

## 1. Objetivo

O objetivo deste procedimento é apresentar a sistemática das amostragens realizadas pela EcoCerta e orientar seus clientes para a realização de forma correta.

## 2. Responsabilidade

Todos os colaboradores que realizam amostragens devem seguir esse procedimento para garantir a integridade e segurança das amostras a serem analisadas.

## 3. Desenvolvimento

Os ensaios realizados na amostragem (a campo) de amostras ambientais devem seguir o PE-800.

### 3.1 Plano de amostragem

As instruções de amostragem seguem o SMEWW (*Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater, 23ª edition*).

O plano de amostragem é determinado em função da licença de operação (LO) do cliente e/ou pela necessidade do mesmo, sendo a periodicidade mínima da amostragem definida na LO do cliente, quando aplicável.

No Plano de Amostragem constam os ensaios (parâmetros) a serem analisados com as informações específicas (quantidade, frasco, preservação, validade, metodologia de análise, limite de quantificação), o tipo de amostragem (simples ou composta), além de campos para preenchimento de informações relevantes.

Quando a EcoCerta é responsável pela amostragem, transporte e acondicionamento, devem ser seguidas as instruções específicas, sendo preenchido, no momento da amostragem, o Plano de Amostragem EcoCerta, que é gerado automaticamente no QualiLIMS. Quando o Cliente acompanhar as coletas, o mesmo deverá assinar os respectivos Planos de Amostragem (no campo Acompanhante da Amostragem (Cliente)).

Quando a amostragem é realizada pelo cliente, ele deverá seguir as orientações contidas no Orçamento, no PA-070, e preencher corretamente o Plano de Amostragem Cliente e/ou FR058-Requisição de Ensaios/Cadeia de Custódia, e/ou FR115-Requisição de Ensaios em Alimentos.

### 3.2 Amostragem e transporte de amostras

A amostragem deve ser realizada por pessoal qualificado da EcoCerta ou pelo cliente, seguindo as especificações descritas a seguir, de acordo com o tipo de matriz e ensaio a ser realizado.

Os materiais necessários para amostragem, dentre eles EPIs (luvas de procedimento, óculos de proteção, jaleco ou uniforme, máscara descartável, quando necessário; botina de couro, etc), devem ser utilizados corretamente.

#### 3.2.1 Amostras ambientais

Para amostras ambientais, o Plano de Amostragem faz parte do kit de coleta, que é composto pelos devidos frascos para as amostras, frasco do branco de campo, gelo e/ou outro material para refrigerar as

amostras dentro da caixa de isopor. Além disso, os materiais necessários para amostragem devem ser utilizados corretamente, dentre eles medidor de temperatura (termômetro) e de pH (pHmetro portátil), pisseta com água de osmose (para limpeza do eletrodo do pHmetro), borrifador com álcool 70 °GL, pinça metálica, clorímetro, ferramentas manuais, dentre outros. Além disso, o coletador sempre deve ter frascos reservas disponíveis no veículo, caso ocorra qualquer eventualidade (quebra de frascos na movimentação, solicitação extra do cliente,...). A listagem dos materiais utilizados pelo coletador está descrita no FR018-Materiais para coleta e amostragem.

As amostras devem ser identificadas, e após a amostragem, as mesmas devem ser acondicionadas corretamente em caixas de isopor refrigeradas, para evitar quebra e/ou contaminação, e transportadas ao laboratório o mais breve possível. Sempre atentando o tempo necessário para que a análise ocorra dentro do prazo de validade da amostra.

O transporte das amostras, realizado pela EcoCerta, até o laboratório pode ser realizado com o uso de veículos próprios ou locados, devendo ser preenchido o formulário FR019-Uso do veículo.

#### 4. Instruções gerais para amostragem de amostras ambientais líquidas (águas e efluentes)

Os coletadores devem fazer a antissepsia das mãos com álcool 70 °GL, não fumar, não falar ou comer durante o procedimento de amostragem. Devem utilizar os EPI's visando a proteção da amostra e de si próprio.

Para a amostragem, deverão ser usados frascos adequados (com preservantes e/ou esterilizados, quando aplicável), fornecidos pela EcoCerta. No momento da amostragem, identificar o frasco, lembrando que a quantidade de amostra deve levar em consideração o número de ensaios (parâmetros) solicitados, conforme estabelecido no Plano de Amostragem, que também deve ser preenchido nesse momento.

Manter o frasco fechado até o momento da amostragem e quando for aberto, evitar que a tampa entre em contato com qualquer objeto ou material. Após a amostragem, fechar imediatamente o frasco e acomodá-lo em ambiente refrigerado.

As amostras, sob refrigeração, devem ser encaminhadas o mais breve possível ao laboratório, evitando exceder 24 h entre a coleta e o recebimento no laboratório. As amostras devem ser transportadas em recipiente térmico, acompanhadas de gelo ou outra substância refrigerante, com o objetivo de evitar qualquer alteração.

As amostras enviadas por clientes devem ser mantidas em sua embalagem original para evitar modificações em suas características, e deverão ser acompanhadas do Plano de Amostragem e/ou FR058-Requisição de Ensaios/Cadeia de custódia.

Não serão analisadas amostras contidas em frascos inadequados ou em quantidade insuficiente sem a autorização formal do cliente, conforme PGQ-018.

