 frascos no caso de ser necessário repetir a análise.

8.8 CASO ESPECÍFICO DA *LEGIONELLA*

A Legionelose é uma doença emergente, em sociedades desenvolvidas, que pode ocorrer como casos isolados ou como surto. É provocada por uma bactéria de origem ambiental cujo

nicho ecológico é a água superficial, sendo capaz de se multiplicar, sob certas condições, até níveis infecciosos para os seres humanos e penetrar por inalação no sistema respiratório, se dispersa no ar.

As bactérias do género *Legionella* multiplicam-se e são disseminadas em sistemas artificiais, ex. redes de abastecimento/distribuição de água, redes prediais, ar condicionado, sistemas de refrigeração, fontes ornamentais, piscinas e jacuzzis.

As análises de água são um método fundamental para a identificação de potenciais fontes de contaminação e infeção por *Legionella*, tendo os seguintes objetivos:

- Identificar locais críticos;
- Confirmar ou a excluir um local suspeito de ser uma fonte de infeção;
- Avaliar o risco do sistema de água;
- Distinguir entre colonização local ou de todo o sistema de abastecimento de água;
- Verificar a regulação da temperatura, pressão e fluxos no sistema de tubagens;
- Selecionar a estratégia adequada para o controlo de curto prazo de *Legionella*;
- Planificar controlo a longo prazo para toda a instalação.

Colheita para fins de monitorização de rotina para avaliação da eficácia das medidas de controlo só deve ser realizada com base numa avaliação global do risco. Embora a colheita para o controlo de rotina de *Legionella* represente apenas um aspeto do acompanhamento de um programa de tratamento de água, pode também ser útil para auditar medidas de controlo e validar programas de desinfeção. Além disso, as análises de *Legionella* podem ser efetuadas com a finalidade de detetar a origem de um surto.

8.8.1 CRITÉRIOS DE COLHEITA

Uma avaliação adequada para a *Legionella* depende de vários fatores:

- Qualidade da amostra;
- Localização dos pontos de colheita em termos da sua representatividade do sistema de água a ser testado;
- Calendário da colheita em relação às condições normais de funcionamento e medidas de controlo do sistema, incluindo o momento e os níveis de dosagem de produtos de tratamento biocidas;
- Transporte e armazenamento adequados, de forma a assegurar que a amostra seja submetida ao mínimo possível de alterações antes do início das análises.

8.8.2 SEGURANÇA

As amostras ambientais destinadas à análise de *Legionella* devem ser colhidas por técnicos com conhecimento da ecologia da bactéria e avaliação geral de risco. As pessoas que colhem amostras ambientais necessitam de treino de forma a garantir que selecionam as amostras que contêm o maior número possível de bactérias e que estão cientes do risco para si e para os outros em locais potencialmente positivos. Com base numa avaliação de risco, em algumas circunstâncias, pode ser necessária a utilização de equipamento de proteção respiratória (máscara descartável com filtro FFP3).

Indivíduos que possam ser particularmente propensos a um maior risco de infeção por *Legionella* devido a condições subjacentes a imunossupressão não devem ser envolvidos nestas operações de colheita.

8.8.3 AVALIAÇÃO DO LOCAL

É essencial efetuar um levantamento do local a ser investigado antes de colher qualquer amostra. A origem e a qualidade da água devem ser avaliadas e o local de colheita deve ser examinado para identificar a localização de todos os sistemas que utilizam essa água. Estes sistemas devem, então, ser revistos e avaliados para determinar quais os que contêm água a temperaturas suscetíveis de suportar o crescimento de bactéria *Legionella* (20°C a 50°C). Adicionalmente, devem ser considerados locais onde seja expectável um crescimento elevado de *Legionella*, onde potencialmente a água contaminada possa produzir aerossóis ou onde estes possam ser libertados para o meio ambiente. O trajeto da água através do sistema deve ser seguido desde a sua entrada até ao ponto onde é utilizada ou descarregada. Se não existir ou não estiver disponível ou atualizado um diagrama esquemático, este deve ser elaborado indicando os seguintes locais:

- Abastecimento de água, quer seja da rede pública ou fonte privada;
- Tanques de armazenamento, vasos de expansão ou de pressão, filtros e bombas;
- Filtros de amaciamento de água, outras instalações de armazenagem, de tratamento ou de aquecimento de água;
- Tipo e natureza dos materiais e acessórios, por exemplo, torneiras, chuveiros, cisternas, válvulas, radiadores e toalheiros de casa de banho ligados ao abastecimento doméstico de água e a presença de metais e plásticos;
- Torres de arrefecimento e condensadores evaporativos ou circuitos de aquecimento arrefecimento;
- Sistemas de ar condicionado ou humidificadores situados dentro do edifício que são fornecidos e armazenam água e que podem produzir aerossóis;

- Outro equipamento que contém água e que pode apresentar um risco potencial, tais como piscinas de hidromassagem, humidificadores de exibição, máquinas e ferramentas, fontes ornamentais, etc;
- Equipamento que é utilizado com pouca frequência ou não pode normalmente ser motivo de preocupação, mas apresenta apenas um risco quando o sistema é submetido a manutenção ou reparação;
- Presença de zonas mortas.

8.8.4 TIPOS DE AMOSTRAS

Dois tipos de amostras primárias devem ser colhidas para *Legionella* - amostras de água e zaragatoas de biofilme. As amostras de água capturam as formas planctônicas de *Legionella* e biofilme que tenha sido libertado. As zaragatoas capturam as formas sésseis de *Legionella* que estão associadas com biofilmes. As zaragatoas devem ser feitas antes das amostras de água, caso seja efetuada colheita de ambos os tipos de amostras no mesmo local (exceto no caso mencionado no Protocolo B adiante descrito). As zaragatoas devem ser mantidas humedecidas com água estéril ou soluto de Ringer a 1/40. Várias amostras podem ser colhidas a partir do mesmo local.

8.8.5 RECIPIENTES DE COLHEITA

O volume da amostra a ser colhida depende da natureza do sistema de água e do objetivo da avaliação. Geralmente é colhido 1 L de amostra de água, exceto se destinada a um inquérito epidemiológico em que devem ser colhidos 3 L de amostra.

As amostras devem ser colhidas em recipientes estéreis, de vidro, polietileno ou outro material similar. Se forem reutilizados, devem ser limpos, enxaguados e autoclavados a $(121 \pm 3) ^\circ\text{C}$ durante 15 min. Recipientes que não possam ser autoclavados podem em alternativa ser pasteurizados em água quente ($> 70 ^\circ\text{C}$) ou vapor por um período nunca inferior a 5 min.

Recipientes estéreis de menor dimensão podem ser utilizados para colheita de lama, depósitos, sedimentos ou biofilme, incluindo zaragatoas.

Uma vez que se trata de bactérias aeróbias deverá sempre ser deixando espaço de ar no recipiente.

8.8.6 PRECAUÇÕES DE ASSEPSIA DURANTE A COLHEITA

Deverá ser eliminada qualquer possibilidade de ocorrência de contaminação cruzada entre diferentes locais e amostras.

Com o objetivo de minimizar ao máximo a possibilidade de contaminação da amostra, devem ser adotadas todas as boas práticas associadas à colheita de amostras destinadas a análises microbiológicas.

8.8.7 MEDIÇÃO DA TEMPERATURA

A medição de temperatura deve ser efetuada com termómetro calibrado, quando o sistema se encontra a funcionar normalmente, devendo o termómetro ser colocado diretamente na água corrente.

8.8.8 COLHEITA NA PRESENÇA DE BIOCIDA

Quando presentes, os biocidas continuam a exercer a sua ação na amostra após ter sido colhida. Se a água a ser colhida contiver ou for suspeita de poder conter um biocida oxidante, antes do momento da colheita deverá ser adicionado ao recipiente um agente inativante em excesso.

Cloro, bromo e dióxido de cloro são inativados pela adição de tiosulfato de sódio. Na maior parte dos casos, 180 mg de tiosulfato de sódio pentahidratado neutraliza 1 000 mL de água contendo até 50 mg de cloro. Para biocidas que contenham prata ou cobre pode ser utilizado o agente quelante EDTA numa concentração de 10 mg/L. Nesta concentração o EDTA pode ser menos eficaz ou até ineficaz em água dura. Poderá ser adicionado tioglicolato de sódio para neutralização de iões de cobre e de prata, mas existem evidências de que este pode ter efeito inibidor nas bactérias presentes na amostra.

Deverá ser garantido que o agente neutralizante não se perde quando a colheita é feita por imersão do recipiente. Alternativamente poderá ser utilizado um recipiente de colheita estéril e posteriormente proceder-se à transferência da amostra para o recipiente que contém o neutralizante.

Após a colheita a amostra deverá ser agitada de forma a garantir que o agente neutralizante fica bem misturado com a água.

A análise deverá ser iniciada assim que possível após a receção da amostra no laboratório, preferencialmente no dia da colheita, em particular em amostras que contenham biocidas. Em circunstâncias excecionais é recomendado que o intervalo entre a colheita da amostra e a sua concentração seja de 2 dias, e não exceda os 5 dias. O tempo máximo entre a colheita da amostra e a cultura do concentrado é de 14 dias, se armazenada ao abrigo da luz e a (5 ± 3) °C.

8.8.9 COLHEITA DE ROTINA PARA MONITORIZAÇÃO DE LEGIONELLA

8.8.9.1 Sistemas de água quente e fria

As amostras devem ser representativas de cada sistema. Devem ser colhidas nos pontos terminais da rede e em pontos sentinela intermédios. O número e localização destes pontos deve ser objeto de uma avaliação de risco. A seleção dos locais de colheita depende do objetivo da colheita (monitorização de rotina ou para investigação de um surto).

Tabela 2. Pontos sentinela

Sistema	Locais de colheita
Sistema de água fria	Tanque de armazenamento. Saída mais afastada do tanque de armazenamento. Outras saídas em zonas consideradas como representando risco particular, por ex. hospitais.
Sistema de água quente	Saída da caldeira ou torneira mais próxima. Água de retorno na torneira mais próxima. Base da caldeira onde existam válvulas de drenagem. Saída mais afastada da caldeira. Outros pontos em áreas que apresentem um risco particular, por ex. hospitais.

Efetuar as colheitas de acordo com os PROTOCOLOS A e B seguintes.

8.8.9.2 Tanques e cisternas

Em cada tanque deverá ser colhido 1 L de amostra no local mais afastado possível da válvula de flutuação onde a água entra no sistema, de preferência a partir do fundo do tanque e se possível incluindo os detritos nele existentes. Medir a temperatura e o cloro residual livre.

8.8.9.3 Torneiras

Colher as amostras antes de deixar correr a água. As amostras obtidas depois de deixar correr a água podem ser uteis para determinar a carga de bactérias heterotróficas no sistema comparativamente às torneiras individuais.

8.8.9.4 Chuveiros

A maior parte da colonização destes locais ocorre na região da torneira, válvulas de mistura, tubos flexíveis e cabeças dos chuveiros. Estes dispositivos devem ser desmontados e efetuada a colheita das amostras de água e de biofilme.

Para minimizar a formação de aerossóis, e garantir que é colhida a maior quantidade possível de água, poderá ser utilizado um saco de plástico novo, o qual deverá ser preso à

volta do chuveiro. Um canto do saco deverá então ser cortado com uma tesoura pré esterilizada ou desinfetada com etanol 70%. O canto cortado deverá ser colocado junto da abertura do recipiente de colheita.

8.8.9.5 Piscinas e Spas

As amostras devem ser colhidas junto do rebordo interno, no ponto mais afastado da entrada de água na piscina.

Efetuar as colheitas de acordo com o PROTOCOLO C.

8.8.9.6 Torres de arrefecimento, condensadores evaporativos e outros equipamentos de refrigeração

A bactéria *Legionella* desenvolve-se na parte mais quente do sistema, usualmente localizada na zona do refrigerador ou outro equipamento similar utilizado para arrefecer a água. Idealmente deverá ser criado um ponto de colheita na água de retorno à torre de arrefecimento, localizado próximo da fonte de calor. Caso este local não esteja disponível, deverá ser colhida uma amostra da água do tanque, num local o mais afastado possível da entrada de água nova. Alternativamente, pode ser utilizada a válvula de descarga. Se ocorrer uma acumulação elevada de sedimentos e aconselhável que estes sejam também recolhidos.

As amostras devem ser colhidas num momento adequado relativamente à adição de biocidas, de forma a garantir que a recuperação da bactéria seja maximizada, tendo também em consideração que os valores mais elevados de *Legionella* ocorrem na água de circulação, imediatamente após as bombas terem sido ligadas.

Efetuar as colheitas de acordo com o PROTOCOLO D.



Figura 18 – Torres de Arrefecimento com tanques de condensados

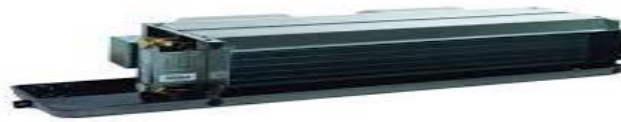
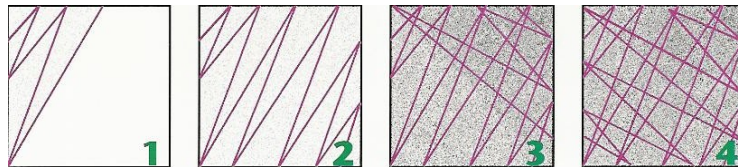


Figura 19 – Tabuleiros de condensados de sistemas de ar condicionado.

8.8.9.7 Biofilme

As amostras de biofilme podem ser colhidas com zaragatoas estéreis ou outros dispositivos que contenham uma extremidade absorvente (ex. esponjas). A zaragatoa deverá ser previamente humedecida com água estéril ou diluente. Se a superfície a examinar não se encontrar húmida, não se deverá efetuar a colheita uma vez que a bactéria é aquática e não sobrevive sem água. A superfície a amostrar deverá ser raspada uniformemente fazendo rodar a zaragatoa para que seja utilizada toda a superfície da mesma (figura 20).



1. Raspar a superfície diagonalmente de um lado ao outro.
2. Continuar a raspar até cobrir toda a superfície.
3. Raspar de novo na direção oposta.
4. Continuar a raspar até cobrir toda a superfície.

Figura 20 - Colheita com zaragatoa.

A zaragatoa deverá então ser transferida para o tubo de transporte até ao laboratório, o qual deverá conter água estéril ou solução diluente.

Nas colheitas em cisternas ou tanques, o biofilme deverá ser colhido a partir da superfície interfacial entre a água e a atmosfera, ou após abaixamento do nível da água na zona logo abaixo da linha de água, uma vez que o desenvolvimento de máximo do biofilme normalmente ocorre nesta faixa estreita. De forma a facilitar a quantificação da *Legionella*, deverá ser utilizado um modelo de delimitação de superfície estéril para que seja colhida amostra numa área conhecida.

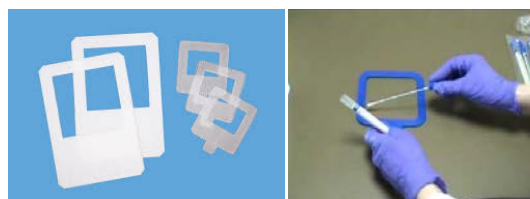


Figura 21 - Colheita com zaragatoa utilizando delimitador de superfície.

O biofilme também pode ser colhido na superfície interior de tubagens e chuveiros recorrendo a uma zaragatoa. Em alguns casos poderá surgir a necessidade de desmontar partes do sistema de forma a permitir a realização da colheita.

8.8.10 AMOSTRAS PARA INVESTIGAÇÃO DE SURTOS

Em caso de surto, a informação epidemiológica disponível no momento determina os locais onde realizar as colheitas. Dependendo da natureza e dimensão do surto, a investigação pode centrar-se e envolver um único local ou vários numa determinada região. Devem ser identificadas todas as fontes potenciais de contaminação e efetuada a colheita de amostras nesses locais. Durante um processo de investigação de um surto, todo o pessoal que realize colheitas estará potencialmente exposto a aerossóis infecciosos. Devem ser adotadas medidas de prevenção durante os procedimentos de colheita de forma a minimizar a produção e exposição a aerossóis. Todas as pessoas que apresentem maior risco de desenvolver infeção não devem ser envolvidas em colheitas associadas a investigação de surtos. Em algumas situações poderá existir a necessidade suplementar de utilização de proteção respiratória com isolamento total.

8.8.11 INFORMAÇÃO ADICIONAL

Informações adicionais devem ser reunidas para ajudar a interpretar os resultados. No mínimo, a seguinte informação deverá ser incluída no formulário que acompanha a amostra:

- Local e ponto de colheita;
- Identificação da amostra, data e hora;
- Objetivo da colheita;
- Temperatura da água;
- Biocida utilizado;
- Momento da dosagem do biocida relativamente à colheita;
- Concentração de biocida no momento da colheita;
- Quaisquer outros fatores de risco com relevância;
- Risco elevado devido à presença de nutrientes;
- Ocorrências relacionadas com o local.