##### 4.1 Águas superficiais (rios, lagoas, piscinas, arroios, dentre outros):

Rios e lagos: por questão de segurança, nunca efetuar uma amostragem sozinho em rios e lagos. Usar formas seguras de deslocamento em rios e lagos profundos, onde o acesso é perigoso ou impraticável. Localizar um canal direto e uniforme para amostragem. A não ser que especificado no Plano de Amostragem, evitar locais próximos a confluências ou fontes de ponto de contaminação e não amostrar ao longo de contenção, pois ela não pode ser representativa do corpo d'água superficial como um todo.

Amostrar, segurando o frasco verticalmente próximo à base, conforme Figura 1, quando possível.



**Figura 1:** Amostragem de água superficial diretamente do corpo d'água.

#### **4.2 Águas subterrâneas de poços profundos com bomba:**

Bombear a água durante aproximadamente 20 a 30 min para obtenção de água do fluxo laminar, utilizando bomba de baixa vazão, conforme PA-022. Caso houver indícios de contaminação externa, a desinfecção da torneira deverá ser feita com álcool 70 °GL. Neste caso, proceder ao escoamento da água da torneira por período suficiente para eliminar todo resíduo que possa vir a interferir na análise da amostra.

A amostra deve ser amostrada preferencialmente na válvula de saída do poço ou então na entrada do reservatório.

#### **4.3 Águas subterrâneas de poços rasos com bomba:**

Bombear a água durante aproximadamente 5 a 10 min, utilizando bomba de baixa vazão, conforme PA-022. Caso haja indícios de contaminação externa, a desinfecção da torneira deverá ser feita com álcool 70 °GL, devendo neste caso, proceder ao escoamento da água da torneira por período suficiente para eliminar todo resíduo que possa vir a interferir na análise da amostra. Reduzir o fluxo de água para permitir o enchimento do frasco sem respingos.

#### **4.4 Águas subterrâneas de poços rasos sem bomba:**

A amostragem deve ser realizada com auxílio de balde de aço inox e corda. O conjunto balde e corda só deve ser desembalado no momento da amostragem, para evitar contaminação. Utilizar um conjunto para cada ponto de amostragem, para evitar a contaminação cruzada de um ponto para outro e, conseqüentemente, da própria amostra. Descer o balde até que afunde na água, evitando-se o contato com as paredes do poço e da corda com a água. Após enchimento, retirá-lo com os mesmos cuidados.

#### **4.5 Águas subterrâneas em poços de monitoramento e piezômetros (postos de combustíveis e de indústrias):**

Introduzir o amostrador descartável (bailer) preso a um barbante (ou fio de nylon) sem tocar as paredes do poço, aguardar seu enchimento, retirá-lo do poço e descartar a primeira amostragem. Após isso, reintroduzir o amostrador, aguardar seu enchimento, retirá-lo do poço e transferir a amostra para o frasco adequado, conforme Figura 2.

Também pode ser utilizada a bomba de baixa vazão, conforme PA-022.

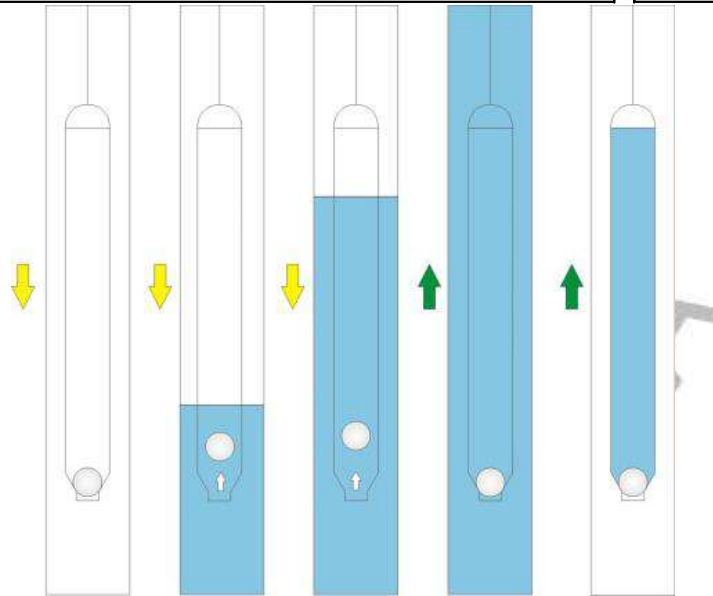


Figura 2: Enchimento do amostrador descartável bailer.

#### 4.6 Efluentes:

Remover a tampa do frasco tomando precauções para evitar a contaminação da amostra pelas luvas ou outro material e realizar a amostragem diretamente na torneira ou local apropriado.

##### 4.6.1 Amostragem em caixas separadoras de água-óleo (CSAO)

Conforme a Resolução CONAMA nº 273 de 2000, postos de revenda e de consumo de combustíveis devem ser dotados de sistema de drenagem oleosa, a fim de promover o tratamento de efluentes provenientes de áreas de abastecimento, troca de óleo e lavagem, para posterior despejo na rede pública coletora.

Separadores água-óleo ou simplesmente os SAO, são usados para receber efluentes e águas contaminadas com óleos e graxas em estabelecimentos industriais ou comerciais de áreas de manutenção, lavagem de veículos, máquinas em oficinas mecânicas, etc.. O SAO também pode ser utilizado no tratamento preliminar de uma estação de tratamento de efluentes ou esgotos (ETE), no intuito de minimizar os impactos do óleo nas etapas seguintes, como, por exemplo, no tratamento biológico.

As caixas separadoras de água e óleo (CSAO) são destinadas a separar óleos não emulsivos em água, através de processo físico de decantação e operando em regime laminar. Os separadores água-óleo empregam métodos físicos e trabalham por densidade, usando a tendência de o óleo flutuar na água. O efluente que entra na caixa separadora encontrará uma série de obstáculos até a saída, visando aumentar a área de contato e o tempo de residência do efluente, facilitando a coalescência e a consequente separação água-óleo. Por diferença de densidade, o óleo se dirige para a superfície e a água para abaixo da superfície, conforme Figura 3:

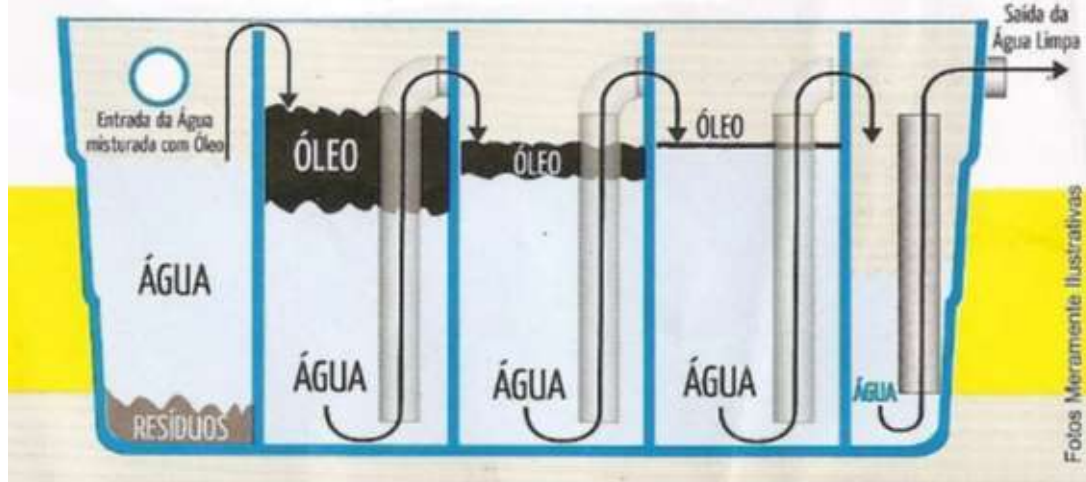


Figura 3: Exemplo de sistema separador água e óleo.

A amostragem em CSAO deve ser realizada no último compartimento, preferencialmente na saída da água limpa.

O sistema utilizado em postos de gasolina é, geralmente, composto da seguinte forma:

- Caixa retentora de areia: que retém os sólidos grosseiros e materiais sedimentáveis (como areia e lodo) provenientes dos chassis, rodas e lavagem de piso;
- Caixa separadora de óleo: que reduz a velocidade do fluxo e retém a maior parte do óleo;
- Caixa coletora de óleo: que recebe o óleo que vem da caixa separadora;
- Caixa de inspeção: onde a remoção do óleo pode ser verificada e é o local onde a amostra deve ser coletada.

#### 4.7 Instruções gerais para coleta de amostras ambientais compostas

Amostras podem ser simples ou compostas:

- A amostra simples é coletada em uma única tomada de amostra, indicada para os casos onde a vazão e a composição do líquido não apresentam variações significativas;
- A amostra composta é constituída por uma série de amostras simples, retiradas durante um determinado período e misturadas para constituir uma única amostra homogeneizada, pois ocorre uma grande variação de vazão e/ou composição do líquido. O período total da amostragem composta poderá ser subdividido, não excedendo o período máximo de 24 h.

Para uma amostragem composta, deverá ser pré-estabelecido o número de alíquotas que vão constituir a amostra composta (geralmente definido na L.O. do cliente ou pelo próprio cliente). Deve-se amostrar pelo menos 1 L de amostra, em recipiente limpo, a qual terá o local de amostragem, horário, temperatura ambiente e da amostra e pH medidos em cada alíquota e informados no Plano de Amostragem. Após a medida dos parâmetros, a amostra é acondicionada em galão de 5 ou 10 L, o qual receberá as demais alíquotas. Ao final da amostragem deve-se homogeneizar o líquido do interior do galão por agitação e então proceder com a transferência aos frascos adequados, conforme ensaios (parâmetros) solicitados.

## 5. Instruções específicas para ensaios microbiológicos em amostras ambientais

A amostragem para ensaios microbiológicos deve ser realizada sempre antes da amostragem de qualquer outro tipo de ensaio. Tal procedimento visa evitar a contaminação do local da amostragem com frascos não estéreis.

Selecionar uma torneira sem aeradores ou filtros, antes de reservatórios e caixas d'água e que seja proveniente diretamente da rede. Se a limpeza da torneira for questionável, escolha outra. Realizar a descontaminação externa: a desinfecção da torneira deverá ser feita com álcool 70 °GL. Neste caso, proceder ao escoamento da água da torneira por período suficiente para eliminar todo resíduo que possa vir a interferir na análise da amostra. Deixar escorrer a água durante cerca de 2 min para eliminar as impurezas e água acumulada na rede de distribuição. Reduzir o fluxo de água para permitir o enchimento do frasco sem respingos.