Durante a colheita todos os detalhes podem ajudar na implementação de possíveis medidas corretivas devendo ser registados. Por exemplo, alterações na temperatura nos circuitos de

água, presença de sedimentos de ferro ou lamas, condição do arejador e das torneiras, ocorrência de corrosão ou incrustações e presença de acessórios de plástico e de borracha.

8.8.12 TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO

Todas as amostras devem ser transportadas para o laboratório ao abrigo da luz, isoladas e protegidas contra temperaturas extremas. A análise deve começar o mais rapidamente possível, de preferência no mesmo dia. Se a análise for adiada, as amostras devem ser armazenadas de forma a que os procedimentos de concentração e de incubação sejam iniciados dentro de 48 horas após a colheita, de acordo com a norma ISO 11731. As amostras devem ser transportadas e armazenadas a menos de 18 °C, mas não inferior a 6 °C. O armazenamento da amostra num frigorífico a temperaturas abaixo de 6 °C pode reduzir a subsequente recuperação de bactérias *Legionella* uma vez que as bactérias podem ser induzidas em um estado não cultivável. Embora *Legionella* não se multiplique de forma significativa durante este período, o organismo pode ser adversamente afetado pela presença de biocidas remanescentes na amostra. Se os biocidas são suscetíveis de estar presentes na amostra e não poderem ser neutralizados antes do armazenamento, esta informação deverá ser registada, e os tempos de transporte e de armazenamento mantidos num mínimo.

Em inquéritos epidemiológicos a amostra deverá ser guardada até 12 meses.

8.8.13 PROTOCOLOS DE COLHEITA

8.8.13.1 PROTOCOLO A – Colheita de amostras de água destinada ao consumo humano

A metodologia deve ser igual à descrita para as amostras de consumo humano colhidas em torneiras com o objetivo 3 da Norma ISO 19458.

1. Antes de deixar correr e sem desinfetar a torneira, abrir o recipiente tendo o cuidado de não tocar no gargalo e no interior da tampa;
2. Manter a tampa virada para baixo sem a pousar (se necessário, pousar a tampa em local limpo virada para cima);
3. Colher cerca de 1 000 mL de água;
4. Fechar o recipiente;
5. Efetuar a determinação do desinfetante residual e a temperatura da água.

Se o local de colheita for misto (água quente e fria) os passos 1 a 5 devem ser repetidos, começando pela água quente seguida da fria.

8.8.13.2 PROTOCOLO B – Colheita em sistemas sujeitos a medidas de controlo ou intervenção incluindo biofilme

Em locais específicos (ex. torneiras, mangueiras e chuveiros), adicionalmente pode ser colhida uma amostra de biofilme.

1. Abrir o recipiente tendo o cuidado de não tocar no gargalo e no interior da tampa;
2. Manter a tampa virada para baixo sem a pousar (se necessário, pousar a tampa em local limpo virada para cima);
3. Colher cerca de 1 000 mL de água;
4. Fechar o recipiente;
5. Fechar a torneira e raspar com uma zaragatoa estéril o interior do local por onde sai a água;
6. Abrir de novo o recipiente e inserir no seu interior a zaragatoa, tendo o cuidado de não introduzir no mesmo a extremidade da zaragatoa que esteve em contacto com as mãos;
7. Fechar o recipiente;
8. Efetuar a determinação do desinfetante residual e a temperatura da água.

8.8.13.3 PROTOCOLO C – Colheitas em Piscinas/Jacuzzis

1. Desinfetar as mãos e antebraço com álcool etílico a 70% ou utilizar luvas esterilizadas e de cano alto;
2. Selecionar um local do tanque numa zona afastada da entrada de água;
3. Abrir o recipiente junto à água tendo o cuidado de não tocar no gargalo ou no interior da tampa;
4. Manter a tampa virada para baixo sem a pousar (se necessário, pousar a tampa em local limpo virada para cima);
5. Mergulhar o recipiente com uma inclinação de cerca de 45° (boca virada para cima) até cerca de 30 cm, endireitá-lo e deixar entrar a água até encher. Para colheitas à superfície encher o recipiente fazendo movimentos circulares lentos, mantendo-o virado para a frente. Não enxaguar e não encher completamente;
6. Retirar o recipiente da água e fechá-lo de imediato;
7. Efetuar a determinação do desinfetante residual e a temperatura da água.

8.8.13.4 PROTOCOLO D – Colheitas em torres de arrefecimento

1. Abrir o recipiente tendo o cuidado de não tocar no gargalo e no interior da tampa;
2. Manter a tampa virada para baixo sem a pousar (se necessário, pousar a tampa em local limpo virada para cima);
3. Sem fazer purga colher 1 000 mL;
4. Fechar o frasco;
5. Efetuar a determinação do desinfetante residual e a temperatura da água.

9 ENSAIOS DE CAMPO

Alguns parâmetros, por imposições normativas normalmente associadas aos prazos de conservação/transporte da amostra, devem ser determinados no local. São exemplos o cloro residual livre, o oxigénio dissolvido, o pH e a temperatura. Parâmetros como o ácido isocianúrico, a condutividade e a turvação, dada a evolução de aparelhos portáteis, também poderão ser determinados no local.

A garantia da qualidade dos resultados ou mesmo a acreditação destes parâmetros poderá ser obtida pela adoção de alguns procedimentos. Recomenda-se que, no mínimo, antes de irem para o campo, os equipamentos sejam sujeitos a um padrão de verificação, que deverá ser repetido após os ensaios efetuados. De modo a garantir que o equipamento mantém um bom desempenho.

Relativamente ao pH, ressalva-se que em algumas matrizes é possível prolongar o tempo de conservação das amostras, permitindo a sua análise no laboratório. Neste tipo de situações será sempre necessário que exista um estudo comprovativo da viabilidade do prolongamento da conservação.

Neste capítulo são definidas algumas linhas orientadoras para a determinação dos referidos parâmetros com o respetivo controlo de qualidade associado cujos critérios de aceitação quando convertidos em incerteza-padrão, deverão ser coerentes com a incerteza da metodologia usada pelo Laboratório para um mesmo nível de confiança (1 sigma ou 2 sigma é a comparação mais habitual).

9.1 CLORO LIVRE E TOTAL

A determinação do cloro no local de colheita é feita com recurso a fotómetros portáteis. Estes equipamentos possuem uma calibração analítica de fábrica produzida com o reagente associado.

Os equipamentos requerem uma verificação regular de medição com recurso a padrões adequados à gama de trabalho ou por comparação simultânea de resultados com outro método de ensaio.

O limite de quantificação (LQ) deve ser testado experimentalmente.

A garantia da qualidade dos resultados, bem como a avaliação da precisão e da exatidão do método, deverão ser obtidas pela implementação do controlo de qualidade.

9.1.1 CONTROLO DE QUALIDADE RECOMENDADO

- Um branco de reagente no início da sessão de trabalho;
- Um padrão próximo do LQ por sessão de trabalho;
- Um padrão de concentração semelhante à concentração esperada para as amostras no início da sessão de trabalho;
- Um padrão SOS sempre que existam amostras na sessão de trabalho com valores de cloro muito superiores aos padrões de rotina, com concentração que enquadre esses valores;
- Um duplicado por sessão de trabalho;
- Um MRC (se existir) com periodicidade adequada à rotina laboratorial;
- Participação em EIL de campo.

Os padrões utilizados podem ser de hipoclorito de sódio. Estes padrões além de instáveis geralmente exigem a determinação prévia da concentração solução “mãe” para a sua preparação por um outro método.

Padrões de permanganato de potássio são geralmente mais estáveis e fáceis de preparar embora com tendência a produzir resultados por defeito que se agravam à medida que aumenta a concentração.

Os padrões em gel, quando existentes, são normalmente mais práticos de usar e mais estáveis.

9.1.2 MANUSEAMENTO DO EQUIPAMENTO

Recomendações úteis:

- Antes de se efetuarem medições as cuvets devem ser bem limpas por fora com papel adsorvente e macio;
- Lavar bem as cuvets com água destilada após a sua utilização;

- Não deixar as cuvetes com reagentes após a leitura, porque mancham o interior e são difíceis de remover, interferindo posteriormente nas leituras seguintes;
- Atenção ao doseamento insuficiente de reagente por obstrução no caso de uso de dispensadores, pois estes requerem uma desmontagem e limpeza regulares, seguidas de uma secagem eficiente para evitar a obstrução do bocal de saída de reagente;
- Não usar cuvetes com vidro riscado, com manchas e/ou com bolhas de ar no interior aquando da leitura das amostras, porque interferem na leitura ótica;
- As cuvetes devem ser regularmente descontaminadas por enxaguamento com ácido nítrico concentrado seguido de água desionizada.

9.2 CONDUTIVIDADE

A condutividade de uma amostra pode ser determinada no local com recurso a um condutímetro portátil.

Estes equipamentos requerem normalmente um ajuste periódico da constante da célula com recurso a um padrão definido pelo fabricante. O critério de aceitação é normalmente indicado pelo fabricante.

O limite de quantificação (LQ) deve ser testado experimentalmente

9.2.1 CONTROLO DE QUALIDADE RECOMENDADO

- Um branco de reagente no início da sessão de trabalho;
- Um padrão próximo do LQ por sessão de trabalho;
- Um padrão de concentração semelhante à concentração esperada para as amostras no início da sessão de trabalho;
- Um padrão SOS sempre que existam amostras na sessão de trabalho com valores de cloro muito superiores aos padrões de rotina, com concentração que enquadre esses valores;
- Um duplicado por sessão de trabalho;
- Um MRC (se existir) com periodicidade adequada à rotina laboratorial;
- Participação em EIL de campo.

Os padrões utilizados podem ser de cloreto de sódio ou cloreto de potássio. Estes padrões são geralmente estáveis e fáceis de preparar.

O controlo metrológico associado a estes equipamentos resume-se à calibração da sonda de temperatura.

9.2.2 MANUSEAMENTO DO EQUIPAMENTO

Recomendações úteis:

- Amostras a baixas temperaturas têm maior dificuldade em estabilizar e é preciso esperar mais tempo antes de registar a leitura;
- Ter atenção em remover qualquer bolha de ar que se forme junto da sonda.

9.3 OXIGÉNIO DISSOLVIDO

O oxigénio dissolvido deve ser medido preferencialmente no local por forma a evitar quaisquer arejamentos da amostra, usando o método de sifonagem.

Existem atualmente no mercado dois tipos de equipamentos de medição. Um usa elétrodo ótico e o outro usa elétrodo eletroquímico. Estes equipamentos permitem efetuar uma verificação analítica.

9.3.1 CONTROLO DE QUALIDADE RECOMENDADO

- Definir o ponto 100% de oxigénio dissolvido mergulhando a sonda num recipiente contendo uma esponja que deve estar saturada de água ultrapura, garantindo um ambiente de ar saturado de água por sessão de trabalho;
- Definir o ponto 0% de oxigénio dissolvido usando uma solução de sulfito de sódio por sessão de trabalho;
- Um duplicado por sessão de trabalho;
- Participação em EIL de campo.

9.3.2 MANUSEAMENTO DE EQUIPAMENTO COM ELÉTRODO DE MEMBRANA

Recomendações úteis:

- Substituir a membrana com a periodicidade recomendada pelo fabricante; Ao colocar a membrana certificar que esta fica bem esticada, sem marcas ou imperfeições visíveis e sem bolhas de ar no interior;

- Efetuar uma inspeção visual antes de efetuar medições para que seja garantido o bom estado da membrana e a ausência de bolhas de ar no interior;
- Nas medições realizadas em frasco deve-se rodar lentamente a sonda;
- Ter atenção em remover qualquer bolha de ar que se forme junto da sonda;
- Ter em atenção a estabilidade da temperatura antes de ler o valor final da medição.

9.3.3 MANUSEAMENTO DE EQUIPAMENTO COM ELÉTRODO ÓTICO

Recomendações úteis:

- Ter em atenção a estabilidade da temperatura antes de ler o valor final da medição.

9.4 PH

O pH de uma amostra pode ser determinado no local com recurso a um potenciómetro portátil.

Estes equipamentos requerem geralmente uma calibração analítica periódica com recurso a padrões definidos pelo fabricante. A avaliação da calibração é feita pela análise do pH de assimetria e do declive. O critério de aceitação é normalmente o indicado pelo fabricante.

O controlo metrológico associado a estes equipamentos apenas inclui a calibração da sonda de temperatura.

9.4.1 CONTROLO DE QUALIDADE RECOMENDADO

- Uma solução tampão de pH inferior aos valores de pH esperados para as amostras no início da sessão de trabalho;
- Uma solução tampão de pH superior aos valores de pH esperados para as amostras no início da sessão de trabalho;
- Um duplicado por sessão de trabalho;
- Um MRC (se existir) com periodicidade adequada à rotina laboratorial;
- Participação em EIL de campo.

Nota: os padrões de verificação devem ser analisados no local.

As soluções tampão utilizadas podem ser comerciais ou preparados no laboratório e na calibração analítica devem ser de origem diferente das utilizadas no controlo de qualidade.

9.4.2 MANUSEAMENTO DO EQUIPAMENTO

Recomendações úteis:

- Verificar o enchimento de eletrólito na sonda e no reservatório de repouso (também pode ser uma solução tampão de valor recomendado pelo fabricante);
- Ter atenção em remover qualquer bolha de ar que se forme junto da sonda quando estiver a efetuar medições;
- Atenção ao tempo de estabilização antes de efetuar a leitura da amostra (numa solução tampão a leitura pode ser rápida, mas numa amostra nem sempre);
- Atenção aos poros da sonda por onde passa o eletrólito. A sua obstrução pode impedir o fluxo de eletrólito e, conseqüentemente, dar origem a leituras erradas;
- Se a sonda for de enchimento, garantir que tem eletrólito pelo menos 1cm acima do nível da amostra aquando da leitura. Desse modo a evita-se o refluxo da amostra para o interior da sonda.

9.5 TURVAÇÃO

A determinação da turvação no local de colheita é feita com recurso a turbidímetros portáteis. Estes equipamentos possuem uma calibração analítica de fábrica. Esta calibração não permite a avaliação da adequabilidade das gamas de trabalho definidas ou da sua linearidade pelo que se assume que essa avaliação é feita pelo fabricante.

O limite de quantificação (LQ) deve ser testado experimentalmente.

A garantia da qualidade dos resultados bem como a avaliação da precisão e da exatidão do método deverão ser obtidas pela implementação do controlo de qualidade.

9.5.1 CONTROLO DE QUALIDADE RECOMENDADO

- Um padrão próximo do LQ por sessão de trabalho;
- Um padrão de formazina com turvação semelhante à turvação esperada para as amostras no início da sessão de trabalho em alternativa podem-se utilizar padrões de gel que cubram a gama de trabalho);
- Um padrão SOS sempre que existam amostras com valores de turvação superiores aos do padrão de rotina, com concentração que enquadre esses valores;
- Um duplicado por sessão de trabalho;
- Um MRC (se possível);
- Participação em EIL.

Os padrões em gel são uma alternativa prática e viável à utilização dos padrões de formazinha. Os seus valores de referência são determinados após a calibração analítica por valor mais provável e que devem cobrir toda a gama de trabalho.

Os padrões de formazina podem ser comerciais ou preparados em laboratório e na calibração analítica devem ser de origem diferente dos utilizados no controlo de qualidade.

9.5.2 MANUSEAMENTO DO EQUIPAMENTO

Recomendações úteis:

- Atenção às cuvetes riscadas, com manchas ou com bolhas de ar no interior aquando da leitura das amostras, porque que interferem na leitura ótica;
- As cuvetes devem ser bem limpas por fora, com papel absorvente e macio, antes de serem lidas no equipamento.

9.6 TEMPERATURA

A determinação da temperatura deve ser realizada no local de colheita, com termómetro calibrado nas gamas de temperatura usadas na rotina pelo Laboratório.

9.6.1 CONTROLO DE QUALIDADE RECOMENDADO

- Um duplicado por sessão de trabalho.

9.6.2 MANUSEAMENTO DO EQUIPAMENTO

Recomendações úteis:

- Cuidado no manuseamento do termómetro para que não caia na massa de água ou se molhe durante a medição. Certificar que a sonda do termómetro tem uma área de contacto com a amostra que seja adequada. Preferencialmente que seja pelo menos metade. O ideal será 3/4 da sonda (condição que deve ser comunicada ao laboratório de metrologia para que este realize os ensaios nas mesmas condições);
- Garantir que a medição é efetuada de estabilidade;
- Aguardar o tempo necessário até que se obtenha equilíbrio térmico entre o termómetro e a amostra antes de fazer a leitura do valor indicado.