Considera-se o procedimento de flambagem desnecessário, pois além de provocar danos às torneiras e válvulas, comprovou-se não ter efeito letal sobre as bactérias. Porém alguns clientes solicitam a flambagem, que deve ser realizada da seguinte maneira: passar álcool 70% V/V na torneira com borifador; utilizar uma pinça com bucha de algodão embebida em álcool e acender a chama no algodão, passar a chama sobre a parte da torneira que entra em contato com a água por alguns segundos. Deixar escorrer a água durante cerca de 2 min para eliminar as impurezas e água acumulada na rede de distribuição. Reduzir o fluxo de água para permitir o enchimento do frasco sem respingos.

As amostras devem, preferencialmente, ser recolhidas diretamente nos frascos esterilizados que são utilizados para análise:

- a) Remova a tampa do frasco, tomando precauções para evitar a contaminação da amostra pelas luvas ou outro material. Manter a tampa próxima ao frasco no momento da amostragem a uma distância de aproximadamente 10 cm, para evitar a contaminação da parte interna da tampa ou queda de qualquer material no interior do frasco;
- b) Realize a amostragem, segurando o frasco verticalmente próximo à base, conforme Figura 1;
- c) A quantidade mínima de amostra deve levar em consideração o número de ensaios solicitados, conforme Plano de Amostragem;
- d) O frasco não deve ser completamente preenchido com amostra, devendo-se deixar um espaço vazio de cerca de 2,0 cm do topo, possibilitando a homogeneização correta da amostra antes do início da análise;
- e) Após a amostragem, fechar imediatamente o frasco, colocá-lo em saco plástico individual e acomodá-lo na caixa de coleta, mantendo-a sob refrigeração até a chegada no laboratório.

## 6. Instruções específicas para ensaios Físico-químicos, de Metais e de compostos orgânicos por Cromatografia em amostras ambientais

No Quadro 1 são apresentados os tipos de frascos e os devidos cuidados:

**Quadro 1:** Tipos de frascos e os devidos cuidados.

Tipo de Frascos	Cuidados
Frascos sem preservante	<ul style="list-style-type: none"><li>• Remover a tampa do frasco;</li><li>• Colocar um pouco da amostra no frasco de coleta e enxaguá-lo, para ambientá-lo;</li><li>• Preencher o frasco de coleta, deixando um espaço vazio de cerca de 2,0 cm do topo;</li><li>• Fechar em seguida;</li><li>• No caso dos viais, encher até a boca sem deixar espaços de ar (não formar bolhas), fechando-o em seguida.</li></ul>
Frascos com preservante (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HNO <sub>3</sub> , MnSO <sub>4</sub> /KI, Zn(CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> /NaOH, NaOH, HCl,...)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Remover a tampa do frasco;</li><li>• Preencher o frasco de coleta até o volume necessário, fechando-o em seguida;</li><li>• Frascos para ensaios de Metais: preencher o frasco de coleta, deixando um espaço vazio de cerca de 2,0 cm do topo;</li><li>• No caso dos viais, encher até a boca sem deixar espaços de ar (não formar bolhas), fechando-o em seguida.</li></ul>

## 7. Instruções específicas para ensaios de Ecotoxicologia em amostras ambientais

Cuidados que devem ser seguidos:

- Preencher todo o volume do frasco sem deixar espaços vazios, de maneira a evitar a presença de ar;
- Tampar o frasco, deixá-lo em repouso por alguns minutos e verificar se não existem bolhas de ar no seu interior. Caso haja presença de bolhas, bater levemente nas laterais do frasco, visando o desprendimento das bolhas. Completar o volume do frasco, se necessário;
- Acondicionar a amostra em ambiente refrigerado para transporte.

Na impossibilidade do início do ensaio em até 12 h após a coleta, a amostra deve ser acondicionada sob refrigeração em temperatura inferior a 10 °C por até 48 h, após este período, deve ser congelada a temperatura inferior a -10 °C, tomando o cuidado de retirar um pouco de líquido do frasco, para que o mesmo não estufe o frasco com a expansão da amostra congelada.

## 8. Instruções gerais para os ensaios de Limnologia (Fitoplâncton, Zooplâncton e Bentos) em amostras ambientais

Em ambientes de água doce, o fitoplâncton é constituído principalmente por algas (clorofíceas, diatomáceas, euglenofíceas, crisofíceas, dinofíceas e xantofíceas) e cianobactérias. A amostragem para ensaio de fitoplâncton pode ser feita de várias maneiras, dependendo do objetivo do estudo.

Na água superficial pode ser realizada em uma única tomada, de uma forma integrada (quando várias coletas da água superficial são reunidas em uma amostra), ou em réplicas (duas ou mais, que serão

analisadas individualmente).