10 CONTROLO DA QUALIDADE

O presente capítulo tem como objetivo uniformizar os critérios de atuação em controlo da qualidade para todos os laboratórios que efetuem colheita de amostras.

A fiabilidade dos resultados e a sua adequada interpretação depende da correta execução dos procedimentos de colheita da amostra ensaiada.

Recomenda-se que o controlo de qualidade associado à colheita de amostras corresponda aproximadamente a 2% das análises realizadas (ensaio em branco, replicados e amostras fortificadas).

É importante documentar todos os aspetos que influenciam o processo de colheita, nomeadamente:

- Definir o material para realizar a colheita, o tipo de frascos, o volume de amostra a colher no ponto de colheita, o método e prazo de conservação das amostras;
- Definir os cuidados a ter para a colheita de cada parâmetro a analisar;
- Definir os requisitos de lavagem e descontaminação do material;
- Definir a frequência e o tipo de controlo de qualidade a efetuar por tipo de parâmetros (brancos, amostras fortificadas, replicados);
- Demonstrar que as várias fases do processo de colheita são adequadamente controladas e de acordo com o fim a que se destinam, de forma a garantir a integridade das amostras durante o transporte desde a colheita até ao laboratório;
- Quantificar e controlar as fontes de erro que surgem na colheita.

As amostras para efeitos de controlo de qualidade da massa de água devem ser colhidas em condições normais tendo em consideração marés, descargas de rios e efluentes, a estação do ano e condições climatéricas.

Na definição da frequência de colheita para controlo de qualidade, deve ser tido em consideração a utilização e o período de utilização dessas massas de água. Por exemplo, as águas balneares devem ter uma monitorização mais frequente no período mais intenso de utilização.

A análise estatística dos dados deve ser feita de forma simples assumindo que as variáveis são independentes, aleatórias e apresentam uma distribuição normal.

A utilização de replicados de amostra pode revelar pequenas diferenças entre amostras dada a variação espaço temporal existente.

O número de amostras a analisar deve ser avaliado de modo a obter um programa eficaz, quer na distribuição espacial de pontos a considerar, quer na frequência de colheita.

10.1 CONTROLO DE QUALIDADE INTERNO (CQI)

Define-se como CQI as ações de controlo de qualidade cuja implementação depende do nível de qualidade pretendido e dos meios do laboratório.

As técnicas de controlo de qualidade interno mais usuais são as seguintes:

- Brancos de Campo – Para monitorizar as fontes de contaminação da amostra;
- Replicados – Para controlar a precisão da colheita;
- Amostra fortificada ou ensaios de recuperação – Para avaliar a exatidão do processo de colheita, transporte e armazenamento.

10.1.1 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS

No caso dos parâmetros microbiológicos recomenda-se:

10.1.1.1 Teste de Esterilidade de Frascos de Colheita

O laboratório deve realizar o controlo de esterilidade dos frascos comprados e dos frascos preparados no laboratório. Deve ser realizado um por lote de esterilização.

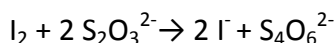
O critério de aceitação recomendável é a ausência de microrganismos.

10.1.1.2 Teste do Teor de Tiosulfato em Frascos de Colheita

O Tiosulfato de Sódio, utilizado em frascos de colheita para águas tratadas, é um agente de inativação do desinfetante que neutraliza qualquer halogéneo residual e previne a continuação da ação bactericida durante o transporte da amostra.

O laboratório deve realizar um teste por lote de frascos adquiridos ou por lote de reagente se preparado no laboratório.

A título de exemplo, para a realização deste teste pode ser usado o método iodométrico seguinte:



Deve-se adicionar 10 mL de água destilada no frasco de colheita e titular com solução de iodo (0,05 mol/L), usando amido ou tiofeno como indicador.

Recomenda-se que o critério de aceitação seja definido pelo laboratório com base na sua rotina (critério inicial 20%).

DETERMINAÇÃO DO TÍTULO DO IODO

1. Pesam-se 1,581 g de tiosulfato de sódio que se transferem para um balão de 1 000 ml e perfaz-se o volume com água destilada;
2. Retira-se com uma pipeta 10 ml (a) da solução para um matraz e adicionam-se cerca de 100 ml de água destilada;
3. Adiciona-se cerca de 1 mililitro de indicador de cozimento de amido (pesar 0,4 a 0,6 g de amido solúvel e dissolver para um volume final 100 ml, ferver durante alguns minutos e deixar repousar durante 12 horas. Decantar e colocar 4 gotas de clorofórmio para conservar. Guardar em ambiente refrigerado);
4. Titula-se a solução com iodo até viragem para ligeira coloração azul e regista-se o volume de titulante (b) gasto. Com base neste volume calcula-se o título do iodo (titulante).

Nota: A aferição do título deve ser efetuada sempre que são feitos ensaios.

QUANTIFICAÇÃO DO TIOSSULFATO DE SÓDIO NOS FRASCOS DE COLHEITA

1. Adiciona-se cerca de 50 ml água destilada aos frascos de 250 ml, cerca de 100 ml aos frascos de 500 ml e cerca de 200 ml aos frascos de 1000 ml;
2. Colocam-se os frascos a agitar durante cerca de 30 min.;
3. Adiciona-se 1 ml de indicador;
4. Titula-se com uma solução de iodo de título conhecido (aproximadamente 0,01N) até ligeira coloração azul;
5. O volume de titulante gasto deve ser anotado.

Nota: O Laboratório deverá definir o critério de aceitação do teor de tiosulfato de sódio presente nos frascos de colheita de amostras.

10.1.1.3 Controlo de resíduos inibidores

A toxicidade residual em recipientes de colheita podem ter origem no processo de lavagem do material, ou da libertação de componentes ou aditivos do material de plástico e também e também devido ao processo de esterilização.

O controlo de resíduos inibidores deve ser realizado nos frascos de colheita e recomenda-se que seja um controlo por lote.

Recomenda-se que o critério de aceitação seja o de ausência de substâncias que evidenciem a inibição do crescimento de microrganismos.

10.1.1.4 Brancos

O modo de proceder encontra-se esquematizado na figura 22 e consiste no seguinte:

1. No laboratório transferir uma amostra de água desionizada estéril, para dois frascos de colheita (F1 e F2), destinados a análise microbiológica;
2. Um dos frascos deve ser retido no laboratório para análise (F1=Branco de material);
3. O outro frasco (F2) deve ser transportado para o campo e, no local de colheita, transferir toda a amostra para um terceiro frasco de colheita (F3);

A amostra deve ser manuseada como se de uma amostra real se tratasse (usar o mesmo tipo de frascos de colheita, a mesma técnica de manuseamento, transporte, conservação e armazenamento de amostras).

4. Transportar este até ao laboratório e analisar (F3=Branco de campo);

O critério de aceitação recomendável é a ausência de microrganismos.

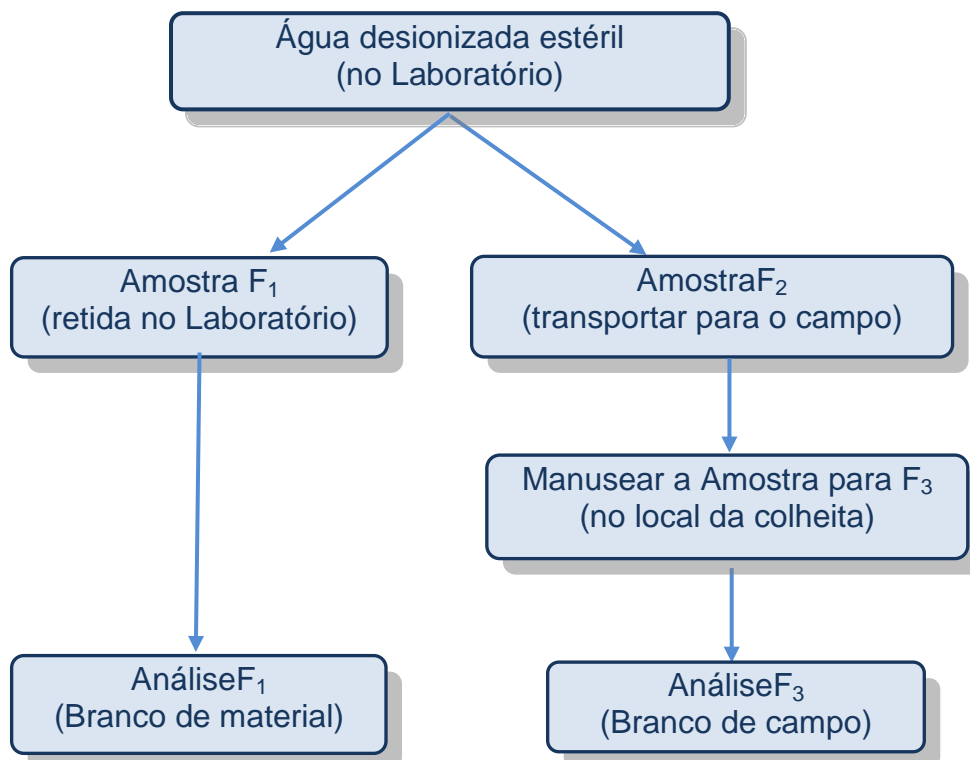


Figura 22 - Análise de brancos – Microbiologia

10.1.1.5 Replicados

Poderá ser realizada para o parâmetro Nº Total Colónias a 22 e 36 °C.

A frequência da realização de replicados deverá ser definida internamente pelo Laboratório com base no tipo de matriz.

10.1.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

No caso dos parâmetros físico-químicos, recomenda-se:

10.1.2.1 Brancos

O branco de campo deverá ser manipulado no local da colheita de forma a simular a colheita de uma amostra, utilizando os mesmos meios e mesmas condições de colheita. Podem ainda efetuar-se brancos para controlo de vasilhame (branco retido no laboratório) e brancos de transporte.

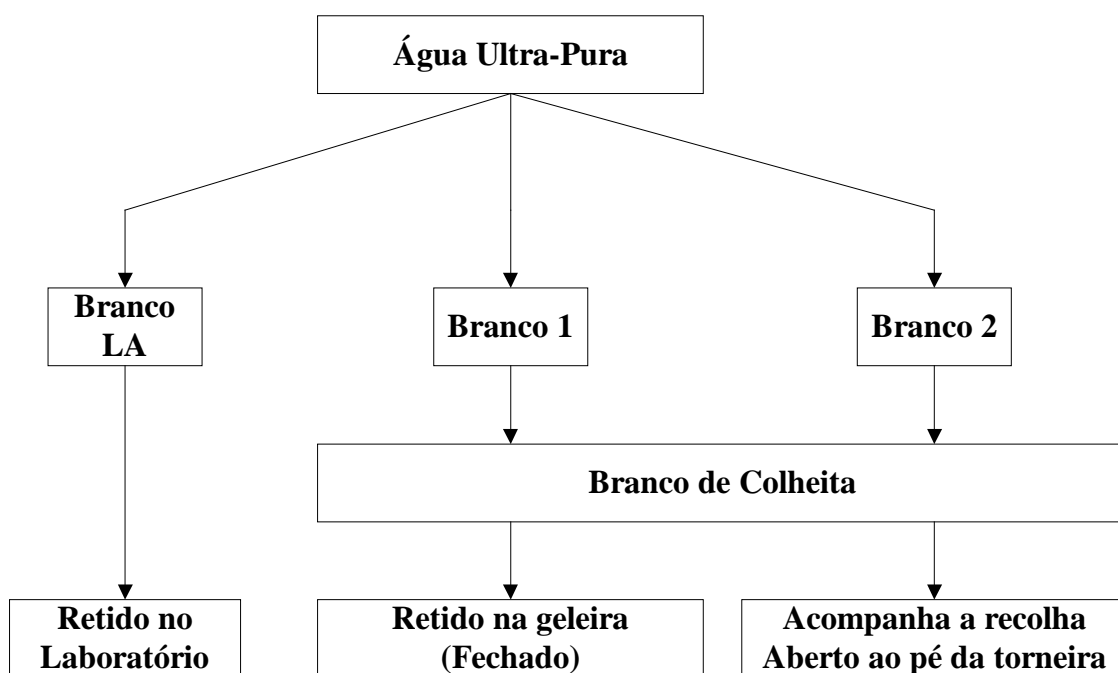


Figura 23 – Análise de Brancos – Físico-Química

Uma amostra fica retida em laboratório e as outras duas seguem até ao ponto de colheita. Destas últimas uma é retida sem manuseamento e a outra é tratada segundo os procedimentos de colheita estabelecidos para o ensaio.

Analizam-se as três amostras na mesma sequência analítica.

A comparação dos resultados do Branco do laboratório e do Branco 2 de Colheita identifica erros associados ao processo de colheita, manipulação, transporte e armazenamento das amostras.

A comparação dos resultados do Branco do laboratório e do Branco 1 de Colheita identifica erros associados ao transporte a armazenamento das amostras.

A comparação dos resultados do Branco 1 e 2 permite identificar erros associados a contaminações atribuíveis aos recipientes ou no processo de colheita e preservação de amostras.

A frequência de realização de brancos deverá ser definida internamente pelo Laboratório com base na frequência e volume dos parâmetros ensaiados, fatores ambientais, tipo de matriz e por parâmetro/grupo de parâmetros e probabilidade de contaminações.

O ensaio em branco no controlo de qualidade de colheita não se justifica para parâmetros com resultados sistematicamente inferiores ao LQ.

Recomenda-se que o resultado do ensaio seja inferior ao LQ estabelecido no método de ensaio para esse parâmetro.

10.1.2.2 Replicados

A realização de duplicados de colheita permitirá controlar o processo de avaliação da variabilidade da colheita.

A frequência de realização de replicados de colheita deverá ser definida internamente pelo Laboratório com base no tipo de matriz, na frequência e volume dos parâmetros a ensaiar. O ensaio em duplicado no controlo de qualidade da colheita não se justifica para parâmetros com resultados sistematicamente abaixo do LQ.

O controlo de qualidade de duplicados será efetuado na colheita para análises físico-químicas a parâmetros analisados no laboratório e aceites segundo os critérios do laboratório.

São realizadas réplicas de colheitas de amostras, no mínimo de duas colheitas independentes (A1 e A2), que podem ser:

- Duplicados, quando realizadas pelo mesmo técnico;
- Paralelos, quando realizadas por técnicos distintos, de acordo com o seguinte esquema:

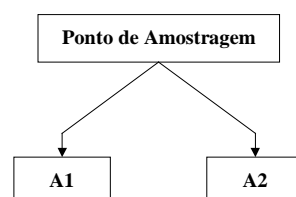


Figura 24 – Análise de Replicados

Esta técnica permite avaliar o erro aleatório associado a todo o processo de amostragem (inclui colheita, recipientes, conservação, armazenamento e análise).

O critério de aceitação deve ser definido pelo laboratório (exemplos: através de cartas de aceitação, valor da incerteza do método majorada de 10%).

10.1.2.3 Amostras fortificadas (Spikes)

O uso de amostras fortificadas na colheita permite avaliar a estabilidade das amostras e das condições de transporte.

Os ensaios de recuperação no controlo de qualidade da amostragem justificam-se para os parâmetros suscetíveis de sofrerem alterações ou perdas durante o processo de amostragem (por exemplo, COV, metais vestigiais e nutrientes).

Poderão também ser efetuados no laboratório dividindo em duas partes a amostra/branco reforçado, ficando uma parte no laboratório preservada nas condições do método de ensaio e outra transportada para o local de colheita, onde é manipulada, sendo os resultados das duas partes comparados.

Analisam-se as amostras na mesma sequência analítica

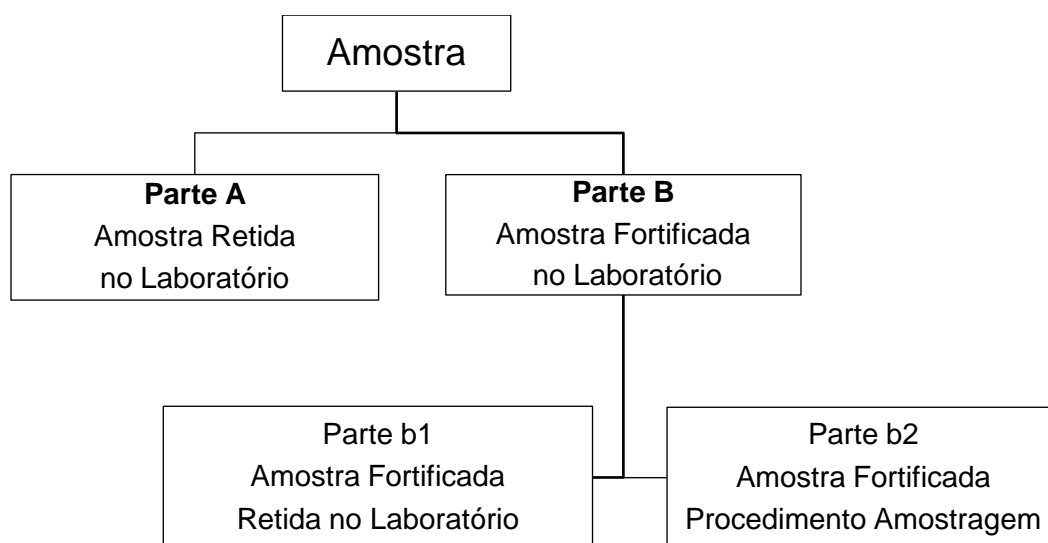


Figura 25 – Análise de Amostras Fortificadas

A comparação dos resultados da parte A com a parte b1 permite identificar os erros associados ao processo de colheita, manipulação, transporte e armazenamento das amostras.

Esta técnica permite avaliar a estabilidade da amostra durante o transporte e seu armazenamento.

Permite identificar erros sistemáticos do processo de amostragem tais como a contaminação dos recipientes de colheita e erros devido à instabilidade e contaminação da amostra, incluindo perdas por volatilização, absorção e fatores biológicos.

O critério de aceitação deve ser definido pelo laboratório (por exemplo através de cartas de aceitação).

10.2 CONTROLO DE QUALIDADE EXTERNO (CQE)

Define-se como CQE as ações de controlo de qualidade efetuadas pelo Laboratório, mas cuja realização depende de uma participação exterior ao Laboratório.

Estas ações têm como objetivo, sempre que aplicável, avaliar o seu desempenho na colheita de amostras através da participação em ECI.

10.2.1 FONTES DE ERRO

As fontes de erro incluem:

- Contaminação de recipientes de colheita – causada pelo material e equipamento de colheita, pela contaminação cruzada entre amostras, pela preservação da amostra e inapropriada conservação e transporte das amostras;
- Contaminação das malas térmicas;
- Instabilidade da amostra / analito – O tipo de recipientes de colheita usados pode afetar a estabilidade das determinações entre a colheita e análise, devido à inerente instabilidade da amostra e às condições de conservação e transporte;
- Preservação Incorreta – A escolha dos recipientes da amostra e a sua integridade afetam a determinação e a opção da preservação deverá ser avaliada, segundo a ISO 5667-3;
- Colheita Incorreta – Os desvios ao procedimento de colheita podem ser uma fonte de erro;
- Colheita a partir de massas de água não homogéneas;
- Transporte da amostra. Para os parâmetros cuja técnica de preservação das amostras seja a refrigeração, deverá ser efetuado um controlo da temperatura das amostras, de forma a evidenciar que estas chegam ao laboratório a uma temperatura não superior à colheita.

11 PRESERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS

Orientações Gerais

No presente capítulo todos os termos e definições referidos se encontram de acordo com a norma ISO 5667-3- *“Water Quality Sampling-Preservation and Handling of Water Samples”*, designadamente no que concerne a Integridade, Preservação, Tempo de armazenamento de amostra. Está excluído do seu âmbito, amostras para determinação de parâmetros ecotoxicológicos, ensaios biológicos e ensaios passivos, conforme especificados na norma ISO 5667-23, bem como ensaios microbiológicos conforme especificados na norma ISO 19459. O presente capítulo destina-se sobretudo à definição de procedimentos adequados de conservação, transporte e armazenamento de amostra pontuais ou compostas que não possam ser analisadas no local de colheita e aplica-se a amostras de água de diferentes matrizes para diversos parâmetros. Poderão para algumas situações existirem procedimentos diferentes para a conservação de uma dada amostra/parâmetros. Nestes casos considera-se que onde existe uma norma de referência internacional para a realização de um dado ensaio, os procedimentos aí indicados devem ser aplicados. Contudo os procedimentos descritos na ISO 5667-11 podem ser uma alternativa. Sempre que não estejam definidos no referencial normativo aplicável ao ensaio, os procedimentos de conservação ou que não exista outro referencial internacional aplicável, os definidos no presente capítulo podem ser considerados.

O processo de preservação, transporte e armazenamento de uma amostra envolve diversas fases. Durante este processo a responsabilidade pela amostra pode sofrer alterações. Assim, todos os passos devem ser registados por forma a garantir a integridade e rastreabilidade das amostras, respeitando o plano de colheitas traçado, o qual deve definir claramente a cadeia de responsabilidades relativa à colheita. As variáveis que devem ser tidas em consideração são as seguintes.

11.1 MATERIAL, EQUIPAMENTO DE COLHEITA E REAGENTES DE CONSERVAÇÃO

11.1.1 MATERIAL E EQUIPAMENTO DE COLHEITA

A escolha de material/frascos de colheita é da maior importância e deve ter em consideração o previsto na ISO 5667-1, devendo este ser adequado para garantir a conservação das propriedades naturais da amostra e dos prováveis contaminantes/componentes da mesma. É importante ter em consideração quer o material do frasco quer da tampa, sendo preferível, sempre que possível a utilização de material descartável, em especial se for fornecido com um certificado de descontaminação/limpeza por parte do fabricante. Material com estas características não necessita de ser lavado antes de ser utilizado. Existem diversos tipos materiais disponíveis

Tabela 3 - Resumo dos diferentes tipos de material

SIGLA	MATERIAL
FEP	Perfluoroetileno/propileno
PE	Polietileno
PE-HD	Polietileno de alta densidade
PET	Polietilenotereftalato
PFA	Perfluoroalquiloxi
PP	Polipropileno
PTFE	Polifluoroetileno
PVC	Cloreto de polivinilo

11.1.2 REAGENTES DE CONSERVAÇÃO

A preparação dos reagentes para conservação deve obedecer a um conjunto de regras bem definidas de acordo com os requisitos da amostra e parâmetros a serem analisados, de uma forma geral a preparação e controlo do reagentes para conservação deve caracterizar-se por:

- Grau de pureza mínimo Pró-análise;
- Identificados com prazo de validade (“Shelf-Life”), data após a qual devem ser descartados;
- Testes de despiste periódicos aos reagentes de conservação, mediante a realização de ensaios em branco;
- Devem ser guardados em local seguro e limpo, separadamente do restante material e outros equipamentos de colheita, para evitar contaminações e deterioração;
- Ácidos do tipo comercialmente disponíveis como “ácidos concentrados”;
- Água com grau de pureza ISO 3696-grau 2.

Devem ser tidas em consideração as fichas de dados de segurança (FDS) de cada reagente por forma a evitar a ocorrência de acidentes no seu manuseamento

Tabela 4 – Reagentes de Conservação

Reagentes Sólidos (RS)	Soluções (SL)
RS-1. Tiossulfato de sódio pentahidratado > 99%	SL-1 Acetato zinco (10 g/l) (dissolver 10,0 g em 100 ml de água. Guardar a solução em frasco de polipropileno ou vidro pelo período máximo de 1 ano)
RS-2. Ácido Ascórbico > 99%	SL-2 Ácido Ortofosfórico $d(1,7 \text{ g/ml}); w(\text{H}_3\text{PO}_4) > 85\%$; $c(\text{H}_3\text{PO}_4)=15 \text{ mol/l}$
RS-3. Hidróxido Sódio > 99%	SL-3 Ácido Clorídrico $d(1,2 \text{ g/ml}); w(\text{HCl}) > 36\%$; $c(\text{HCl})=12,0 \text{ mol/l}$
RS-4. Tetraborato sódio decahidratado > 99% (#)	SL-4 Ácido Nítrico $d(1,42 \text{ g/ml}); w(\text{HNO}_3) > 65\%$; $c(\text{HCl})=15,8 \text{ mol/l}$
RS-5. Hexametilenotetramina (urotropina, hexamina) > 99%	SL-5 Ácido Sulfúrico $d(1,82 \text{ g/ml}); w(\text{H}_2\text{SO}_4)$ preparados de fresco. Dissolver ácido sulfúrico concentrado ($\rho 1,84 \text{ g/ml}; w(\text{H}_2\text{SO}_4) 98\%$) na proporção 1+1, através da adição de ácido concentrado a igual porção de água (#3)
RS-6. Iodeto Potássio > 99%	SL-6 Hidróxido Sódio
RS-7. Iodo > 99%	SL-7 Solução de formaldeído (formalina); $\text{---}(\text{CH}_2\text{O})= 37\%$ a 40% preparado de fresco (#2)
RS-8. Acetato Sódio > 99%	SL-8 EDTA > 99% (dissolver 25 g de EDTA em 1 000 ml de água.
RS-9. Etilenodiamina > 99%	SL-9 Etanol $\text{---}=96\%$
-	SL-10 Solução alcalina de Lugol (100 g de iodeto de potássio, 50 g de iodo e 250 g de acetato de sódio em 1000 ml de água até pH 10.
-	SL-11 Solução ácida de Lugol (100 g de iodeto de potássio, 50 g de iodo e 100 ml de ácido acético glacial em 1 000 ml de água até pH 2.
-	SL-12. Solução neutralizada de formaldeído-solução de formaldeído neutralizada com tetraborato de sódio ou hexametilenotetramina. A solução de formalina a 100 g/l dá uma solução final de $\text{---}= 3,7\%$ a 4,0% (#2)
-	SL-13 Solução etanol (etanol, solução de formaldeído e Glicerol na proporção em volume 100+2+1)
-	SL-14 Hipoclorito sódio $w(\text{NaOCl}) = 10\%$ (dissolver 100g de NaOCl em 1 000 ml água).
-	SL-15 Iodeto potássio $w \text{ KIO}_3 = (10\%)$ (dissolver 100 g de KIO_3 em 1 000 ml de água).
-	SL-16 Ácido metanóico (ácido fórmico) $\text{---}(\text{CH}_2\text{O}_2) > 98\%$
-	SL-17 Ácido acético glacial $w(\text{CH}_2\text{H}_4\text{O}_2) > 99\%$
-	SL-18 Glicerol (glicerina) $\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$

Notas Risco/Segurança

(#1) Carcinogénico, mutagénico.

(#2)-Vapores de formaldeído são tóxicos. Não deve acondicionar-se muitas amostras em pequenas áreas de trabalho.

(#3)- A reação do ácido sulfúrico com a água é fortemente exotérmica.

11.2 COLHEITA DA AMOSTRA

Deve prever:

- A Identificação da amostra com: data, hora, local, código, nº e descrição da amostra, informação de conservação, informações relativas a armazenamento da amostra, entre outros dados relevantes de forma a serem únicas.
- A filtração “in situ”- algumas amostras têm necessariamente de ser filtradas em campo:
 - Águas subterrâneas, para determinação de metais dissolvidos;
 - Águas, para a determinação dos ensaios especificados no anexo I e II. Caso não haja especificações técnicas em contrário, devem ser utilizados filtros com diâmetro de poro entre 0,40 e 0,45 µm;
 - Caso a filtração “in situ” seja impossível deve ser identificada e registada, no relatório de ensaio a razão para tal.

11.3 ENCHIMENTO DO RESERVATÓRIO

- O reservatório/frasco deve ser completamente preenchido com a amostra, a menos que seja dada indicação diferente nos quadros em anexo I e II;
- Se as amostras tiverem de ser congeladas os frascos não deve ser completamente cheios, para evitar que os mesmos se quebrem devido à expansão do gelo dentro do reservatório;
- Caso o reservatório não contenha nenhum conservante, o mesmo deve ser previamente passado por água. Esta passagem prévia por água deve ser efetuada de acordo com o indicado na ISO 5667-14.

11.4 MANUSEAMENTO E CONSERVAÇÃO DA AMOSTRA PARA ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Amostras de águas naturais, subterrâneas ou residuais, pelas suas especiais características, podem sofrer significativas alterações entre o momento da colheita e da análise se não forem adotados procedimentos de conservação adequados (tipo de material, conservação ao abrigo da luz, temperatura de transporte, agitação durante o transporte, entre outros cuidados). A extensão e velocidade das alterações, pode variar, não só entre tipo de amostras de água, como dentro do mesmo tipo de água em função de variações sazonais. Estas alterações ocorrem frequentemente em curtos espaços de tempo, motivo pelo qual é vital que sejam adotadas medidas de conservação adequadas desde a preparação da colheita e logo após o final da mesma

Existem diversos fatores que podem provocar alterações os quais se encontram identificados na tabela seguinte:

Tabela 5 – Fatores que influenciam a conservação das amostras

Alteração possível	Causa provável
Teores de oxigénio dissolvido, dióxido carbono, compostos de azoto e fósforo, e por vezes de sílica-	Devido à atividade de bactérias e algas presentes na amostra
Oxidação de certos compostos orgânicos, Fe(II) e sulfuretos	Devido à ação Oxigénio dissolvido ou atmosférico
Precipitação de certas substâncias como carbonato cálcio, metais e compostos metálicos, como o Al(OH) ₃ ou perdas para a fase de vapor (oxigénio, cianetos e mercúrio)	Devido a alterações na temperatura e/ou pH
Alteração do pH, condutividade, e concentração ade dióxido de carbono	Absorção de dióxido de carbono a partir da atmosfera. Lixiviação de compostos de amónia e sílica a partir do material podem induzir alterações do pH ou condutividade.
Alterações nos teores de metais dissolvidos ou coloidais ou de certos compostos orgânicos	Absorção irreversível ao material das paredes do recipiente de colheita.
Polimerização de compostos ou despolimerização de outros compostos	Alterações não controladas nas condições reacionais da amostra

11.5 MANUSEAMENTO E CONSERVAÇÃO DA AMOSTRA PARA ENSAIOS BIOLÓGICOS

O manuseamento da amostra para ensaios biológicos prevê a possibilidade de adicionar químicos para efeitos de conservação (preservação dos teores de matéria da ação de oxidação química ou biológica) e fixação (proteção da integridade das estruturas morfológicas). A adição de conservantes é tóxica pelo que, para que a integridade dos organismos que não possuem paredes celulares fortes não seja comprometida a entrada do agente fixante deve ser rápida. A adição dos agentes fixantes deve obedecer aos seguintes cuidados:

- Devem ser conhecidos os potenciais efeitos dos agentes fixantes/conservantes sob as espécies a preservar;
- Os agentes fixantes/conservantes a adicionar devem efetivamente prevenir a degradação biológica da matéria orgânica durante o tempo de conservação estipulado;

- Os agentes fixantes/conservantes devem permitir a análise do analito biológico (organismo específico ou grupo taxonómico) durante o tempo de conservação da amostra;
- Importante: Recomenda-se a utilização de solução alcalina de Lugol, nos casos em que se justifique, especialmente durante o verão, altura em que se dá a ocorrência de maior nº de sílico-flagelados, substituindo a solução ácida de Lugol, que pode provocar perda de estrutura em organismos ou mesmo perda de organismos;
- Água doce – 5ml de lugol alcalino para 1000ml de amostra;
- Água salgada - 5ml de lugol ácido para 1000ml de amostra.

11.6 MANUSEAMENTO E CONSERVAÇÃO DA AMOSTRA PARA ENSAIOS RADIOLÓGICOS

Para este tipo de colheitas é indispensável a utilização de equipamento de proteção adequado.

Aplicam-se de uma forma geral as mesmas regras definidas para os ensaios de físico-química, com as seguintes particularidades:

- O tempo de espera entre a colheita e a análise deve ser consistente com o tempo de meia vida do radionuclídeo;
- As condições de colheita para adequada conservação, são independentes do tempo de meia-vida do radionuclídeo, mas são idênticas às requeridas para o correspondente isótopo mais estável;
- O congelamento deste tipo de amostras pode ser considerado primariamente para evitar o crescimento de algas ou a contaminação microbiológicas das amostras, mas não é um passo indispensável para a realização destes ensaios, que habitualmente podem decorrer nas mesmas amostras que são analisadas para ensaios físico-químicos ou biológicos.

11.7 TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

O plano de amostragem deve contemplar, para que não sejam excedidos os tempos de conservação previstos nas tabelas dos Anexos I e II os seguintes requisitos a ter em consideração:

- O registo do tempo decorrido desde o início da colheita até à entrega e início dos ensaios no laboratório.
- A temperatura durante o transporte de amostras que exceda as 8 horas deve ser de $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$; Para períodos de transporte inferiores a 8 horas, a temperatura de chegada ao laboratório deve ser igual ou inferior à temperatura original da amostra;

- Para controlar a temperatura de transporte, devem ser instalados dispositivos capazes de monitorizar a temperatura máxima do ar ambiente (sensores em contínuo ou termómetros) ou então usar a primeira amostra recolhida para verificar o cumprimento dos requisitos de temperatura aplicáveis à situação de transporte inferior ou superior a 8 horas;
- Deve ser garantido o acondicionamento dos recipientes durante o transporte de forma que não haja perdas, contaminação ou violação das amostras, sobretudo se estes tiverem de ser expedidos para laboratórios de terceira parte, ou se se tratar de amostras acondicionadas em material de vidro;
- As amostras recolhidas para efeitos de inspeção ou de avaliação da conformidade legal devem ser seladas de forma a garantir o cumprimento das regras impostas pelas entidades reguladoras envolvidas no transporte/processamento da amostra.