Na coluna d'água, pode ser feita em várias profundidades e compostas em uma única amostra ou analisadas individualmente (réplicas). É recomendável que em amostragens de rotina para programas de monitoramento, seja realizada, se possível, no mesmo período do dia e em local próximo. É importante ressaltar que dentro do grupo das cianobactérias existem espécies que possuem aerótopos, as quais podem migrar na coluna d'água de acordo com a intensidade luminosa. Esta característica é importante principalmente nas amostragens em águas captadas para consumo humano, nas quais a altura da tomada da água, bem como a integração de dados de toda coluna d'água devem ser considerados. O período ideal para a amostragem de cianobactérias na superfície é no início da manhã e no final da tarde. Em caso de corpos aquáticos eutrofizados, deve ser repensada em caso de acúmulo de material indesejado no biofilme superficial, se não houver sujeira aparente, o material da superfície deve ser amostrado de maneira integral, sem movimentar muito a massa flutuante.

Os organismos zooplânctônicos são aqueles que vivem em suspensão devido à sua limitada capacidade de locomoção, podem ocupar toda a coluna de água, desde a superfície até grandes profundidades. A maioria dos invertebrados está representada no zooplâncton, seja como adultos, larvas, ou ambos, assim como os ovos e larvas de peixes (vertebrados), e podem ocupar diferentes níveis tróficos. Alguns dos organismos permanecem no ambiente planctônico durante todo o seu ciclo de vida (holoplâncton), outros, só parte dele (meroplâncton), como larvas de diversos grupos (poliquetos, crustáceos, insetos e peixes). São encontrados em praticamente todos os ambientes aquáticos, como lagos, charcos, lagoas, estuários, oceanos e em muitos rios.

Se somente um local é requisitado, é recomendado amostrar no ponto mais fundo do ambiente aquático, considerado o mais representativo da comunidade planctônica.

## 8.1 Instruções específicas para os ensaios de Fitoplâncton em amostras ambientais

A amostragem com redes de plâncton geralmente é empregada em estudos qualitativos e pode ser feita por meio de arraste horizontal e vertical, principalmente. Há vários tipos de redes disponíveis, sendo as mais indicadas para o estudo do fitoplâncton as de malha de náilon com abertura de 20 a 45  $\mu\text{m}$ . Recomendam-se as redes longas e de boca larga, que possibilitam maior área de filtração. É importante destacar que a amostragem com rede não permite a quantificação precisa do fitoplâncton. Além disso, algumas espécies muito pequenas (nanoplâncton) não são retidas no copo, impossibilitando o conhecimento da comunidade total. Para ambientes com muito material em suspensão, como alguns rios, recomenda-se a amostragem com redes de até 60  $\mu\text{m}$ , pois as de malhas menores entopem e inviabilizam a filtragem do material.

### 8.1.1 Amostragem horizontal com rede

- Amarrar uma corda na extremidade da rede;
- Em seguida, mergulha-se a rede na água a uma profundidade de até 30 cm;
- Com auxílio de uma embarcação é realizado um arraste na superfície por tempo determinado, tomando o cuidado de evitar a zona de turbulência provocada pelo deslocamento da embarcação;
- A amostra retida no copo da rede é transferida para um frasco. Com auxílio de uma pisseta de água de osmose, efetuar a lavagem, de fora para dentro do copo, como forma de retirar o material aderido



ao mesmo;

- Manter a amostra refrigerada e ao abrigo da luz. Se necessário, adicionar de 0,3 a 1,0 mL de lugol a cada 100 mL de amostra, ainda em campo.

### 8.1.2 Amostragem vertical com rede

- Mergulhar a rede na água até a profundidade desejada;
- Suspende a rede lentamente até a superfície;
- A amostra retida no copo da rede é transferida para um frasco. Com auxílio de uma pisseta de água destilada, efetuar a lavagem de fora para dentro do copo, como forma de retirar o material aderido ao mesmo;
- Caso haja necessidade de uma quantidade maior de organismos fitoplanctônicos, repetir o procedimento descrito nos itens anteriores;
- Manter a amostra refrigerada e ao abrigo da luz. Se necessário, adicionar ainda em campo, lugol até uma concentração final de 5%.

### 8.1.3 Amostragem manual

Geralmente recomendada para análises quantitativas de cianobactérias, a amostragem manual pode ser realizada com o balde de inox ou, na falta deste, com o próprio frasco. Para tanto, deve-se submergir o frasco de 1 L (âmbar de boca larga) na camada superficial (até 30 cm) ou preenchê-lo com ajuda de um balde de aço inox AISI 316L e de um funil, tomando o cuidado de não preenchê-lo completamente (preencher aproximadamente 2/3) para facilitar a homogeneização em laboratório e possibilitar a sobrevivência dos organismos (amostra não fixada em campo).

Manter a amostra refrigerada e ao abrigo total da luz. Preservar no laboratório no máximo após 72 h da coleta com solução de lugol forte, seguindo PE-203.

## 8.2 Instruções específicas para amostragem de águas para os ensaios de Zooplâncton

Muitos aparelhos foram desenvolvidos para amostragem dessa comunidade em função, principalmente, da variabilidade na distribuição do zooplâncton, da diversidade de ambientes e da capacidade de fuga e de escape dos zooplânctons e, por isso, não há um método que retenha toda a variedade de organismos. Na Tabela 1 encontram-se algumas recomendações para a escolha do aparelho.

**Tabela 1:** Equipamentos adequados para amostragem de Zooplâncton.

Equipamento	Amostras pontuais	Amostras integradas horizontalmente	Amostras integradas verticalmente		Amostras em vegetação
			Águas pelágicas ou profundas	Águas litorâneas ou rasas	
Garrafas	+	-	-	+	++
Armadilhas	++	+	-	++	++
Bombas	++	+	+	++	++
Redes	-	++	++	+	-

Legenda: (-) Pouco recomendado; (+) Recomendado; (++) Muito recomendado.