11.8 RECEÇÃO E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

É fundamental, por parte do laboratório que recebe as amostras, a adoção de procedimentos que permitam assegurar a rastreabilidade da amostra recolhida em relação à que está a ser recebida (verificação por exemplo do nº amostra, dados de conservação), especialmente se for necessário garantir uma cadeia de responsabilidade para efeitos de inspeção.

12 (SUB) CONTRATAÇÃO

A subcontratação de colheita de amostras, incluindo os ensaios associados à colheita, adquire um papel importante na realidade dos laboratórios portugueses. Desta forma, torna-se necessário estabelecer um conjunto de orientações que permitam uniformizar, por um lado, a informação a solicitar ao(s) laboratório(s) subcontratado(s), por outro, a documentação que estes, terão que disponibilizar de uma forma completa, objetiva e atualizada.

O recurso a outro laboratório para a realização de ensaios pode ter diferentes causas, como sejam: o laboratório não executa o ensaio que lhe foi solicitado, avaria de equipamento, sobrecarga de trabalho, etc. Em qualquer destas situações, considera-se o laboratório responsável, perante o cliente, pelo trabalho efetuado pelo subcontratado, nomeadamente pelo cumprimento de prazos, uso de métodos acordados ou cumprimento de (outros) requisitos contratuais.

Nos casos em que a subcontratação não está prevista no contrato inicial com o cliente, sugere-se que esta informação seja dada ao cliente por escrito, para obtenção da respetiva concordância.

A subcontratação da colheita de amostras e ensaios deverá ser refletida nos relatórios de ensaio, assinalando-se as determinações subcontratadas e se o (sub)contratado é ou não acreditado.

12.1 SUBCONTRATAÇÃO DE ENSAIOS

Solicitar ao(s) laboratório(s) responsáveis pela realização dos ensaios a versão em vigor no laboratório dos procedimentos escritos de colheita, de conservação, de transporte e de entrega das amostras no laboratório.

Sugere-se que todo o material utilizado na colheita das amostras (frascos de colheita, acumuladores de frio e malas térmicas) seja fornecido pelo(s) laboratório(s) subcontratado(s).

A informação a fornecer pelo(s) laboratório(s) subcontratados deverá contemplar:

- Processo de colheita de amostras em função do tipo de amostra e respetiva matriz, deverão ser seguidas as regras definidas na bibliografia de referência;
- Descrição do tipo de frascos a utilizar (material e volume do frasco) para cada parâmetro ou grupo de parâmetros;
- Modo de enchimento do frasco de colheita, como exemplo: encher frasco até ao cimo, passar pela água a amostrar, encher o frasco até $\frac{3}{4}$ do seu volume, etc.;
- Preservação a efetuar para cada parâmetro ou grupo de parâmetros, com informação acerca do local onde a mesma se pode realizar (local de colheita ou laboratório), de acordo com a metodologia a usar posteriormente nos ensaios;
- Cuidados a ter no procedimento de colheita, por forma a evitar a contaminação das amostras;
- Condições de transporte para cada parâmetro ou grupo de parâmetros.

No caso dos frascos utilizados na colheita serem preparados pelo laboratório, o(s) laboratório(s) subcontratados, devem disponibilizar informação acerca da lavagem e preparação dos mesmos.

Os frascos devem ser fornecidos com as respetivas etiquetas, de modo a garantir uma correta identificação das amostras.

O laboratório deverá verificar se esta identificação é resistente à água, secagem e congelação sem que se possam destacar ou se possam tornar ilegíveis até à chegada ao(s) laboratório(s) de subcontratação.

No caso de haver necessidade de proceder à preservação das amostras no local de colheita, o(s) laboratório(s) subcontratado(s) devem indicar os reagentes de preservação a utilizar.

Os reagentes necessários deverão ser os adequados para a preservação de amostras e deverão ser preparados de acordo com as condições definidas individualmente para cada parâmetro.

Todos os reagentes deverão ser de pureza comprovada e deverão ser respeitadas as respectivas validades.

Periodicamente deverão ser comprovados se os reagentes se mantêm estáveis e se não existe contaminação (branco de campo).

Os recipientes que já contenham o reagente de preservação deverão estar devidamente identificados/etiquetados.

Os frascos utilizados na colheita das amostras deverão estar devidamente fechados de forma a assegurar que não existam perdas ou deterioração da amostra, e acondicionados em malas térmicas, protegendo-os de uma contaminação externa, e de uma possível quebra.

Durante o transporte as amostras devem ser mantidas à temperatura especificada para o parâmetro em causa.

No caso dos ensaios, em que os métodos de preservação utilizados impõem que as amostras cheguem ao laboratório com uma temperatura inferior ou igual à temperatura da colheita da amostra, o transporte deverá ser realizado, idealmente à temperatura de $5\pm 3^{\circ}\text{C}$. A medição da temperatura será realizada no local de colheita, no laboratório, na altura do envio das amostras para os laboratórios subcontratados, num frasco referenciado, que acompanhou todo o transporte e armazenamento das amostras, e à chegada aos laboratórios subcontratado, neste mesmo frasco.

Poderá haver situações em que as amostras não são armazenadas no frigorífico. Neste caso, a temperatura de chegada ao laboratório (sub)contratado deverá ser menor ou igual à temperatura registada no laboratório, quando foi enviada.

Aquando da receção das amostras o Laboratório deverá verificar se as condições de transporte e preservação foram as adequadas e cumpridas.

12.2 PRAZO MÁXIMO - ENTREGA DAS AMOSTRAS NO LABORATÓRIO (SUB)CONTRATADO PARA CADA PARÂMETRO OU GRUPO DE PARÂMETROS.

Procedimentos de refrigeração e arrefecimento poderão ser usados para aumentar o período de conservação disponível para o transporte e conservação das amostras. Quando ocorre a necessidade de transportar a amostra, deverá ser considerado o seguinte:

- O intervalo de tempo entre a colheita e o início do transporte;
- O tempo que dura o transporte;
- Início da análise no laboratório.

A soma destes três períodos é limitada ao período máximo de conservação definido pelo laboratório/laboratório de subcontratação. Para os ensaios subcontratados deverão seguir-se as indicações dadas pelo laboratório subcontratado.

O laboratório deverá estar ciente dos prazos máximos de conservação impostos pela subcontratação, controlando do seu lado o envio das amostras face à data da colheita e respetiva data prevista para o início do ensaio subcontratado. O laboratório deverá informar o laboratório (sub)contratado da data, e nalguns casos da hora (por exemplo nas amostras para a análise de Radão) de colheita das amostras.

O laboratório (sub)contratante com o apoio do laboratório (sub)contratado devem definir as condições de rejeição de amostras entregues e um plano de controlo de qualidade para os ensaios (sub)contratados, de acordo com o capítulo 10 do presente guia.

13 CÁLCULO DE INCERTEZAS

O principal objetivo dos resultados laboratoriais é dar suporte a decisões. A fiabilidade destas decisões depende do conhecimento da incerteza dos resultados das medições. Se a incerteza das medições é subestimada, por exemplo, porque não é tida em consideração a incerteza da amostragem, pode haver um risco de tomada de decisões erradas, com eventuais consequências para a saúde, ambiente e financeiras, entre outras.

A avaliação da aptidão dos resultados de medição é também feita com base na estimativa da sua incerteza. Por esta razão, é essencial dispor de procedimentos eficazes para estimar as incertezas provenientes de todas as partes do processo analítico. Estas devem incluir incertezas decorrentes da colheita e da preparação de amostras.

A obtenção de um resultado analítico começa com a colheita de amostra e termina com a determinação analítica propriamente dita, figura 26. Pode-se definir muitas etapas intermédias, tais como o transporte e conservação de amostras, ou outras, dependendo do processo analítico envolvido. Cada etapa do processo dá origem a uma contribuição para a incerteza de medição. O processo colheita de amostra e a subdivisão da amostra com a consequente preservação de acordo com o ensaio, são geralmente considerados como passos da amostragem e são geralmente realizados antes da amostra entrar no laboratório.

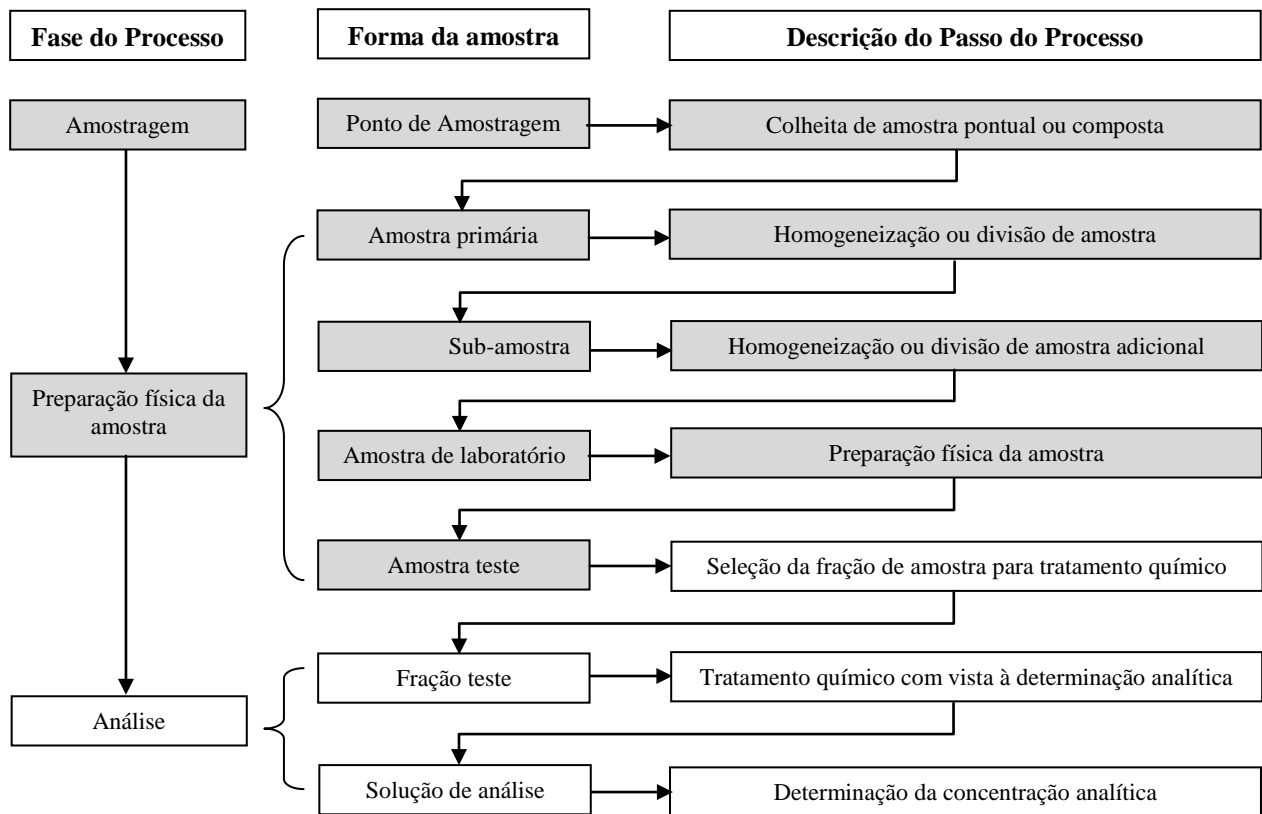


Figura 26 - Esquema de um processo analítico

13.1 ABORDAGENS NO CÁLCULO DA ESTIMATIVA DA INCERTEZA

Existem duas grandes abordagens para o cálculo da estimativa da incerteza. Na abordagem descrita como "empírica", "experimental", ou "top-down", usa-se a replicação de todo o procedimento de medição de modo a obter uma estimativa direta da incerteza no resultado final da medição. A segunda abordagem é descrita como abordagem com base em modelos, ou 'bottom-up', e tem como objetivo quantificar todas as fontes de incerteza individualmente, e combiná-las. Estas abordagens não são mutuamente exclusivas. O método empírico pode ser adaptado para estimar contribuições para a incerteza de um ou mais efeitos ou classes de efeitos. Ambas as abordagens podem, com vantagem, ser usadas em conjunto para estudar o mesmo sistema de medição.

A abordagem adotada neste documento é essencialmente a abordagem empírica, que tem a maior aplicabilidade num conjunto amplo de sistemas de medição e de aplicações. A abordagem com base nos modelos é descrita para situações específicas. Uma combinação destas abordagens pode ser utilizada para se obter estimativas de incerteza mais fiáveis e com uma redução de custos inerente a estes processos.

13.2 FONTES DE INCERTEZA

Na perspetiva da abordagem empírica é possível considerar quatro grandes fontes de incerteza, nomeadamente, componentes da precisão de análise e da precisão de colheita, assim como, componentes relativas aos erros sistemáticos de análise e de colheita. Destas quatro componentes três delas têm sido bem estudadas, no entanto, a componente dos erros sistemáticos de colheita tem mostrado maiores dificuldades no seu estudo em resultado da dificuldade em se obter uma amostra de referência para a colheita.

Na tabela seguinte, listam-se algumas fontes de incerteza da colheita e dos passos de preparação de amostra.

Tabela 6 – Fontes de Incerteza relativas ao processo de colheita e de preparação de amostras

Colheita	Preparação de amostra
<ul style="list-style-type: none"> • Heterogeneidade • Efeitos da estratégia específica de colheita (exemplo: colheita aleatória, colheita estratificada, colheita sistemática) • Efeitos do movimento do meio onde se colhe a amostra (em particular alterações de densidade ou de tamanho de partículas) • Estado físico da amostra (sólido, líquido ou gasoso) • Efeitos da temperatura e pressão • Efeitos do procedimento de colheita de amostra (e.g. adsorção diferencial no sistema de colheita) • Contaminação • Transporte e preservação da amostra 	<ul style="list-style-type: none"> • Efeitos de homogeneização e/ou de subdivisão da amostra. • Secagem • Trituração/Moagem • Dissolução • Extração • Contaminação • Derivatização • Erros de diluição • Concentração de amostra

Muitas vezes as fontes de incerteza são igualmente apresentadas num diagrama de causa-efeito (espinha de peixe), figura 27.

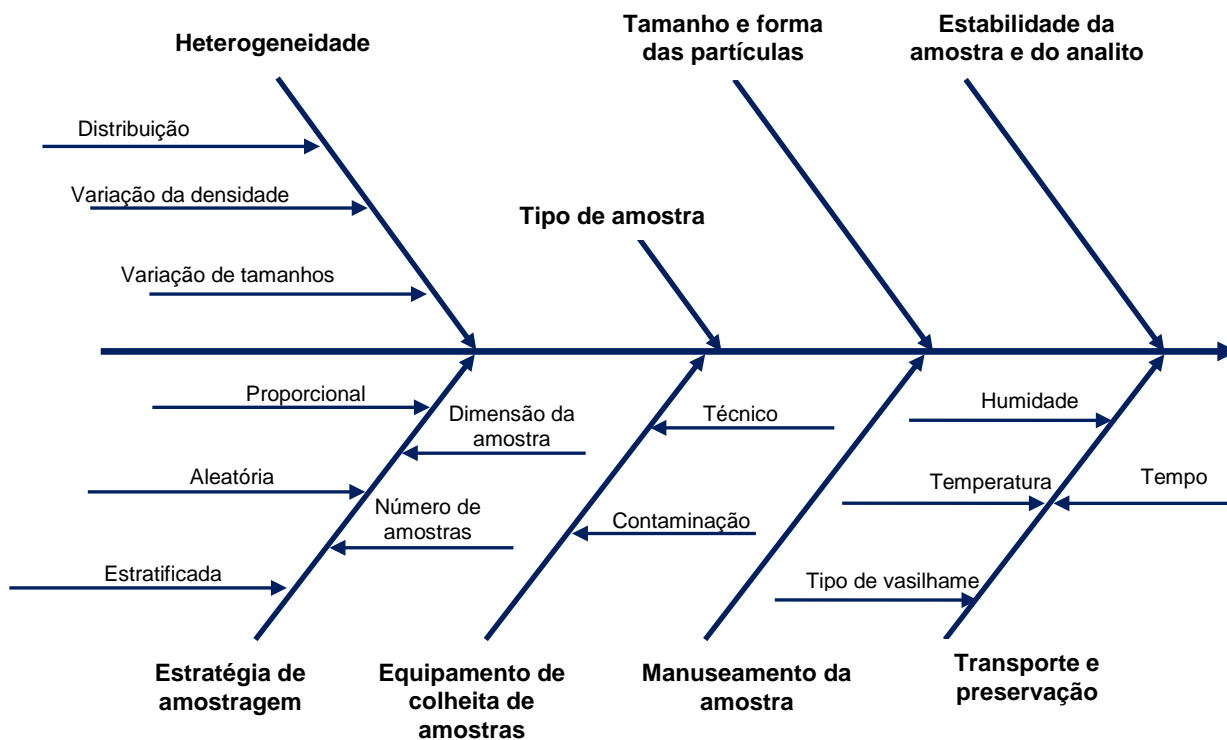


Figura 27 - Diagrama Causa-efeito considerando os procedimentos de colheita

Uma análise das fontes de incerteza pode ser um instrumento útil na identificação dos passos do processo medição que mais contribuem para a incerteza global e no desenvolvimento de estratégias com vista à sua minimização.

Os termos efeitos sistemáticos (bias) e efeitos aleatórios (precisão) são familiares à maioria dos técnicos de laboratório. As incertezas relativas à amostragem podem ser igualmente divididas nas mesmas duas classes, cada uma tendo um conjunto definido de fontes de incerteza. De um modo geral os efeitos sistemáticos são difíceis de quantificar, mas muitas vezes é possível evitá-los, ao passo que os efeitos aleatórios são de mais fácil quantificação, mas mais difíceis de evitar. Os métodos descritos neste documento permitem apenas quantificar os efeitos aleatórios.

Os efeitos sistemáticos na amostragem são causados pela heterogeneidade dos pontos de colheita e pela incapacidade do método de colheita refletir adequadamente esta heterogeneidade. A heterogeneidade pode ser dividida em heterogeneidade inerente ao material, causada, por exemplo, por diferentes tamanhos, formas e composição de partículas de amostras sólidas ou amostras líquidas com partículas em suspensão. Por outro lado, é possível definir heterogeneidade da distribuição, como sendo causada, por exemplo,

por uma deficiente mistura que pode permitir a segregação ou estratificação de partículas ou moléculas presentes no ponto de colheita. Um exemplo desta situação é constituído por partículas presentes num fluxo de água que tendem a sedimentar, a não ser que haja uma agitação contínua e constante. Os efeitos sistemáticos devem ser sempre tidos em consideração do caso de amostras sólidas ou de amostras líquidas ricas em partículas. No caso de líquidos, o analito pode ser estabilizado após a colheita para evitar erros sistemáticos.

Sendo os erros sistemáticos de difícil quantificação, como vimos acima, há no entanto alguns procedimentos que o laboratório pode adotar com vista à redução do seu impacto, nomeadamente:

- Selecionar métodos de colheita que sejam os mais indicados atendendo às características do ponto de colheita e às características físicas deste, nomeadamente, presença e tamanho de partículas, distribuição destas, heterogeneidade e estratificação de constituintes da amostra e instabilidade do analito;
- Aumentar o tamanho da amostra. É natural que se o tamanho da amostra a analisar aumentar, reduz-se a probabilidade de aparecerem erros sistemáticos devido à falta de representatividade desta. No entanto, nem sempre é possível ou praticável um aumento significativo do tamanho de amostra;
- Moagem de materiais sólidos. A redução do tamanho das partículas, nomeadamente, tirando uma amostra relativamente grande, moendo-a e fazendo uma subamostra, pode diminuir os efeitos sistemáticos;
- Boa Homogeneização. Uma boa homogeneização das amostras irá reduzir a segregação e deve ser aplicada tanto em amostras sólidas como em amostras líquidas. No caso das amostras líquidas deve-se selecionar um local de colheita onde o fluxo seja turbulento. Refira-se no entanto que em alguns casos especiais os processos de mistura da amostra podem induzir a segregação, por exemplo, por processos de centrifugação;
- Condições de conservação e transporte das amostras que reduzem os processos de físicos, químicos ou microbiológicos de alteração das amostras.

Os efeitos aleatórios são mais fáceis de quantificar e não podendo ser corrigidos, podem no entanto ser minimizados. Eles são causados, principalmente, por variações na composição da amostra, quer em termos espaciais quer em termos temporais, podendo ser as variações cíclicas ou não cíclicas. Além disso, os efeitos aleatórios podem ser causados por variações dos:

- Métodos de colheita, por exemplo, se forem utilizados métodos de colheita diferentes ao longo do tempo ou em locais diferentes;

- Métodos de colheita ou de manipulação da amostra, por exemplo, no caso de serem técnicos diferentes;
- O equipamento de colheita e a maneira como ele funciona.

A aproximação mais evidente para a redução dos efeitos aleatórios consiste em aumentar o número de amostras tomadas, que por sua vez conduz a uma diminuição do desvio padrão. Uma abordagem equivalente, consiste em aumentar o número de subamostras ou dos incrementos tomados quando se produz uma amostra composta.

Pode ser necessário um estudo das variações no tempo e no espaço, de modo a selecionar o método de colheita mais adequado, e a frequência e distribuição espacial compatíveis com um dado nível de exigência na qualidade dos resultados obtidos. A colheita de mais amostras exige um maior consumo de recursos por parte do laboratório, e nem sempre significa uma melhor qualidade na informação. Note-se que algumas das estratégias apontadas para reduzir os efeitos sistemáticos também podem contribuir para diminuir os efeitos aleatórios.

13.3 MÉTODOS E CÁLCULOS

O princípio básico para a conceção de um plano de trabalho com vista ao cálculo da incerteza da amostragem, em particular a componente dos erros aleatórios, consiste em aplicar o mesmo procedimento de colheita duas ou mais vezes, no mesmo ponto de colheita, ou em pontos de colheita diferentes de forma a estimar as componentes de incerteza de colheita e de análise. Na tabela seguinte esquematiza-se um plano de trabalho, considerando n pontos de colheita, tomando-se duas amostras em cada ponto, e lendo cada amostra em duplicado. É possível desenhar planos de colheita mais simples, que envolvam menos amostras e desta forma reduzir os custos destes estudos, por exemplo, não analisando cada amostra em duplicado. Neste caso não é possível analisar separadamente a componente de incerteza relativa à amostragem da componente de incerteza relativa à análise, sendo determinada uma incerteza que envolve os dois passos. De qualquer uma das formas, idealmente, deve-se obter resultados relativos a pelo menos oito pontos de colheita.

Tabela 7 - Esquema do plano de trabalho com vista ao cálculo de incerteza de amostragem

Ponto Amost	Amostra 1				Amostra 2				
	X_{i11}	X_{i12}	$D_{i1} = X_{i11} - X_{i12} $	\bar{x}_{i1}	X_{i21}	X_{i22}	$D_{i2} = X_{i21} - X_{i22} $	\bar{x}_{i2}	
1	X_{111}	X_{112}	$D_{11} = X_{111} - X_{112} $	\bar{x}_{11}	X_{121}	X_{122}	$D_{12} = X_{121} - X_{122} $	\bar{x}_{12}	$D_1 = \bar{X}_{11} - \bar{X}_{12} $
2	X_{211}	X_{212}	$D_{21} = X_{211} - X_{212} $	\bar{x}_{21}	X_{221}	X_{222}	$D_{22} = X_{221} - X_{222} $	\bar{x}_{22}	$D_2 = \bar{X}_{21} - \bar{X}_{22} $
...									
n	X_{n11}	X_{n12}	$D_{n1} = X_{n11} - X_{n12} $	\bar{x}_{n1}	X_{n21}	X_{n22}	$D_{n2} = X_{n21} - X_{n22} $	\bar{x}_{n2}	$D_n = \bar{X}_{n1} - \bar{X}_{n2} $
			$\bar{D}_{i1} = \frac{\sum D_{i1}}{n}$				$\bar{D}_{i2} = \frac{\sum D_{i2}}{n}$		$\bar{D}_{Am+An} = \frac{\sum D_i}{n}$
Análise	$\bar{D}_{Análise} = \frac{\bar{D}_{i1} + \bar{D}_{i2}}{2}$				$S_{Análise} = \frac{\bar{D}_{Análise}}{1,128}$				
Análise + Amostragem	$\bar{D}_{Amostragem+Análise} = \frac{\sum D_i}{n}$				$S_{Amostragem+Análise} = \frac{\bar{D}_{Amostragem+Análise}}{1,128}$				
Amostragem	$S_{amostragem} = \sqrt{S_{Amostragem+Análise}^2 - \left(\frac{S_{Análise}}{\sqrt{2}}\right)^2}$								

Tendo em consideração o esquema apresentado na tabela 6, e adotando um processo de cálculo assente na análise de amplitudes de duplicados, apresenta-se um exemplo do cálculo da incerteza para um estudo realizado em 10 pontos de colheita, efetuando-se uma colheita em duplicado em cada ponto e para cada colheita procedeu-se à análise em duplicado.

Tabela 8 - Exemplo do cálculo da incerteza de amostragem com base na análise de amplitudes de duplicados

Rep.	Amostra 1				Amostra 2				
	X_{i11}	X_{i12}	$D_{i1} = X_{i11} - X_{i12} $	\bar{x}_{i1}	X_{i21}	X_{i22}	$D_{i2} = X_{i21} - X_{i22} $	\bar{x}_{i2}	$D_i = \bar{X}_{i1} - \bar{X}_{i2} $
1	402	325	77	363,5	361	351	10	356,0	7,5
2	382	319	63	350,5	349	362	13	355,5	5,0
3	332	291	41	311,5	397	348	49	372,5	61,0
4	280	278	2	279,0	358	321	37	339,5	60,5
5	370	409	39	389,5	378	460	82	419,0	29,5
6	344	318	26	331,0	381	392	11	386,5	55,5
7	297	333	36	315,0	341	315	26	328,0	13,0
8	336	320	16	328,0	292	306	14	299,0	29,0
9	372	353	19	362,5	332	337	5	334,5	28,0
10	407	361	46	384,0	322	382	60	352,0	32,0
	$\bar{D}_{i1} = \frac{\sum D_{i1}}{n}$		36,5		$\bar{D}_{i2} = \frac{\sum D_{i2}}{n}$		30,7	$\bar{D} = \frac{\sum D_i}{n}$	32,1
Análise	$\bar{D}_{Análise} = \frac{\bar{D}_{i1} + \bar{D}_{i2}}{2} = 33,6$				$S_{Análise} = \frac{\bar{D}_{Análise}}{1,128} = 29,8$				
Análise + Amostragem	$\bar{D}_{Amostragem+Análise} = 32,1$				$S_{Amostragem+Análise} = \frac{\bar{D}_{Amostragem+Análise}}{1,128} = 28,5$				
Amostragem	$S_{amostragem} = \sqrt{S_{Amostragem+Análise}^2 - \left(\frac{S_{Análise}}{\sqrt{2}}\right)^2} = 19,1$								

Não pretendendo colocar o foco na discussão do formalismo matemático usado para o cálculo de cada uma das componentes, faz-se notar que o plano de trabalho adotado permitiu determinar separadamente o valor da incerteza da precisão relativa à colheita, à análise e ao processo análise e colheita em conjunto.

Tomando o mesmo exemplo, mas fazendo a análise com base na estatística ANOVA, obtém-se os resultados apresentados nas tabelas 8 e 9.

Tabela 9 - Exemplo do cálculo da incerteza de análise com base na análise ANOVA

P1A1	P1A2	P2A1	P2A2	P1	P2	P1	P2
X_{i11}	X_{i12}	X_{i21}	X_{i22}	\bar{x}_{i1}	\bar{x}_{i2}	$2 \times D_{i1(\bar{X})}^2$	$2 \times D_{i2(\bar{X})}^2$
402	325	361	351	363,5	356,0	2964,5	50,0
382	319	349	362	350,5	355,5	1984,5	84,5
332	291	397	348	311,5	372,5	840,5	1200,5
280	278	358	321	279,0	339,5	2,0	684,5
370	409	378	460	389,5	419,0	760,5	3362,0
344	318	381	392	331,0	386,5	338,0	60,5
297	333	341	315	315,0	328,0	648,0	338,0
336	320	292	306	328,0	299,0	128,0	98,0
372	353	332	337	362,5	334,5	180,5	12,5
407	361	322	382	384,0	352,0	1058,0	1800,0
$\bar{X} = 347,9$				$SQ_{Análise} = 2 \times \sum_{i=1}^n [D_{i1(\bar{X})}^2 + D_{i2(\bar{X})}^2] = 16595$			
$gl = i.j.k - i.j = 10.2.2 - 10.2 = 20$				$Variância_{Análise} = \frac{SQ_{Análise}}{gl} = \frac{16595}{20} = 829,75$			
$S_{Análise} = \sqrt{Var. Análise} = 28,8$				$RSD(\%)_{Análise} = \frac{S_{Análise}}{\bar{X}} \times 100 = 8,28\%$			

Simulação para i=10 pontos de amostragem, j=2 amostras por ponto e K=2 análises por amostra.

Onde a diferença de cada um dos resultados em duplicado em relação à média da amostra no ponto i é dada por:

$$|X_{i11} - \bar{X}_{i1}| = |X_{i12} - \bar{X}_{i1}| = D_{i1(\bar{X})}$$

Tabela 10 - Exemplo do cálculo da incerteza de análise com base na análise ANOVA

P1A1	P1A2	P2A1	P2A2	P1	P2	$\bar{X}_i = \frac{\bar{X}_{i1} + \bar{X}_{i2}}{2}$	$(D_{i(\bar{X})})^2 = (\bar{X}_i - \bar{X}_{i1})^2 = (\bar{X}_i - \bar{X}_{i2})^2$
X _{i11}	X _{i12}	X _{i21}	X _{i22}	\bar{x}_{i1}	\bar{x}_{i2}		
402	325	361	351	363,5	356,0	359,8	14,1
382	319	349	362	350,5	355,5	353,0	6,3
332	291	397	348	311,5	372,5	342,0	930,3
280	278	358	321	279,0	339,5	309,3	915,1
370	409	378	460	389,5	419,0	404,3	217,6
344	318	381	392	331,0	386,5	358,8	770,1
297	333	341	315	315,0	328,0	321,5	42,3
336	320	292	306	328,0	299,0	313,5	210,3
372	353	332	337	362,5	334,5	348,5	196,0
407	361	322	382	384,0	352,0	368,0	256,0
$\bar{X} = 347,9$				$SQ_{Amostragem} = 4 \times \sum_{i=1}^n D_{i(\bar{X})}^2 = 14231$			
$gl = i \cdot j - i = 10 \cdot 2 - 10 = 10$				$Var_{Amostragem} = \frac{SQ_{Amostragem}}{gl_{Amostragem}} - \frac{SQ_{Análise}}{gl_{Análise}} = 296,675$			
$S_{Amostragem} = \sqrt{Var \cdot Amost.} = 17,244$				$RSD(\%)_{Amostragem} = \frac{S_{Amostragem}}{\bar{X}} \times 100 = 4,95\%$			

Simulação para i=10 pontos de amostragem, j=2 amostras por ponto e K=2 análises por amostra.

Onde a

$$SQ = \sum_{i=1}^n \left[\left(\frac{X_{i11} + X_{i12}}{2} - \bar{X}_i \right)^2 + \left(\frac{X_{i21} + X_{i22}}{2} - \bar{X}_i \right)^2 \right] = \sum_{i=1}^n [2 \times D_{i(\bar{X})}^2 + 2 \times D_{i(\bar{X})}^2] = 4 \times \sum_{i=1}^n D_{i(\bar{X})}^2$$

Da análise dos resultados regista-se uma diferença entre os resultados obtidos nos dois modelos de cálculo. As diferenças não sendo significativas, resultam naturalmente da diferença entre abordagens adotadas.

De acordo com os exemplos apresentados, a colheita tem uma contribuição importante para a incerteza total. A incerteza, vista como uma medida transversal da qualidade dos resultados produzidos pelo laboratório, na medida em que procura refletir os erros sistemáticos e os erros aleatórios dos processos envolvidos, deve ter em consideração todas as fases destes processos, quando o objetivo do laboratório é ter uma medida fidedigna do seu controlo de qualidade e da sua validação de métodos.

A abordagem aqui adotada peca pela sua simplificação, eventualmente, retirando o rigor devido a este tema, no entanto, procurou-se fazer um enquadramento sobre o mesmo, apresentando-se dois exemplos, muito semelhantes aos mencionados nos guias da EURACHEM e da Nordtest, dedicados ao tema das incertezas da amostragem, cuja análise poderá servir de complemento ao aqui referido.