Como a distribuição do zooplâncton geralmente é agregada e durante a coleta ocorre fuga e escape dos organismos, torna-se necessário aumentar o volume amostrado por amostra ou adicionar réplicas (ou ambos). Apesar de não existir definição quanto ao volume mínimo a ser amostrado, pois depende da finalidade da investigação, sabe-se que, em ambientes oligotróficos, estuarinos e costeiros, é necessário amostrar um volume muito maior do que em ambientes eutróficos. Já nesses últimos, a concentração de zooplâncton frequentemente é alta. Recomenda-se amostrar um volume mínimo, por réplica, de 5 L para o zooplâncton de água doce e para o costeiro/estuarino, e a obtenção de pelo menos duas réplicas em cada ponto de amostragem. Uma vez estabelecido o procedimento e o equipamento de amostragem, é muito importante que estes não sejam alterados ao longo do estudo, a fim de possibilitar a comparação dos resultados. Na necessidade de informações adicionais, deve-se complementar com mais outro tipo de amostragem.

As redes de plâncton são a aparelhagem mais empregada no estudo do zooplâncton geral. Apesar disto, há um considerável número de erros associados à amostragem com redes, desde aqueles decorrentes do arraste propriamente dito (volume, fuga, escape, seletividade, estrato amostrado, contaminação, colmatagem, distribuição agrupada, eficiência de filtração, etc) até aqueles associados à perda de organismos, que ficam aderidos à malhagem, durante a transferência do material para frasco. No entanto, as redes de plâncton são preferíveis às garrafas e armadilhas para amostragem em ambientes oligotróficos, onde o zooplâncton é menos abundante ou onde elevada quantidade de biomassa é necessária para as análises.

De uma forma geral, deve-se utilizar redes, cujos poros sejam, pelo menos, 25% menores que a largura dos organismos desejados. Para o estudo do zooplâncton geral de água doce recomenda-se usar malha com porosidade de 67 a 200  $\mu\text{m}$ , dependendo do local da amostragem. Para a amostragem de microzooplâncton (protozoa, rotíferos e crustáceos jovens), o material deve ser o mesmo utilizado para fitoplâncton.

A fuga de organismos, um dos principais problemas relacionados à amostragem com rede, pode ser reduzida pelo uso de redes maiores, de cores discretas, sem partes brilhantes, velocidades aumentadas (entre 0,5 e 1,0 m/s) e remoção de acessórios da frente da rede.

Se o objetivo for um estudo quantitativo, deve-se equipar as redes com fluxômetro calibrado entre o centro e a borda da boca da rede, para estimar o volume de água filtrado pelo arraste. Quando não se dispõe de fluxômetro, pode-se estimar o volume filtrado ( $m^3$ ) durante o arraste vertical por meio da fórmula:

$$\text{volume de água filtrado (m}^3\text{)} = \text{área da boca da rede (m}^2\text{)} \times \text{profundidade de coleta (m)}$$

## 8.2.1 Amostragem por meio de arraste horizontal

Dá-se preferência à amostragem por arrastes horizontais em determinados estratos, em lugares rasos, próximos às margens, ou onde é grande a influência de fatores físicos, como o vento e correntezas. Este tipo de amostragem tem a finalidade de estimar a distribuição e abundância do zooplâncton dentro de uma camada de água em particular. Deve-se fixar um flutuador junto à boca da rede para mantê-la na profundidade desejada. Segue o procedimento a ser adotado:

- a) Lançar a rede na água, tomando o cuidado de anotar a leitura inicial do fluxômetro;
- b) Estando a rede na profundidade desejada, iniciar lentamente o seu deslocamento de forma que a rede fique longe da zona de turbulência causada pelo motor da embarcação;
- c) A velocidade do arraste não deve ser superior a 0,5 m/s;
- d) Depois de decorrido o tempo determinado de arraste, puxar lentamente o cabo no qual a rede está amarrada e retirar a rede da água lentamente;
- e) Imediatamente após a saída da boca da rede da água, anotar a leitura final do fluxômetro;
- f) Remover o copo da rede com o zooplâncton concentrado, vertendo a amostra para o frasco coletor;
- g) Limpar o copo da rede, vertendo seu conteúdo para o frasco coletor, quantas vezes forem necessárias para a completa remoção dos organismos;
- h) Adicionar formol neutralizado até uma concentração final de 10% (proporção de 1 parte de formol para 9 partes de amostra) e completar o frasco coletor com água de osmose (no caso de zooplâncton de água doce) ou com água do local (no caso de zooplâncton marinho);
- i) Sempre que possível, adicionar de 5 a 10mL de solução do corante rosa de bengala 0,1%;
- j) Fechar bem o frasco coletor e mantê-lo ao abrigo da luz.

## 8.2.2 Amostragem por meio de arraste vertical

A amostragem por meio de arraste vertical é, em geral, mais apropriada do que o arraste horizontal pois o zooplâncton pode apresentar-se verticalmente descontínuo, com tendência a se concentrar nas camadas mais profundas durante o dia, por exemplo. Entretanto, esse tipo de amostragem deve ser realizado em regiões onde os fatores físicos, como correntezas, interferem pouco. Segue o procedimento a ser adotado:

- a) Lançar a rede na água lentamente, tomando o cuidado de anotar a leitura inicial do fluxômetro;
- b) Descer a rede até 0,5 a 1,0 m do fundo. É importante evitar que a rede não bata no fundo, o que ressuspenderia o sedimento e contaminaria a amostra;
- c) Subir lentamente a rede e, imediatamente após a saída da boca da rede da água, anotar a leitura final do fluxômetro. A velocidade do arrasto deve ser de 0,5 m/s, aproximadamente;

- d) Retirar a rede da água. No caso da rede subir com muito material aderido à malha, é recomendável submergi-la (deixando a boca da rede fora d'água) a fim de que a água do local empurre, de fora para dentro, os organismos que ficaram aderidos;
- e) Remover o copo da rede com o zooplâncton concentrado, vertendo a amostra para o frasco coletor;
- f) Limpar o copo da rede com a água de osmose, vertendo o conteúdo do copo para o frasco coletor quantas vezes forem necessárias para a completa remoção dos organismos, principalmente das malhas laterais;
- g) Adicionar formol neutralizado até uma concentração final de 10% (proporção de 1 parte de formol para 9 partes de amostra) e completar o frasco coletor com água de osmose (no caso de zooplâncton de água doce) ou com água do local (no caso de zooplâncton marinho);
- h) Sempre que possível, adicionar de 5 a 10 mL de solução do corante rosa de bengala 0,1%;
- i) Fechar bem o frasco coletor e mantê-lo ao abrigo da luz.

### 8.2.3 Cuidados a serem tomados na amostragem de zooplâncton com redes

- a) A amostragem com rede deve ser realizada com o maior cuidado possível, evitando-se sacudidas e golpes contra o casco da embarcação para evitar fuga dos organismos;
- b) Os arrastes com redes finas devem ser suficientemente breves para não permitir o entupimento da malha (colmatagem);
- c) As redes devem ser inspecionadas entre uma amostragem e outra, a fim de verificar a existência de furos ou outro tipo de dano à malha, o que exigiria correção imediata;
- d) É importante limpar a rede entre dois pontos com água do local: esse procedimento ajuda na desobstrução dos poros do cone filtrante (caso estejam um pouco entupidos) e evita a contaminação pela presença de organismos de outro local.

### 8.2.4 Amostragem com bombas

As bombas podem ser usadas em estudos qualitativos e quantitativos do zooplâncton. Contam com a facilidade de manejo, precisão da profundidade e facilidade de cálculo do volume de água amostrado. Contudo, deve-se selecionar uma bomba cujas engrenagens não fragmentem os organismos, que precisam permanecer intactos para identificação.

As bombas contam com a limitação da profundidade em que podem operar e do diâmetro relativamente pequeno do tubo de entrada, que dificulta a captura de organismos maiores, mais ativos e que podem evitar facilmente a sucção na entrada do tubo. Para evitar esse problema, um funil pode ser colocado no bocal para diminuir a velocidade de entrada da água e aumentar a área de ação do equipamento, principalmente em ambientes pouco turbulentos, nos quais podem ocorrer erros maiores de amostragem.

### 8.3 Instruções específicas para amostragem para os ensaios de Bentos

O método utilizado é o "kick": método de amostragem de bentos em ambientes lóticos rasos (riachos), que consiste no deslocamento do material de fundo por meio de chutes, o que provoca o

desalojamento dos organismos aderidos ou ocultos sob o substrato. Os organismos são capturados em redes de 0,5 mm colocadas contra-corrente e em frente à área de amostragem (em frente ao coletador).

O volume amostrado geralmente é grande e deve ser enviado na íntegra, a não ser que o coletador realize uma triagem prévia a campo (separação de material). A amostra deve ser acondicionada em saco plástico resistente, se possível, revestido com um segundo saco devidamente identificado.

Ao chegar ao laboratório, as amostras devem ser imediatamente preservadas com álcool comercial 70° GL, em uma proporção de 200 mL de álcool para cada litro de amostra. O prazo para a preservação da amostra é de 24h após a amostragem. Em estudos que pretendam identificar com maior detalhe as sanguessugas (*Hirudinea*), pode-se utilizar um relaxante (água gaseificada) antes do fixador.

Os sacos devem ser lacrados com fitas adesivas ou outro material, de forma a impedir vazamento e perda de parte ou de toda a amostra. No transporte, as amostras devem ser acondicionadas lado a lado, de preferência dentro de caixas plásticas, tendo-se o cuidado de não colocar peso sobre os sacos com as amostras, para prevenir vazamento ou rompimento dos sacos.

## 9. Instruções gerais para amostragem de solo

A amostragem de solos é realizada mediante Plano de Amostragem previamente definido, contendo informações sobre a distribuição, número e profundidade de pontos de amostragem, além do tipo de amostragem (simples ou composta).

São amostrados em torno de 2000 g de solo, de forma a se obter uma amostragem representativa do local escolhido, para permitir uma posterior homogeneização das amostras e possuir material suficiente para execução das análises necessárias e replicatas, se necessário.