Em qualquer execução de ensaios devemos sempre seguir em primeiro lugar as recomendações legais, depois as normas de ensaio, que muitas vezes são determinantes nomeadamente nos tempos de execução e leitura de resultados.

14 ANEXOS

14.1 ANEXO I - TÉCNICAS DE PRESERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS - ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou melhor prática
Acidez e alcalinidade		P ou V	Amostras com gases dissolvidos elevados, analisar no local. Reações de redução e oxidação durante podem alterar a amostra.	14 dias	Melhor prática
	ISO 9963-1:1994	PE, V de borosilacato	Amostras com gases dissolvidos elevados, analisar de preferência, no local.		
Alumínio	ISO 15586-2003	PE, PP, FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)	1 mês	Melhor prática
	ISO 11885-2007	PE-HD, PTFE. Concentrações baixas			
	ISO 17294-2:2003	PFA, FEP.			
	ISO 12020-1997	Plásticos sem poli- olifinas (podem conter Al).			
	ISO 10566:1994	PE			

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Amónia/ Azoto amoniacal		P ou V	Filtrar a amostra no local da colheita e acidificar a pH entre 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2)	21 dias	Melhor prática
	ISO 7150:1984	P ou V	Filtrar a amostra no local da colheita.	1 dia	Validado (7)
	ISO 14911:1998	PE	Filtrar a amostra no local da colheita e acidificar a pH 3 ± 0,5 com H ₂ NO ₃ (1). Armazenar no escuro ou usar frascos escuros.	14 dias	Melhor prática
	ISO 11732:2005	V, poliolifinas, PTFE	Filtrar a amostra no local da colheita e acidificar a pH entre 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2)		
			P	Filtrar a amostra no local da colheita. Congelar a -18°C.	1 mês
Antimónio	ISO 15586:2003	PE,PP,FEP	Acidificar a pH entre 1 e 2 com HCl (3) ou HNO ₃ (1). Usar HCl se a técnica de análise for hidretos.	1 mês	Melhor prática
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE			
	ISO 17294-2:2003	Para baixas concentrações: PFA,FEP			
AOX (compostos halogenados adsorvíveis)	ISO 9562:2004	P ou V. Vidro deve ser usado se as concentrações esperadas forem baixas	Acidificar entre pH 1 a pH 2 com HNO ₃ (1). Armazenar as amostras no escuro ou usar vidro ambar.	5 dias	Melhor prática
		P	Congelar a < -18° C	1 mês	Melhor prática

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Arsénio	ISO 15586:2003	PE, PP,FEP	Acidificar a pH entre 1 e 2 com HCl (1) ou H ₂ NO ₃ (1). Usar HCl se a técnica de análise for hidretos.	6 meses	Validado (7)
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE.			
	ISO 17294-2:2003	Para baixas concentrações: PFA,FEP			
	ISO 11969:1996	PE, vidro borosilicato previamente passado por ácido nítrico (10 % volume)			
Azoto Kjeldahl		P ou V ou V borosilicato	Congelar a <-18º C	6 meses	Validado
	ISO 5663:1984	P ou V ou V borosilicato	Acidificar entre pH 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2)	1 mês	Melhor prática
Azoto total	ISO 29441:2010	P ou V	Acidificar entre pH 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2)	1 mês	Melhor prática
		P	Congelar a <-18º C	1 mês	Melhor prática
Bário	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE. Para baixas concentrações: PFA,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)	1 mês	Melhor prática
	ISO 17294-2:2003				
	ISO 14911:1998	PE	Acidificar a pH 3 ± 0,5 com H ₂ NO ₃ (1).		

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Berílio	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE. Para baixas concentrações: PFA,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)	1 mês	Melhor prática
	ISO 17294-2:2003				
Boro	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE. Para baixas concentrações: PFA,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)	6 meses	Validado (7)
	ISO 17294-2:2003				
Bromato	ISO 15061:2001	PE	Remover o ozono eventualmente existente na amostra adicionando, por exemplo, 50 mg de etilenodiamina (C ₂ H ₈ N ₂ , w > 99%)	1 mês	Melhor prática
Brometo e Bromo	ISO 10304-1:2007	PE e V		1 mês	Melhor prática
Bromo residual		P ou V, cor escura.	Analisar no local	5 min	Melhor prática

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Cádmio	ISO 15586:2003	PE,PP,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)	6 meses	Validado (7)
	ISO 5961:1994	PE, Vidro borosilicato			
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE.			
	ISO 17294-2:2003	Para baixas concentrações: PFA,FEP			
Cálcio	ISO 7980:1986	PE,PP	Acidificar a pH entre 1 e 2 com HCl (3) ou H ₂ NO ₃ (1).	1 mês	Melhor prática
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE.			
	ISO 17294-2:2003	Para baixas concentrações: PFA,FEP			
	ISO 14911:1998	PE	Acidificar a pH 3 ± 0,5 com H ₂ NO ₃ (1).		

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Carbono orgânico dissolvido (COD)	ISO 8245	P ou V	A amostra deve ser filtrada antes de acidificar a pH entre 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2) ou H ₃ PO ₄ (4)	7 dias	Melhor prática
			Congelar a temperatura <-18°C.	1 mês	Melhor prática
Carbono orgânico total (COT)	ISO 8245	P ou V	Acidificar a pH entre 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2) ou H ₃ PO ₄ (4). Não acidificar se existir percas de compostos orgânicos voláteis devido à liberação de dióxido de carbono. Refrigerar e analisar no prazo de 8 horas.	7 dias	Melhor prática
		P	Congelar a temperatura <-18°C.	1 mês	Melhor prática
Carência Bioquímica de oxigênio (CBO)		P ou V	Armazenar as amostras no escuro ou usar vidro ambar.	1 dia	Melhor prática
		P	Congelar a temperatura inferior a -18°C. Armazenar as amostra no escuro ou usar vidro ambar.	1 mês (6 meses se > 50 mg/l)	Validado (7)
Carência química de oxigênio (CQOCr)	ISO 15705:2002	P ou V	Acidificar a pH entre 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2)	6 meses	Validado (7)
		PP, V			
		P	Congelar a temperatura < -18°C.	6 meses	Validado (7)

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Chumbo	ISO 15586:2003	PE,PP,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1).	6 meses	Validado (7)
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE.			
	ISO 17294-2:2003	Para baixas concentrações: PFA,FEP			
Cianetos livres		P ou V	Adicionar NaOH (5) até pH > 12. Armazenar no escuro ou usar recipientes escuros.	7 dias. 1 dia se estiverem presentes sulfitos.	Melhor prática
	ISO 14403:2012			3 dias	Melhor prática
Cianetos totais		P ou V	Adicionar NaOH (5) até pH > 12. Armazenar no escuro ou usar recipientes escuros.	7 dias. 1 dia se estiverem presentes sulfitos.	Validado (7)
	ISO 14403:2012			3 dias	Melhor prática
Cloramina		P ou V escuro	Analisar no local	5 min	Melhor prática

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Clorato	ISO 10304-4:1997	P ou V	Adicionar NaOH (5) a pH $10 \pm 0,5$	7 dias	Melhor prática
Cloreto	ISO 15682:2000	PE ou V		1 mês	Melhor prática
	ISO 10304-4:1997	P ou V			
Clorito	ISO 10304-4:1997	P ou V escuro	Adicionar NaOH (5) a pH $10 \pm 0,5$	7 dias	Melhor prática
Cloro residual		P ou V escuro	Analisar no local	5 min	Melhor prática

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Clorofila	ISO 10260:1992	P ou V	Filtrar (porosidade 0,40 a 0,45 µm, a não ser que outro normativo especifique outra porosidade)	1 dia	Melhor prática
			Depois da filtração (porosidade 0,40 a 0,45 µm, a não ser que outro normativo especifique outra porosidade) e extração com etanol (aquecido), congelar a temperatura < - 18°C.	extrato 1 mês	
			Depois da filtração (porosidade 0,40 a 0,45 µm, a não ser que outro normativo especifique outra porosidade), congelar a temperatura < - 18 °C.	filtro + resíduo 14 dias	
			Depois da filtração (porosidade 0,40 a 0,45 µm, a não ser que outro normativo especifique outra porosidade), congelar a temperatura < - 18 °C .	filtro + resíduo 1 mês	
Cobalto	ISO 15586:2003	PE,PP,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)	6 meses	Melhor prática
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE.			
	ISO 17294-2:2003	Para baixas concentrações: PFA,FEP			

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Cobre	ISO 15586:2003	PE,PP,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)	6 meses	Validado (7)
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE.			
	ISO 17294-2:2003	Para baixas concentrações: PFA,FEP			
Compostos orgânicos de estanho	ISO 17353:2004	V	Armazenar as amostras no escuro ou em recipientes escuros.	1 dia	Melhor prática
		V		7 dias	Melhor prática
Compostos orgânicos voláteis (COVs): Hidrocarbonetos halogenados voláteis , hidrocarbonetos monocíclicos aromáticos, e outros compostos orgânicos.		V, com tampa de PTFE, ou vials com "espaço de cabeça"	Acidificar entre pH 1 a 2 com HCl (3) ou HNO ₃ (1), ou H ₂ SO ₄ (2). Se as amostras forem cloradas aplica-se a nota c) O uso de HCl é interferente se a técnica de "purga e focagem" for utilizada.	7 dias	Validado (7)
	ISO 15680:2003			5 dias	Melhor prática
	ISO 11423-1:1997			2 dias	Melhor prática
	ISO 11423-2:1997			3 dias	Melhor prática
				1 dia	Melhor prática
Condutividade	ISO 7888-1985	P ou V exceto (vidro NaOH)	Analisar de preferência no local	1 dia	Melhor prática

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Cor	ISO 7887-2011	P ou V	Armazenar no escuro ou usar recipientes escuros.	5 dias	Melhor prática
			Para águas subterrâneas ricas em ferro (II), analisar no local	5 min	Melhor prática
Crômio	ISO 15586:2003	PE,PP,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)	6 meses	Validado (7)
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE.			
	ISO 17294-2:2003	Para baixas concentrações: PFA,FEP			
Crômio (VI)	ISO 23913:2006	P ou V borosilicato		24 horas	Melhor prática
	ISO 18412:2005	P ou V borosilicato		4 dias	Melhor prática
Dióxido de carbono	ISO 9439	P ou V	Analisar de preferência no local	1 dia	Melhor prática
Dióxido de cloro		P ou V escuro	Analisar no local	5 min	Melhor prática
Dureza total (cálcio): ver cálcio					

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
EOX (compostos halogenados extratáveis). Águas superficiais e residuais		V	Se as amostras forem cloradas, anotar e aplicar.	4 dias	Validado (7)
EOX (compostos halogenados extratáveis). Águas subterrâneas e de consumo humano		V	Se as amostras forem cloradas, anotar e aplicar.	1 mês	Validado (7)
EOX (compostos halogenados extratáveis).		V	Se as amostras forem cloradas, anotar e aplicar. Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1) ou H ₂ SO ₄ (2)	14 dias	Melhor prática
Estanho	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias: PE-HD, PTFE	Acidificar entre pH 1 e 2 com HCl (3) ou HNO ₃ (1). O HCl é obrigatório se a técnica de geração de hidreto for utilizada.	1 mês	validado (7)
	ISO 17294-2:2003	Para concentrações baixas: PFA, FEP			

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Fenol (Índice)		V	acidificar a pH < 4, com H ₃ PO ₄ (5.2.2) ou H ₂ SO ₄ (5.2.5)	21 dias	Melhor prática
	ISO 14402:1999	PTFE,V	acidificar a pH < 4, com H ₃ PO ₄ (5.2.2) ou H ₂ SO ₄ (5.2.5). Guardar as amostras no escuro ou em frascos de vidro escuro.	21 dias	Melhor prática
Fenóis	ISO 8165-1:1992	V, ou V borosilicatado, com tampa de PTFE	acidificar a pH < 4, com H ₃ PO ₄ (5.2.2) ou H ₂ SO ₄ (5.2.5)	21 dias	Melhor prática
	ISO 8165-2:1999	V escuro	pH < 2	7dias	Melhor prática
Fenóis alquilados	ISO 18857-1:2005	V	acidificar a pH < 2, com HCl (5.2.3) ou H ₂ SO ₄ (5.2.5)	14 dias	Melhor prática
	ISO 18857-2:2009	V com tampa de vidro escuro, revestida a PTFE			
Fenóis clorados	ISO 8165-1:1992	V ou V de borosilicato, com tampa revestida a PTFE.	se as amostras são cloradas, aplica-se a nota c)	2 dias	Melhor prática
	ISO 8165-2:1999				
Ferro (II)		P ou V de borosilicato	Acidificar entre pH 1 e 2 com HCl (3).	7 dias	Melhor prática

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Ferro	ISO 15586:2003	PE,PP,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1) .	1 mês	Melhor prática
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE. Para baixas concentrações: PFA,FEP			
	ISO 17294-2:2003				
Fluoreto	ISO 10304-1:2007	P excluindo PTFE		1 mês	Melhor prática
	ISO 10359-1:1992				
	ISO 10359-2:1994				
Fósforo dissolvido		P ,V ou V de borosilicato. P	As amostras devem ser filtrada no campo. Antes da análise, agentes oxidantes podem ser removidos adicionando sulfato de ou ferro (II) ou arsenito de sódio.	1 mês	Melhor prática
			congelar Temp < – 18 °C		
	ISO 11885:2007	para concentrações consideradas Intermédias: PE-HD, PTFE. Para baixas concentrações: PFA,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)		
	ISO 17294-2:2003				
ISO 6878:2004	Preferencialmente V, ou em alternativa PE, PVC				

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Fósforo total		P, vidro ou vidro borosilicatado	Acidificar entre pH 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2) ou HNO ₃ (1)	1 mês	Melhor prática
	ISO 15681-1:2003	P, V ou V borosilicatado			
	ISO 15681-2:2003				
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias: PE-HD, PTFE Para baixas concentrações: PFA, FEP			
	ISO 17294-2:2003				
	ISO 6878:2004	Preferencialmente V, ou em alternativa PE, PVC			
		P	Congelar Temp < - 18 °C	6 meses	Validado (7)
Ftalatos	ISO 18856:2004	V	Guardar as amostras no escuro ou em frascos escuros.	4 dias	Melhor prática
Hidrazina			Acidificar com HCl a 1 mol/l. Armazenar as amostras no escuro ou em recipientes escuros.	1 dia	Melhor prática
Hidrocarbonetos		V		1 mês	Melhor prática
	ISO 9377-2:2000	V com tampa de vidro ou tampa com septo de silicone e teflon	Acidificar entre pH 1 e 2 com HCl (3) , HNO ₃ (1) ou H ₂ SO ₄ (2).	4 dias	Melhor prática

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
HPAs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos)	ISO 17993:2002	V com tampa revestida a PTFE	Se as amostras forem cloradas, aplica-se a nota c)	7 dias	Melhor prática
	ISO 28540:2011			Para o naftaleno só 4 dias	Validado (7)
Hidrocarbonetos monocíclicos aromáticos					
Hidrogenocarbonatos (ver alcalinidade)					
Índice de Permanganato (CODMn)	ISO 8467:1993	P ou V	Acidificar entre pH 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2)	2 dias	Melhor prática
		P ou V	Armazenar as amostras no escuro	2 dias	Melhor prática
		P	Congelar a < - 18 °C	1 mês	Melhor prática
Iodeto	ISO 10304-1:1997			1 mês	Melhor prática
Iodo		V	Armazenar as amostras no escuro ou em recipientes escuros.	1 dia	Melhor prática
Lítio	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE. Para baixas concentrações: PFA,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1).	1 mês	Melhor prática
	ISO 17294-2:2003				
	ISO 114911:1998	PE	Acidificar a pH (3 ± 0,5) com HNO ₃ (1)		

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Magnésio	ISO 7980:1986	PE,PP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1) .	1 mês	Melhor prática
	ISO 11885:2007 referência 5667	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE.			
	ISO 17294-2:2003 referência 5667	Para baixas concentrações: PFA,FEP			
	ISO 114911:1998	PE	Acidificara pH (3 ± 0,5) com HNO ₃ (1)		
Manganês	ISO 15586:2003	PE,PP,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1).	1 mês	Melhor prática
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE.			
	ISO 17294-2:2003	Para baixas concentrações: PFA,FEP			