### 9.1 Instruções específicas

O procedimento de amostragem é realizado de acordo com a CETESB, com trado desenvolvido especificamente para solos. Deve-se proceder da seguinte maneira:

- a) Com auxílio de uma enxada, limpar a área a ser amostrada de qualquer fragmento presente na superfície. Pode ser apropriado, em determinadas situações, que sejam removidos os primeiros 8 a 15 cm da superfície do solo de uma área de aproximadamente 30 cm de diâmetro ao redor do ponto a ser amostrado;
- b) Utilizar o trado do tipo rosca para perfuração do solo;
- c) Quando o trado estiver cheio ou após atingir a profundidade desejada, remover lentamente e com cuidado do interior da sondagem. Quando a amostragem for realizada diretamente do trado, esse procedimento deve ser realizado com o trado fora do furo realizado. A porção superior da amostra retirada deve ser descartada. Para amostras compostas, transferir o solo para a bandeja ou balde de aço inoxidável, onde será efetuada a sua homogeneização;
- d) Amostrar e manusear as amostras de acordo com o tipo de substância a ser investigada (voláteis, semivoláteis ou metais);
- e) Para a análise de nitrato, deve-se remover a vegetação e outros detritos da superfície do solo a ser amostrado, descartando-se a porção externa da amostra, para evitar a contaminação das paredes do furo feito pelo trado. Na certeza da contaminação da amostra, a coleta pode ser feita próxima à

superfície (0-20 e 20-40 cm), em solos com pedregosidade aparente ou pouco profundas, sugere-se que restrinja-se a camada de 0-20 cm;

- f) Para análises biológicas, a profundidade geralmente limita-se à camada agicultável do solo (0 a 20 ou 25 cm) ou ao horizonte que concentra a maior quantidade de raízes (0 a 10 cm). O instrumento utilizado deve ser primeiramente lavado com água e depois com álcool 70°GL. Para análises faunísticas, a mais alta concentração de indivíduos normalmente é encontrada próxima a superfície, a cerca de 15 cm;
- g) Registrar as coordenadas geográficas do local de coleta, por meio de GPS;
- h) Proceder à descontaminação dos equipamentos antes da próxima amostragem.

## 10. Instruções gerais para amostragem de alimentos

A amostragem constitui a primeira fase da análise do produto. As amostras de produtos alimentícios destinadas à análise poderão ser colhidas nos locais de fabricação, preparo, depósito, acondicionamento, transporte e exposição à venda.

É fundamental que os responsáveis pela amostragem assegurem a integridade das amostras, bem como sua rastreabilidade documental. Devem ser evitadas modificações nas características da amostra, utilizando-se sempre que possível a sua embalagem original, exceto nos casos de amostras a granel e gelo, e produtos em peças grandes ou excessivamente volumosos (presunto Parma, Pata Negra, certos queijos, etc).

A amostragem será de responsabilidade do Cliente. A amostra deverá ser colhida em quantidade suficiente para a realização da análise (ver abaixo) e acondicionada de forma a resguardá-la de qualquer alteração e ser adequadamente identificada.

A quantidade mínima necessária é de:

- ensaios bromatológicos: 250 g ou mL
- ensaios microbiológicos: 250 g ou mL

Em caso de amostras de leite para o ensaio de densidade, é necessário no mínimo 1 L.

A amostra, identificada e rotulada, será acompanhada do FR115 - Requisição de ensaios em alimentos, com as informações necessárias para a realização da análise e a emissão do Relatório de ensaio, como data e local da coleta, datas de fabricação e validade, nº de lote, e/ou qualquer outra informação que for de relevância ao Cliente. As amostras facilmente deterioráveis serão conservadas em refrigerador/freezer e transportadas em caixa térmica com gelo reciclável. O seu transporte até o laboratório, deverá ser efetuado o mais rápido possível, podendo ser realizada pela EcoCerta, conforme procedimentos descritos no PGQ-005.

## 11. Instruções gerais para amostragem de agentes de risco

As amostragens de agentes de risco para Higiene Ocupacional estão descritas no PA-069.

## Referências

- Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. Disponível em:

<http://arquivos.ana.gov.br/institucional/sge/CEDOC/Catalogo/2012/GuiaNacionalDeColeta.pdf>

- Amostragem do solo CETESB. Disponível em:

<http://areascontaminadas.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/45/2013/11/6300.pdf>

- Manual Prático de Análise de Água FUNASA. Disponível em:

[http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files\\_mf/manual\\_pratico\\_de\\_analise\\_de\\_agua\\_2.pdf](http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf)

- Diretriz nacional do plano de amostragem da vigilância em saúde ambiental relacionada à qualidade da água para consumo humano / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília : Ministério da Saúde, 2006. Disponível em:

[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretriz\\_nacional\\_plano\\_vigiagua.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretriz_nacional_plano_vigiagua.pdf)

- *Standard Methods for the examination of water and wastewater, 23<sup>rd</sup> edition, 10200 B. American Public Health Association, 2017.*
- Manual de procedimentos de coleta de amostras em áreas agrícolas para análise da qualidade ambiental: solo, água e sedimentos. Editado por Heloisa Ferreira Filizola, Marcos Antonio Ferreira Gomes e Manoel Dornelas de Souza. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006, 169 p.
- CETESB L5.309, 2003 - Determinação de bentos de água doce - macroinvertebrados: métodos qualitativo e quantitativo.

CÓPIA CONTROLADA