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Mercúrio		P ou V borosilicato	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)	6 meses	Melhor prática
	ISO 17852:2006	PTFE,FEP, V borosilicato,quartzo			
	ISO 12846:2012	P ou V de borosilicato	Adicionar HCl 1ml/100 ml. Importante assegurar que a amostra não apresenta contaminação.	2 dias	Validado (7)
			A estabilização com digestão usando brometo de poássio-bromato de potássio realiza-se em laboratório	1 mês	Melhor prática
Molibdênio	ISO 15586:2003	PE,PP,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)	1 mês	Melhor prática
Níquel	ISO 15586:2003	PE,PP,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1).	6 meses	Validado (7)
	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias PE-HD,PTFE.			
	ISO 17294-2:2003	Para baixas concentrações: PFA,FEP			
Nitrato (todas as águas)		P ou V		1 dia	Melhor prática
	ISO 13359:1996	PE ou V		1 dia	
		PE ou V	Congelar a < - 18 °C	8 dias	
		P ou V	Acidificar entre pH 1 e 2 com HCl (3)	7 dias	
		P	Congelar a < - 18 °C	1 mês	

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Nitrato (águas superficiais e residuais)		P ou V	Amostra filtrada no local	4 dias	Validado (7)
Nitrito (todas as águas)	ISO 13359:1996	P ou V	Analisar de preferência no local	1 dia	Validado
Nitrito (águas superficiais e residuais)		P ou V	Amostra filtrada no local	4 dias	Validado (7)
Odor		V	Análise qualitativa a realizar no local	6 horas	Melhor prática
Óleo e gordura		V	Acidificar entre pH 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2) ou HCl (3) ou HNO ₃ (1). Encher o frasco até ~ 90%, deixar suficiente espaço de cabeça.	1 mês	Melhor prática
Ortofosfatos dissolvidos: ver fósforo dissolvido					
Oxigénio		P ou V	Fixar o oxigénio no local. Armazenar as amostras no escuro ou em recipientes escuros.	4 dias	Melhor prática
		P ou V	O método eletroquímico também pode ser usado no local. Armazenar as amostras no escuro ou em recipientes escuros.	1 dia	Melhor prática
	ISO 5814:2012	P ou V	Não requer análise no local		
Pesticidas: carbamatos		V	Se as amostras forem cloradas anotar e aplicar	14 dias	Melhor prática
		P	Congelar a < - 18 °C	1 mês	Melhor prática

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Pesticidas: herbicidas fenoxi alcanóicos. Herbicidas fenoxi ácidos alquil-halogenados e bentazona		V com tampa com PTFE ou septo	Acidificar entre pH 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2) ou HCl (3) ou HNO ₃ (1)	14 dias	Melhor prática
	ISO 15913:200:2012	V escuro	Acidificar entre pH 3 e 4 com ácido metanoico (6)	3 dias	Melhor prática
Pesticidas organoazotados	ISO 10695:2000	Vidro escuro, com tampa de PTFE	Alguns compostos orgânicos azotados podem degradar-se rapidamente em ambiente aquoso, assim e a menos que indicadores de estabilidade evidenciem contrário, a amostra deve ser extraída no prazo de dois dias após colheita.	2 dias	Melhor prática
Pesticidas organoazotados	ISO 11369:1997	V escuro, com tampa de PTFE		7 dias	Melhor prática
Pesticidas organoazotados (triazinas): atrazina, propazina, simazina, terbutrina		V escuro, com tampa de PTFE		1 mês	Validado (7)

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Pesticidas organoclorados e clorobenzenos α -endossulfão, β -endossulfão, endossulfão sulfato, cis-clordano, trans-clordano, cis-heptacloroepóxido; trans-heptacloroepóxido, heptacloro, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, aldrina, dieldrina, endrina, isodrina, telodrina, hexaclorobutadieno, o,p'DDD, o,p'DDE, o,p'DDT, p,p' DDD, p,p'DDE, p,p'DDT, 1,2,3-triclorobenzeno, 1,2,4-triclorobenzeno, 1,3,5-triclorobenzeno, 1,2,3,4-tetraclorobenzeno, 1,2,3,5-tetraclorobenzeno, 1,2,4,5-tetraclorobenzeno, pentaclorobenzeno, hexaclorobenzeno.	ISO 6468:1996	V escuro com tampa PTFE	recolher amostra para endossulfão separadamente a pH < 2, outros pesticidas ajustar entre pH 5,0 e 7,5. Se o pH estiver fora desta gama extrair no prazo de 24 horas	1 dia	Melhor prática
		V escuro com tampa PTFE		7 dias	Validado (7)

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Pesticidas organofosforados	ISO 10695:2000	V escuro com tampa PTFE	Alguns pesticidas organofosforados degradam-se rapidamente no meio aquático. Assim e a não ser que ensaios de estabilidade indiquem o contrário, extrair a amostra no prazo de 1 dia.	1 dia	Melhor prática
Pesticidas organofosforados: etilo e metilo cloropirifos; diazinão, dimetoato, dissulfotão, fentião, malatião, mevinfos, paratião metilo.		V escuro com tampa PTFE		7 dias	Validado (7)
Pesticidas organofosforados: glifosato	ISO 21458:2008			6 dias	Melhor prática
		P, e.g. de poliolefina	congelar Temp < – 18 °C	1 mês	Melhor prática
PETRÓLEO E DERIVADOS-VER HIDROCARBONETOS					
PCB (compostos bifenilpoliclorados)	ISO 6468:1996	V com tampa revestida a PTFE	Ajustar o pH entre 5,6 a pH 7,5. Se o pH estiver fora deste intervalo, extrair no espaço de 24 h.	1 dia	Melhor prática
			Se as amostras forem cloradas, aplica-se a nota c)	7 dias	Validado (7)

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
pH	ISO 10523:2008	plástico ou vidro	Analisar de preferência no local.	1 dia	validado (7)
pH (anaeróbico) água subterrânea	ISO 10523:2008	PE ou vidro, deve excluir-se o ar através com utilização tampa adequada			
Potássio	ISO 11885:2007	Para concentrações consideradas intermédias: PE-HD, PTFE	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1)	1 mês	Melhor prática
	ISO 17294-2:2003	Para concentrações baixas: PFA, FEP			
	ISO 9964-3:1993	PE	acidificar a pH < (3±0,5) com HNO ₃ (1)		
	ISO 14911:1998				
Prata	ISO 15586:2003	PE,PP,FEP	Acidificar a pH entre 1 e 2 com HNO ₃ (1)	1 mês	Melhor prática
	ISO 11885:2007	para concentrações consideradas intermédias: PE-HD, PTFE			
	ISO 17294-2:2003	para concentrações baixas: PFA, FEP			

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Selênio	ISO 15586:2003	PE, PP,FEP	acidificar entre pH > 1 e pH < 2 com H ₂ SO ₄ (5.2.5) ou HNO ₃ (5.2.4)	1 mês	Melhor prática
	ISO 11885:2007	para concentrações consideradas intermédias: PE-HD, PTFE	HCl (3) deve ser utilizado se a técnica analítica for a geração de hidretos. Acidificar entre pH 1 e 2 com H ₂ SO ₄ (2) ou HNO ₃ (1)		
	ISO 17294-2:2003	para concentrações baixas: PFA, FEP			
Silicatos dissolvidos		P	A amostra deve ser filtrada no local	1 mês	Melhor prática
	ISO 16264:2002	P	A amostra deve ser filtrada no local e analisada tão rápido quanto possível	5 min	Melhor prática
Silicatos totais		P		1 mês	Melhor prática
Sódio	ISO 11885:2007	para concentrações consideradas intermédias: PE-HD, PTFE	Acidificar a pH 1 até 2 com HNO ₃ (1)	1 mês	Melhor prática
	ISO 17294-2:2003	para concentrações baixas: PFA, FEP			
	ISO 9964-3:1993	PE			
	ISO 14911:1998	PE	Acidificar a pH < (3 ± 0,5) com HNO ₃ (1)		
Sólidos Suspensos		P ou V		2 dias	Melhor prática
Sólidos totais (resíduo total, extrato seco)		P ou V		7 dias	Melhor prática

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Sulfitos	ISO 103043:19977	P	Fixar os sulfitos no local adicionando 1 ml de solução de EDTA (5.2.1), por 100 ml de amostra.	7 dias	Melhor prática
Sulfuretos livres		P	Fixar os sulfuretos no local adicionando 2 ml de solução de acetato de zinco (5.2.1) e adicionar NaOH (5.1.3) se o pH não estiver compreendido entre 8,5 e 9,0.	7 dias	Melhor prática
			Se as amostras são cloradas, aplicar a nota c)		
Surfactantes/ Detergentes aniônicos		V		3 dias	Melhor prática
			Adicionar solução de formaldeído (5.2.13), (ver aviso)	4 dias	
			congelar Temp < – 18 °C	1 mês	
Surfactantes/ Detergentes catiónicos		V		2 dias	Melhor prática
Surfactantes/ Detergentes não iônicos		V	Adicionar solução de formaldeído (5.2.13), (ver aviso)	1 mês	Melhor prática
Trihalometanos: ver compostos orgânicos voláteis (COVs).					
Turvação	ISO 7027:1999	P ou V	Guardar as amostras no escuro ou em frascos escuros.	1 dia	Melhor prática

Analito	Referência internacional norma	Tipo de recipiente	Condições de preservação e armazenamento	Tempo máximo de armazenamento	Validação ou Melhor prática
Urânio		P ou V de borosilicato.	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1).	1 mês	melhor prática
Zinco	ISO 15586-2003	PE,PP,FEP	Acidificar entre pH 1 e 2 com HNO ₃ (1).	6 meses	validado (7)
	ISO 11885-2007	Para concentrações consideradas intermédias: PE-HD, PTFE			
	ISO 17294-22007	Para concentrações baixas: PFA, FEP			

Legenda:

P-plástico

V-vidro

PE-polietileno

PVC-cloreto de polivinilo

PTFE-Politetrafluoretileno (teflon)

PE-HD-polietileno de alta densidade

PP-Polipropileno

FEP-etileno-propileno fluorado

(1) Ácido nítrico ($\rho \sim 1,42$ g/ml), HNO₃, w (HNO₃) > 65% c (HNO₃)= 15,8mol/l.

(2) Ácido sulfúrico ($\rho \sim 1,84$ g/ml), H₂SO₄ (preparado recentemente)

(3) Ácido hidrocloreto ($\rho \sim 1,2$ g/ml), HCl, > 36%, c(HCl)=12,0 mol/l.

(4) Ácido ortofosfórico ($\rho \sim 1,7$ g/ml), H₃PO₄, w (H₃PO₄) > 85%, c(H₃PO₄)=15 mol/l.

(5) Hidróxido de sódio, NaOH, w(NaOH) > 99% ou solução hidróxido de sódio ($\rho \sim 0,40$ g/ml), NaOH.

(6) Ácido metanoico (ácido fórmico) CH₂O₂, ρ (CH₂O₂) > 98%

(7) Ver norma

14.2 ANEXO II - TÉCNICAS DE PRESERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS - ANÁLISE BIOLÓGICA

Organismo/grupo a estudar	Técnica de preservação no Laboratório	Tipo de recipiente	Condições Conservação antes do ensaio	Comentários
Macroinvertebrados bentónicos, amostras de grandes volumes	P ou V	Adicionar Etanol (1) de modo a obter uma proporção de 70% - 75%.	1 ano	Água nas amostras deve primeiro ser decantada, passar por água desionizada e guardar em solução de etanol
Macroinvertebrados bentónicos, amostras de pequenos volumes	P ou V	Transferir para uma solução preservante de etanol (1)	Indefinidamente	São necessários procedimentos especiais para grupos que possam ser alterados pelos tratamentos normais de conservação (exp Platelminas)
Algas e fitoplâncton	P ou V com tampa apropriada e de aperto justo à abertura	Adição de 0,5 /1 - V/V de solução de Lugol (1). Guardar a (3 ± 2) °C	6 meses	Guardar as amostras no escuro. Aplica-se habitualmente solução alcalina de Lugol (1) em amostras frescas de água e solução ácida de Lugol em água do mar com flagelados sensíveis. Para determinações específicas, ver normas específicas. Adição de mais solução de Lugol pode ser necessária se for se pretender descolorar. Deve ser evitada a sobressaturação (cor castanha escura), contudo pode ser adicionada solução de Lugol (1) extra para fazer a amostra retomar a cor amarela clara (cor de palha). Encher o frasco até aproximadamente 90%, deixando suficiente espaço de ar para permitir homogeneização

Microalgas	P ou V com tampa apropriada e de aperto justo à abertura	Adição de 0,5/1 - V/V de solução de Lugol (1). Guardar a (3 ± 2) °C	6 meses	Guardar as amostras no escuro. Aplica-se habitualmente solução alcalina de Lugol (1) em amostras frescas de água e solução ácida de Lugol em água do mar com flagelados sensíveis. Para determinações específicas, ver normas específicas. Adição de mais solução de Lugol pode ser necessária se for se pretender descolorar. Deve ser evitada a sobressaturação (cor castanha escura), contudo pode ser adicionada solução de Lugol (1) extra para fazer a amostra retomar a cor amarela clara (cor de palha). Encher o frasco até aproximadamente 90%, deixando suficiente espaço de ar para permitir homogeneização
		Congelar a – 18 °C	1 ano	São necessários procedimentos especiais para grupos que possam ser alterados pelos tratamentos normais de conservação (exp Platelminas)
Macrófitos	P ou V com tampa apropriada e de aperto justo à abertura	Adicional Etanol (1) de modo a obter uma proporção de 70% - 75%.	6 meses	Encher o frasco até aproximadamente 90%, deixando suficiente espaço de ar para permitir homogeneização
		Congelar a – 18 °C	1 ano	Procedimentos especiais podem ser necessários com grupos que são alteráveis pelos métodos padrão de conservação

Diatomáceas bentónicas	P ou V com tampa apropriada e de aperto justo à abertura	Adição de 0,5/ 1 - V/V de solução de Lugol (1) .Guardar a (3 ± 2) °C	6 meses	Guardar as amostras no escuro. Aplica-se habitualmente solução alcalina de Lugol (1) em amostras frescas de água e solução ácida de Lugol em água do mar com flagelados sensíveis. Para determinações específicas, ver normas específicas. Adição de mais solução de Lugol pode ser necessária se for se pretender descolorar. Deve ser evitada a sobresaturação (cor castanha escura), contudo pode ser adicionada solução de Lugol (1) extra para fazer a amostra retomar a cor amarela clara (cor de palha). Encher o frasco até aproximadamente 90%, deixando suficiente espaço de ar para permitir homogeneização
		Transferir para uma solução preservante de etanol (1)	6 meses	Encher o frasco até aproximadamente 90%, deixando suficiente espaço de ar para permitir homogeneização.
Diatomáceas pelágicas	P ou V, com tampa apropriada e de aperto justo à abertura	Adição de 0,5 /1 - V/V de solução de Lugol (1) . Guardar a (3 ± 2) °C	1ano	Guardar as amostras no escuro. Aplica-se habitualmente solução alcalina de Lugol (1) em amostras frescas de água e solução ácida de Lugol em água do mar com flagelados sensíveis. Para determinações específicas, ver normas específicas. Adição de mais solução de Lugol pode ser necessária se for se pretender descolorar. Deve ser evitada a sobresaturação (cor castanha escura), contudo pode ser adicionada solução de Lugol (1) extra para fazer a amostra retomar a cor amarela clara (cor de palha). Encher o frasco até aproximadamente 90%, deixando suficiente espaço de ar para permitir homogeneização

Zooplâncton	P ou V	Adicional Etanol (1) de modo a obter uma proporção de 70% - 75%	1 ano	Adequado a crustáceos e rotíferos
		Adicionar solução neutralizada de formaldeído (1)	1 ano	
		Adicionar solução neutralizada de Lugol (1)	6 meses	Adição de mais solução ácida de Lugol (1) pode ser necessária se ocorrer descoloração.
massa de fresca ou seca				
Macroinvertebrados bentônicos, macrófitas, algas, zooplâncton, peixes	P ou V	Adicionar solução neutralizada de formaldeído (1)	24 h	Não congelar abaixo de – 18 °C. A análise deve começar tão cedo quanto possível e nunca mais tarde do que 24 h.
	P ou V	Refrigerar a (3 ± 2) °C	Mínimo de 3 meses de conservação antes de analisar	Ter em consideração que as determinações de perifiton e fitoplâncton em biomassa fresca e seca são usualmente baseadas, na medição do volume de células efetuado durante os procedimentos de identificação e contagem na amostra preservada.
massa de cinzas				
Macroinvertebrados bentônicos, macrófitas, algas	P ou V	Adicionar solução neutralizada de formaldeído (1)	Mínimo de 3 meses de conservação antes de analisar	Ter em consideração que as determinações de perifiton e fitoplâncton em biomassa fresca e seca são usualmente baseadas, na medição do volume de células efetuado durante os procedimentos de identificação e contagem na amostra preservada.
massa seca e massa de cinzas				
Zooplâncton	P ou V	Congelar a – 18 °C	6 meses	Amostra é filtrada através de filtros de fibra de vidro previamente pesados e depois congelados abaixo de – 18 °C .

Legenda:

P- plástico; V- vidro.

(1) – ver norma